تحقیقات آفات گیاهی
جلد ۳/شماره ۴/ سال ۱۳۹۲

تاثیر هگزافلومورون بر متابولیسم حدواسط شب‌پره بید آرد(*Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae)

سحر دلکش رودسری[۱]، آرش زیبایی*[۲]، ضرغام بی غم[۳] و محمود فاضلی دینان[۴]

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

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

چکیده

بیدآرد *Ephestia kuehniella* یکی از آفاتی است که سالانه خسارت زیادی را به محصولات کشاورزی انباری وارد می‌کند. در مطالعه حاضر، تغییر فعالیت آنزیم‌های سم‌زدا، برخی از آنزیم‌های موثر در متابولیسم حدواسط (آلانین و آسپارتات آمینوترانسفراز، لاکتات دهیدروژناز) و مقدار برخی از ترکیبات غیر آنزیمی (پروتئین، تری گلیسرید و گلیکوژن) تحت تاثیر غلظت‌های مختلف هگزافلومورون بررسی شد. لاروهای تیمار شده با غلظت ۳۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بیشترین فعالیت استراز عمومی را با استفاده از آلفا-نفتیل استات به‌عنوان سوبسترا در هر دو بازه زمانی ۲۴ و ۴۸ ساعت نشان دادند. وقتی بتا-نفتیل به عنوان سوبسترا استفاده شد. بیشترین فعالیت استرازی در لاروهای تیمار شده با غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر مشاهده شد. در مورد گلوتاتیون اس-ترانسفراز نیز نتایج مشابهی دیده شد که می‌تواند موید حضور چندین ایزوفرم از این آنزیم باشد. در بازه زمانی ۲۴ ساعت پس از تیمار، با افزایش غلظت هگزافلومورون فعالیت آنزیم آلانین‌آمینوترانسفراز افزایش یافت ولی پس از ۴۸ ساعت نتایج عکس مشاهده شد. در مورد آسپارتات‌آمینوترانسفراز بیشترین فعالیت در لاروهای تیمار شده با غلظت ۷۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر 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 میلی‌لیتر مشاهده شد و در بازه زمانی ۴۸ ساعت تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. میزان پروتئین و تری‌گلیسرید 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.

واژه‌های کلیدی: هگزافلومورون، شب‌پره بید آرد ، متابولیسم حدواسط ، آنزیم‌های سم زدا

*نویسنده مسئول: arash.zibaee@guilan.ac.ir

مقدمه

تنظیم کننده‌های رشد حشرات (IGRs[1]) 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 پیروکسی‌فن (McGregor and Kramer, 1997) وترکیبات مشابه هورمون اکدایزون می باشند (Nijhout, 1994) که با اختلال در سامانه‌های ترشحی، رشد ونمو حشرات را مختل می‌کنند (طالبی‌جهرمی، 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 همولمف حشرات هستند تا متابولیسم حدواسط حشرات به‌خوبی انجام شود. در این میان بعضی از آنزیم‌ها در چرخه‌های تولید انرژی وسم‌زدایی ترکیبات شیمیایی موثری هستند که از اجسام چربی ساخته می‌شوند. به‌طور مثال، استرازهای عمومی و گلوتاتیون اس-ترانسفرازها دو آنزیم مهم در تجزیه و خنثی‌سازی ترکیبات شیمیایی در همولنف حشرات هستند (Zibaee *et al.*, 2011b; Vontas *et al.*, 2001). آلانین آمینو ترانسفراز کاتالیز کننده چرخه آلانین در فرآیند ترانس‌آمیناسیون است (Giboney, 2005). آسپارتات آمینو ترانسفراز نیز در تبدیل آسپارتات و آلفا کتوگلوتارات به اگزالواستات و گلوتامات 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 می توان از غلظت‌های زیرکشنده آفت‌کش ها 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 آفت‌کش های 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 پیروپیروکسی فن تغییرات معنی‌داری در فعالیت آنزیم های موثر در سم زدایی و تعدادی از ترکیبات غیر آنزیمی مشاهده کردند. زیبایی و همکاران (Zibaee *et al.*, 2011) غلظت‌های مختلف پیروپیروکسی 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 آنزیم-های موثر در متابولیسم حدواسط و آنزیم‌های استراز و گلوتاتیون 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 آفت‌کش ها مقادیر آن‌ها تغییر می کند. از آنجایی که ترکیبات شیمیایی با صدمه شیمیایی و بافتی منجر به تحمیل هزینه انرژی به حشرات می-شوند 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 گلوتاتیون اس-ترانسفراز و آنزیم‌های موثر در متابولیسم حدواسط بید آرد و بررسی تغییر میزان چند ترکیب غیر آنزیمی است تا به‌توان از آن به عنوان 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 وقطر ۵ سانتی‌متر در دمای ۱±۲۵ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۷۰

