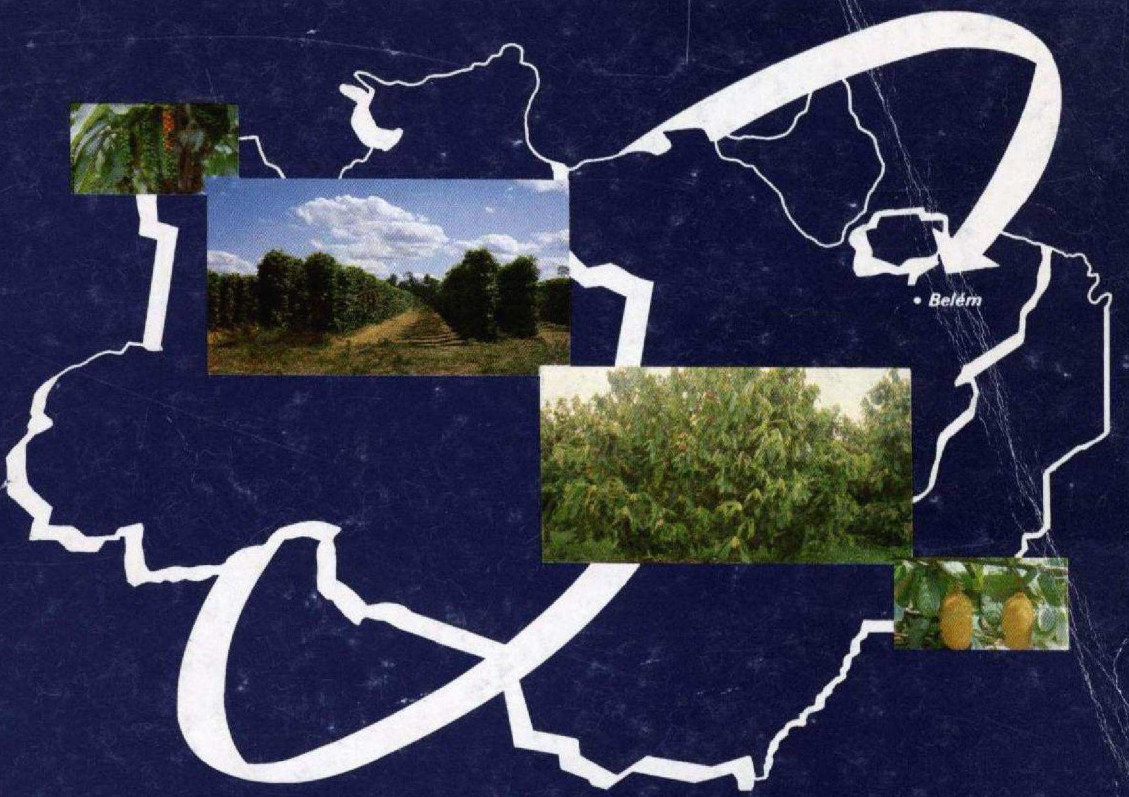
ISSN 0101-2835

Seminário Internacional Sobre Pimenta-do-reino e Cupuaçu

International Seminar on Black Pepper and Cupuaçu

Seminario Internacional Sobre Pimienta y Cupuaçu

17 a 19 de dezembro de 1996



ANAIS

PROCEEDINGS

ANALES

Embrapa

Amazônia Oriental

JICA

Belém - Pará - Brasil
1997

Anais...
1997 PC-2005.00226
AI-SEDE- 28762-2

ISSN 0101-2835

Seminário Internacional Sobre Pimenta-do-reino e Cupuaçu

International Seminar on Black Pepper and Cupuaçu

Seminario Internacional Sobre Pimienta y Cupuaçu

Belém, 17 a 19 de dezembro de1996
Belém, December 17 through 19, 1996
Belém, 17 a 19 de deciembre de 1996

ANAIS

PROCEEDINGS

ANALES

Embrapa
Amazônia Oriental

JICA

Belém - Pará - Brasil
1997

Embrapa Amazônia Oriental. Documentos, 89

Exemplares desta publicação podem ser solicitados à:
Embrapa Amazônia Oriental
Trav. Dr. Enéas Pinheiro, s/n
Telefones: (091) 246-6653, 246-6333
Telex: (91) 1210
Fax: (091) 226-9845
Caixa Postal, 48
66095-100 - Belém, Pará

