

ASPECTOS QUIMICOS DE LA LUCHA CONTRA LOS INSECTOS*

ERNESTO D. BERGMAN

(Scientific Department, Ministry of Defence, Israel)

El desarrollo, en los insectos, de la resistencia a los insecticidas —tales como el DDT—, representa un serio problema higiénico y económico, especialmente en un país cálido como Israel. No obstante implicar el peligro de propagación de enfermedades a los seres humanos y al ganado, en las áreas templadas y subtropicales, el abono es de suma importancia para los agricultores; dada esta circunstancia, las moscas y otros insectos tienen siempre a su disposición un medio natural apropiado para multiplicarse.

El uso de los insecticidas ha producido —además del desarrollo de resistencia a los mismos— importantes cambios ecológicos en la población de moscas de Israel. En las aldeas, donde por razones obvias el DDT se aplica especialmente desde el atardecer hasta la mañana, la *Musca domestica* ha ido adquiriendo la costumbre de abandonar la casa para pernoctar sobre los árboles, provocando, frecuentemente, su destrucción.

Por lo tanto deben aplicarse nuevos métodos en la lucha contra los insectos, y quedan aún por resolver numerosos problemas fundamentales vinculados con esta lucha.

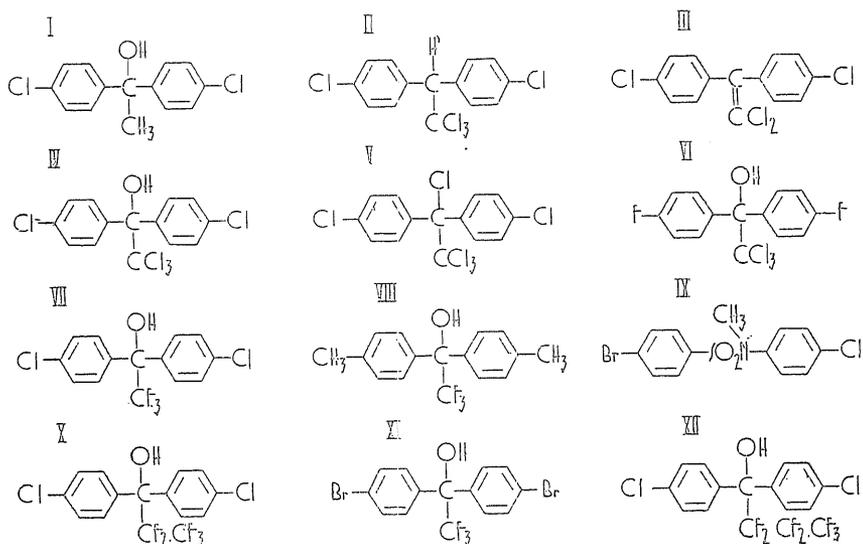
No obstante dedicarse, en Israel como en otros países, cierta cantidad de trabajo a la síntesis de nuevos insecticidas potenciales, la mayor parte del esfuerzo de los químicos está consagrada a la búsqueda de sinérgicos, es decir, de compuestos que sin ser activos por sí mismos, aumentan la actividad de los insecticidas, aun cuando ya haya tenido lugar el desarrollo de una determinada resistencia a los mismos. Entre los sinérgicos conocidos hasta el momento, el más eficaz es el di-(*p*-clorofenil)-metilcarbinol ("DMC") (I). Su actividad puede explicarse por la semejanza de su estructura con la del DDT (II): se podría relacionar este parentesco con la observación⁽¹⁻²⁾ de que en el cuerpo del insecto el DDT es detoxificado por una enzima, la DDT dehidroclorinasa, que produce el desdoblamiento del insecticida en ácido clorhídrico y en 1,1 di-(*p*-clorofenil)-2,2 dicloro etileno (III), biológicamente inactivo. La actividad del DMC podría entonces explicarse como una inhibición de la enzima por el sinérgico; este parecería tener mayor afinidad por el sitio activo de la superficie de la enzima, a la cual se une de la misma manera que el DDT, de similar estructura (I). Esta mayor afinidad bien puede relacionarse a la presencia del grupo hidroxilo en la molécula. De ser correcta esta hipótesis, un compuesto tal como el di-(*p*-clorofenil)-triclórometil-carbinol (IV), que es aún más semejante al DDT (II) que el (I), debería ser todavía más eficaz, lo que, efectivamente, ocurre.

