

CUCURBITACINAS COMO FATOR DE RESISTÊNCIA A INSETOS-PRAGA

Luciano Pacelli Medeiros Macedo

Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Departamento de Entomologia. Caixa Postal 09 – 13418-900, Piracicaba, SP. E-mail: lupacelli@yahoo.com.br

Jerson Vanderlei Carús Guedes

Professor Adjunto - Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Departamento de Defesa Fitossanitária. Campus Universitário Camobi – 97105-900, Santa Maria, RS. E-mail: jerson.guedes@smail.ufms.br

José Francisco Garcia

Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Departamento de Entomologia. Caixa Postal 09 – 13418-900, Piracicaba, SP. E-mail: jfgarcia@esalq.usp.br

Resumo - O Século XX foi marcado por grandes descobertas que tiveram profundo impacto na resistência de plantas a insetos-praga. Nesse contexto, desenvolveram-se estudos acerca das cucurbitacinas, importante grupo de substâncias secundárias produzidas pelas plantas. Essas substâncias são produzidas principalmente pela família Cucurbitaceae e agem sobre os insetos como alomônios, ou seja, impondo barreiras à herbivoria. Em contrapartida, alguns insetos, principalmente besouros desfolhadores da Tribo Luperini (Coleoptera: Chrysomelidae), venceram essas defesas da planta e as utilizam como fagoestimulante e/ou na defesa contra inimigos naturais. O modo de ação das cucurbitacinas sobre os insetos-alvo abre possibilidades de sua aplicação no melhoramento de plantas, visando resistência a insetos, como também, na sua utilização em iscas tóxicas ou como cultura armadilha.

Palavras-chave: insetos; resistência de plantas; substâncias secundárias.

CUCURBITACINS AS A RESISTANCE FACTOR TO PEST INSECTS

Abstract - The 20th century was marked by great discovers, which had a deep impact on plants resistance against pest insects. In this context, high studies were developed about cucurbitacins, an important group of secondary substances produced by plants. These substances are mainly produced by the Cucurbitacea family and act against the insects like allomones, imposing an obstacle to the herbivory. However, some insects, mainly defoliators beetles of the Luperini tribe (Coleoptera: Chrysomelidae), defeated these defenses of the plants and used them as alimentary stimulants and/or in the defense against natural enemies. The action mode of cucurbitacins against the target-insects opens possibilities of its application in the plants breeding, aiming the resistance against insects as well on its utilization in toxic baits or trap cultures.

Key Words: insects; resistance plants; secondary substances.

INTRODUÇÃO

As plantas, além da elaboração dos produtos envolvidos diretamente nas suas atividades básicas, como fotossíntese e respiração, produzem outros compostos denominados substâncias secundárias. A teoria evolucionária tenta explicar que o processo ação-reação decorrente das relações inseto-planta desencadeou o desenvolvimento dessas substâncias, que apresentam função de defesa contra a herbivoria praticada pelos fitófagos. Os insetos, por sua vez, desenvolveram também mecanismos (desintoxicação e “escape”), de modo a sobrepujar as barreiras químicas elaboradas pela planta e dela continuar a se alimentar.

Os compostos químicos secundários produzidos pelas plantas, também conhecidos como aleloquímicos, transmitem mensagens entre organis-

mos de diferentes espécies, ou seja, entre plantas e insetos, especialmente. Os aleloquímicos podem atuar como alomônios ou como cairomônios em função do organismo que se beneficia de sua emissão. Pode ocorrer, no entanto, de a mesma substância ou grupo de substâncias desempenharem uma função (alomônios) para a maioria dos insetos e de outra função (cairomônio) para outro grupo. As cucurbitacinas enquadram-se nessa categoria especial de aleloquímico, sendo tóxicas para a maioria dos insetos e atuando como estimulante de alimentação para o gênero *Diabrotica* (Coleoptera: Chrysomelidae). Embora muitas dessas espécies de coleópteros não se alimentem de plantas da família Cucurbitaceae, a característica das cucurbitacinas de estimular a alimentação nesse grupo sugere a existência de coevolu-

ção, sendo o primeiro passo a produção da substância pela planta e o segundo a quebra da função pelos insetos (Da Costa & Jones, 1971), que as reconhece como fonte de alimento.

