



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la
Recherche Scientifique
Ecole nationale supérieure agronomique



En Vue de l'obtention du Diplôme de Doctorat
En Sciences Agronomiques
Spécialité : Protection des végétaux

Présenté par : Laib Djamel Eddine

Thème

**Etude de l'activité insecticide des extraits des champignons endophytes
isolées à partir des feuilles du ricin commun *Ricinus communis* L.
(Euphorbiaceae, Malpighiales) contre le criquet migrateur *Locusta
migratoria* L. (Oedipodinae, Acrididae).**

Soutenue publiquement le :

Devant le jury composé de :

Président : Chakali Gahdab	Professeur	ENSA, Alger
Directeur de thèse : Benzehra Abdelmadjid	Professeur	ENSA, Alger
Co-encadreur : Akkal Salah	Professeur	Université des Frères Mentouri ,Constantine 1
Examinatrice : Bendifallah leila	Professeur	Université M'Hamed Bougara , Boumerdès
Examineur : Bensouilah Taqiyeddine M.C.A		Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi de Bordj Bou Arréridj.

Année Universitaire :2024-2025

Dédicaces

Tout d'abord, je rends grâce à Dieu qui m'a donné la force et le pouvoir de réaliser ce travail.

Je me fais le plaisir de dédier affectueusement ce modeste travail à toutes les personnes qui sont les plus chères à mon cœur :

À celle qui demeure éternelle dans nos cœurs, ma mère, qui a traversé le voile de la mort. Ton absence est un océan de larmes et de douleur, mais ton amour continue de briller, éternel et fort.

À mes chers frères et sœurs, Zine Elabidine et Imen, qui sont toujours près de moi dans les moments les plus difficiles. Cette dédicace est un humble témoignage de gratitude envers ceux qui ont illuminé ma vie de leur présence et de leur soutien inconditionnel.

Laib djamel eddine

Remerciements

Je tiens tout d'abord à exprimer ma profonde gratitude envers Dieu tout puissant et miséricordieux, qui m'a accordé la santé, la force, le courage, la volonté et la patience nécessaires pour mener à bien ce travail.

*Mes plus vifs remerciements vont à **Pr. Benzehra Abdelmadjid**, qui m'a proposé cet intéressant thème de travail. J'ai grandement apprécié ses qualités scientifiques, humaines et surtout son optimisme tout au long du parcours. Sa précieuse aide, sa disponibilité et ses conseils avisés ont été d'une aide inestimable. Travailler avec lui a été un privilège et une source de chance.*

*Je tiens également à exprimer ma profonde reconnaissance envers les membres du jury : **Pr. Chakali Gahdab**, qui a eu l'honneur de présider la soutenance, ainsi que **Pr. Bendifallah Leila**, **Pr. Akkal salah** et **Dr Bensouilah Taqiyeddine**, qui ont accepté la lourde responsabilité d'examiner ce travail avec rigueur et impartialité.*

Leur engagement et leur expertise ont été essentiels dans le processus d'évaluation, et je leur suis reconnaissant pour le temps et l'attention qu'ils ont consacrés à ce travail

Résumé

Cette étude met en avant les propriétés insecticides des champignons endophytes tels qu'*A.alternata*, *A. tenuissima*, *A. niger* et *Trichoderma* sp, extraits du ricin commun et testés contre *L. migratoria*. Ces champignons se distinguent par la production de métabolites secondaires, à la fois volatils et non volatils. Une analyse chimique préliminaire des extraits fongiques révèle la présence de polyphénols, d'alcaloïdes, de terpénoïdes et de saponines dans les extraits d'*A. alternata* et *A. niger*, tandis que *Trichoderma* sp et *A. tenuissima* présentent également des polyphénols et des tanins. Tous les extraits fongiques sont dépourvus de flavonoïdes.