Tiragem: 300 exemplares

Unidade: AT-Sede
Origem: Doação
Nº Registro: 26105

Comissão de Organização e Editoração

Dilson Augusto Capucho Frazão - Coordenador
Emmanuel de Souza Cruz
José Furlan Júnior

Expediente

Coordenação Editorial: Dilson Augusto Capucho Frazão
Normalização: Célia Maria Lopes Pereira
Revisão Gramatical: Maria de Nazaré Magalhães dos Santos
Composição: Daniel Luiz Leal Mangas
Décio Mangueira da Silva
Emmanoel Ubiratan de Lima
Euclides Pereira dos Santos Filho
Paulo Sérgio Oliveira

Nota: *Os trabalhos publicados nestes anais não foram revisados pelo Comitê de Publicações da Embrapa Amazônia Oriental como normalmente se procede para as publicações regulares. Assim sendo, todos os conceitos e opiniões emitidos são de inteira responsabilidade dos autores.*

SEMINÁRIO INTERNACIONAL SOBRE PIMENTA-DO-REINO E CUPUAÇU, 1., 1996, Belém, PA. ***Anais****. Belém: Embrapa Amazônia Oriental/JICA, 1997. 440p. (Embrapa Amazônia Oriental. Documentos, 89).*

1. Pimenta-do-reino - Congresso. 2. Cupuaçu - Congresso. I. Embrapa. Centro de Pesquisa Agroflorestal da Amazônia Oriental (Belém, PA). II. Título. III. Série.

CDD: 633.840601

©Embrapa – 1997

COMPOSIÇÃO BIOQUÍMICA E ENZIMAS OXIDATIVAS EM FOLHAS DE CUPUAÇUZEIRO (Theobroma grandiflorum (Willdenow ex Sprengel) Schumann) INFECTADAS POR Crinipellis perniciosa[1]

Heráclito Eugênio Oliveira da Conceição[2], *Paulo Mazzafera*[3], *Olinto Gomes da Rocha Neto*[4] e *Ruth Linda Benchimol Stein*[2]

RESUMO: O cupuaçuzeiro, planta endêmica na bacia amazônica, tem a produção de frutos bastante afetada quando atacada pela doença vassoura-de-bruxa, causada pelo fungo ***C. perniciosa****. Com o intuito de se estudar as alterações fisiológicas provocadas pelo patógeno em plantas infectadas, folhas sadias e doentes foram analisadas para o conteúdo de açúcares solúveis, amido, proteínas, fenóis e taninos. Também foram medidas as atividades das enzimas peroxidase e polifenoloxidase. As folhas sadias sempre apresentaram maior conteúdo dos compostos analisados. A atividade da polifenoloxidase foi maior nas folhas infectadas do que nas sadias, mas não foi observada diferença em relação à peroxidase. Os resultados mostram que ocorre acentuada alteração fisiológica nas folhas infectadas pelo patógeno. Uma vez que o desenvolvimento do micélio de* ***C. perniciosa*** *é intercelular na sua fase parasítica, sugere-se que os estudos posteriores quanto à composição bioquímica e atividades de enzimas no apoplasto dêem informações importantes para a compreensão das interações fisiológicas entre patógeno e hospedeiro.*

BIOCHEMICAL COMPOSITION AND OXIDATIVE ENZIME ACTIVITIES IN CUPUAÇU (Theobroma grandiflorum (Willdenow ex Sprengel) Schumann) LEAVES AS INFECTED BY Crinipellis perniciosa

ABSTRACT: The cupuaçu, an indigenous tree of the Amazon basin, has the fruit production severely affected by the development of the disease witches' broom, caused by the fungus ***C. perniciosa****. In order to investigate physiologycal alterations in infected plants, healthy and infected leaves were compared to the contents of soluble sugars, starch, proteins, chlorophyll, phenols and tannins. The activities of peroxidase and polyphenoloxidase were also evaluated. In respect to the chemical constituents, healthy leaves showed the highest contents. Activity of polyphenoloxidase was higher in the infected leaves, but no difference was observed for peroxidase. These results show that marked physiological alterations occur upon the infection by the pathogen. Since the mycelium of* ***C. perniciosa*** *develops extracellularly as in parasitc stage, it is suggested that further studies on thechemical composition and enzymes in the apoplast certainly might give new clues for the understanding of the physiological interactions between the pathogen and host.*