O presente texto objetiva discutir aspectos relacionados às características das cucurbitacinas, sua presença nas plantas e relação cucurbitacinas-insetos no manejo de pragas.

CARACTERÍSTICAS DAS CUCURBITACINAS

As cucurbitacinas são substâncias secundárias presentes em plantas, principalmente, da família Cucurbitaceae e pertencentes ao grupo dos terpenóides tetracíclicos oxigenados (Figura 1); apre-

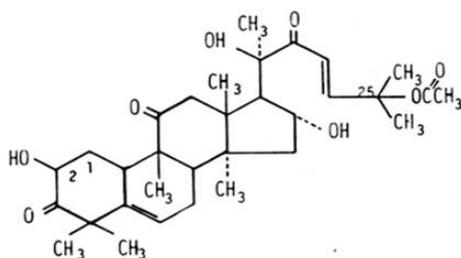


Figura 1 Estrutura molecular da cucurbitacina B (Metcalf & Metcalf, 1992).

sentam sabor amargo para os seres humanos (Sharma & Hall, 1973). Esses compostos secundários são “amargos” e tóxicos aos insetos, não apresentando volatilidade; atuam como protetores das cucurbitáceas contra a herbivoria desses e de outros animais (Metcalf & Lampman, 1989). A síntese das cucurbitacinas ocorre a partir do ácido mevalônico (Metcalf & Metcalf, 1992) e através de ações enzimáticas ocorridas durante o desenvolvimento e a maturação das plantas (Rehm *et al.*, 1957).

CUCURBITACINAS NAS PLANTAS

Presença das cucurbitacinas nos vegetais

As cucurbitacinas também podem estar presentes em alguns gêneros de outras famílias de plantas como: Begoniaceae, Brassicaceae (Cruciferae), Datisceae, Euphorbiaceae, Rosaceae e Scrophulariaceae (Metcalf & Metcalf, 1992). Na família Cucurbitaceae, estão presentes em mais de 30 gêneros e 100 espécies (Metcalf *et al.*, 1982).

Rehm *et al.*, (1957) identificou mais de 20 cucurbitacinas, sendo a cucurbitacina B e E (primárias), predominantes; a primeira está presente em mais de 90% das plantas, podendo além

disso, ser metabolizada para outras formas. Os outros tipos de cucurbitacinas são menos frequentes, como cucurbitacina D (69%), G e H (47%), E (42%), I (22%), J e H (9%) e A encontrada em apenas 2% das espécies estudadas; a cucurbitacina B (pode ser metabolizada à A, C, D, F, G e H) está presente em gêneros como, *Coccinia*, *Cucumis*, *Lagenaria* e *Tricomesia*; já a cucurbitacina E (pode ser metabolizada à I, J, K e L) está presente em gêneros como *Citrullus* e *Cucurbita* (Rehm *et al.*, 1957; Metcalf *et al.*, 1982).

Apesar das diferentes formas de cucurbitacinas presentes nas plantas e das particularidades de sua análise, Metcalf & Metcalf (1992) ponderaram que algumas generalizações a cerca dessas substâncias poderiam ser feitas: 1) as cucurbitacinas B e E são mais comumente encontradas nas plantas e as demais apresentam menores concentrações, sendo resultantes do metabolismo das primeiras; 2) a cucurbitacina D está sempre associada a B, enquanto a cucurbitacina I associa-se a D; as cucurbitacinas G e H associam-se a B e D; 3) da mesma forma as cucurbitacinas J e K associam-se a E e I; 5) a cucurbitacina A está associada com a B; 6) a cucurbitacina C ocorre somente em *Cucumis sativus*; 7) as cucurbitacinas B, C e E podem ocorrer isoladamente nas plantas.