L'activité insecticide des extraits fongiques est avérée mais leur efficacité est variable selon le champignon endophytes, la dose ainsi que le temps d'exposition au traitement. Pour le traitement par contact, les champignons *A. alternaria*, *A. tenuissima*, *Aspergillus niger* et *Trichoderma* sp provoquent des mortalités de 72,22%, 72,22%, 72,22% et 66,67% respectivement à la dose de 2 g/l. En revanche, Pour le traitement par ingestion les mortalités corrigées enregistrées sont de 88,89%, 88,89%, 77,78% et 66,67% pour *A. alternaria*, *A. tenuissima*, *Aspergillus niger* et *Trichoderma* sp respectivement. La DL50 d'*A. tenuissima* et *A. alternata* présente des valeurs sensiblement égales, soit 1,17 et 1,20 g/l respectivement. Ces valeurs sont encore plus basses lors du traitement par ingestion, s'établissant à 0,65 et 0,88 g/l respectivement. En revanche, *Aspergillus niger* et *Trichoderma* sp affichent également des DL50 similaires, indiquant une activité comparable voire supérieure à celle des deux champignons endophytes précédents. Pour *Trichoderma* sp, les DL50 sont de 1,79 pour le traitement par contact et ingestion, tandis qu'elles sont de 1,47 pour *Aspergillus niger*. Le temps léthal (TL₅₀) pour *A. alternata* s'élève à 108,62 heures, 4,53 jours Après traitement par contact alors que pour le traitement par ingestion, la TL₅₀ est de 88,02 heures, soit 3,67 jours. Par contre *A. Tenuissima* a une TL₅₀ égale à 126,65 heures, soit 5,38 jours. *Aspergillus* sp et *Trichoderma* sp se distinguent par des temps léthaux qui sont plus ou moins élevés par rapport aux deux endophytes précédents, 205,52 heures, soit 8 jours et 216,10 heures soit 9 jours pour le traitement par contact et 152,22 heures 6,34 jours et 172,86 soit 7,20 jours). Les extraits fongiques d'*A. alternata*, *A. tenuissima*, *A. niger* et *Trichoderma* sp ont une activité inhibitrice sur l'Acétylcholinestérase à des taux d'inhibition respectifs variables de 62,22%, 73,11%, 53,77% et 80 % après 15 minutes. L'analyse FTIR-ATR d'extraits fongiques montre qu'*A. Alternata* et *A. tenuissima* comprennent des groupes communs : il s'agit de sulfone, nitro, imine, éther d'enol, alcyne, hydroxyle. Les sulfones n'existent ni chez *Aspergillus niger* ni chez *Trichoderma* sp, mais ils ont en commun les groupes alcool, nitro, imine, alcyne hydroxyle. L'analyse GC-MS des extraits fongiques d'*Aspergillus* sp a révélé la présence de métabolites volatils insecticides, notamment l'Hexahydro-1H-cyclopenta[c]isoxazole-4,5,6-triol, le 2,3,4,4a,5,6,7,8-octahydro-1H-naphtalène-1,8a-diol et l'acide propanoïque 2-éthyl-3-hydroxyhexyle. De même, l'analyse d'extrait fongique d'*Alternaria tenuissima* a mis en évidence la présence de métabolites volatils insecticides tels que le phénol 3,5-bis(1,1-diméthyléthyl), le phénol 2,6-bis(1,1-diméthyléthyl) -4-méthyl- et le 2,6-di-tert-butyl-4-méthylphénol. L'examen d'extrait fongique d'*Alternaria alternata* a identifié des métabolites volatils insecticides similaires, dont le phénol 3,5-bis(1,1-diméthyléthyl), le phénol 2,6-bis(1,1-diméthyléthyl) -4-méthyl-, le 2,6-di-tert-butyl-4-méthylphénol, le 1,3-pentanediol 2,2,4-triméthyl- et le 2,3,4,4a,5,6,7,8-octahydro-1H-naphtalène-1,8a-diol. Enfin, l'analyse d'extrait fongique de *Trichoderma* sp a mis en lumière la présence de métabolites volatils insecticides tels que le curlone, le phénol 2,6-bis(1,1-diméthyléthyle) et le phénol 3,5-bis(1,1-diméthyléthyl).

