

**Mr Ilija Perić**

Zavod za pesticide INEP, Zemun

## **MOGUĆNOSTI PRIMJENE SINERGISTA U SUZBIJANJU ŠTETNIH INSEKATA**

Problem sinergizma odavno je izazvao interes istraživača, prvenstveno farmakologa i toksikologa, a danas sve više i entomologa, odnosno, ljudi koji se bave problemima delovanja insekticida na insekte.

Proizvodnjom insekticidnih sinergista počelo se u vreme intenziviranja proizvodnje i primene insekticida. Međutim, sinergisti su pretežno upotrebljavani u proučavanjima biotransformacije insekticida, a vrlo malo u praktičnoj primeni. Poslednjih godina postignuti su značajni rezultati u proučavanju načina delovanja sinergista i mogućih efekata njihove primene. O tome postoji nekoliko opsežnih literarnih razmatranja (na primer, 6, 8, 15, 7, 4, i dr.). Otuda, na osnovu ispoljenog interesovanja i postignutih rezultata može se očekivati da će se u skoroj budućnosti sinergisti moći više primenjivati i u rešavanju značajnih problema koji se pojavljuju masovnom primenom pesticida.

U ovom radu je dat kratak pregled o biotransformacijama i interakcijama insekticida, kategorijama sinergista i načinu njihovog delovanja. Zatim, pored rezultata dobijenih u našoj laboratoriji, dat je osvrt i na druge podatke o potenciranju toksičnosti insekticida u rešavanju problema rezistentnosti prema insekticidima, kao i na negativne posledice i perspektive primene sinergista.

### **BIOTRANSFORMACIJE I INTERAKCIJE INSEKTICIDA**

Posle dospevanja u telo insekata i animalnih organizama uopšte, insekticidi i druge unete hemikalije izlažu se delovanju funkcionalnih sistema organizma. Otuda, u zavisnosti od mehanizama ovih sistema i fizičko-hemijskih svojstava unetih hemikalija, ispoljava se različiti stepen transformacije, distribucije, efektivnosti i ekskrecije tih hemikalija. Slični procesi mogu se odvijati i u biljkama, kao i u drugim biološkim sistemima.

Transformacije hemikalija u organizmu, biotransformacije, odvijaju se pretežno pod utjecajem mikrozojskih oksidativnih enzima. Rezultat reakcije koje katališu ovi enzimi može biti aktivacija insekticida — procesi u kojima se hemikalija transformiše u toksičniji oblik, manje i detoksikacija — procesi u kojima se insekticid transformiše u neaktivni, manje toksičan ili netoksičan metabolit.

Procesi bioaktivacije i detoksikacije insekticida svrstani su u grupe, u zavisnosti od tipa hemijske reakcije. Dahm i Nakatsugawa (3), na primer, definisali su sledeće tipove bioaktivacije: epoksidaciju (proces u kome se, na primer, aldrin transformiše u dieldrin, heptahlor u hepta-hlor epoksid), oksidaciju tiofosfata (primer: transformisanje parationa u paraokson i malationa u

malakson), oksidaciju sumpora (primer: oksidacija forata u sulfoksid i sulfon), dialkilamino oksidacije (primer: aktivacija šradana, bidrina, zektrana, i dr.), hidrosilacije (primer: transformisanje rotenona, a zatim prevođenje DDT u keltan, koji je toksičan za grinje, ali netoksičan za insekte, što znači da je ovaj proces aktivacija u prvoj, a detoksikacija u drugoj taksonomskoj kategoriji zglavkara). U procesu bioaktivacije može se svrstati i tzv. premeštanje radikala u molekulu, koje su konstatovali Metcalf i sar. (9), posle otkrića da se toksičnost dihlorfosa manifestuje nakon njegovog transformisanja u trihlorfon. Od procesa detoksifikacije Wilkinson (14), na primer, navodi detoksikacije piretroida i rotenoida, zatim dehidrochlorinaciju DDT, oksidativnu degradaciju, detoksikaciju organofosfornih jedinjenja procesima oksidativnog metabolizma i hidrolitičkim cepanjem esterazma, kao i detoksikaciju karbamata hidrosilacijom. Budući da su procesi detoksikacije u bliskoj funkcionalnoj vezi s delovanjem sinergista, o njima će i kasnije biti govora.

Pored interakcije insekticida s ćelijskim komponentama bioloških sistema, značajne su interakcije insekticida s drugim hemikalijama unetim u organizam, kao i međusobne interakcije više insekticida. Rezultat ovih interakcija može biti povećanje toksičnosti insekticida ili njeno smanjenje, kao i ubrzanje eliminacije insekticida, a takođe, i nagomilavanje ostataka insekticida.