Distribuição das cucurbitacinas na planta

As cucurbitacinas são encontradas em praticamente todos os órgãos da planta, desde as raízes, ramos, folhas, frutos e ocasionalmente nas sementes (Metcalf & Metcalf, 1992). As raízes são a parte da planta que apresenta maior concentração, seguidas em ordem decrescente pelos frutos, cotilédones, folhas e sementes (Metcalf *et al.*, 1982). Com o melhoramento de planta, reduziu-se a concentração dessas substâncias nos frutos, exceto nas cucurbitáceas de frutos ornamentais, que apresentam altas concentrações desse aleloquímico (Zitter *et al.*, 1996). A presença de cucurbitacinas nos diferentes órgãos da planta pode ser manipulada nos cruzamentos, pois sua ocorrência é governada por diferentes genes (Robinson *et al.*, 1976). Ocasionalmente, quando as plantas frutificam com baixa oferta de umidade, um distúrbio fisiológico faz com que os frutos apresentem alta concentração de cucurbitacinas, que pode ser solucionado com irrigação. Também, a ocorrência de cucurbitacinas em frutos normalmente livres dessas substâncias, pode ocorrer como resultado da polinização cruzada entre cultivares que apresentam essa característica (Zitter *et al.*, 1996).

TÉCNICAS DE AVALIAÇÃO DAS CUCURBITACINAS**Extração e purificação das cucurbitacinas**

Segundo Andersen & Wilkin (1986), os métodos para a extração e purificação das cucurbitacinas variam de acordo com o tipo de tecido vegetal e com a quantidade de material disponível.

Para obter cucurbitacinas puras a partir de frutos de cucurbitáceas Enslin citado por Andersen & Wilkin (1986) removeu a casca densa e homogeneizou a polpa em uma mistura com pouca água; em seguida, a solução foi filtrada e clarificada em solução saturada de acetato. Após essa operação, o excesso de acetato foi precipitado por centrifugação. Com a remoção do solvente, as cucurbitacinas resultaram em sólidos amorfos. A recristalização foi feita com etanol (cucurbitacina B), acetato etílico (cucurbitacina A, C e I) e acetato etílico-benzeno (cucurbitacina D), produzindo cristais puros. Peterson & Schalk (1985) fizeram a extração de cucurbitacinas de melancia (*Citrullus vulgaris*) a partir do fruto fatiado e misturado a igual quantidade de metanol, que foi filtrado em seguida. O extrato foi fracionado em três tempos em hexano, água e clorofórmio. A fração clorofórmica foi seca em Na₂SO₄ e recristalizada duas vezes. Do processo de extração resultou uma massa semicristalina amarela com rendimento de 71 mg de/100 g de tecido fresco, que foi usada nos experimentos dos autores.

De acordo com Andersen & Wilkin (1986), em decorrência da quantidade necessária de componentes e disponibilidade de material vegetal, deve-se utilizar cada uma das técnicas de extração. Entretanto, o método mais amplamente adotado para a extração de cucurbitacinas consta da homogeneização de uma amostra de 10 a 50 g de material vegetal em quantidade mínima de água. Em seguida, a solução deve ser vigorosamente agitada por duas horas em solução de clorofórmio (2:1). Após a extração, o clorofórmio é coletado e o volume reduzido a 1 ml por 10 de solução inicial.

Identificação e quantificação das cucurbitacinas

A partir da extração das cucurbitacinas com clorofórmio, que permite a exclusão de pigmentos e outros componentes que poderiam comprometer a qualidade da amostra, pode ser feita a detecção da presença de cucurbitacinas. Duas formas são usuais para a detecção: ácido férrico 5% + etanol e vanilina (ácido fosfórico reagente). O primeiro não é específico, indicando, portanto, todas as cucurbitacinas presentes e o segundo

permite a identificação das cucurbitacinas E, I, J, K e L (Andersen & Wilkin, 1986).

A análise qualitativa e/ou quantitativa das cucurbitacinas presentes nos tecidos vegetais pode ser feita de diferentes formas, embora todas envolvam técnicas e equipamentos sofisticados. As formas mais utilizadas compreendem: espectrômetro ultravioleta (UVE), cromatografia em camada de sílica gel (TCL), cromatografia líquida de alta pressão (HPLC), cromatografia líquida-gasosa (GLC) e cromatografia gasosa/espectrômetro de massa (GC/MS) para amostras de pureza desconhecida. Os resultados ou bandas obtidas são comparados com padrões existentes que determinam a substância encontrada.