[1] *Trabalho realizado com o apoio do Convênio Embrapa Amazônia Oriental / JICA e BIRD III.*

[2] *Eng- Agr., M.Sc., Embrapa Amazônia Oriental, Caixa Postal 48, CEP 66017-970, Belém, PA.*

[3] *UNICAMP - Departamento de Fisiologia Vegetal, IB, UNICAMP, Caixa Postal 6109, CEP 13081-970, Campinas, SP.*

[4] *Eng.-Agr., Ph.D., Embrapa Amazônia Oriental.*

INTRODUÇÃO

Atualmente, a vassoura-de-bruxa, representa o principal fator limitante da produção de cacau no Brasil. O fungo basidiomiceto ***Crinipellis perniciosa*** *(Stahel) Singer é o agente causal dessa doença e é, também, encontrado afetando outras espécies de* ***Theobroma*** *e* ***Herrania****, nativas da floresta da bacia amazônica (Baker & Holliday, 1957).*

O ciclo de vida do patógeno pode ser dividido em duas fases bem distintas, parasítica e saprofítica. Os basidiosporos penetram em tecido ileso, principalmente estômatos, tricomas multicelulares prostrados e ferimentos, causando hipertrofia e hiperplasia de ramos, flores e frutos. O micélio parasítico cresce somente intercelularmente e a proliferação ocorre exclusivamente em tecidos de crescimento ativo. Após a morte dos tecidos, o fungo persiste como um saprófita, produzindo basidiocarpos, por longos períodos (Evans, 1980; Calle et al. 1982; Frias et al. 1991).

Até o momento, poucas cultivares de cacaueiro são conhecidas por apresentarem resistência parcial ao ataque do patógeno. Informações sobre a base bioquímica da resistência dessas cultivares são restritas. Descobertas recentes têm indicado que taninos condensados podem estar envolvidos na resistência do cacaueiro à vassoura-de-bruxa (Brownlee et al. 1990).

*O cupuaçuzeiro (****Theobroma grandiflorum*** *(Willdenow ex Sprengel) Schumann) é uma árvore nativa da bacia amazônica, cuja polpa dos frutos é apreciada pelo aroma e sabor pronunciado. A árvore ainda é pouco explorada economicamente e os frutos são coletados por pequenos produtores, em árvores nativas que crescem na floresta e em pequenos plantios. A polpa é principalmente consumida no preparo de suco, sorvete, doce, etc. (Calzavara et al. 1984). É, também, afetado pela vassoura-de-bruxa. Vieira (1942) considera que, em comparação ao cacaueiro, a produção de frutos desta planta é mais afetada pela doença, visto que a frutificação ocorre somente nos lançamentos. Contudo, os isolados de* ***C. perniciosa*** *que contaminam o cacaueiro não infectam o cupuaçuzeiro (Bastos, 1986).*

Até agora, não há nenhuma cultivar de cupuaçuzeiro com resistência à vassoura-de-bruxa, nem trabalhos reportando sobre o comportamento fisiológico desta planta quando contaminada pelo patógeno. Predominantemente, a maioria da informação sobre as interações planta-patógeno está relacionada ao cacaueiro.

Este trabalho tem como objetivo estudar a interação fisiológica entre o cupuaçuzeiro e ***C. perniciosa****, através da comparação entre folhas contaminadas e sadias, em relação ao conteúdo de alguns constituintes químicos e a atividade de enzimas oxidativas.*

MATERIAL E MÉTODOS

O cupuaçuzeiro tem folhas alternadas. A primeira e segunda e a quarta e oitava folhas foram coletadas de ramos contaminados e sadios de uma quadra de cupuaçuzeiros adultos do Centro de Pesquisa Agroflorestal da Amazônia Oriental - CPATU, da Embrapa, em Belém, PA. Como não havia nenhum controle da infecção dessas plantas, para cada tipo de folha, sadia ou contaminada, foram coletadas 15 a 20 folhas de vários ramos de cinco plantas e misturadas para compor uma única amostra. Posteriormente, foram divididas em duas amostras e três repetições foram tomadas de cada uma. Imediatamente após a coleta, as folhas foram conservadas em gelo até serem conduzidas para o laboratório, onde foram pesadas, medidos o comprimento e largura do limbo, e usadas para as extrações. Algumas folhas foram usadas para determinação do peso das matérias fresca e seca.