En cuanto a la preparación de (IV), la reacción entre el tricloroacetato

* Disertación pronunciada en el aula del Instituto Nacional de Microbiología el 28 de agosto de 1957.

de etilo y el bromuro de *p*-clorofenil magnesio no dió los resultados esperados (3), pero en cambio resultó excelente el siguiente método (4): se trató el cloro-DDT (V) con acetato de plata, y el éster resultante se hidrolizó a (IV). Otro método, descrito en patente (5), que consiste en la clorinación del DMC (I), no nos ha permitido obtener cantidades significativas del compuesto deseado (IV). En la misma forma ha sido sintetizado el di-(*p*-fluorofenil)-tricloro-metil-carbinol (VI), compuesto que, tal como el (IV), exhibe buenas propiedades sinérgicas.

El hecho bien conocido de que en los insecticidas el cloro puede ser sustituido por fluor, nos condujo al estudio de los diaril-trifluorometil-carbinoles correspondientes, como el (VII), que tienen la ventaja de ser fácilmente obtenibles por medio de la reacción del trifluoroacetato de etilo con los apropiados compuestos aromáticos Grignard (6-7). En razón de la hipótesis arriba mencionada, puede ser digno de notarse el hecho de que en las sustancias del tipo (VII), el grupo hidroxilo es extremadamente estable; puede, por ejemplo, ser reducido a hidrógeno sólo bajo condiciones muy severas.



El di-(*p*-clorofenil)-trifluorometil-carbinol (VII) (así como sus análogos), tiene una cierta actividad insecticida, no muy significativa (8); es un sinérgico de gran potencia (9). Cuando fué agregado al DDT en proporción de 1:10, la cantidad de DDT necesaria para producir una mortalidad del 50 % —en una cierta cepa de *Musca domestica*—, se redujo de 3.0 a 0.2 microgramos por mosca ("eficacia sinérgica" = 15). El carbinol fluorado (VII) es alrededor de 3 veces más activo que el DMC (I), contra cepas de moscas susceptibles y resistentes. Los demás representantes del tipo (VII) son menos efectivos, siendo la secuencia de actividad: cloro, bromo, fluor, metoxil, nitro, metilo, etoxil. Estos resultados nos alentaron a estudiar más en detalle el modo de acción del compuesto (VII), tarea que fué facilitada por la elaboración de un método para la determinación cuantitativa del compuesto, aún en las pequeñas cantidades absorbidas por el cuerpo de una sola mosca (10).

Se demostró que la penetración del compuesto fluorado (VII) a través de la cutícula de la mosca, es muy rápida, mucho más rápida que la del DDT. Esto puede deberse a la presencia de constituyentes lipófilos e hidrófilos en la molécula (11-12). El compuesto no se metaboliza, o lo hace muy lentamente, permaneciendo activo, por lo tanto, durante mucho tiempo. En este

sentido ventaja al DMC (I), que se convierte rápidamente en ácido di-(*p*-clorofenil)-acético (¹³). Como se esperaba, el di-(*p*-clorofenil)-trifluorometilcarbinol (VII), inhibe la enzima dehidroclorinasa, pero esta inhibición no es completa.