RELAÇÃO ENTRE CUCURBITACINAS E INSETOS

As cucurbitacinas são deterrentes alimentares para a maioria dos insetos herbívoros (fagoderrentes), incluindo os besouros de folhas *Phyllotreta*, *Phaedon* e *Cerotoma trifurcata* (Coleoptera: Chrysomelidae) (Da Costa & Jones, 1971). Para a Tribo Luperini (Coleoptera: Chrysomelidae), as cucurbitacinas podem agir como arrestante ou fagoicidentes de alimentação, dependendo da espécie (Metcalf, 1986; Eben et al., 1997). Uma terceira forma de ação seria a apreensão das cucurbitacinas pelos insetos que a utilizam contra inimigos naturais (Ferguson & Metcalf, 1985) e na proteção contra entomopatogênicos (Tallamy *et al.*, 1998), ou até mesmo, contra pássaros predadores (Nishida & Fukami, 1990). Outras espécies de insetos do gênero *Epilachna* (Coleoptera: Coccinellidae) defendem-se das cucurbitacinas fazendo um corte circular no tecido da planta, evitando a translocação dos aleloquímicos (Carrol & Hoffman, 1980; Tallamy 1985). Sinha & Krishna (1970) estudaram a alimentação de *Aulacophora foveicollis* (Coleoptera: Chrysomelidae), que ataca cucurbitáceas na Índia. Dosagens de Cucurbitacina E variando de 1 a 75 mg foram ofertadas sobre discos de papel filtro tratado a grupos de 25 insetos. A frequência de alimentação dos insetos aumentou gradualmente com o incremento da concentração da substância até 50 mg. Os autores observaram ainda, que a baixa concentração da cucurbitacina atua como um forte incitante à alimentação, já em concentrações maiores, como estimulante e acima de 50 mg como substância supressante à alimentação.

Por outro lado, Tallamy *et al.* (1997), estudando diferentes espécies de insetos, verificaram que a aplicação exógena de

cucurbitacina B, em dosagem semelhante a presente em *Cucurbita*, foi capaz de reduzir a alimentação de pragas filófagas e detritívoras; entretanto, para insetos sugadores o aleloquímico agiu como fagoestimulante.

O efeito das cucurbitacinas como alomônios tem sido demonstrado sobre insetos e outros artrópodos. Nielsen *et al.* (1977) verificaram que as cucurbitacinas E e I apresentam deterrência sobre várias espécies de insetos. Já Nielsen (1978) observou resposta negativa de seis crisomelídeos alimentados com crucíferas. Este autor observou ainda que essas substâncias inibiram a alimentação de *Phyllotreta nemorum* (Coleoptera: Chrysomelidae), pois a espécie não utilizou o substrato tratado com cucurbitacinas. Investigando a oviposição de *Pieris* spp. (Lepidoptera: Pieridae) em crucíferas, Huang *et al.* (1993) atribuíram o reduzido número de posturas em *Iberis amara* (Brassicaceae) à presença das cucurbitacinas E e I. Klepzig & Schlyter (1999), entretanto, observaram ação intermediária de cucurbitacina quando comparada a outros 12 aleloquímicos, testados para restringir a alimentação do besouro-dopinus, *Hylobius abietis* (Coleoptera: Curculionidae).

A defesa induzida da planta contra a herbivoria de *Epilachna*, da família Coccinellidae, (após o dano deste inseto), a partir da produção de cucurbitacinas, foi proposta por Carrol & Hoffman (1980). Os autores explicaram que o hábito de *Epilachna tredecimnotata* de fazer um corte circular do tecido de *Cucurbita moschata*, para depois alimentar-se, visa impedir a rápida mobilização das defesas da planta. Tallamy (1985) estudando a alimentação de *Epilachna borealis* sobre *Cucumis pepo* verificou fato semelhante. Afirmou ainda que o dano do inseto desencadeia a mobilização de defesas nas folhas danificadas, e adjacentes, e que os aleloquímicos são suficientes para serem percebidos e agirem negativamente sobre a praga, que também apresenta o hábito de recortar e destacar parte da folha antes de consumir.