Segmentos de ramos sadios e contaminados, compreendidos entre a primeira e oitava folhas, foram coletados de algumas árvores de cupuaçuzeiro. Após a remoção das folhas, foram pesados, e seus volumes obtidos pelo registro da mudança de volume de uma solução etanólica 50%, dentro de um cilindro graduado. O peso da matéria seca foi obtido após uma semana de secagem a 70°C.

Aproximadamente 1 g de folhas foi imergido em 25 ml de etanol 80% e macerado em homogeneizador Virtis. Uma segunda extração foi feita com o mesmo volume de etanol e os extratos combinados foram transferidos para um erlenmayer de 250 ml, cobertos com folha de papel alumínio, e deixado em banho-maria (80°C) por uma hora, com agitação ocasional. Após resfriamento, o macerado foi filtrado e o líquido filtrante foi usado para a determinação de açúcares solúveis, de acordo com Dubois et al. (1956). A sacarose foi usada como padrão.

O conteúdo de amido foi medido no macerado, recuperado após uma noite de digestão com 10 ml de ácido perclórico, a 35%. Os extratos foram centrifugados e os resíduos de glicose, quantificados (Dubois et al. 1956). A glicose foi usada como padrão.

O mesmo extrato etanólico usado para a determinação de açúcares solúveis foi também usado para determinação de compostos fenólicos (Swain & Hillis, 1959) e clorofilas (Arnon, 1949).

Os taninos foram extraídos duas vezes (1 g/2x25 ml) com água destilada fervente. As folhas foram maceradas em homogeneizador Virtis e incubadas por uma hora em banho-maria fervente. O macerado foi filtrado e a concentração de taninos foi mensurada pela precipitação de azul de metileno em tampão fosfato (Okuda et al. 1985).

As proteínas solúveis foram determinadas somente na primeira, segunda e quarta folhas. A nervura principal foi removida e a lâmina foliar colocada em almofariz, em banho de gelo, com tampão fosfato de sódio 250 mM; pH 7,0; ácido ascórbico 5%. Os extratos foram centrifugados a 4°C e o sobrenadante recuperado para determinação de proteína (Bradford, 1976). A soro albumina bovina foi usada como padrão.

As enzimas peroxidase (PER) e polifenoloxidase (PPO) foram extraídas da primeira e segunda folhas, após remoção da nervura principal. As proteínas foram extraídas por maceração do limbo foliar em almofariz, em banho de gelo, com tampão fosfato de sódio 200 mM; pH 7,0; ácido ascórbico 5%, EDTA 10 mM e β-mercaptoetanol 14 mM. Foi adicionada areia lavada para melhorar a extração. A mistura foi centrifugada a 15.000 rpm por 15 minutos a 4°C e o sobrenadante foi filtrado em coluna de Sephadex G25 (1,5 cm x 25,0 cm). Os eluatos das proteínas foram usados para os ensaios enzimáticos. A concentração de proteína foi medida nas frações do extrato cru e filtrado. As atividades das enzimas peroxidase e polifenoloxidase foram ensaiadas de acordo com Kar & Mishra (1976), usando pirogalol como substrato.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Sob contaminação de patógenos, as plantas desenvolvem uma gama de processos complexos. Em interações susceptíveis, na maioria das vezes, mudanças fisiológicas podem ser consideradas como conseqüências da colonização de células e tecidos invadidos. Nas interações de resistência, vários mecanismos podem ser deduzidos a fim de evitar a propagação de patógeno nos tecidos.