[1]. Insect Growth Regulators

درصد و دوره نوری۱۶ 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 ۱۰۰۰میکروگرم بر میلی‌لیتر هگزافلومورون 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 شفیره‌های تشکیل شده بعد از ۲۴ و ۴۸ ساعت در شاهد و تیمار ثبت شده و با استفاده از نرم افزار POLO-PC غلظت LC_{50} تخمین زده شد. برای بررسی‌های بیوشیمیایی، غلظت های ۱۰۰، ۳۰۰ و ۷۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر هگزافلومورون 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 بازه های زمانی ۲۴ و ۴۸ ساعت جداگانه داخل میکروتیوپ وبه نسبت ۴ لارو در ۵۰۰ میکرولیتر آب‌مقطرهموژنایز شدند. برای این کار، از هموژنایزر دستی استفاده شد. سپس نمونه‌ها در دمای ۴ درجه سلسیوس باسرعت 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 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 گلوتاتیون اس-ترانسفراز

سنجش آنزیم گلوتاتیون اس-ترانسفراز با استفاده از روش اوپنورث (Oppenorth, 1979) انجام شد. دو معرف CDNB[۴] و DCNB[۵] به مقدار ۲۰ میکرولیتر (۲۰ میلی مولار) جداگانه به ۲۰ میکرولیتر گلوتاتیون 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 آسپارتات 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 ودر فواصل زمانی ۱، ۱.۵ و۳ 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.

---

[2] . α-naphtyl acetate

[3] . β-naphtyl acetate

[4] . 1-chloro-2,4-dinitrobenzene

[5] . 1,2-dichloro-4-nitro-benzene

تعیین میزان پروتئین

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

تعیین میزان تری‌گلیسرید

از کیت تشخیص شرکت پارس آزمون برای اندازه گیری میزان تری آسیل گلیسرید استفاده شد. مخلوط واکنش شامل بافر فسفات (۵۰ میلی مولار، اسیدیته ۷/۲)، ۴-کلروفنول (۴ میلی مولار)، آدنوزین تری‌فسفات (۲ میلی مولار)، منیزیم (۱۵ میلی مولار)، گلیسرول‌کیناز، پروکسیداز، لیپوپروتئین لیپاز، ۴-آمینوآنتی‌پیرین (۰/۵ میلی مولار) 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

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

تجزیه و تحلیل آماری

کلیه داده‌ها در قالب طرح کاملا 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.

نتایج و بحث

جدول ۱ LC_{50} هگزافلوموروون روی لاروهای سن آخر بید آرد را نشان می‌دهد که ۴۲۱/۹۷ میکروگرم بر میلی‌گرم به‌دست 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 استرازی در لاروهای تیمار شده با غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر مشاهده شد (جدول ۲).