Mots clés : Activité insecticide, champignons endophytes, ricin commun, *L. Migratoria*

Abstract

This study highlights the insecticidal properties of endophytic fungi such as *A. alternata*, *A. tenuissima*, *A. niger*, and *Trichoderma sp*, extracted from the common castor plant and tested against *L. migratoria*. These fungi are characterized by the production of secondary metabolites, both volatile and non-volatile. Preliminary chemical analysis of the fungal extracts reveals the presence of polyphenols, alkaloids, terpenoids, and saponins in the extracts of *A. alternata* and *A. niger*, while *Trichoderma sp* and *A. tenuissima* also exhibit polyphenols and tannins. All fungal extracts are devoid of flavonoids. The insecticidal activity of fungal extracts is confirmed, but their efficacy varies depending on the endophytic fungus, the dose, and the exposure time to the treatment. For contact treatment, the fungi *A. alternaria*, *A. tenuissima*, *Aspergillus niger*, and *Trichoderma sp* cause mortalities of 72.22%, 72.22%, 72.22%, and 66.67%, respectively, at a dose of 2 g/l. In contrast, for ingestion treatment, the corrected mortalities recorded are 88.89%, 88.89%, 77.78%, and 66.67% for *A. alternaria*, *A. tenuissima*, *Aspergillus niger*, and *Trichoderma sp*, respectively. The DL50 of *A. tenuissima* and *A. alternata* shows substantially equal values, namely 1.17 and 1.20 g/l, respectively. These values are even lower for ingestion treatment, standing at 0.65 and 0.88 g/l, respectively. However, *Aspergillus niger* and *Trichoderma sp* also display similar DL50 values, indicating comparable or superior activity to the two preceding endophytic fungi. For *Trichoderma sp*, the DL50 values are 1.79 for both contact and ingestion treatments, while they are 1.47 for *Aspergillus niger* in both cases. The lethal time (TL50) for *A. alternata* is 108.62 hours or 4.53 days after contact treatment, whereas for ingestion treatment, the TL50 is 88.02 hours or 3.67 days. In contrast, *A. tenuissima* has a TL50 of 126.65 hours or 5.38 days. *Aspergillus sp* and *Trichoderma sp* differ in their lethal times, which are somewhat higher compared to the two preceding endophytes, with values of 205.52 hours or 8 days and 216.10 hours or 9 days for contact treatment, and 152.22 hours or 6.34 days and 172.86 hours or 7.20 days for ingestion treatment. The fungal extracts of *A. alternata*, *A. tenuissima*, *A. niger*, and *Trichoderma sp* exhibit inhibitory activity on Acetylcholinesterase, with respective inhibition rates of 62.22%, 73.11%, 53.77%, and 80% after 15 minutes. FTIR-ATR analysis of fungal extracts reveals common groups in *A. Alternata* and *A. tenuissima*, including sulfone, nitro, imine, enol ether, alkyne, and hydroxyl. Sulfones are absent in *Aspergillus niger* and *Trichoderma sp*, but they share alcohol, nitro, imine, alkyne, and hydroxyl groups. GC-MS analysis of fungal extracts from *Aspergillus sp* has identified volatile insecticidal metabolites, including Hexahydro-1H-cyclopenta[c]isoxazole-4,5,6-triol, 2,3,4,4a,5,6,7,8-octahydro-1H-naphthalene-1,8a-diol, and 2-ethyl-3-hydroxyhexyl propanoate. Similarly, analysis of fungal extract from *Alternaria tenuissima* has revealed the presence of volatile insecticidal metabolites such as phenol 3,5-bis(1,1-dimethylethyl), phenol 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)-4-methyl-, and 2,6-di-tert-butyl-4-methylphenol. Examination of fungal extract from *Alternaria alternata* has identified similar volatile insecticidal metabolites, including phenol 3,5-bis(1,1-dimethylethyl), phenol 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)-4-methyl-, 2,6-di-tert-butyl-4-methylphenol, 1,3-pentanediol 2,2,4-trimethyl-, and 2,3,4,4a,5,6,7,8-octahydro-1H-naphthalene-1,8a-diol. Finally, analysis of fungal extract from *Trichoderma sp* has highlighted the presence of volatile insecticidal metabolites such as curlone, phenol 2,6-bis(1,1-dimethylethyl), and phenol 3,5-bis(1,1-dimethylethyl).