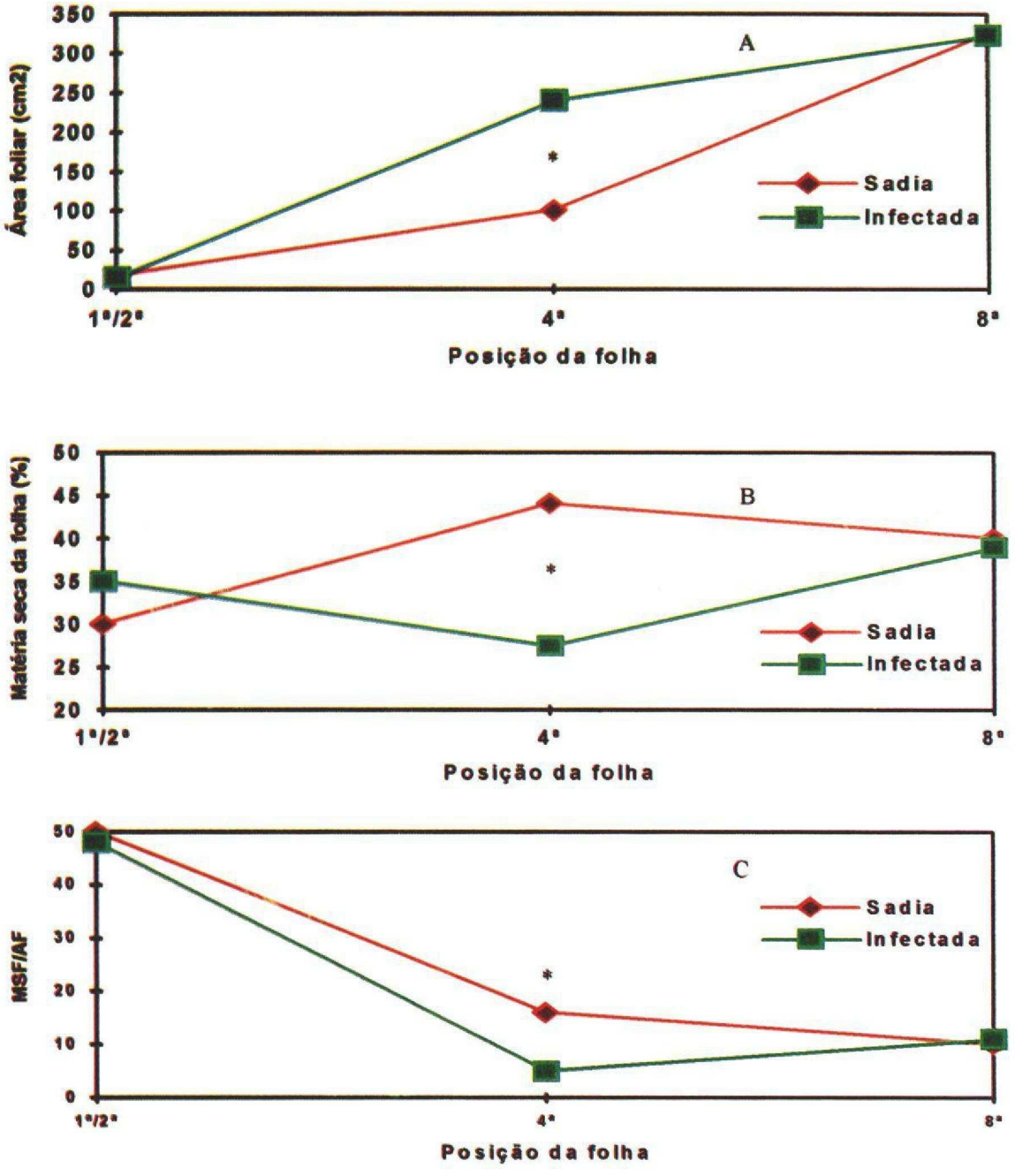
Os compostos fenólicos têm sido considerados como parte da resposta de defesa contra patógenos nas interações de resistência planta/patógeno. Estes compostos podem ser agrupados nas classes de pré-formados ou de compostos novamente sintetizados (Nicholson & Hammerschmidt, 1992). Os taninos, que são polifenóis solúveis em água, também têm sido indicados por possuírem atividades antimicrobial (Scalbert, 1991).

A lignina, um complexo polímero fenólico, pode atuar durante a contaminação do patógeno pela formação de uma barreira para o crescimento do patógeno (Ride, 1978; Bruce & West, 1989). Como as peroxidases estão envolvidas na biossíntese de lignina, o aumento de atividade e o aparecimento de isoenzimas têm sido detectados em tecidos atacados (Bruce & West, 1989; Biles & Martin, 1993; Goy et al. 1992). A atividade da polifenoloxidase também aumenta nas interações planta/patógeno. Contudo, seu papel no processo até agora não está claro (Biles & Martin, 1993; Goy et al. 1992).