As cucurbitacinas apresentam, ainda, uma poderosa capacidade de atrair alguns insetos, entretanto, a função de cairomônio ocorre especialmente na tribo Luperini. A elevada sensibilidade desses besouros às cucurbitacinas é possível pela presença de uma sensila basicônica nos palpos maxilares, que uma vez sensibilizada, determina o início da alimentação (Metcalf & Metcalf, 1992). A função das cucurbitacinas, auxiliando a seleção hospedeira na Tribo Luperini, foi amplamente demonstrada e apresenta atualmente apli-

cações práticas importantes. Ferguson *et al.* (1983) estudaram a relação entre a presença de cucurbitacinas em cotilédones, folhas e frutos de algumas cucurbitáceas comerciais (46 cultivares de 16 gêneros) e o ataque de *Diabrotica*. Os autores verificaram excelente correlação entre a presença dos aleloquímicos e a alimentação pelo inseto, em campo. Entretanto, algumas cultivares danificadas não apresentaram elevados níveis de cucurbitacinas, sugerindo que existem outros fatores envolvidos.

Peterson & Schalk (1985) usando cucurbitacinas extraídas de melancia (*Citrullus vulgaris*) verificaram que a resposta para alimentação de *Diabrotica baeltata* (Coleoptera: Chrysomelidae) declinou com a idade da colônia e com a redução da concentração do fagoestimulante.

Vários resultados de pesquisa sugerem que a ingestão de cucurbitacinas confere aos insetos que coevoluíram com esse aleloquímico, maior resistência aos inimigos naturais e às patologias. O pronunciado sabor amargo das cucurbitacinas e seus efeitos tóxicos sobre vertebrados sugere uma função primária de defesa, promovida pela ingestão desse alomônio, principalmente, contra predadores, inclusive pássaros (Metcalf & Metcalf, 1992); entretanto, alguns insetos poderiam “apropriar-se” dessas características.

Nishida & Fukami (1990) relataram o armazenamento de cucurbitacinas B e D em altas concentrações nos tecidos corporais de *Diabrotica speciosa* e *Cerotoma arcuata* (Coleoptera: Chrysomelidae), mantidos com a cucurbitácea *Ceratosanthes hilariana* resultantes da seleção dos alimentos pelos insetos. Em crisomelídeos asiáticos do gênero *Aulacophora* alimentados com dieta rica em cucurbitacinas, os autores comprovaram o seqüestro do aleloquímico e a sua utilização contra predadores (uma espécie de pássaro mostrou clara rejeição pelo besouro *Aulacophora femorales*).

A proteção conferida pelas cucurbitacinas contra fungos entomopatogênicos foi investigada por Tallamy *et al.* (1998), onde verificaram que ovos e larvas originárias de adultos alimentados com cucurbitacinas sofreram redução na patogenicidade de *Metarhizium anisopliae*. Nas larvas, as cucurbitacinas persistem durante o desenvolvimento e podem ser aumentadas se a dieta apresentar esses aleloquímicos. Segundo os mesmos autores, outra forma de aquisição e incorporação de cucurbitacinas pode ocorrer pela transferência do macho para a fêmea, durante a cópula.

PRODUTOS COMERCIAIS À BASE DE CUCURBITACINAS

Os produtos a base de cucurbitacinas já são atualmente vendidos em diferentes países, no entanto, nos EUA existem diversas marcas comerciais que, de modo geral, associam um poderoso fagoestimulante com baixas dosagens de inseticidas para controle do grupo *Diabrotica* em milho. Um dos exemplos é a isca com cucurbitacinas formulada à base de farelo de milho (2 mm) associado ao inseticida metomil a 0,1%, denominada Pesticide Carrier Grits 980 da Illinois Cereals Mills. Essa isca utiliza extrato clorofórmico de *Cucumis maxima* x *Cucumis andreana* contendo 0,12% de cucurbitacinas B e D. Outra isca comercial utiliza como base pó de *Cucumis foetidissima*, mais carbaril em pequena dosagem (Slan^â da Microflo Company), além do lançamento no mercado americano da isca para controle de *Diabrotica*, também à base de cucurbitacina mais carbaril, denominada Compe^â da Ecogen.

