

تأثیر هگزافلومورون بر متابولیسم حدواسط شب پره *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) بید آرد

سحر دلکش رودسری^۱، آرش زیبایی*^۲، ضروغام بی غم^۳ و محمود فاضلی دینان^۴

۱ و ۲، به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد و استادیار گروه گیاه پزشکی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، ۳، دانشجوی کارشناسی ارشد گروه گیاه پزشکی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج ۴، استادیار گروه حشره شناسی پزشکی، مرکز تحقیقات علوم بهداشتی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری

تاریخ دریافت: ۹۲/۵/۷ تاریخ پذیرش: ۹۲/۷/۱۴

چکیده

بید آرد *Ephestia kuehniella* یکی از آفاتی است که سالانه خسارت زیادی را به محصولات کشاورزی انباری وارد می کند. در مطالعه حاضر، تغییر فعالیت آنزیم های سم زدا، برخی از آنزیم های موثر در متابولیسم حدواسط (آلانین و آسپارات آمینوترانسفراز، لاکتات دهیدروژناز) و مقدار برخی از ترکیبات غیر آنزیمی (پروتئین، تری گلیسرید و گلیکوژن) تحت تاثیر غلظت های مختلف هگزافلومورون بررسی شد. لاروهای تیمار شده با غلظت ۳۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر بیشترین فعالیت استراز عمومی را با استفاده از آلفا-نفتیل استات به عنوان سوبسترا در هر دو بازه زمانی ۲۴ و ۴۸ ساعت نشان دادند. وقتی بتا-نفتیل به عنوان سوبسترا استفاده شد. بیشترین فعالیت استراز در لاروهای تیمار شده با غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر مشاهده شد. در مورد گلوکاتایون اس-ترانسفراز نیز نتایج مشابهی دیده شد که می تواند موید حضور چندین ایزوفرم از این آنزیم باشد. در بازه زمانی ۲۴ ساعت پس از تیمار، با افزایش غلظت هگزافلومورون فعالیت آنزیم آلانین آمینوترانسفراز افزایش یافت ولی پس از ۴۸ ساعت نتایج عکس مشاهده شد. در مورد آسپارات آمینوترانسفراز بیشترین فعالیت در لاروهای تیمار شده با غلظت ۷۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر مشاهده شد. با افزایش غلظت هگزافلومورون فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز نیز در هر دو بازه زمانی افزایش یافت. در بازه زمانی ۲۴ ساعت پس از تیمار بیشترین فعالیت آنزیم فنل اکسیداز در لاروهای تیمار شده با غلظت ۳۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر مشاهده شد و در بازه زمانی ۴۸ ساعت تفاوت معنی داری وجود نداشت. میزان پروتئین و تری گلیسرید پس از ۲۴ ساعت تفاوت معنی داری نداشت ولی ۴۸ ساعت پس از تیمار، بیشترین مقدار این دو ترکیب در لاروهای تیمار شده با غلظت ۳۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر مشاهده شد. با افزایش غلظت هگزافلومورون میزان گلیکوژن در لاروهای تیمار شده در هر دو بازه زمانی کاهش یافت. این نتایج نشان دادند که هگزافلومورون علاوه بر اختلال در رشد و نمو لاروهای *E. kuehniella* می تواند با اختلال در متابولیسم حدواسط، فیزیولوژی داخلی بدن لارو را نیز تحت تاثیر قرار دهد.

واژه های کلیدی: هگزافلومورون، شب پره بید آرد، متابولیسم حدواسط، آنزیم های سم زدا

مقدمه

تنظیم کننده‌های رشد حشرات (IGRs^۱) با تاثیر روی فیزیولوژی حشرات، بالغ بقا و تولید مثل آن‌ها را برهم زده و تیمار با این ترکیبات می‌تواند روی ویژگی‌های ظاهری شفیره و حشره بالغ تاثیر بگذارد. این ترکیبات شامل مهارکننده‌های سنتز کیتین مثل تفلوبنزورون، هگزافلومورون، ترکیبات شبه هورمون جوانی شامل پیری پروکسی فن (McGregor and Kramer, 1997) و ترکیبات مشابه هورمون اکدایزون می‌باشند (Nijhout, 1994) که با اختلال در سامانه‌های ترشحی، رشد ونمو حشرات را مختل می‌کنند (طالبی جهرمی، ۱۳۸۴).

اجسام چربی نقش مهمی در ذخیره و تامین انرژی حشرات دارند. اجسام چربی در سنتز بیشتر پروتئین‌های همولنف و همچنین ذخیره پروتئین‌ها، چربی‌ها و کربوهیدرات‌ها نقش دارند (Nation, 2008). اجسام چربی در تماس نزدیک با همولنف حشرات هستند تا متابولیسم حدواسطه حشرات به‌خوبی انجام شود. در این میان بعضی از آنزیم‌ها در چرخه‌های تولید انرژی و سم‌زدایی ترکیبات شیمیایی موثری هستند که از اجسام چربی ساخته می‌شوند. به‌طور مثال، استرازهای عمومی و گلوکاتایون اس-ترانسفرازها دو آنزیم مهم در تجزیه و خنثی‌سازی ترکیبات شیمیایی در همولنف حشرات هستند (Zibae et al., 2011b; Vontas et al., 2001). آلانین آمینو ترانسفراز کاتالیز کننده چرخه آلانین در فرآیند ترانس آمیناسیون است (Giboney, 2005). آسپاراتات آمینو ترانسفراز نیز در تبدیل آسپاراتات و آلفا کتوگلوکاتارات به اگرالواستات و گلوکاتامات نقش دارد (Klowden, 2007). لاکتات دهیدروژناز آنزیم احیا کننده لاکتات در پروازهای طولانی است (Nation, 2008). فنل اکسیدازها در واکنش ایمنی حشرات نقش دارد (Lavine and Strand, 2002).