O padrão de translocação de assimilados em plantas pode ser alterado a partir da contaminação com patógenos fúngicos biotróficos (Livne & Daily, 1966; Billet & Burnet, 1978; Edwards, 1971; Aked & Hall, 1993). Açúcares são liberados no apoplasto em direção ao local do dreno representado pelas células contaminadas. Não obstante, não é uma regra o aumento das taxas fotossintéticas em tecidos contaminados (Coghlan & Walters, 1992). Outros estudos relatam aumento (Klecan & Buchanan, 1988) ou decréscimo (Manners & Gay, 1982) dos níveis de amido em algumas combinações planta/patógeno.

A Fig. 1 mostra a área foliar, a matéria seca da folha e a razão entre esses dois dados para folhas de cupuaçuzeiros sadios e infectados. Surpreendentemente, a quarta folha diferiu significativamente das outras, mostrando uma acumulação mais baixa de matéria seca (Fig. 1A) associada a uma expansão foliar mais rápida (Fig. 1B),

e, como resultado, a matéria seca por área foliar desta folha foi três vezes mais baixa do que a da folha sadia (Fig. 1C). Os conteúdos dos constituintes químicos mostrados na Tabela 1 foram expressos em μg/cm².



* *Indica diferença estatística entre folhas sadias e infectadas, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.*

FIG. 1. Área foliar (A), matéria seca da folha (B) e matéria-seca da folha/área foliar (C) da primeira, segunda, quarta e oitava folhas de ramos de cupuaçuzeiros sadios e infectados por ***Crinipellis perniciosa****.*

TABELA 1. Composição química e atividades de enzimas em folhas de cupuaçuzeiros sadios e infectados por ***Crinipellis perniciosa.***

Compostos químicos	*Posição da folha*[1]		
	Primeira e segunda	*Quarta*	*Oitava*
Açúcares solúveis[2]			
Sadios	*5,34a*	*1,12a*	*1,00a*
Infectados	*2,97b*	*0,62b*	*0,52b*
Média	*4,16A*	*0,87B*	*0,76B*
Amido			
Sadios	*4,08a*	*0,72a*	*0,30a*
Infectados	*5,16a*	*0,31b*	*0,55a*
Média	*4,62A*	*0,52B*	*0,43B*
Proteínas			
Sadios	*0,841a*	*0,206a*	*nd*
Infectados	*0,615b*	*0,079b*	*nd*
Média	*0,728A*	*0,143B*	*nd*
Clorofila total			
Sadios	*0,062a*	*0,013a*	*0,028a*
Infectados	*0,026b*	*0,005b*	*0,020b*
Média	*0,044A*	*0,009C*	*0,024B*
Fenólicos			
Sadios	*9,13a*	*1,67a*	*1,24a*
Infectados	*4,83b*	*0,86b*	*0,89a*
Média	*6,98A*	*1,27B*	*1,07B*
Taninos			
Sadios	*8,75a*	*1,16a*	*0,38a*
Infectados	*3,21b*	*0,64b*	*0,40a*
Média	*5,98A*	*0,90B*	*0,39B*
PPO[3]			
Sadios	*0,57b*	*nd*	*nd*
Infectados	*0,89a*	*nd*	*nd*
PER[3]			
Sadios	*1,56a*	*nd*	*nd*
Infectados	*1,17a*	*nd*	*nd*

[1] *Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças estatísticas entre médias pelo teste de Duncan 5%, e letras minúsculas entre folhas sadias e infectadas.*

[2] *Valores expressos em mg/cm².*

[3] *Atividades das enzimas polifenoloxidase (PPO) e peroxidase (PER) foram expressas como unidades de absorbância /µg de proteína / minuto.*

nd = não determinada.