Keywords: Insecticidal activity, endophytic fungi, common castor, *L.Migratori*

ملخص

هذه الدراسة تسلط الضوء على الخصائص المبيدة للحشرات لدى الفطريات الداخلية مثل *Trichoderma sp* و *A. niger* و *A. tenuissima* و *A. alternata* المستخلصة من نبات الخروع وتم اختبارها ضد الجراد *L. migratoria*. تتميز هذه الفطريات بإنتاج مستقلبات ثانوية متطايرة وغير متطايرة

كشفت التحليل الكيمائي الأولي للمستخلصات الفطرية عن وجود الفينولات والقلويدات والترينويدات والصابونينات للفطرين *A. Tenuissima* و *Trichoderma sp* بينما أظهرت مستخلصات *A. niger* و *A. alternata* وجود متعدد الفينولات والعفص جميع المستخلصات الفطرية خالية من الفلافونويدات

تم إثبات النشاط المبيد للحشرات للمستخلصات الفطرية، ولكن تختلف فعاليتها حسب نوع الفطر الداخلي والجرعة ووقت التعرض لعلاج .

الملازمة، تسببت الفطريات حالة *Trichoderma sp* و *Aspergillus niger* و *A. tenuissima* و *A. alternaria* في

نسب نفوق بلغت 72.22% و 72.22% و 66.67% على التوالي عند جرعة 2 غ/ل

أما في حالة العلاج بالابتلاع، فقد سجلت نسب النفوق المعدلة 88.89% و 88.89% و 77.78% و 66.67% لنفس الفطريات على التوالي

تبين أن الجرعة المميّنة النصفية DL50 متقاربة للفطرين *A. alternata* و *A. tenuissima* حيث بلغت 1.17 و 1.20 غ/ل

انخفضت هذه القيم أكثر في حالة العلاج بالابتلاع حيث سجلت 0.65 و 0.88 غ/ل على التوالي من ناحية أخرى، أظهر *Trichoderma sp*

و *Aspergillus niger* قيم DL50 متشابهة مما يشير إلى نشاط مماثل أو متفوق مقارنة بالفطرين السابقين

بالنسبة ل *Trichoderma sp* DL 50 هو 1.79 للعلاج عن طريق التلامس والابتلاع

في حين أنه 1.47 بالنسبة ل *A. niger*

في حين أن TL50 بلغ 108.62 ساعة بالنسبة ل *A. alternata* أي ما يعادل 4,53 أيام بعد المعالجة عن طريق التلامس

TL50 للمعالجة عن طريق الابتلاع هو 88,02 ساعة، أي ما يعادل 3,67 أيام

أما بالنسبة للفطر *Alternaria tenuissima* TL50 يساوي 126,65 ساعة، أي ما يعادل 5,38 أيام

Trichoderma و *Aspergillus sp.* يتميزان بأزمنة قاتلة أعلى نوعاً ما مقارنة بالفطرين الداخليين السابقين، حيث يبلغ 205.5 ساعة أي 8 أيام

و 216,10 ساعة أي 9 أيام في حالة المعالجة بالتلامس

152.22 ساعة اي 6,34 أيام، 172,86 ساعة أي 7,20 أيام في حالة المعالجة بالابتلاع

أظهرت المستخلصات الفطرية *A. alternata*, *A. tenuissima*, *A. Niger*, *Trichoderma sp*

نشاطاً مثبطاً على الأسيتيل كولينستريز بمعدلات تثبيط متغيرة يبلغ 62.22%, 73.11%, 53.77%, 80% بعد 15 دقيقة للمستخلصات الفطرية

تُظهر تحاليل FTIR-ATR للمستخلصات الفطرية *Alternaria tenuissima* و *Alternaria alternata* تحتويان على مجموعات

وظيفية مشتركة، وهي: السلفون، النيترو، الإيمين، إيثر الإينول، الألكاين، والهيدروكسيل. أما السلفونات، فلا توجد لا في

Trichoderma sp ولا في *Aspergillus niger*

أظهر تحليل GC-MS لمستخلصات الفطر *Aspergillus niger* وجود عدد من المستقلبات الطيارة ذات خصائص حشرية سامة .

من بين هذه المركبات التي تم التعرف عليها نذكر

Hexahydro-1H-cyclopenta[c]isoxazole-4,5,6-triol•2,3,4,4a,5,6,7,8-octahydro-1H-naphthalene-1,8a-diol, 2 ethyl-3-hydroxyhexyl propanoate

وبالمثل، كشفت تحليل مستخلص الفطر *Alternaria tenuissima* عن وجود مستقلبات طيارة ذات خصائص حشرية سامة

Phenol 3,5-bis(1,1-dimethylethyl), phenol 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)-4-methyl-, and 2,6-di-tert-butyl-4-methylphenol

أظهر فحص مستخلص الفطر *Alternaria alternata* وجود مستقلبات طيارة مشابهة ذات خصائص حشرية سامة، من بينها

Phenol 3,5-bis(1,1-dimethylethyl), phenol 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)-4-methyl-, 2,6-di-tert-butyl-4-methylphenol,

1,3-pentanediol 2,2,4-trimethyl-, and 2,3,4,4a,5,6,7,8-octahydro-1H-naphthalene-1,8a-diol.