El carbinol (VII) también inhibe la penetración del DDT. La mortalidad máxima observada con 11 de DDT y 1,10 de carbinol, se explica por la existencia de dos efectos opuestos: el sinergismo, y la inhibición de la penetración del DDT. Con DDT solo, por ejemplo, se absorben 12 en 100 moscas, y la suma de DDT y el producto resultante de la pérdida de clorhídrico en el mismo, es decir, el 1,1 di-(*p*-clorofenil)-2,2-dicloro etileno (III), encontrado en el cuerpo del insecto, es de 10 en 100 moscas. En presencia del carbinol, se absorben 50, pero la suma del DDT interno y de (III) es de sólo 18. Podría suponerse que el carbinol (VII), no sólo penetra en el cuerpo de la mosca más rápidamente que el DDT, sino que además bloquea la penetración de este último por absorción preferencial sobre las micelas de quitina. Esta parece ser una observación de interés práctico, que puede tener validez general para los sinérgicos de los insecticidas. Observaciones análogas fueron hechas por Perry y Atkins con el piperonil-cicloneno (¹⁴), y, en nuestro laboratorio, con el di-(*p*-tolil)-trifluorometilcarbinol (VIII), y con la *p*-cloro-*N*-metilanilida del ácido *p*-bromo-benzo-sulfónico (IX) (¹⁵). Sin embargo, la propiedad más inesperada y sorprendente del di-(*p*-clorofenil)-trifluoro-metilcarbinol (VII) es la de que impide la deposición de huevos por contacto tarsal (¹⁶). Este es, según nuestra opinión, el primer caso en que un compuesto orgánico halogenado tiene un efecto tan pronunciado sobre la deposición de huevos, a pesar de que ocasionalmente se haya observado una reducción en el potencial reproductivo de las moscas y otros insectos con dieldrin y DDT (¹⁷⁻¹⁹). Efectos análogos se obtuvieron con el di-(*p*-clorofenil)-pentafluoroetilcarbinol (X) y, en menor grado, con el di-(*p*-bromofenil)-trifluorometil-carbinol (XI) y con el di-(*p*-clorofenil)-heptafluoropropilcarbinol (XII). El DMC (I) era inactivo. La actividad de los compuestos se ensavó aplicándolos a hembras de cepas de *Musca domestica* L. o *Musca vicina* Macq., antes de alimentarlas con leche. Las hembras (fertilizadas) eran extraídas de jaulas donde habían sido alimentadas solamente con agua y azúcar, tratadas con el compuesto en ensayo, introducidas en nuevas jaulas junto con un número igual de machos no tratados, y alimentadas con leche. En la disección de estas hembras, en las cuales la deposición de huevos había sido reducida o completamente suprimida, se encontró que los ovarios se habían desarrollado normalmente, y que en la espermatoteca se encontraban presentes gran número de espermatozoides. Todavía no está claro el mecanismo de esta retención forzada de huevos, pero el efecto en sí puede significar un método adicional en la lucha contra los insectos.

Sin embargo, el uso de compuestos químicos en esta lucha dejará siempre abierta la posibilidad de que los insectos desarrollen resistencia contra ellos. Para superar esta dificultad, parece necesario un estudio de los mecanismos de la resistencia, que hasta ahora es poco comprendida. La acción de la dehidroclorinasa sobre el DDT no es más que un aspecto de este mecanismo.

Los experimentos que quisiera considerar aquí, tuvieron como punto de partida un estudio del metabolismo de los lípidos en las larvas de mosca. Wiesmann (²⁰) demostró que el contenido en grasas de las moscas resistentes es más alto que el de las susceptibles, de modo que el DDT está atrapado en las capas de grasa y no llega al sitio sobre el cual actúa normalmente; la acción de la lipasa o del ayuno prolongado disminuye el grado de resistencia de las moscas resistentes, y la alimentación con grasas de las susceptibles aumenta su resistencia al insecticida.

Siguiendo esta idea, se estudiaron los requerimientos de grasas de las larvas de moscas domésticas (²¹). Se encontró que las larvas criadas con

una dieta compuesta de corteza de trigo, paja, agua y flora bacteriana controlada, consumen el esteroide de la corteza de trigo junto con grandes cantidades de ácidos grasos no saturados. Estos son metabolizados durante la formación de la pupa, permaneciendo en cambio bastante estable el contenido en el esteroil. Observando este fenómeno, se demostró que el esteroil (fitoesteroil o zooesteroil) es el único lípido indispensable para su desarrollo (crecimiento y metamorfosis) (22) no puede ser sintetizado por la larva, sino que debe ser administrado por la comida. Se podría, de este modo, entrever la posibilidad de impedir que las larvas se transformen en adultos, aplicando el principio de la acción de los antimetabolitos.

Esta observación planteó una serie de problemas (23-24). Ante todo, si es cierto que las larvas de mosca doméstica requieren grasas, ¿cómo es posible que crezcan con una dieta libre de grasas? La Tabla I muestra que pueden sintetizar grasa de proteínas e hidratos de carbono, así como crecer y desarrollar la pupa, si se satisfacen los requerimientos en un esteroil (colesterol).