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

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

	Concentration (µg/ml)	Slope±SE	df	X^2
LC_{50}	421.97	2.061 ±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 هگزافلوموروون 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 (µg/ml)	α-naphtyl 24h	α-naphtyl 48h	β-naphtyl 24h	β-naphtyl 48h
Control (0)	0.222±0.033b	0.424±0.190b	0.083±0.014c	0.159±0.041ab
100	0.334±0.289b	0.533±0.120b	0.306±0.046a	0.346±0.075a
300	0.910±0.171a	1.863±0.303a	0.101±0.001c	0.097±0.132b
700	0.143±0.124c	1.124±0.462ab	0.232±0.026b	0.139±0.079b

* Means within a column with various letters 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 ($p \leq 0.05$)

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

جدول ۳- تاثیر هگزافلوموروون بر فعالیت گلوتاتیون 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*

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

* Means with various letters in each column show statistical differences by using Tukey's test ($p\leq0.05$).
*. میانگین های دارای حروف مختلف در هر ستون تفاوت های آماری را با استفاده از آزمون توکی نشان می دهند ($p\leq0.05$)

استرازها (EST) آنزیم‌های مهم سم‌زدا در هیدرولیز پیوندهای استری ترکیبات شیمیایی هستند (Hemingway and Karunatne, 1988) وگلوتاتیون تراسفرازها (GST) آنزیم‌های چندگانه (یعنی دارای چند نوع مختلف هستند) بوده ودر 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 گلوتاتیون اس- ترانسفراز افزایش داشت که نشان‌دهنده سم‌زدایی ترکیبات خارجی توسط این دو آنزیم است (Valizadeh *et al*., 2013) ، مشخص شد که در *Myzus persicae* وچندین گونه از بال‌پولک‌داران از جمله *Trichoplusia ni* Hubner, *Heliothis virescens* Fabricius و *Anticarsia gemmatalis* Hubner تغذیه کننده از متابولیت‌های ثانویه گیاهی فعالیت گلوتاتیون اس- ترانسفراز تحریک می‌شود (Vanhaelen *et al*., 2001). در لاروهای تیمار شده *Spodoptera littoralis* با Spinetoram سطح فعالیت گلوتاتیون اس- ترانسفراز به طورمعنی‌داری 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 آسیدآمینه دیگر و به کتواسید می- شوند (Etebari *et al*., 2007; Shekari *et al*., 2008).در این پژوهش تیمار غلظت‌های مختلف هگزافلوموروون 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 آسپارتات 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 آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) کاهش داشت (Valizadeh *et al*., 2013). تیمار افراد بالغ سن گندم *Eurygaster integriceps* Puton (Hemiptera: Scutelleridae) با پیروپیروکسی‌فن نیز فعالیت دوآنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز را افزایش داد (Zibaee *et al*., 2011b). همچنین در لاروهای تیمار شده *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) با متیل‌پاراتیون سطح فعالیت این دو آنزیم

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

جدول ۴- تاثیر هگزافلوموروون بر فعالیت آلانین و آسپارتات آمینوترانسفراز (µmol/min/mg protein) در لاروهای سن چهارم *Ephestia kuehniella*

Table 4. Effect of hexaflumuron on alanine (ALT) and aspartate (AST) amino transferase activities (µmol/min/mg protein) of fourth larval instars of *Ephestia kuehniella*

	ALT	ALT	AST	AST
Concentration (µg/ml)	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 ($p\leq0.05$)

*. میانگین های دارای حروف مختلف در هر ستون فاوت های آماری را با استفاده از آزمون توکی نشان می دهند ($p\leq0.05$)

لاکتات دهیدروژناز (LDH) آنزیم گلیکولیتیکی است که در همه بافت‌ها وجود دارد (Kaplan and Pesce, 1996) که در فقدان اکسیژن پیرووات را به لاکتات تبدیل می‌کند. این آنزیم می‌تواند شاخصی برای متابولیسم کربوهیدرات‌ها باشد (Wu and Lam, 1997; Diamantino *et al*., 2001) بنابراین تغییر در فعالیت این آنزیم درکاهش یا افزایش متابولیسم کربوهیدرات‌ها حشرات موثر می‌باشد (Thomas, 1998). با توجه به جدول ۵، تیمار هگزافلوموروون تغییر معنی‌داری در فعالیت لاکتات دهیدروژناز شاهد و تیمارها ایجاد نکرد. افزایش فعالیت این آنزیم می‌تواند موید نیاز حشره به کربوهیدرات و یا تخریب بافتی حاصل از تیمار هگرافلوموروون باشد. درسن معمولی گندم تیمار شده با پیروپیروکسی فن فعالیت این آنزیم به‌طور معنی‌داری کاهش داشت(Zibaee *et al*., 2011b) (. سطح فعالیت این آنزیم در *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae) تیمار شده با آفت‌کش‌های د.د.ت، مالاتیون و سیفلوترین (Arshad *et al*., 2002). و لاروهای *Spodoptera litura* Fabricius (Lepidoptera: Noctuidae) تغذیه شده با آزادیراختین کاهش داشت (Senthil-Nathan and Kalviani, 2005)