S gledišta suzbijanja insekata poseban značaj među interakcijama ima sinergizam, kako u proučavanju metabolizma insekticida i drugih hemikalija, tako i u praktičnoj primeni insekticida. Tumačenje termina sinergizam, odnosno, sinergist, je neusaglašeno među farmakolozima, toksikolozima, entomolozima, i drugim profesijama. Na osnovu publikacija više autoriteta u oblasti hemije pesticida (10, 8, 2, 15), sinergisti se mogu definisati kao jedinjenja koja značajno povećavaju toksičnost insekticida kada se primene u kombinaciji s njima, a ne ispoljavaju toksičnost kada se posebno primenjuju u istim dozama.

## OSNOVNE KATEGORIJE I NAČIN DELOVANJA SINERGISTA

Na osnovu hemijskog sastava, Casida (2) klasifikuje sinergiste u 5 kategorija: 1. metilendioksifenilna jedinjenja (MDP), 2. N-alkil jedinjenja, 3. O-(2-propinil) etri i esteri, 4. organofosfati i karbamati, i 5. druga jedinjenja. On, navodeći podatke više autora, Konstatuje da su u praktičnoj primeni duže upotrebljavana samo četiri sinergista iz kategorije MDP jedinjenja: piperonil butoksid (koji se najviše primenjuje od svih sinergista), sulfoksid, propil izom i tropital, a u kraćem periodu upotrebljavani su i piperonil ciklonen, bukaprolat i safroksan. Od jedinjenja iz drugih kategorija sinergista u komercijalne svrhe korišćeni su MGK 264 i sineprin 500, iz grupe N-alkil jedinjenja. Wilkinson (15), pored ostalog, osvrćući se na sinergiste iz grupe neinsekticidnih karbamata i fosfata, koje je Casida izdvojio u posebnu grupu, ističe i druge sinergiste, koji su strukturni analozi insekticida. On navodi rezultate drugih autora o efektima strukturnih analoga DDT-ija, DMC i F-DMC, koji su

kompetitivni inhibitori DDT-dehidrohlorinaze i ispoljavaju vrlo izražen sinergistički efekat sa DDT, i na osetljive i rezistentne insekte.

Poznato je da se način delovanja većine sinergista manifestuje inhibiranjem oksidativnih enzima mikrozosmskog sistema, koji su odgovorni za detoksikaciju mnogih insekticida (13, 14, 8, 2, 15). Sinergistički efekat ovakvim načinom delovanja ne ograničava se samo na insekticide već se može odnositi i na ostale otrove, lekove i druga strana jedinjenja kojima su izloženi živi organizmi. Otuda, nailazimo, na primer, na podatke o sinergističkom efektu nekih MDP, N-alkil i drugih jedinjenja na insekticidnost piretroida, hlorovanih ugljovodonika organofosfornih i metilkarbamatnih insekticida, za muve, buba švabe i druge insekte, a takođe, i na podatke o sinergističkom efektu pojedinih jedinjenja u ispoljavanju dejstva barbiturata na dužinu sna miševa i pacova, ili o efektu piperonil butoksida na ispoljavanje toksičnosti i karcinogenosti freona 112 i 113 na miševe, itd. (2).

Pored toga, što potenciraju toksičnost pojedinih insekticida, sinergisti mogu i smanjiti toksičnost ukoliko inhibiraju mikrozosmske oksidaze koje posreduju u oksidaciji insekticida čiji je rezultat aktivacija, odnosno, pojačavanje toksičnosti. Tako, na primer, neki sinergisti mogu sprečiti konverziju malationa u malaokson. U takvim slučajevima, znači, jedinjenje, koje je inače deklarirano kao sinergist, deluje antagonistički na ispoljavanje toksičnosti insekticida.

Iako je u poslednjih 6—7 godina prilično razjašnjena uloga mikrozosmskih oksidativnih enzima, naročito posle konferencije o enzimatskim oksidacijama toksikanata, održanoj na Univerzitetu Severne Karoline (6), još uvek nisu precizno ustanovljeni mehanizmi koji su uključeni u inhibiciju ovih enzimskih sistema. Ta tema pobuđuje veći interes istraživača i dat je određen broj vrlo značajnih razmatranja (na primer, 2, 15, 7, 16, i dr). Međutim, zbog karaktera izlaganja o tome ovde neće biti komentara.