تنظیم کننده‌های رشد حشرات به دلیل سمیت کم برای انسان و سایر مهره‌داران برای کنترل آفات انباری مناسب می‌باشند (Loschiavo, 1976). برای رسیدن به کنترل پایدار

یک آفت می‌توان از غلظت‌های زیرکشنده آفت‌کش‌ها استفاده کرد تا به دلیل اختلال در فیزیولوژی حشرات و تحمیل هزینه‌های اکولوژیک جمعیت آن‌ها را طی زمان کاهش داد. تیمار لاروهای شب‌پره موم‌خوار با آفت‌کش‌های فسفره باعث تغییر در فعالیت آنزیم‌های آمینوترانسفراز و سم‌زدا شد (Ender et al., 2005). اعتباری و همکاران (Etebari et al., 2007) با تیمار غلظت‌های مختلف پروپروکسی فن تغییرات معنی‌داری در فعالیت آنزیم‌های موثر در سم‌زدایی و تعدادی از ترکیبات غیر آنزیمی مشاهده کردند. زیبایی و همکاران (Zibae et al., 2011) غلظت‌های مختلف پروپروکسی فن را روی افراد بالغ سن گندم تیمار کردند. مشخص شد که ترکیب مذکور تاثیر معنی‌داری روی فعالیت آمینوترانسفرازها، فسفاتازها، لاکتات دهیدروژناز و ترکیبات غیر آنزیمی ذخیره ای داشت. شریفی و همکاران (Sharifi et al., 2013) نیز با تیمار لاروهای سن ۴ شب‌پره بیدآرد تغییرات معنی‌داری در فعالیت آنزیم‌های موثر در متابولیسم حدواسطه و آنزیم‌های استراز و گلوکاتایون اس-ترانسفراز مشاهده کردند. حشرات دارای سه درشت مولکول ذخیره ای (پروتئین، چربی و گلیکوژن) در اجسام چربی خود هستند که طی مراحل مختلف رشد، تولید مثل و استرس‌های محیطی مثل آفت‌کش‌ها مقادیر آن‌ها تغییر می‌کند. از آنجایی که ترکیبات شیمیایی با صدمه شیمیایی و بافتی منجر به تحمیل هزینه انرژی به حشرات می‌شوند بنابراین بررسی تغییر در میزان این ذخایر می‌تواند سودمند باشد. بنابراین هدف از این بررسی تاثیر هگزافلومورون روی فعالیت دو آنزیم سم‌زدای استراز عمومی و گلوکاتایون اس-ترانسفراز و آنزیم‌های موثر در متابولیسم حدواسطه بید آرد و بررسی تغییر میزان چند ترکیب غیر آنزیمی است تا به‌توان از آن به‌عنوان مدلی در بهبود روش کنترل این آفت و سایر حشرات زیان آور استفاده کرد.

مواد و روش‌ها

پرورش *E. kuehniella*

پرورش بیدآرد در ظروف پلاستیکی به طول ۱۷ و قطر ۵ سانتی‌متر در دمای 25 ± 1 درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۷۰

¹ . Insect Growth Regulators

هر سوبسترا با ۵۰ میکرولیتر بافر یونیورسال مخلوط شد. سپس ۱۰ میکرولیتر از نمونه‌های آنزیمی به آن اضافه شد و جذب نوری در ۴۹۲ نانومتر در فواصل ۱۰ ثانیه‌ای به مدت ۱ دقیقه خوانده شد. شیب خط رگرسیونی حاصل به عنوان فعالیت آنزیمی در نظر گرفته شد.

سنجش فعالیت گلوکاتایون اس-ترانسفراز

سنجش آنزیم گلوکاتایون اس-ترانسفراز با استفاده از روش اوپنورث (Oppenorth, 1979) انجام شد. دو معرف^۴ CDNB و^۵ DCNB به مقدار ۲۰ میکرولیتر (۲۰ میلی مولار) جداگانه به ۲۰ میکرولیتر گلوکاتایون احیاء شده (۲۰ میلی مولار) اضافه شدند. سپس ۱۰ میکرولیتر از نمونه آنزیمی به مخلوط اضافه شد و جذب در ۴۰۵ نانومتر در فواصل ۱۰ ثانیه‌ای به مدت ۱ دقیقه خوانده شد. شیب خط رگرسیونی حاصل به عنوان فعالیت آنزیمی در نظر گرفته شد.

سنجش فعالیت آلانین و آسپارات آمینوترانسفراز

سنجش فعالیت این دو آنزیم طبق روش توماس (Thomas, 1998) با استفاده از کیت شرکت بیوکم ایران در طول موج ۴۹۲ نانومتر پس از ۱۰ دقیقه تعیین شد.

سنجش فعالیت لاکتات دهیدروژناز

فعالیت این آنزیم طبق روش کینگ (King, 1965) با استفاده از کیت شرکت بیوکم ایران در طول موج ۳۴۰ نانومتر و در فواصل زمانی ۱، ۱.۵ و ۳ دقیقه خوانده شد.

سنجش فعالیت فنل اکسیداز

سنجش این آنزیم بر اساس روش لئونارد و همکاران (Leonard et al., 1985) انجام شد. مخلوط واکنش شامل ۵۰ میکرولیتر بافر تریس-هیدروکلرید با اسیدیته ۷، ۱۰ میکرولیتر L-Dopa به عنوان سوبسترا و ۵ میکرولیتر نمونه آنزیمی بود. پس از ۵ دقیقه جذب نوری در ۴۹۲ نانومتر خوانده شد.

درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی، روی رژیم غذایی مصنوعی حاوی آرد گندم (۴۳ گرم)، مخمر (۶ گرم) و گلیسرین (۲۰ میلی لیتر) انجام شد. لاروها تا رسیدن به سن چهارم پرورش داده شدند و در آزمون‌های زیست سنجی و بیوشیمیایی مورد استفاده قرار گرفتند.

زیست سنجی

هگزافلومورن مورد استفاده در این بررسی از شرکت کاوش کیمیا در کرمان و ماده تکنیکال ۹۷ درصد بوده است. لاروهای سن آخر ۲۴ ساعته پروانه بید آرد به طور تصادفی انتخاب شد و با غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۳۰۰، ۷۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر هگزافلومورن تیمار شدند. برای لاروهای شاهد فقط از استون استفاده شد و در هر تیمار ۳۰ لارو قرار گرفت. تعداد تلفات و لاروهای زنده نسبت به سفیره‌های تشکیل شده بعد از ۲۴ و ۴۸ ساعت در شاهد و تیمار ثبت شده و با استفاده از نرم افزار POLO-PC غلظت LC₅₀ تخمین زده شد. برای بررسی‌های بیوشیمیایی، غلظت‌های ۱۰۰، ۳۰۰ و ۷۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر هگزافلومورن روی ۲۰ لارو سن آخر تیمار شده و در دو بازه زمانی ۲۴ و ۴۸ ساعت بررسی‌های بیوشیمیایی انجام شد.