TABLA I
EXPERIMENTOS ALIMENTARIOS CON LARVAS DE MOSCA DOMESTICA

No	D I E T A	Tiempo de formación de la pupa	Peso promedio de las larvas	Lípidos en las larvas (% sobre el peso en vivo)
1	Corteza de trigo, lípido total: 1,8 % del peso neto; contiene el 0,1 % de esteroil .	72 horas	23,8 mg	4,9
2	Caseína (sin lípidos; le fué agregado el 0,1 % de colesterol)	72 horas	22,7 mg	4,5
3	Corteza de trigo extractada (sin lípidos; le fué agregado el 0,1 % de colesterol) .	48 horas	18,7 mg	3,8

En segundo lugar, pareció interesante determinar la cantidad de colesterol necesaria para el normal desarrollo de las larvas recién nacidas. Privadas de colesterol, el aumento total de las larvas en desarrollo era de 0,9 mg; las larvas morían a los 2 ó 3 días. Se conseguía un desarrollo completo (22,8 mg de peso final; formación de la pupa en un 96 % de los casos) con 50 microgramos de colesterol por gramo de dieta. Suministrando más colesterol, no se obtenía ningún efecto desfavorable. Debería, sin embargo, tenerse en cuenta que no fué determinada la cantidad de colesterol que realmente había sido ingerida por las larvas en crecimiento.

El tercer problema fué investigar si todos los esteroides pueden actuar como factores de crecimiento y de formación de pupa, o si existe especificidad. Fueron probados alrededor de 40 esteroides, y se encontró que las limitaciones estructurales son bastantes estrictas. El 7-Dehidrocolesterol, ergosterol, stigmasterol y sitosterol pueden ser utilizados en vez del colesterol, y además del pasaje de la doble ligadura del colesterol a la posición 4-5 (en vez de la 5-6), como así también la dehidrogenación del colesterol a la cetona no saturada colestes-4-ona-3, no afectan la empleabilidad del compuesto. Cualquier otro cambio, especialmente el acortamiento o la eliminación total de la cadena lateral (ácidos biliares, dehidro-epi-androsterona), la hidrogenación de la doble unión 5,6 o la sustitución del hidroxilo de la posición 3 por otros grupos polares, convierten al colesterol en compuestos que no son utilizables.

Si bien se hicieron observaciones similares en el protozooario *Paramecium aurelia* (25,26), el problema de la utilización de los esteroides por los insectos —en lo que abarca nuestro limitado conocimiento—, es bastante

complejo. El 7-dehidrocolesterol es bien utilizado por el carnívoro *Dermestes* (²⁷), algunos coleópteros fitófagos y por la polilla *Ephestia Kuehnella* (²⁸) y mucho menos por el zoófago *Attagenus* (²⁹). Los coleópteros fitófagos y la polilla *Ephestia Kuehnella* utilizan el ergosterol tanto como el colesterol, mientras que el zoófago *Dermestidae* no lo utiliza. Los insectos, que se alimentan con materias animales y vegetales, parecen capaces de utilizar el ergosterol, pero poco. El *Callobruchus* (³⁰) que se alimenta de semillas de leguminosas, puede utilizar también el stigmasterol, no haciéndolo tan bien muchos otros insectos. Los sitoesteroles son apropiados para los insectos de la harina, en menor grado para la *Drosophila* y la *Blatella*, que raramente se alimentan con cereales, y no convienen a los insectos carnívoros. El coleóptero House Longhorn *Hylotrupes*, que se alimenta de madera, requiere necesariamente colesterol para el desarrollo de sus larvas (³¹). De este modo, parece evidente que la utilización de los esteroides está determinada por los hábitos alimenticios de los insectos.

A este respecto, es de gran interés la observación (³²) de que las larvas de mosca doméstica parecen convertir en colesterol todos los otros esteroides incorporados en su dieta; aquel es, por lo tanto, *el factor específico* requerido para el crecimiento y formación de la pupa de estas larvas. El mecanismo de esta reacción, que consiste en la pérdida de uno o dos átomos de carbono de la cadena lateral de los esteroides más complejos (y, si es preciso, en la hidrogenación de la doble ligadura) no está todavía claro, pero es de gran interés biológico, desde que recientemente ha sido demostrado (³³) que los esteroides superiores están también *constituidos* biogénicamente por la introducción de átomos de carbono supernumerarios en la cadena lateral del *colesterol*.