#### REZULTATI POTENCIRANJA TOKSIČNOSTI INSEKTICIDA PRIMENOM SINERGISTA

Iz okvira šireg programa proučavanja uloge procesa detoksifikacije insekticida kao faktora rezistentnosti insekata, koji se realizuje u našoj laboratoriji, osvrnuću se na neke rezultate ispitivanja efekata piperonil butoksida na toksičnost karbarila za krompinovu zlaticu, *Leptinotarsa decemlineata* Say. Insekti su sakupljeni u lokalitetu Zemun, u kome je, po ispitivanju Šestovića (15) populacija krompirove zlatice po osetljivosti na karbaril bila pretposlednja u odnosu na populacije iz 18 drugih lokaliteta Jugoslavije. Prikupljanje insekata vršeno je uglavnom u stadijumu imaga a za slučajeve kada su postavljani eksperimenti s imaga poznate starosti, prethodno su prikupljane larve poslednjeg stupnja, tako da smo imaga dobijali u uslovima laboratorije. Aplikacija insekticida i sinergista (proizvodnje City Chemical Corporation, New York), rastvorenih u rizela ulju u acetonu, vršena je na sternal-

nu stranu abdomena, pomoću agla-mikrometarskog šprica. Odnos doza karbarila i piperonil butoksida je bio 1:4.

Rezultati eksperimenata su pokazali da piperonil butoksid deluje sinergistički na karbaril pojačavajući mu toksičnost za oko 2 — 2,5 puta. Nije bilo značajne razlike u efektima na imaga starosti 7—8 dana, 17—20 dana i 30—33 dana. Takođe, nije bilo značajne razlike u efektima kada je piperonil butoksid apliciran zajedno sa karbarilom, kao i jedan sat, dva sata i tri sata ranije.

Pouzdanost rezultata o stepenu sinergizma, koje smo dobili, treba prihvatiti sa izvesnom rezervom, budući da su to bila preliminarna istraživanja u sasvim određenom cilju, i da nismo primjenjivali raspon doza koji bi bio dovoljan za projekciju 1d-p linije i obračunavanje LD—50, što bi inače bio poželjniji vid određivanja sinergističkog efekta.

Od podataka koji se odnose na sinergistički efekat piperonil butoksida na toksičnost karbarila za Chrysomelidae, poznati su rezultati (1) o sinergističkom odnosu kod *Lema trilineata*, koji je bio 4, 3, *Trihabda deminata*, 1. 9, *Diabrotica longicornis* 2. 3 i *D. undecimpunctata howardi*, 1. 6. Isti autori su konstatovali u Meloidae, *Calospasta moesta* sinergistički odnos 43, u stenice *Murgantia histrionica* 52. 1, a u Sarcophagidae, *Sarcophaga bullata* ovaj odnos je bio čak 400. Uopšte je karakteristično da veličina sinergizma karbamatnih insekticida široko varira u različitim vrsta insekata (2), što posredno ukazuje na široku raznolikost nivoa detoksikacije mikrozomskim enzimima. Takođe, ispoljava se i razlika u manifestovanju toksičnosti insekticida u zavisnosti od kategorije sinergista.

#### PRIMENA SINERGISTA U REŠAVANJU PROBLEMA REZISTENTNOSTI INSEKATA PREMA INSEKTICIDIMA

U slučajevima kada se rezistentnost insekata prema insekticidima zasniva na detoksikacionim mehanizmima primena sinergista može omogućiti ponovnu efikasnost pojedinih insekticida. Tako, na primer, konstatovano je (11) da aplikacijom sezameksa sa diazoksonom na kućnu muvu postiže se nivo sinergizma u iznosu 3—5 u osetljivog soja, a 50 u rezistentnog soja. Primenom paraoksona sa sezameksom sinergistički nivo je bio 10—13 i 20—23.

Mada ideja o uključivanju primene sinergista u rešavanju problema rezistentnosti insekata postoji više godina (8), još uvek nije došlo do njene realizacije u praktičnoj primeni. Koliko su stvarne mogućnosti na sadašnjem nivou znanja i s postojećim sinergistima teško je dati procenu. Šestović (12), osvrćući se na podatke iz literature, ističe probleme koji se postavljaju u primeni sinergista u vezi s rezistentnošću insekata. Pored ostalog, navodi primere razvijanja rezistentnosti insekata prema smeši insekticida i sinergista (rezistentnost kućnih muva na smešu DDT i MDC; Lovell i Kearns, 1959; i dr.).

Bez obzira na postojeće rezerve, verovatno je da će poboljšanje saznanja o mehanizmima rezistentnosti i sinergizma, kao i proširenje izbora insekticida i sinergista, doprineti realizaciji ideje primene sinergista u rešavanju nekih problema rezistentnosti insekata.