تهیه نمونه برای بررسی‌های بیوشیمیایی

برای تهیه نمونه‌های آنزیمی لاروهای مورد بررسی در بازه‌های زمانی ۲۴ و ۴۸ ساعت جداگانه داخل میکروتیوپ و به نسبت ۴ لارو در ۵۰۰ میکرولیتر آب مقطر هموژنایز شدند. برای این کار، از هموژنایزر دستی استفاده شد. سپس نمونه‌ها در دمای ۴ درجه سلسیوس با سرعت ۱۳۰۰۰ دور بر دقیقه، به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. بخش بالایی نمونه‌ها به عنوان منبع آنزیمی در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند.

سنجش فعالیت استراز عمومی

سنجش فعالیت استراز عمومی با استفاده از سوبسترای آلفا-نفتیل استات^۲ و بتا-نفتیل استات^۳ طبق روش هان و همکاران (Han et al., 1995) انجام شد. ۳۰ میکرولیتر از

^۴ 1-chloro-2,4-dinitrobenzene

^۵ 1,2-dichloro-4-nitro-benzene

^۲ α-naphtyl acetate

^۳ β-naphtyl acetate

تعیین میزان پروتئین

میلی‌لیتر آب مقطر محلول شد و تکان داده شدند. سپس محلول فنل ۵ درصد اضافه شد و جذب در ۴۹۲ نانومتر خوانده شد (Chun and Yin, 1998).

تعیین میزان پروتئین نمونه‌ها بر اساس روش لوری (Lowry *et al.*, 1951) با استفاده از پروتئین سرم گاوی انجام شد.

تجزیه و تحلیل آماری

کلیه داده‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی و با استفاده از نرم افزار SAS 9.1 انجام شده و اختلاف آماری بین داده‌ها با آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد تعیین شد.

تعیین میزان تری‌گلیسرید

از کیت تشخیص شرکت پارس آزمون برای اندازه‌گیری میزان تری‌آسیل‌گلیسرید استفاده شد. مخلوط واکنش شامل بافر فسفات (۵۰ میلی‌مولار، اسیدیته ۷/۲)، ۴-کلروفنول (۴ میلی‌مولار)، آدنوزین تری‌فسفات (۲ میلی‌مولار)، منیزیم (۱۵ میلی‌مولار)، گلیسرول کیناز، پروکسیداز، لیوپروتئین لیپاز، ۴-آمینوآنتی‌پیرین (۰/۵ میلی‌مولار) و گلیسرول-۳-فسفات اکسیداز بود. نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه با مخلوط واکنش انکوبه شده و سپس در ۵۴۵ نانومتر خوانده شدند (Fossati and Prencipe, 1982).

تعیین میزان گلیکوژن

جدول ۱ LC₅₀ هگزافلومورون روی لاروهای سن آخر بید آرد را نشان می‌دهد که ۴۲۱/۹۷ میکروگرم بر میلی‌گرم به دست آمده است. بر این اساس دو غلظت کمتر و یک غلظت بیشتر از این میزان جهت بررسی‌های بیوشیمیایی مورد استفاده قرار گرفت. لاروهای تیمار شده با غلظت ۳۰۰ میکروگرم بر میلی‌گرم بیشترین فعالیت استراز عمومی را با استفاده از آلفا-نفتیل استات در هر بازه زمانی ۲۴ تفاوت معنی‌داری را نشان داد (جدول ۲). وقتی بتا-نفتیل به عنوان سوبسترا استفاده شد بیشترین فعالیت استراز در لاروهای تیمار شده با غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر مشاهده شد (جدول ۲).

اجسام چربی در یک میلی‌لیتر محلول ۳۰ درصد هیدروکسید پتاسیم/سولفات سدیم قرار داده شدند و به مدت ۳۰-۲۰ دقیقه در آب جوش قرار گرفتند. پس از تکان دادن لوله‌های حاوی نمونه، ۲ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه انکوبه شدند. نمونه‌ها در ۱۳۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند و رسوبات در یک

جدول ۱- مقادیر دوزهای محاسبه شده تیمار لاروهای سن چهارم *Ephestia kuehniella* با هگزافلومورون

Table 1. LC values of hexaflumuron treatment on the fourth larval instars of *Ephestia kuehniella*

	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Slope \pm SE	df	X ²
LC ₅₀	421.97	2.061 \pm 0.299	3	17.599

*. All values were estimated by POLO-PC software

*. همه مقادیر توسط نرم افزار POLO-PC تخمین زده شدند

جدول ۲- تاثیر هگزافلومورون بر فعالیت استراز عمومی (mOD/min) در لاروهای سن چهارم *Ephestia kuehniella*

Table 2. Effect of hexaflumuron on general esterase activity (mOD/min) of the fourth larval instars of *Ephestia kuehniella*

Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	α -naphtyl	α -naphtyl	β -naphtyl	β -naphtyl
	24h	48h	24h	48h
Control (0)	0.222 \pm 0.033b	0.424 \pm 0.190b	0.083 \pm 0.014c	0.159 \pm 0.041ab
100	0.334 \pm 0.289b	0.533 \pm 0.120b	0.306 \pm 0.046a	0.346 \pm 0.075a
300	0.910 \pm 0.171a	1.863 \pm 0.303a	0.101 \pm 0.001c	0.097 \pm 0.132b
700	0.143 \pm 0.124c	1.124 \pm 0.462ab	0.232 \pm 0.026b	0.139 \pm 0.079b

* Means within a column with various letters show statistical differences by using Tukey's test ($p \leq 0.05$).