Os ramos do cupuaçuzeiro tornam-se intumescidos quando infectados com ***C. perniciosa****. Aqui, foi determinado o volume, as matérias fresca e seca, e a densidade dos ramos de cupuaçuzeiros sadios e doentes. A percentagem de matéria seca foi mais alta em tecidos sadios (23,4 %) quando comparada com os infectados (17,8 %). Quando a densidade foi calculada usando a matéria fresca, nenhuma direrença foi observada (0,931 g/ml, sadio; 0,972 g/ml, infectado), contudo, usando matéria seca, os ramos sadios mostraram maior densidade (0,218 mg/ml) do que os infectados (0,174 mg/ml), indicando acúmulo de mais matéria seca por volume.*

Os conteúdos de açúcares solúveis, proteínas, clorofilas total, fenólicos e taninos de folhas de cupuaçuzeiros são mostrados na Tabela 1. As folhas sadias quase sempre mostraram valores mais altos para todos os compostos analisados. Similarmente, as primeira e segunda folhas tiveram conteúdos mais altos. As atividades da PPO e da PER foram investigadas somente na primeira e segunda folhas (Tabela 1). Diferenças estatísticas significativas foram encontradas somente para a atividade da PPO, que foi mais alta nas folhas doentes. Atividades de enzimas podem ser medidas somente após filtração em Sephadex G25, indicando a presença de inibidor (es) de baixo peso molecular nos extratos crus.

O fungo biotrófico ***C. perniciosa*** *tem um modo peculiar de colonização nos tecidos da planta, visto que cresce exclusivamente no espaço intercelular enquanto na fase parasítica. Portanto, a absorção de nutrientes para seu crescimento pode estar disponível no apoplasto. Tecidos de cacaueiro infectados tornam-se intumescidos e as células arranjadas desorganizadamente, provavelmente como uma resposta para o aumento no nível de fitohormônios (Isaac, 1992).*

Tem sido mostrado, em cultura de tecidos e de protoplastos de cacaueiro que o fungo causa perda de eletrólitos, sugerindo, portanto, que nutrientes podem migrar de células internas para externas, como demonstrado para outras plantas atacadas por patógenos (Aked & Hall, 1993). O aumento da atividade da invertase extracelular foi também detectado (Aked & Hall, 1993).

Os resultados obtidos indicam um distúrbio metabólico geral nas folhas de cupuaçuzeiros infectadas pelo fungo. Provavelmente, isso se deve a uma redução no conteúdo de clorofila. A fotossíntese é afetada nessas folhas e, conseqüentemente, o nível de carboidratos. Novos estudos sobre fotossíntese, conteúdo intercelular de açúcares solúveis e atividade da invertase, certamente fornecerão nova compreensão sobre as interações fisiológicas entre o cupuaçuzeiro e ***C. perniciosa****.*

AGRADECIMENTOS

Ao laboratorista Cleo Marcelo de Araújo Souza e ao Dr. Jorge Vega, pela colaboração prestada.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKED, J.; HALL, J.L. Effect of powdery mildew infection on concentrations of apoplastic sugars in pea leaves. ***New Phytologist,*** *v.123, p.283-288, 1993.*

ARNON, D. I. Cooper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidases in Beta vulgaris. ***Plant Physiology,*** *v.24, p.1, 1949.*

BAKER, R.E.D.; HOLLIDAY, P. ***Witches' broom disease of cacao (Marasmus perniciosus Stahel)*** *London: The Commonwealth Mycological Institute, [19--]. 57p. (Phytopathological Paper, 2).*

BASTOS, C.N. ***Comparação morfológica e patológica de isolados*** *de* ***Crinipellis perniciosa (Stahel) Singer.*** *Belém: CEPLAC-DEPEA, 1986. p.45-49. (Informe Técnico).*

BILES, C.L.; MARTYN, R.D. Peroxidase, polyphenoloxidase, e shikimate dehydrogenase isozymes in relation to tissue type, maturity and pathogen induction of watermelon seedlings. ***Plant Physiology & Biochemistry,*** *v.31, p.499-506, 1993.*

BILLET, E.E.; BURNET, J.H. The host-parasyte physiology of the mayze smut fungus Ustilago maydis 11. Translocation of ^{14}C-labelled assimilates in smutted maize plantas. ***Physiological Plant Pathology,*** *v.12, p.102-112, 1978.*

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for quantification of micrograms quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. ***Analytical Biochemistry,*** *v.72, p.248-251, 1976.*