## NEGATIVNE POSLEDICE PRIMENE SINERGISTA

Pored troškova proizvodnje do sada poznatih sinergista, postoji nekoliko drugih negativnih karakteristika koje su u vezi sa mogućnostima njihove praktične primene.

U razmatranjima toksičnosti sinergista za sisare, Casida (2) navodi veći broj posledica subaktune i akutne toksičnosti sinergista. On konstatuje da su male mogućnosti akutnih trovanja sinergistima i ukazuje na potencijalne opasnosti vezane za druge aspekte njihove toksikologije, bilo da se primenjuje samostalno ili u kombinaciji sa lekovima, insekticidima i drugim jedinjenjima. Od podataka više autora, koje Casida interpretira, navešćemo konstataciju Mraka (1969) da ne postoje mutageni efekti insekticidnih sinergista i da piperonil butoksid nije pokazao teratogene efekte na dve rase miša. Međutim, kao i Flak (1969) i Innes i sar. (1969) saopštili su podatke o izazivanju malignih tumora u limfatičnom sistemu miševa pod dejstvom MDP jedinjenja — piperonil butoksida, sulfoksida i propil izoma. Fark je testirao i tumorogenost za pacove, ali nije konstatovao tumore u jetri i posle unošenja piperonil butoksida u trajanju od 18 meseci u količinama, u hrani, od 20.000 ppm.

Hennessy (5) navodi podatak istraživača Medicinske škole s Harvarda (1967) koji su ustanovili povećanje karcinogenosti i toksičnosti MDP sinergista prilikom primene u velikim količinama. Međutim, izlaganje niskim količinama sinergista, koje se normalno upotrebljavaju, nije prouzrokovalo patološke efekte na životinjama i ljudima.

Iako su navedeni toksični efekti bili uglavnom prouzrokovani nerealno visokim dozama, u svakom slučaju potrebno je dobro organizovati zaštitu prilikom primene sinergista. Takođe, treba imati u vidu mogućnost interakcija ne samo sinergista s insekticidima već i njihovo međusobno delovanje s velikim brojem drugih hemijskih jedinjenja koje čovek i druga bića unose u organizam ili ih susreću u spoljnoj sredini.

Pored opasnosti od toksikoloških efekata u primeni sinergista, najznačajniji problem na koji mnogi istraživači ukazuju, jeste gubljenje selektivnosti pojedinih insekticida. Međutim, Oppenoorth (11) smatra da to nije ključno pitanje, s obzirom da je selektivnost između pojedinih vrsta insekata manje značajna, a osvrće se na podatke drugih autora koji ukazuju na izraženiji metabolizam MDP sinergista u sisara nego u insekata. Na osnovu ovih podataka on smatra da je selektivnost sinergista, kao uostalom i drugih jedinjenja, sasvim moguća. Takođe, i neki drugi autori, kao, na primer, Hennessy (5), veruju u mogućnost selektivnosti sinergista i insistiraju na primeni jedinjenja koja će posedovati ta svojstva.

## PERSPEKTIVE UPOTREBE SINERGISTA

Sem upotrebe sinergista u proučavanjima mehanizama transformacije insekticida u biološkim sistemima, i teoretskih razmatranja njihove uloge i potencijalne mogućnosti, samo nekoliko jedinjenja, kao što smo naveli, nalazi se u praktičnoj primeni. Međutim, u vreme kada se zagađenost spoljne sredine sve više potencira kao problem i kada rezistentnost insekata prema insekticidima ispoljava sve složenije efekte u biosferi, i ima sve šire ekonomske posledice, u sinergiste se počinje gledati kao na moguće ključeve za rešenje postojećih problema.

Hennessy, posebno, u svojim radovima (4,5) insistira na boljem planiranju proučavanja i upotrebe sinergista, ukazujući na njihove velike potencijalne mogućnosti u praktičnoj primeni. On smatra (5) da skupi sirovinski materijali i višestruke sinteze nisu više neophodne da bi se dobili visokoaktivni sinergisti. Zalažući se za zadovoljenje ekonomskih kriterijuma, on smatra da se u proizvodnji sinergista treba orijentirati na određene naftne derivate, prirodni gas i druge jeftine organske i neorganske materijale, koji se mogu naći u velikim količinama, kao sirovinsku bazu za proizvodnju sinergista. Takođe, pored ekonomičnosti, ovaj istraživač se zalaže i za druge kriterijume koje treba postaviti u proizvodnji sinergista (4). To su: efektivnost proizvedenog jedinjenja, zatim, stabilnost, degradabilnost, kompatibilnost i selektivnost. Oppenoorth (11), izražava nadu da će se blokiranjem detoksikacije sinergistima savladati neki problemi rezistentnosti a takođe, smatra da će se mnogo veći broj jedinjenja koji su nepostojani u kontaktu s insektima moći upotrebljavati kao insekticid. Otuda, on smatra da će se relativno jeftinim jedinjenjima od kojih će se odabrati ona sa prikladnim fizičkim i toksikološkim svojstvima, dati značajan doprinos i smanjenju problema ostataka pesticida.