*. میانگین‌های دارای حروف مختلف در هر ستون تفاوت‌های آماری را با استفاده از آزمون توکی نشان می‌دهند ($p \leq 0.05$)

این نتایج حضور حداقل دو ایزوفرم استراز عمومی را در لاروهای شب‌پره آرد نشان می‌دهد که اولی در غلظت‌های کم هگزافلومورون فعال شده و دومی نقش پررنگ‌تری در سم‌زدایی ترکیبات شیمیایی دارد. در مورد گلوکوتایون اس-ترانسفراز نیز نتایج مشابهی دیده شد که می‌تواند موید حضور چندین ایزوفرم از این آنزیم باشد (جدول ۳).

جدول ۳- تاثیر هگزافلومورون بر فعالیت گلوکوتایون اس-ترانسفراز (mOD/min) در لاروهای سن چهارم *Ephestia kuehniella*

Table 3. Effect of hexaflumuron on glutathione S-transferase activity (mOD/min) of the fourth larval instars of *Ephestia kuehniella*

Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	CDNB	CDNB	DCNB	DCNB
	24	48	24	48
Control (0)	0c	0.083 \pm 0.024b	0.137 \pm 0.065b	0.019 \pm 0.003c
100	0.028 \pm 0.048b	0.206 \pm 0.061ab	0.409 \pm 0.062a	0.289 \pm 0.05b
300	0.281 \pm 0.023a	0.446 \pm 0.180a	0.261 \pm 0.099ab	0.541 \pm 0.046a
700	0.085 \pm 0.012b	0.350 \pm 0.017a	0.230 \pm 0.118ab	0.548 \pm 0.083a

* Means with various letters in each column show statistical differences by using Tukey's test ($p \leq 0.05$).
*. میانگین‌های دارای حروف مختلف در هر ستون تفاوت‌های آماری را با استفاده از آزمون توکی نشان می‌دهند ($p \leq 0.05$)

شوند (Etebari et al., 2007; Shekari et al., 2008). در این پژوهش تیمار غلظت‌های مختلف هگزافلومورون باعث بیشترین فعالیت آلانین آمینوترانسفراز در تیمار ۷۰۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر در بازه‌های زمانی ۲۴ و ۴۸ ساعت مشاهده شد (جدول ۴). در مورد آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) بیشترین فعالیت در تیمار ۷۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر در هر دو بازه زمانی مشاهده شد (جدول ۴). این دو آنزیم در تبدیل اسیدهای آمینه مختلف جهت استفاده در انرژی‌زایی و ترمیم بافت نقش دارند. مشاهده بیشترین فعالیت این دو آنزیم در غلظت ۷۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر می‌تواند نشان دهنده صدمه یا تحمیل انرژی به لارو باشد. فعالیت آنزیم آلانین آمینوترانسفراز (ALT) در لارو سوسک برگ‌خوار نارون تیمار شده با آزادیراختین در مقایسه با شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش و سطح فعالیت آنزیم آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) کاهش داشت (Valizadeh et al., 2013). تیمار افراد بالغ سن گندم (*Eurygaster integriceps* Puton (Hemiptera: Scutelleridae) با پیروپیروکسی فن نیز فعالیت دو آنزیم آسپاراتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز را افزایش داد (Zibae et al., 2011b). همچنین در لاروهای تیمار شده *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) با متیل‌پاراتیون سطح فعالیت این دو آنزیم

استرازاها (EST) آنزیم‌های مهم سم‌زدا در هیدرولیز پیوندهای استری ترکیبات شیمیایی هستند (Hemingway and Karunatne, 1988) و گلوکوتایون ترانسفرازها (GST) آنزیم‌های چندگانه (یعنی دارای چند نوع مختلف هستند) بوده و در مقاوت حشره‌کش‌های کلره و فسفره نقش دارند (Vanhaelen et al., 2001; Yu, 1982). در لاروهای سوسک برگ‌خوار نارون تیمار شده با آزادیراختین سطح فعالیت استراز و گلوکوتایون اس- ترانسفراز افزایش داشت که نشان‌دهنده سم‌زدایی ترکیبات خارجی توسط این دو آنزیم است (Valizadeh et al., 2013)، مشخص شد که در *Myzus persicae* و چندین گونه از بال‌پولک‌داران از جمله *Trichoplusia ni* Hubner, *Heliothis virescens* Fabricius و *Anticarsia gemmatialis* Hubner تغذیه کننده از متابولیت‌های ثانویه گیاهی فعالیت گلوکوتایون اس- ترانسفراز تحریک می‌شود (Vanhaelen et al., 2001). در لاروهای تیمار شده *Spodoptera littoralis* با *Spinetoram* سطح فعالیت گلوکوتایون اس- ترانسفراز به‌طور معنی‌داری کاهش و فعالیت استراز متفاوت است (Fahmy and Dahi, 2009).

آمینوترانسفرازها، آنزیم‌هایی هستند که واکنش بین اسید آمینه و آلفا کتواسید را کاتالیز کرده و باعث انتقال گروه‌های آمینو از اسید آمینه‌ای به آسید آمینه دیگر و به کتواسید می‌-

افزایش یافت (Ender *et al.*, 2005). در لاروهای کرم ابریشم (*Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae) تیمار شده با پیروپیروکسی فن فعالیت این دو آنزیم بعد از ۲۴ ساعت کاهش و بعد از ۴۸ و ۱۲۰ ساعت افزایش داشت که می تواند ناشی از مکانیسم های ترمیمی باشد (Etebari *et al.*, 2007).

جدول ۴- تاثیر هگزافلومورون بر فعالیت آلانین و آسپارات آمینوترانسفراز ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ protein) در لاروهای سن چهارم *Ephestia kuehniella*

Table 4. Effect of hexaflumuron on alanine (ALT) and aspartate (AST) amino transferase activities ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ protein) of fourth larval instars of *Ephestia kuehniella*

Concentration ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	ALT	ALT	AST	AST
	24	48	24	48
Control (0)	0.223±0.058ab	0.223±0.058a	0.143±0.017ab	0.143±0.017b
100	0.160±0.026b	0.237±0.059a	0.268±0.091ab	0.148±0.132b
300	0.245±0.040ab	0.143±0.028ab	0.115±0.102b	0.182±0.079b
700	0.274±0.025a	0.059±0.037b	0.334±0.117a	0.547±0.079a