ESTUDOS COM CUCURBITÁCEAS NO BRASIL

No Brasil, os estudos sobre o uso de cucurbitacinas para o manejo de pragas e sua efetiva implantação, encontram-se em fase inicial, embora, algumas das mais importantes pragas políftagas sejam atraídas por essas substâncias.

Roel & Zatarin (1989), estudaram a atratividade de abóbora d'água (*Lagenaria vulgaris*) à *Diabrotica speciosa*, na cultura da batata. Os frutos foram seccionados em pedaços de 500 g e tratados com três inseticidas (carbaril, paratiom metílico e permetrina) em submersão por 30 minutos. Foi constatada a atratividade e a eficiência de carbaril por até 14 dias, quando ambos declinaram, embora, capturando insetos até o 20^o dia. Ventura *et al.* (1996) avaliaram a atratividade de armadilhas com pó de *L. vulgaris* para *D. speciosa* e *C. arcuata tingomariana* durante o ciclo vegetativo do feijão, comparando com o método da observação visual. Ambas as espécies foram similarmente coletadas pelo método que mostrou capacidade de captura proporcional à contagem direta, podendo ser recomendado para monitoramento das pragas estudadas. A armadilha mostrou-se atrativa até o 8^o dia.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Hoje é consenso geral que a agricultura deva ser mais ecológica, com baixos riscos ambientais, visando alcançar um equilíbrio entre produtividade e menor impacto negativo ao meio ambiente. Baseando-se nessa filosofia, o emprego de alelo-

químicos, como as cucurbitacinas, vem despondo como uma ferramenta valiosa em programas de manejo de pragas.

Embora já existam evidências do efeito das cucurbitacinas a vários insetos-praga, são necessários mais estudos que expliquem o verdadeiro mecanismo de ação desses compostos nas plantas, principalmente na Região Neotropical, diminuindo-se, com isso, os custos de produção e a contaminação ambiental.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDERSEN, J.F.; WILKIN, P.J. Methods for the study of pheromones and kairomones. In: CARROL, C.R.; HOFFMAN, C.A. Chemical feeding deterrent mobilized in response to insect herbivory and counteradaptation by *Epilachna tredecimnotata*. **Science**. v.209, n.18, p. 414-416. 1980.

Da COSTA, C.P.; JONES, C.M. Resistance in cucumber, *Cucumis sativus* L. to three species of cucumber beetles. **HortScience**, v.6, n.4, p.340-342, 1971.

EBEN, A.; BARBERCHECK, M.E.; ALUJA, M. Mexican diabroticite beetle: I laboratory test on host breadth of *Acalymma* and *Diabrotica* spp. **Entomologia Experimentalis et Applicata**. v.82, p. 53-62. 1997.

FERGUSON, J.E.; METCALF, R.L. Cucurbitacins plant-derived defense compounds for diabroticites (Coleoptera: Chrysomelidae). **Journal of Chemical Ecology**. v.11, n.3, p.311-318. 1985.

FERGUSON, J.E.; METCALF, E.R.; METCALF, R.L.; et al. Influence of cucurbitacin content in cotyledons of cucurbitaceae cultivars upon feeding behavior of Diabroticite beetles (Coleoptera: Chrysomelidae). **Journal of the Entomological Society of America**. v.76, n.1, p.47-51. 1983.

KLEPZIG, K.D.; SCHLYTER, F. Laboratory evaluation of plant-derived antifeedants against the pine weevil *Hylobius abietis* (Coleoptera: Chrysomelidae). **Journal of Economic Entomology**. v.92, n.3, p. 644-650. 1999.