U svakom slučaju, realno je očekivati da pod pritiskom koji je izražen opštom kontaminacijom spoljne sredine i istovremeno nemogućnošću efikasnog suzbijanja štetočina usled sve masovnije njihove rezistentnosti, neće proći mnogo vremena do ostvarenja ideja koje su za sada dobrim delom, kako kaže Hennessy (5), samo na nivoima akademskog teoretisanja. Otuda, verovatno je da će sinergisti dobiti značajnu ulogu u racionalnoj primeni pesticida i približavanju realizaciji koncepta integralnog suzbijanja štetočina.

### ZAKLJUČCI

- Kao rezultat interakcija u biološkim sistemima, sinergizam se manifestuje pojačavanjem toksičnosti insekticida usled delovanja sinergista na enzime koji su odgovorni za detoksikaciju insekticida.
- Na osnovu hemijskog sastava sinergisti su svrstani u 5 kategorija od kojih je samo desetak jedinjenja korišćeno u praktičnoj primeni insekticida.

- Postoji veći broj podataka o potenciranju toksičnosti insekticida da primenom sinergista, koji su pretežno dobijeni na osnovu eksperimenata u uslovima laboratorije.
- U slučajevima kada se rezistentnost insekata zasniva na mehanizmima detoksikacije insekticida, moguće je prevazići ovaj problem primenom sinergista. Međutim, zbog više razloga, još uvek nije došlo do praktične primene sinergista u rešavanju problema rezistentnosti.
- Od negativnih posledica primene sinergista najvažniji su mogući toksikološki efekti i gubljenje selektivnosti insekticida.
- Mada je na sadašnjem nivou znanja to još uvek nemoguće, očekuje se da će u budućnosti sinergisti imati značajnog udela u rešavanju problema zagađenosti spoljne sredine i problema rezistentnosti insekata, kao i da će doprineti pojeftinjenju suzbijanja štetočina.

#### LITERATURA

1. Brattsten, L. B., Metcalf, L. (1970.): *J. Econ. Entomol.*, 63, 101—104
2. Casida, J. E. (1971): *Agr. Fd. Chem.*, 18, 753—772.
3. Dahm, P. A., Nakatsugawa, L. (1968): In *Enzymatic oxidations of toxicants* (Ed. E. Hodgson) North Carol. State Univer., 113—149
4. Hennessy, D. J. (1970): In *Biochemical of insecticides* (Ed. R. D. O'Brien, J. Yamamoto) Acad. Press, New York, 105—114.
5. Hennessy, J. D. (1971): In *Insecticide resistance, synergism, enzyme induction* (Ed. A. S. Tahori), Gordon and Breach Sci. Publ., New York, 161—165
6. Hodgson, E. (1968): *Enzymatic oxidations of toxicants*, North Carolina State Univ. at Raleigh, 229.
7. Hodgson, E., Philpot, R. M., Baker, R. C. Mailman, R. B. (1973): *Drug metabolism and disposition*, L, 391—401
8. Metcalf, R. L. (1968): In *Enzymatic oxidations of toxicants* (Ed. E. Hodgson), North Carol. State Univer., 151—173
9. Metcalf, R. L., Fucuto, T. R., March, R. B. (1959): *J. Econ. Entomol.* 52, 44—49
10. O'Brien, R. D. (1967): *Insecticides, action and metabolism*, Acad. Press, New York, 332.
11. Oppenoorth, F. J. (1971): *Bull. Wld. Hlth. Org.* 44, 195—202
12. Šestović M. (1972): *Doktorska disertacija*, Poljoprivredni fakultet, Beograd—Zemun

13. Terriere, L. C. (1968): *Ann. Rev. Entomol.*, 13, 75—98
14. Wilkinson, C. F. (1968): In *Enzymatic oxidations of toxicants* (Ed. Hodgson E.) North Carol. State Univer., 113—149
15. Wilkinson, C. F. (1971): *Insecticide resistance, synergism, enzyme induction* (Ed. A. S. Tahori), Gordon and Breach. Sci. Publ., New York, 117—159
16. Wilkinson, C. F. (1974): *The Third International Congd. Pestic. Chem.*, Helsinki, Abstract book, 149