* Means with various letters in each column show statistical differences by using Tukey's test ($p \leq 0.05$)
*. میانگین های دارای حروف مختلف در هر ستون فاوت های آماری را با استفاده از آزمون توکی نشان می دهند ($p \leq 0.05$)

کنند که در هر دو پاسخ فنل اکسیدازها نقش مهمی داشته و و سبب ملانیزه شدن کپسول یا گره اطراف بیمارگر می شوند (Beckage, 2008). تیمار غلظت های مختلف هگزافلومورون باعث افزایش فعالیت فنل اکسیداز نسبت به شاهد در ۲۴ ساعت پس از تیمار شد ولی در بازه زمانی ۴۸ ساعت پس از تیمار تفاوت معنی داری مشاهده نشد (جدول ۶). تیمار سن معمولی گندم با پیروپیروکسی فن و متوکسی فنوزاید به ترتیب باعث کاهش و افزایش توانایی سیستم ایمنی در تشکیل گره و فعالیت فنل اکسیداز در برابر قارچ *Beauveria bassiana* شد (Zibae *et al.*, 2011a).

در این مطالعه مقادیر چند ترکیب غیر آنزیمی شامل پروتئین، تری گلیسرید و گلیکوژن اندازه گیری شد. تیمار غلظت های مختلف هگزافلومورون در بازه های زمانی ۴۸ ساعت سبب افزایش میزان پروتئین شد که احتمالاً نشان دهنده نیاز لارو به پروتئین جهت فعالیت، ترمیم بافت ها یا فعالیت آنزیمی باشد (جدول ۷). تیمار افراد بالغ سن گندم *Eurygaster integriceps* Puton (Hemiptera: Scutelleridae) با غلظت های مختلف پیروپیروکسی فن باعث کاهش پروتئین در ۲۴ و ۴۸ ساعت شد ولی در ۱۲۰ ساعت میزان پروتئین افزایش یافت که به دلیل مکانیسم های جبرانی در حشرات تحت استرس است (Zibae *et al.*, 2011b). در لاروهای تیمار شده کرم ابریشم با فنوکسی کارب

لاکتات دهیدروژناز (LDH) آنزیم گلیکولیتیکی است که در همه بافت ها وجود دارد (Kaplan and Pesce, 1996) که در فقدان اکسیژن پیرووات را به لاکتات تبدیل می کند. این آنزیم می تواند شاخصی برای متابولیسم کربوهیدرات ها باشد (Wu and Lam, 1997; Diamantino *et al.*, 2001 آنزیم در کاهش یا افزایش متابولیسم کربوهیدرات ها حشرات موثر می باشد (Thomas, 1998). با توجه به جدول ۵، تیمار هگزافلومورون تغییر معنی داری در فعالیت لاکتات دهیدروژناز شاهد و تیمارها ایجاد نکرد. افزایش فعالیت این آنزیم می تواند موید نیاز حشره به کربوهیدرات و یا تخریب بافتی حاصل از تیمار هگزافلومورون باشد. درس معمولی گندم تیمار شده با پیروپیروکسی فن فعالیت این آنزیم به طور معنی داری کاهش داشت (Zibae *et al.*, 2011b). سطح فعالیت این آنزیم در *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae) تیمار شده با آفت کش های د.د.ت، مالاتیون و سیفلوترین (Arshad *et al.*, 2002). و لاروهای *Spodoptera litura* Fabricius (Lepidoptera: Noctuidae) شده با آزادیراختین کاهش داشت (Senthil-Nathan and Kalviani, 2005) حشرات جهت خنثی کردن میکروارگانیسم ها از پاسخ های ایمنی سلولی و واکنش های ایمنی هیومرال استفاده می -

یافت (Fahmy and Dahi, 2009). در واقع کاهش میزان گلیکوژن در مطالعه حاضر و مطالعات قبلی ناشی از اختلال در متابولیسم‌های هموستاتیک حشرات به علت حشره‌کش‌ها است (Oguri and Steel, 2007; Surendra-Nath, 2003; Friedman, 1978). اجسام چربی حشرات به علت استفاده از حشره‌کش‌های ارگانوفسفره (Nath, 2000) نتایج این بررسی را تایید می‌کند.

تاثیر زیرکشنندگی آفت‌کش‌ها مورد توجه بسیاری از پژوهشگران است زیرا با مقدار کمتری از ترکیبات شیمیایی می‌توان طغیان جمعیت آفات را تحت کنترل درآورد. در پژوهش حاضر، دو دوز کمتر از مقدار LC₅₀ فعالیت آنزیم‌های موثر در متابولیسم حدواسط، ذخایر غذایی و فنل اکسیداز موثر در ایمنی شب‌پره بید آرد را تحت تاثیر قرار دادند. این اختلالات می‌تواند در زیست‌شناسی اختلال ایجاد کرده و از طغیان جمعیت آفت جلوگیری کند. از آنجایی که خون و اجسام چربی مکان‌های اصلی انجام متابولیسم حدواسط هستند درگیر کردن توام این واکنش‌ها با آفت‌کش‌های موثر و فعالیت طبیعی حشره می‌تواند انرژی متابولیک زیادی به حشره تحمیل کند. این اختلالات می‌تواند بر فعالیت و مقاومت حشره آفت به عوامل بیماری‌زا نیز موثر باشد و بنابراین تلفیق این روش با کنترل میکروبی آفات نیز مورد توجه قرار گیرد. پیشنهاد می‌شود که این بررسی روی سایر آفات محصولات کشاورزی که در شرایط صحرائی فعال هستند نیز انجام شود و به‌عنوان راهکاری ایمن در کنترل آن‌ها باشد.

(Monconduit and Mauchamp, 1998) و پیروپیروکسی فن (Etebari *et al.*, 2007) میزان پروتئین همولنف کاهش یافت.