حشرات جهت خنثی کردن میکروارگانیسم‌ها از پاسخ-های ایمنی سلولی و واکنش‌های ایمنی هیومرال استفاده می-کنند که در هر دو پاسخ فنل اکسیدازها نقش مهمی داشته و و سبب ملانیزه شدن کپسول یا گره اطراف بیمارگر می‌شوند (Beckage, 2008). تیمار غلظت‌های مختلف هگزافلوموروون 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 معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۶). تیمار سن معمولی گندم با پیروپیروکسی‌فن و متوکسی فنوزاید به‌ترتیب باعث کاهش و افزایش توانایی سیستم ایمنی در تشکیل گره و فعالیت فنل اکسیداز در برابر قارچ *Beauveria bassiana* شد (Zibaee *et al*., 2011a) .

در این مطالعه مقادیر چند ترکیب غیر آنزیمی شامل پروتئین، تری گلیسرید و گلیکوژن اندازه‌گیری شد. تیمار غلظت‌های مختلف هگزافلوموروون در بازه‌های زمانی ۴۸ ساعت سبب افزایش میزان پروتئین شد که احتمالاً نشان دهنده نیاز لارو به پروتئین جهت فعالیت، ترمیم بافت‌ها یا فعالیت آنزیمی باشد (جدول ۷). تیمار افراد بالغ سن گندم *Eurygaster integriceps* Puton (Hemiptera: Scutelleridae) با غلظت‌های مختلف پیروپیروکسی‌فن باعث کاهش پروتئین در ۲۴ و۴۸ ساعت شد ولی در ۱۲۰ ساعت میزان پروتئین افزایش یافت که به دلیل مکانیسم‌های جبرانی در حشرات تحت استرس است (Zibaee *et al*., 2011b). در لاروهای تیمار شده کرم ابریشم با فنوکسی‌کارپ

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

چربی‌ها در مقایسه با پروتئین‌ها وکربوهیدرات‌ها مزیت-های مختلفی در فرایندهای فیزیولوژیکی ازجمله تولید انرژی بیشتر در مقایسه با پروتئین وکربوهیدرات وتولید آب متابولیک در شرایط خشک دارند (Chapman, 1998). میزان تری‌گلیسرید در بازه زمانی ۲۴ ساعت اختلاف معنی-داری نسبت به شاهد نداشت ولی در بازه زمانی ۴۸ ساعت میزان تری‌گلیسرید در غلظت ۳۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر نسبت به شاهد افزایش نشان داد (جدول ۸). میزان چربی در سن معمولی گندم (Zibaee *et al.*, 2011b) و کرم ابریشم (Etebari *et al.*, 2007) تیمار شده با پیروپیروکسی‌فن 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 گلوکزی است که به‌صورت شاخه‌های منشعب ذخیره می‌شود (Klowden, 2007 and Lide, 1998). گلیکوژن می‌تواند به عنوان 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 تیمارشده بودند کاهش یافت (Fahmy and Dahi, 2009). در واقع کاهش میزان گلیکوژن در مطالعه حاضر ومطالعات قبلی ناشی از اختلال درمتابولیسم‌های هموستاتیک حشرات به علت حشره‌کش‌ها است (Oguri and Steel, 2007; Surendra-Nath, 2003; Friedman, 1978). وکاهش میزان گلیکوژن در اجسام چربی حشرات به علت استفاده از حشره‌کش‌های ارگانوفسفره (Nath, 2000) نتایج این بررسی را تایید می-کند.