Desde un punto de vista químico, es de interés anotar que el colestanol no puede reemplazar al colesterol y, además, que el colestán-ona-3 tampoco es utilizado, contrariamente a lo que ocurre con su análogo no saturado el colestán-4-ona-3. Esto significa que las larvas de los insectos no pueden hidrogenar las dobles ligaduras en estos compuestos. Es más sorprendente todavía la comprobación de que el -colestanol y la colestán-3-ona, como así también el cloruro de colesteroilo, no solamente no son utilizados por las larvas de mosca doméstica sino que, además, inhiben la utilización del colesterol. Aquí tenemos, evidentemente, un efecto antimetabólico, ya que la inhibición puede ser superada por un exceso de colesterol. Una proporción de 0,05:1 de colesterol y de cloruro de colesteroilo, permite solamente la formación de pupa en un 40 %, e impide completamente la aparición de moscas adultas; en la proporción 1:1, las larvas crecen y forman normalmente la pupa. Incidentalmente, la misma observación ha sido hecha para el caso del cloruro de colesteroilo en el *Attagenus* (²⁹⁻³⁵) y en la *Blatella* (³⁶).

Es cierto que la cantidad de estos metabolitos requerida para impedir la utilización del colesterol es bastante grande, de modo que el efecto observado no se presta para aplicaciones prácticas. Sin embargo, cabe la esperanza de que, aprovechando la experiencia lograda en otros terrenos, nuevas modificaciones de la molécula del colesterol conduzcan a la obtención de antimetabolitos más potentes y quizá más aplicables prácticamente. En este sentido, son dignos de anotarse algunos experimentos que hemos llevado a cabo con los principios activos de la especie *Veratrum*, que se conocen como buenos insecticidas desde hace mucho tiempo (³⁷) y en los cuales esperábamos que su actividad se debiera a su naturaleza de tipo esteroide (³⁸). Sin embargo, esta esperanza no se materializó; la acción insecticida de los alcaloides de *Veratrum* no puede ser contrarrestada por dosis masivas de colesterol.

Se conocen casos de acción antimetabólica en la serie de los esteroides. Así, análogos de la estrona inhiben la acción de la misma sobre el creci-

miento uterino (³⁹), y las hidroxí-esteroide dehidrogenasas de las especies *Pseudomonas* son inhibidas por otros esteroides (⁴⁰).

Es sin duda sorprendente que de todo el reino animal, solamente los insectos sean capaces de sintetizar el esteroide que necesitan. En este sentido, deben mencionarse los hallazgos de Bloch, Langdon, Clarck y Fraenkel (⁴¹) según los cuales el *Dermestes* utiliza normalmente acetato (radioactivo) para sintetizar el escualeno, pero la transformación posterior de este hidrocarburo en lanosterol y colesterol está bloqueada (⁴²⁻⁴⁴).

Se ha dicho que la historia de la civilización es la de la lucha entre el hombre y los insectos, y que estamos a punto de perder esta guerra. Tal pesimismo no se encuentra justificado. Si somos capaces de poner al descubierto los procesos íntimos del metabolismo de los insectos, y especialmente en aquellos puntos en que se diferencia del metabolismo de los animales superiores, podremos encontrar un método biológico para combatir con eficacia a los insectos, y en una forma tal que tenga pocas posibilidades de ser obstaculizado por la aparición de mecanismos de defensa. De cualquier modo, agregan una nueva faceta al espectro multicolor de las propiedades biológicas de los esteroides.

RESUMEN

El empleo de insecticidas provoca, en los insectos, el desarrollo de resistencias y modificaciones de sus costumbres, lo que obliga a apelar a recursos adicionales para llevar adelante una lucha efectiva. Es así que se viene trabajando, no solamente en la obtención de nuevos insecticidas, sino especialmente en la búsqueda de sinérgicos, que son sustancias que sin ser activas por sí mismas, aumentan la efectividad de los insecticidas. De estos compuestos, el más conocido hasta ahora es el DMC, de estructura semejante a la del DDT. Este compuesto parece tener gran afinidad por el sitio activo de la superficie de la enzima DDT dehidroclorinasa, que desdobra el DDT en dos compuestos inactivos, estableciéndose un fenómeno de competencia (?). Tiene mayor actividad sinérgica el di-(*p*-clorofenil) tricloro-metil-carbinol, de estructura aún más semejante a la del DDT, obtenido—entre otros métodos— por hidrólisis del éster resultante de la acción del acetato de plata sobre el cloro DDT.