چربی‌ها در مقایسه با پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها مزیت‌های مختلفی در فرایندهای فیزیولوژیکی از جمله تولید انرژی بیشتر در مقایسه با پروتئین و کربوهیدرات و تولید آب متابولیک در شرایط خشک دارند (Chapman, 1998). میزان تری‌گلیسرید در بازه زمانی ۲۴ ساعت اختلاف معنی‌داری نسبت به شاهد نداشت ولی در بازه زمانی ۴۸ ساعت میزان تری‌گلیسرید در غلظت ۳۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر نسبت به شاهد افزایش نشان داد (جدول ۸). میزان چربی در سن معمولی گندم (Zibae *et al.*, 2011b) و کرم ابریشم (Etebari *et al.*, 2007) تیمار شده با پیروپیروکسی فن کاهش داشت. در حشرات تیمار شده با آنالوگ‌های هورمون جوانی غلظت چربی در همولنف کاهش و در اجسام چربی ابتدا افزایش و سپس کاهش می‌یابد که به علت تغییرات حاصل از آنالوگ‌های هورمون جوانی روی سنتز چربی است (Mulye and Gordon, 1993). زیرا آنالوگ‌های هورمون جوانی باعث کاهش فعالیت آنزیم‌های موثر در لیپوژنز و تولید تری‌گلیسرید می‌شوند (Zera and Zhao, 2004).

گلیکوژن پلیمری تشکیل شده از واحدهای گلوکوزی است که به‌صورت شاخه‌های منشعب ذخیره می‌شود (Klowden, 2007 and Lide, 1998). گلیکوژن می‌تواند به‌عنوان منبع انرژی در دسترس، انرژی لازم برای ماهیچه‌های پروازی، سیستم تولیدمثلی و متابولیسم‌های سم‌زدایی را فراهم کند (Lide, 1998). تیمار غلظت‌های مختلف هگزافلومورون باعث کاهش میزان گلیکوژن در بازه زمانی ۲۴ و ۴۸ ساعت نسبت به شاهد شد (جدول ۹). والی‌زاده و همکاران (Valizadeh *et al.*, 2013) نیز کاهش میزان گلیکوژن در لارو سوسک برگ خوار نارون *Xanthogaleruca luteola* Mull (Coleoptera: Chrysomelidae) تغذیه شده با آزادیراختین را مشاهده کردند. همچنین میزان گلیکوژن در لاروهای *Spodoptera littoralis* که با *Spinetoram* تیمار شده بودند کاهش

جدول ۵- تاثیر هگزافلومورون بر فعالیت لاکتات دهیدروژناز ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ protein) در لاروهای سن چهارم *Ephestia kuehniella*
 Table 5. Effect of hexaflumuron on lactate dehydrogenase activity ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ protein) of fourth larval instars of *Ephestia kuehniella*

Concentration ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	LDH	LDH
	24	48
Control (0)	0.188±0.062ab	0.188±0.062b
100	0b	0.102±0.099b
300	0.302±0.290a	0.474±0.041a
700	0.151±0.076ab	0.369±0.050a

* Means with various letters in each column show statistical differences by using Tukey's test ($p \leq 0.05$).
 *. میانگین های دارای حروف مختلف در هر ستون تفاوت های آماری را با استفاده از آزمون توکی نشان می دهند ($p \leq 0.05$)

جدول ۶- تاثیر هگزافلومورون بر فعالیت آنزیم فنل اکسیداز در لاروهای سن چهارم *Ephestia kuehniella*
 Table 6. Effect of hexaflumuron on phenoloxidase activity ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ protein) of fourth larval instars of *Ephestia kuehniella*

Concentration ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	24	48
	Control (0)	0.163±0.106ab
100	0.206±0.063ab	0.252±0.067a
300	0.389±0.137a	0.215±0.052a
700	0.023±0.039b	0.252±0.042a

* Means with various letters in each column show statistical differences by using Tukey's test ($p \leq 0.05$).
 *. میانگین های دارای حروف مختلف در هر ستون تفاوت های آماری را با استفاده از آزمون توکی نشان می دهند ($p \leq 0.05$)

جدول ۷- تاثیر هگزافلومورون بر میزان پروتئین (میلی گرم بر میلی لیتر) در لاروهای سن چهارم *Ephestia kuehniella*
 Table 6. Effect of hexaflumuron on amount of protein activity (mg/ml) of fourth larval instars of *Ephestia kuehniella*

Concentration ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	24	48
Control (0)	0.396a	0.396c
100	0.406a	0.415bc
300	0.387a	0.499a
700	0.413a	0.443b

* Means with various letters in each column show statistical differences by using Tukey's test ($p \leq 0.05$).
 *. میانگین های دارای حروف مختلف در هر ستون تفاوت های آماری را با استفاده از آزمون توکی نشان می دهند ($p \leq 0.05$)

جدول ۸- تاثیر هگزافلومورون بر فعالیت تری گلیسرید (میلی گرم بر میلی لیتر) در لاروهای سن چهارم *Ephestia kuehniella*
 Table 8. Effect of hexaflumuron on amount of triglyceride (mg/ml) of fourth larval instars of *Ephestia kuehniella*

Concentration ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	24	48
Control (0)	0.384a	0.364b
100	0.434a	0.378b
300	0.384a	0.564a
700	0.371a	0.448ab

* Means with various letters in each column show statistical differences by using Tukey's test ($p \leq 0.05$).
 *. میانگین های دارای حروف مختلف در هر ستون تفاوت های آماری را با استفاده از آزمون توکی نشان می دهند ($p \leq 0.05$)

جدول ۹- تاثیر هگزافلومورون بر میزان گلیکوژن (میلی گرم بر میلی لیتر) در لاروهای سن چهارم *Ephestia kuehniella*

Table 9. Effect of hexaflumuron on amount of glycogen (mg/ml) of fourth larval instars of *Ephestia kuehniella*

Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	24	48
Control (0)	0.504a	0.707a
100	0.35b	0.385b
300	0.328b	0.335b
700	0.322b	0.336b

* Means with various letters in each column show statistical differences by using Tukey's test ($p \leq 0.05$).