تاثیر زیرکشندگی 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 LC_{50} فعالیت آنزیم-های موثر در متابولیسم حدواسط، ذخایر غذایی و فنل اکسیداز موثر در ایمنی شب‌پره بید آرد را تحت تاثیر قرار دادند. این اختلالات می‌تواند در زیست شناسی 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 آفت‌کش های موثر و فعالیت طبیعی حشره می‌تواند انرژی متابولیک زیادی به حشره تحمیل کند. این اختلالات می‌تواند بر فعالیت و مقاومت حشره آفت به عوامل بیماری زا نیز موثر باشد و بنابراین تلفیق این روش با کنترل میکروبی آفات نیز مورد توجه قرارگیرد. پیشنهاد می‌شود که این بررسی روی سایر آفات محصولات کشاورزی که در شرایط صحرایی فعال هستند نیز انجام شود و به‌عنوان راهکاری ایمن در کنترل آن-ها باشد.

جدول ۵- تاثیر هگزافلوموروون بر فعالیت لاکتات دهیدروژناز (µmol/min/mg protein) در لاروهای سن چهارم *Ephestia kuehniella*

Table 5. Effect of hexaflumuron on lactate dehydrogenase activity (µmol/min/mg protein) of fourth larval instars of *Ephestia kuehniella*

	LDH	**LDH**
Concentration (µg/ml)	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 ($p\leq0.05$).

*. میانگین های دارای حروف مختلف در هر ستون تفاوت های آماری را با استفاده از آزمون توکی نشان می دهند ($p\leq0.05$)

جدول ۶- تاثیر هگزافلوموروون بر فعالیت آنزیم فنل اکسیداز در لاروهای سن چهارم *Ephestia kuehniella*

Table 6. Effect of hexaflumuron on phenoloxidase activity (µmol/min/mg protein) of fourth larval instars of *Ephestia kuehniella*

Concentration (µg/ml)	24	48
Control (0)	0.163±0.106ab	0.255±0.043a
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 ($p\leq0.05$).

*. میانگین های دارای حروف مختلف در هر ستون تفاوت های آماری را با استفاده از آزمون توکی نشان می دهند ($p\leq0.05$)

جدول ۷- تاثیر هگزافلوموروون 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 (µg/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 ($p\leq0.05$).

*. میانگین های دارای حروف مختلف در هر ستون تفاوت های آماری را با استفاده از آزمون توکی نشان می دهند ($p\leq0.05$)

جدول ۸- تاثیر هگزافلوموروون 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 (µg/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 ($p\leq0.05$).

*. میانگین های دارای حروف مختلف در هر ستون تفاوت های آماری را با استفاده از آزمون توکی نشان می دهند ($p\leq0.05$)

جدول ۹- تاثیر هگزافلوموروون 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 (µg/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., Soaresa, 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. Biochemial 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-theoryAnalysis 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 Coloptera in stored whea and corn. **Journal of Economic Entomology** 67: 479.

Monconduit, H. and Mauchamp, B.1998. Effects of ultera 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 leaffolder *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., Zibaee, 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., Zibaee, A. and Shadparvar, A. 2008. Effects of Artemisia annuaL. (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 toorganophosphorus 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 Verlasgesellschaft, Frankfurt, pp. 89- 94.

Valizadeh, B., Jalali Sendi, J., Zibaee, A. and Oftadeh, M. 2013. Effect of Neem based insecticide Achook® on mortality, biological and biochemical parametersof 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 Stransferases 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.

Zibaee, 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.

Zibaee, A., Zibaee, 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.

Plant Pests Research
Vol. 3, No. 4, 2014

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

S. Delkash-Roudsari[1], A. Zibaee[2*], Z. Bigham[3] and M. Fazeli-Dinan[4]

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 aceton (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-naphtyl acetate was used as substrate. By using β-maphtyl 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*-tranferase thatimply 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 aminitranferase, 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 haxaflumuron could intervene in intermediary metabolism of *E. kuehniella* in addition to disruption in growth and development.

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

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