En los insecticidas el cloro puede ser sustituido por flúor. Basándose en esta propiedad han podido obtenerse carbinol fluorado y sus análogos, de gran poder sinérgico. La actividad del carbinol fluorado es alrededor de tres veces mayor que la del DMC, siguiéndole, en orden decreciente de actividad: cloro, bromo, fluor, metoxil, nitro, metilo, etoxil. La penetración del compuesto fluorado a través de la cutícula de la mosca es mucho más rápida que la del DDT. Aventura al DMC en el hecho de ser poco o nada metabolizado, prolongándose de este modo su acción. Produce también la inhibición de la enzima DDT dehidroclorinasa, aunque esta inhibición no es completa. Su acción es la resultante de dos procesos antagónicos: el sinergismo y la inhibición de la penetración del DDT. A esto se debe que la mortalidad máxima observada corresponde a 11 mg de DDT y 1,10 mg de carbinol. Pero la propiedad más notable de este compuesto es la de impedir la deposición de huevos por contacto tarsal (Pg.). Aunque "todavía no está claro el mecanismo de esta retención forzada de los huevos...", el efecto en sí puede significar un método adicional en la lucha contra los insectos".

Pero a pesar de estos resultados, la posibilidad de que los insectos desarrollen resistencia a los nuevos productos deja en pie la necesidad de un estudio de los mecanismos de la resistencia, de los cuales la acción de la dehidroclorinasa no es más que uno de los aspectos.

A partir de comprobaciones anteriores, según las cuales el contenido en grasas de las moscas resistentes es superior al de las susceptibles, disminuyendo la resistencia con el ayuno y con la acción de las lipasas, se hizo el estudio del metabolismo en las grasas de las larvas de mosca doméstica. Se demostró que el esteroI (fitoesteroI o zooesteroI) es el único lípido indispensable para su desarrollo (crecimiento y metamorfosis), entendiéndose, de este modo, la posibilidad de aplicar el principio de la acción antimetabólica para impedir que las larvas se transformen en formas adultas. Mientras se satisfagan los requerimientos de un esteroI (colesterol), las larvas pueden sintetizar grasas a partir de proteínas e hidratos de carbono. El esteroI debe serles administrado por la comida. La cantidad de colesterol necesaria para el normal desarrollo de las larvas recién nacidas es de 50 microgramos de colesterol por cada gramo de dieta. En cuanto a los otros esteroides, algunos de ellos pueden ser utilizados, aunque las limitaciones estructurales son bastante estrictas.

La utilización de los esteroides está determinada por los hábitos alimenticios de los insectos. En las larvas de mosca doméstica, el colesterol es el factor específico requerido para el crecimiento y formación de su pupa. Estas larvas parecen convertir en colesterol todos los otros esteroides que incorporan.

La comprobación de que el 3-colestanol, la colestán-3-ona y el cloruro de colesterilo —que no son utilizados por las larvas de mosca doméstica—, actúan por efecto antimetabólico inhibiendo la utilización del colesterol, abre las puertas a la esperanza en la posibilidad de futuras aplicaciones prácticas de este principio. Sin embargo, los mencionados compuestos no brindan esas posibilidades, dado que "la cantidad de estos amimetabolitos requerida para impedir la utilización del colesterol es bastante grande".

De cualquier modo, el autor considera que los experimentos sobre los cuales informa en este trabajo pueden contribuir a la obtención de un método biológico para combatir eficazmente a los insectos, superando las dificultades que surgen del desarrollo de resistencia a los compuestos insecticidas.