* میانگین های دارای حروف مختلف در هر ستون تفاوت های آماری را با استفاده از آزمون توکی نشان می دهند ($p \leq 0.05$)

References

- Arshad, M., Ahmad, I., Naqvi, S. N. H. and Kahkashan, A. 2002. Level of Lactate dehydrogenase in Resistant and Susceptible Strains of Culicine Mosquitoes of the Karachi Region after Treatment with DDT, Malathion and Cyfluthrin. **Turkish Journal of Zoology** 26: 97-100.
- Bagheri-zenous, E. 1997. Storage pest and their control. Sepehr Press. 309 pp. [In Persian].
- Beckage, N. E. 2008. Insect Immunity. Academic Press. 348 pp.
- Chapman, R. F. 1998. The Insect: Structure and Function, fourth ed., Cambridge University Press. p. 770.
- Chapman, R. F. 1998. The insect structure and function, Cambridge University Press. pp. 770.
- Chun, Y. and Yin, Z. D. 1998. Glycogen Assay for Diagnosis of Female Genital *Chlamydia trachomatis* Infection. **Journal of Clinical Microbiology** 36: 1081-1082.
- Clegg, J. S. and Evans, D. R. 1961. Blood trehalose and flight metabolism in the blowfly, **Science** (134) 54.
- Diamantino, T. C., Amadeu, E., Soares, M. V. M. and Guilherminoc, L. 2001. Lactate dehydrogenase activity as an effect criterion in toxicity tests with *Daphnia magna*, Straus. **Chemosphere** 45: 553-560.
- Ender, I., Ferah, A., Kemal, B. and Ahmet, G. 2005. Biochemical stress indicators of greater wax moth, *Galleria mellonella* exposure to organophosphorus insecticides, **Journal of Economic Entomology** 98: 358-366.
- Etebari, K., Bizhannia, A. R., Sorati, R. and Matindoost, L. 2007. Biochemical changes in haemolymph of silkworm larvae due to pyriproxyfen residue. **Pesticide Biochemistry and Physiology** 88: 14-19.
- Fahmy, N. M. and Dahi, H. F. 2009. Changes in detoxifying enzymes and carbohydrate metabolism associated with spinetoram in two field-collected strains of *Spodoptera littoralis*(Biosd). **Egyptian Academic Journal of Biological Sciences** 1 (1): 15 - 26.
- Fossati, P. and Prencipe, L. 1982. Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. **Clinical Chemistry**. 28: 2077-2080.
- Friedman, S. 1978. Trehalose regulationone aspect of metabolic homeostasis. **Annual Review of Entomology** 23: 389
- Giboney, P. T. 2005. Mildly elevated liver transaminase levels in the asymptomatic patient. **American Family Physician** 71: 1105-1110.
- Han, Q. P., Zhuang, Z. and Tang, A. 1995. The mechanism of resistance to fenitrothion in *Chilo suppressalis* Walker. **Acta Entomologica Sinica** 38: 266-272.
- Haque, M. A., Nakakita, H., Ikenaga, H. and Sota, N. 2000. Development inhibiting activity of some tropical plant against *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Col: Curculioidae). **Journal of Stored Products Research** 36: 281-287.
- Hemingway, J. and Karunatne, S. H. P. 1998. Mosquito carboxylesterases: A review of the molecularbiology and biochemistry of a major insecticide resistance mechanism. **Medical and Veterinary Entomology** 12: 1-12.

- Kaplan, L. A. and Pesce, A. J.** 1996. Clinical Chemistry-theory Analysis an Correlation. Mosby-Year Book, MO. Pp. 609-610.
- King, J.** 1965. The dehydrogenases or oxidoreductases. Lactate dehydrogenase, in: D. Van Nostrand (Ed.). Practical Clinical Enzymology. London, pp. 83-93.
- Klowden, M. J.** 2007. Physiological systems in insects. Academic Press. 697 pp.
- Lavine, M. D. and Strand, M. R.** 2002. Insect hemocytes and their role in immunity. **Insect Biochemistry and Molecular Biology** 32: 1295-1309.
- Leonard C, Kenneth S, Ratcliffe N. A.** 1985. Studies on prophenoloxidase and protease activity of *Blaberua craniifer* haemocytes. **Insect Biochemistry**. 15: 803-810.
- Lide, D. R.** 1998. Handbook of Chemistry and Physics, 87 ed., CRC Press, Boca Raton, 589 FL, 3-534.
- Lima, F. M., Favero, S. and Lima, J. O. G.** 2001. Production of the Mediterranean flour moth, *Anagasta kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae), on an artificial diet containing corn meal. **Neotropical Entomology** 30: 37-42.
- Loschiavo, S. R.** 1976. Effects of the synthetic insect growth regulators methoprene and hydroprene on survival, development or reproduction of six species of stored products insect. **Journal of Economic Entomology** 69(3): 395-399.
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall R. J.** 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry** 193: 265-75.
- McGregor, H. E. and Kramer, K. J.** 1997. Activity of Dimilin (TH 6040) against Coleoptera in stored wheat and corn. **Journal of Economic Entomology** 67: 479.
- Monconduit, H. and Mauchamp, B.** 1998. Effects of ultra low doses of fenoxycarb on juvenile hormone regulated physiological parameters in the silkworm, *Bombyx mori*. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology** 37: 178-189.
- Mulye, H. and Gordon, R.** 1993. Effects of two juvenile hormone analogs on haemolymph and fat-body metabolites of the eastern spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Clemens) (Lepidoptera: Tortricidae). **Canadian Journal of Zoology** 71: 1169-1174.
- Murphy, T. A. and Wyatt, G. R.** 1965. The enzymes of glycogen and trehalose synthesis in silkmoth fat body. **Journal of Biological Chemistry** (240): 1500-1508.
- Nath, B. S.** 2000. Changes in carbohydrate metabolism in hemolymph and fat body of the silkworm, *Bombyx mori* L. exposed to organophosphorus insecticides. **Pesticide Biochemistry and Physiology** (68): 127-137.
- Nation, J. L.** 2008. Insect physiology and biochemistry. 2nd edition. CRC press. New York. 544 pp.
- Nijhout, H. F. 1994. Insect Hormones. Princeton University Press, Princeton, NJ.,
- Oguri, E. and Steele, J. E.** 2007. A comparative study of the metabolic effects of hyper trehalosemic hormone and 1,2,3,4,5,6-hexachlorocyclohexane (c-HCH) in the American cockroach, *Periplaneta Americana*. **Pesticide Biochemistry and Physiology** 87: 196-203.
- Oppenorth, F. J.** 1979. Glutathione S-transferase and hydrolytic activity in a tetrachlorvinphos-resistant strain of housefly and their influence on resistance. **Pesticide Biochemistry and Physiology** 11: 176-178.
- Senthil-Nathan, S.** 2006. Effects of Melia azedarach on nutritional physiology and enzyme activities of the rice leaf folder *Cnaphalocrocis medinalis* (Gnenee) (Lepidoptera: Pyralidae). **Pesticide Biochemistry and Physiology** 84: 98-108.
- Senthil-Nathan, S. and Kalaivani, K.** 2005. Efficacy of nucleopolyhedrovirus (NPV) and azadirachtin on *Spodoptera litura* Fabricius (Lepidoptera: Noctuidae). **Biological Control** 34: 93-98.
- Sharifi, M., Kousari, A. A., Zibae, A. and Sendi, J. J.** 2013. Effects of Pyriproxyfen on detoxifying and intermediary enzymes of *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). **Plant Pest Research** 3: 35-44.
- Shekari, M., Jalali Sendi, J., Etebari, K., Zibae, A. and Shadparvar, A.** 2008. Effects of *Artemisia annua* L. (Asteracea) on nutritional physiology and enzyme activities of elm leaf beetle, *Xanthogaleruca luteola* Mull. (Coleoptera: Chrysomellidae). **Pesticide Biochemistry and Physiology** 91: 66-74.