HUANG, X.; RENWICK, J.A.A.; SCHADEV-GUPTA, K. Oviposition stimulants and deterrents regulating differential acceptance of

- Iberis amara* by *Pieris rapae* and *P. napi oleracea*. **Journal of Chemical Ecology**. v.19, n.8, p.1645-1663. 1993.
- METCALF, R.L. Coevolutionary adaptations of rootworm beetles (Coleoptera: Chrysomelidae) to cucurbitacins. **Journal of Chemical Ecology**. v.12, n.5, p.1109-1124. 1986.
- METCALF, R.L.; LAMPMAN, R.L. Cinnamyl alcohol and analogs as attractants for corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae). **Journal of Economic Entomology**. v.82, n.6, p. 1620-1625. 1989.
- METCALF, R.L.; METCALF, E.R. **Plant kairomones in insect ecology and control**. New York: Chapman & Hall. 1992. 168p.
- METCALF, R.L.; RHODES, A.M.; METCALF, E.R.; et al. Cucurbitacin contents and Diabroticite (Coleoptera: Chrysomelidae) feeding upon *Cucurbita* spp.. **Environmental Entomology**. v.11, n.4, p.931-937. 1982.
- NIELSEN, J.K.; Host plant discrimination within Cruciferae: feeding responses of four leaf beetles (Coleoptera: Chrysomelidae) to glucosinates, cucurbitacins and cardenolides. **Entomologia Experimentalis et Applicata**. v.24, p. 41-54. 1978.
- NISHIDA, R.; FUKAMI, H. Sequestration of distasteful compounds by some pharmacophagous insects. **Journal of Chemical Ecology**. v.16, n.1, p.151-164. 1990.
- PETERSON, J.K.; SCHALK, J.M. Semiquantitative bioassay for levels of cucurbitacins using the blanded cucumber beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). **Journal of Economic Entomology**. v.78, n.4, p. 738-741. 1985.
- REHM, S.; ENSLIN, P.R.; MEEUSE, A.D.J., et al. Bitter principles of the Cucurbitaceae. VII – The distribution of bitter in this plant family. **Journal of Science Food Agricultural**. v.8, p.679-686. 1957.
- ROBINSON, R.W.; MURGER, H.M.; WITAKER, T.W. et al. Genes of the Cucurbitaceae. **HortScience**. v.11, n.7, p.551-556. 1976.
- ROEL, A.R.; ZATARIN, M. Eficiência de iscas à base de abóbora d'água, *Lagenaria vulgaris* (Cucurbitaceae) tratadas com inseticidas, na atratividade a *Diabrotica speciosa* (Germar, 1824) (Coleoptera: Chrysomelidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**. v.18, n.2, p. 213-219. 1989.
- SHARMA, G.C.; HALL, C.V. Identifying cucurbitacin in cotyledons of *Cucurbita pepo* L. cv. Black Zucchini. **HortScience**, v.8, n.3, p.136-137. 1973.
- SINHA, A.K.; KRISHNA, S.S. Further studies on the feeding behavior on cucurbitacin. **Journal of Economic Entomology**. v.63, n.1, p. 333-334. 1970.
- TALLAMY, D.W. Squash beetle feeding behavior: na adaptation against induced cucurbit defenses. **Ecology**. v.66, n.5, p. 1574-1579. 1985.
- TALLAMY, D.W.; STULL, J.; EHRESMAN, N.P.; et al. Cucurbitacins as feeding and oviposition deterrents to insects. **Environmental Entomology**. v.26, n.3, p.678-683. 1997.
- TALLAMY, D.W.; WHITTINGTON, D.P.; DEFURIO, F. et al. Sequestered cucurbitacins and pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* (Moniliales: Moniliaceae) on spotted cucumber beetle eggs and larvae (Coleoptera: Chrysomelidae). **Environmental Entomology**. v.27, n.2, p. 366-372. 1998.
- VENTURA, M.U.; ITO, M.; MONTALVÁN, R. An attractive trap to capture *Diabrotica speciosa* (Ger.) and *Cerotoma arcuata tingomariana* Bechiné. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**. v.25, n.3, p. 529-535. 1996.
- ZITTER, T.A.; HOPKINS, D.L.; THOMAS, C.E. **Compendium of cucurbit diseases**. Saint Paul: APS PRESS. 1996. 87p.