BIBLIOGRAFIA

1. Perry, Mattson and Buckner, *Biol. Bull.* 104, 462 (1953).
2. Moorefield and Kearns, *J. Econ. Entomol.* 48, 403 (1955).
3. Kaluszyner and Reuter, *J. Amer. Chem. Soc.*, 75, 5126 (1953).
4. E. D. Bergmann, Kaluszyner and Cohen, unpublished results.
5. See, e.g., Gunther, Blinn and Metcalf, *J. Agr. Food Chem.*, 4, 338 (1956); Barker and Maugham, *J. Econ. Entomol.*, 49, 458 (1956).
6. E. D. Bergmann, Tahori, Kaluszyner and Reuter, *Nature*, 176, 266 (1955).
7. Kaluszyner, Reuter and Bergmanu, *J. Amer. Chem. Soc.*, 77, 4464 (1955).
8. Reuter, Cohen, Mechoulam, Kaluszyner and Tahori, *Rivista Parassitol.*, 17, 125 (1956).
9. Tahori, *J. Econ. Entomol.*, 48, 638 (1955).
10. Cohen and Tahori, *Agricultural and Food Chemistry*, 5, 519 (1957).
11. Webb, *Symposia Soc. Exptl. Biol.*, 3, 142 (1949).
12. Wigglesworth, *Nature*, 147, 116 (1941).
13. Perry, Mattson and Buckner, *Biol. Bulletin*, 104, 462 (1953).
14. Perry and Hoskins, *J. Econom. Entomol.*, 44, 350 (1951).
15. Neeman and Modiano, *J. Org. Chem.*, 21, 667 (1956).
16. Ascher, *Science*, 125, 938 (1957).
17. Knutson, *Ann. Entomol. Soc. America*, 48, 35 (1956); Afifi and Knutson, *J. Econ. Entomol.*, 49, 310 (1956).
18. Hueck et al., *Physiol. comparata et Oecologia*, 2, 371 (1952).

19. Tattersfield and Kerridge, *Ann. Appl. Biol.*, **43**, 630 (1955).
20. Wiesmann and Reiff, *Verh. Naturforsch. Ges. Basel*, **67**, 311 (1956).
21. Silverman and Levinson, *Biochem. J.*, **53**, 291.
22. Levinson and Silverman, *Biochem. J.*, **53**, 294.
23. Bergmann and Levinson, *Nature*, **173**, 201 (1954).
24. Levinson and Bergmann, *Biochem. J.*, **65**, 254 (1957).
25. Conner, van Wagtendonk and Miller, *J. Gen. Microbiol.*, **9**, 424 (1953).
26. Conner and van Wagtendonk, *J. Gen. Microbiol.*, **12**, 31 (1955).
27. Lipke and Fraenkel, *Annual Review of Entomology*, **1**, 17 (1956).
28. Fraenkel, Reid and Blewett, *Biochem. J.*, **35**, 712 (1941).
29. Fraenkel and Blewett, *Biochem. J.*, **37**, 692 (1943).
30. McKennis, *J. Biol. Chem.*, **167**, 645 (1947).
31. Ishii, *Chem. Abstr.*, **46**, 1662 (1952).
32. Rasmussen, *Oikos*, **7**, 243 (1956).
33. E. D. Bergmann and Levinson, unpublished results.
34. See, e.g., Dauben, Fonken and Boswell, *J. Amer. Chem. Soc.*, **79**, 1000 (1957).
Alexander, Gold and Schwenk, *ibid.*, **79**, 2967 (1957).
35. McKennis, *Proc. Soc. exp. Biol., N. Y.*, **87**, 289 (1954).
36. Noland, *Arch. Biochem. Biophys.*, **52**, 323 (1954).
37. Cf. Metcalf, *Organic Insecticides*, p. 338 (Interscience Publishers Inc., New York and London, 1955).
38. E. D. Bergmann and Levinson, *J. Insect. Physiol.*, **2**, in press (1958).
39. Huggins and Jensen, *Science*, **121**, 622 (1955).
40. Talalay and Marcus, *Federal Proceedings*, **13**, 308 (1954).
41. Bloch, Langdon, Clark and Fraenkel, *Biochem. Biophys. Acta*, **21**, 176 (1956).
42. Tchen and Bloch, *J. Amer. Chem. Soc.*, **77**, 6085 (1955).
43. Tchen and Bloch, *J. Amer. Chem. Soc.*, **78**, 1516 (1956).
44. Clayton and Bloch, *J. Biol. Chem.*, **218**, 319 (1956).