- Surendra-Nath, B.** 2003. Shifts in glycogen metabolism in hemolymph and fat body of the silkworm, *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae) in response to organophosphorus insecticides toxicity. **Pesticide Biochemistry and Physiology** 74: 73–84
- Talebi Jahromi, Kh.** 2006. Pesticides Toxicology. University of Tehran press. 492 pp. [in Persian with English summary]
- Thomas, L.** 1998. Clinical Laboratory Diagnostic, first ed., TH Books Verlagsgesellschaft, Frankfurt, pp. 89- 94.
- Valizadeh, B., Jalali Sendi, J., Zibae, A. and Oftadeh, M.** 2013. Effect of Neem based insecticide Achook® on mortality, biological and biochemical parameters of elm leaf beetle *Xanthogaleruca luteola* Mull (Col.: Chrysomelidae). **Journal of Crop Protection** 2(3): 319-330.
- Vanhaelen, N., Haubruge, E., Lognay, G. and Francis, F.** 2001. Hoverfly glutathione S-transferases and effect of Brassicaceae secondary metabolites. **Pesticide Biochemistry and Physiology** 71: 170-177.
- Vontas, J. G., Small, G. J. and Hemingway, J.** 2001. Glutathione S-transferases as antioxidant defence agent confer Pyrethroid resistance in *Nilaparvata lugens*. **Biochemical Journal** 357(1): 65- 72.
- Wu, R. S. S. and Lam, P. K. S.** 1997. Glucose-6-phosphate dehydrogenase and lactate dehydrogenase in the green-lipped mussel (*Perna viridis*). Possible biomarker for hypoxia in the marine environment. **Water Research** 31: 138-142.
- Yu, S. J.** 1982. Host plant induction of glutathione S-transferase in the fall army worm. **Acta Entomologica Sinica** 17: 52-60.
- Zera, A. J. and Zhao, Z.** 2004. Effect of a juvenile hormone analogue on lipid metabolism in a wing-polymorphic cricket: implications for the endocrine-biochemical bases of life-history trade-offs. **Physiological and Biochemical Zoology** 77: 255–266.
- Zibae, A., Bandani, A. R. and Malagoli, D.** 2011a. Purification and characterization of phenoloxidase from the hemocytes of *Eurygaster integriceps* (Hemiptera: Scutelleridae). **Comparative Biochemistry and Physiology** 158(1): 117-23.
- Zibae, A., Zibae, I. and Jalali Sendi, J.** 2011b. A juvenile hormone analogue, Pyriproxifen, affects some biochemical components in the hemolymph and fat bodies of *Eurygaster integriceps* Puton (Hemiptera: Scutelleridae). **Pesticide Biochemistry and Physiology** 100: 289–298.

Effect of hexaflumuron on intermediary metabolism of *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae)

S. Delkash-Roudsari¹, A. Zibae^{2*}, Z. Bigham³ and M. Fazeli-Dinan⁴

1, 2. Msc., student and assistant professor, Department of Plant protection, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran., 3. Msc, Student, Department of Plant Protection, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran., 4. Assistant Professor of Department of Medical Entomology, Health Sciences Research Center, Faculty of Health, Mazandaran University of Medical Science, Sari, Iran

(Received: July 29, 2013- Accepted: October 6, 2013)

Abstract

The flour moth, *Ephestia kuehniella*, is one of the important pests of stored products that cause annually severe damages. In the current study, changes of detoxifying enzymes, some enzymes involved in intermediary metabolism and some non-enzymatic compounds were determined in the larvae of *E. kuehniella* treated with different concentrations of hexaflumuron. Larvae were treated by 100, 300 and 700 µg/ml of hexaflumuron and acetone (as control) at different time intervals of 24 and 48 hours. Larvae treated by 300 µg/ml of hexaflumuron demonstrated the highest activity of general esterases in both time intervals when α -naphthyl acetate was used as substrate. By using β -naphthyl acetate as substrate, the highest activity was observed in the larvae treated by 100 µg/ml of hexaflumuron. Similar results were observed in case of glutathione *S*-transferase that imply presence of some isoforms of these enzymes. After 24h, activity of alanine aminotransferase was elevated along with increase of hexaflumuron concentration but adverse results were observed after 48 h. In case of aspartate aminotransferase, the highest activity was observed in the larvae treated with 700 µg/ml concentration. Increasing of hexaflumuron concentration causes higher activity of lactate dehydrogenase in both time intervals. After 24h, the highest activity of phenoloxidase was observed in the larvae treated with 300 µg/ml but no statistical differences was observed after 48 hours. There were no significant differences for protein and triglyceride concentrations after 24 hours but their highest amounts were observed in the larvae treated with 300 µg/ml. Increasing of hexaflumuron concentration decreased amount of glycogen in the treated larvae. These results revealed that hexaflumuron could intervene in intermediary metabolism of *E. kuehniella* in addition to disruption in growth and development.

Keywords: Hexaflumuron, *Ephestia kuehniella*, Intermediary metabolism, detoxifying enzymes

*Corresponding author: arash.zibae@guilan.ac.ir