BROWNLEE, H.E.; McEUEN, A.R.; HEDGER, J.; Scott, I.M.. Anti-fungal effects of cocoa tannin on the witches' broom pathogen ***Crinipellis perniciosa. Physiological Molecular Plant Pathology,*** *v.36 p.39-48, 1990.*

BRUCE, R.J.; WEST, C.A. Eliciation of lignin biosynthesis and isoperoxidase activity by pectic fragments in suspension cultures of castor bean. ***Plant Physiology,*** *v.91, p.889-897, 1989.*

CALZAVARA, B.B.G.; MÜLLER, C.H.; KAWAGE, O.N.C. ***Fruticultura tropical o cupuaçuzeiro:*** *cultivo, beneficiamento e utilização do fruto. Belém: Embrapa-CPATU, 1984. 101p. (Embrapa-CPATU. Documentos, 32).*

COGLAN, S.E.; WALTERS, D.R. Photosynthesis in green-islands on powdery mildew-infected barley leaves. ***Physiological Molecular Plant Pathology,*** *v.40, p.31-38, 1992.*

DUBOIS, M.K.; GILLER, K.A.; HAMILTON, J.K.; RIBERS, P.A.; SMITH, J. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. ***Analytical Chemistry,*** *v.28, p.350-366, 1956.*

EDWARDS, H.H. Translocation of carbon in powdery mildewed barley. ***Plant Physiology,*** *v.47, p.324-328, 1971.*

EVANS, H.C. Pleomorphism in ***Crinipellis perniciosa,*** *causal agent of witches' broom disease of cocoa.* ***Transactions of the British Mycological Society,*** *v.74, p.515-523, 1980.*

FRIAS, G.A.; PURDY, L.H.; Schmidt, R. A. Infection biology of ***Crinipellis perniciosa*** on vegetative flushes of cocoa. ***Plant Disease***. v.75, p.552-556, 1991.

GOY, P.A.; FELIX, G.; MÉTRAUS, J.P. MEINS Jr., F. Resistance to disease in the hybrid Nicotiana glutinosa x Nicotiana debneyi is associated with high constitutive levels of β-1, 3 - glucanase, chitinase, peroxidase and polyphenoloxidase. ***Physiological Molecular Plant Pathololoqy***, v.41, p.11-21, 1992.

ISAAC, S. ***Interactions between the pathogen Crinipellis perniciosa and Cocoa tissue***. In: TROPICAL MYCOLOGY SYMPOSIUM, 1992, Liverpool. ***Proceedings***. Liverpool: British Mycological Society, University of Liverpool, 1992.

KAR, M.; MISHA, D. Catalase, peroxidase and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. ***Plant Physiology***. v.57, p.315-319, 1976.

KLECAN, A.L.; BUCHANAM, B.B. Powdery mildew infection alters 2, 6-bisphosphate content and sucrose to starch ratio in leaves of wheat plants actively forming grain. ***Physiological Molecular Plant Pathology***, v.32, p.221-227, 1988.

LIVNE, A.; DALY, J.M. Translocation in healthy and rust-affected beans. ***Phytopathology***, v.56, p.170-175, 1966.

MANNERS, J.M.; GAY, J.L. Transport, translocation and metabolism of ^{14}C - photosynthates at the host-parasite interface of Pisum sativum and Erysiphe pisi. ***New Phytologist***, v.91, p.221-244, 1982.

NICHOLSON, R.L.; HAMMERSCHMIDT, R. Phenolic compounds and their role in disease resistance. ***Annual Review of Phytopathology***, v.30, p.369-389, 1992.

OKUDA, T.; MORI. K.; HATANO, T. ***Chemical and Pharmaceutical Bulletin***, v.32, p.1424-1433, 1985.

RIDE, J.P. The role of cell wall alterations in resistance to fungi. ***Annals of Applied Biology***, v.89, p.302-306, 1978.

SCALBERT, A. Antimicrobial properties of tannins. ***Phytochemistry***, v.30, p.3875 - 3883, 1991.

SWAIN, T.; HILLIS, W.E. The phenolic constituents of Prunus domestica. I. The quantitative analysis of phenolic constituents. ***Journal Science of Food Agriculture***, v.10, p.63-68, 1959.

VIEIRA, J.T. ***Lagartão ou vassoura-de-bruxa***. Brasília, DF: Ministério da Agricultura, 1942. 7p (M.A. Boletim).