وأخيراً، أبرز تحليل مستخلص الفطر *Trichoderma sp* وجود مستقلبات طيارة ذات خصائص حشرية سامة، مثل

Curlone, phenol 2,6-bis(1,1-dimethylethyl), and phenol 3,5-bis(1,1-dimethylethyl)

الكلمات المفتاحية: النشاط الحشري، الفطريات الداخلية، الخروع الشائع، *L. Migratoria*

Liste des abréviations

% : pourcentage

° C : degrés Celsius

µg : microgramme

µm : micromètre

CE50 : concentration efficace médiane

CI50 : concentration inhibitrice médiane

CILSS : Comité Inter-États de lutte contre la Sécheresse dans le Sahel

Cm : centimètre

CMI : concentration minimale inhibitrice

DL50 : dose létale médiane

EAG: milligrammes équivalents d'acide gallique

EAO : milligrammes équivalents d'acide oléanolique

EAT : milligrammes équivalents d'acide tannique

Ev : électronvolt

Fe : Fer

H : heure

Mg : milligramme

ml : millilitre

mM : Mili molaire

mm : millimètre

Ni : nickel

Nm : nanomètres

P : potassium

PDA : Potato dextrose agar

PDB : Potato dextrose broth

PH : potentiel hydrogène ppm : partie par million

TL50 : Temps létale médiane

U : unités

Zn : Zinc

EA : milligrammes équivalents de l'atropine

Liste des figures

Figure 1. Arbuste et organes du ricin commun.....	6
Figure 2. Œufs de <i>Locusta migratoria cinerascens</i>	22
Figure 3. Stades larvaires de <i>Locusta migratoria</i>	23
Figure 4. Adultes mâles et femelles de <i>Locusta migratoria</i>	23
Figure 5. Stades embryonnaires de <i>L. migratoria</i> après la ponte.....	24
Figure 6. Feuilles de <i>Ricinus communis</i>	29
Figure 7. Méthode d'isolement et identification des champignons endophytes associés aux feuilles de ricin commun <i>Ricinus communis</i>	30
Figure 8. Fermentation submergée et production des extraits fongiques.....	32
Figure 9. Cage d'élevage de <i>Locusta migratoria</i>	32
Figure 10. Dispositif expérimental des traitements par contact et ingestion de <i>L. migratoria</i>	33
Figure 11. Lecteur de plaques	34
Figure 12. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) en mode réflexion totale atténuée (ATR).....	36
Figure 13. Analyse GC-MS des composants volatiles des extraits et des hyphes fongiques	37
Figure 14. Colonie de champignon endophyte d' <i>Alternaria alternata</i> , Conidiophore et Conidie et chaîne acropétale.....	42
Figure 15. Colonie de champignon endophyte d' <i>Alternaria tenuissima</i> , Conidiophore et Conidie.....	43
Figure 16. Colonie de champignon endophyte d' <i>Aspergillus niger</i> , Tête aspergillaire et Conidies sphériques.....	43
Figure 17. Colonie de champignon endophyte de <i>Trichoderma sp</i> Phialides et Conidies.....	44
Figure 18. Colonie de champignon endophyte de <i>Gliocladium sp</i> Phialides et Conidies.....	44
Figure 19. Fréquences de colonisation des champignons endophytes de <i>R. communis</i>	46
Figure 20. Extraits des champignons endophytes des feuilles de <i>R. communis</i>	47
Figure 21. Analyse chimique préliminaire des extraits fongiques.....	48

Figure 22. Toxicité des champignons endophytes en fonction des doses sur <i>L.migratoria</i> après traitement par contact	52
Figure 23. Toxicité des champignons endophytes en fonction des doses sur <i>L.migratoria</i> après traitement par ingestion	52
Figure 24. Droite de régression de la mortalité en probit après traitement par contact (DL 50) (<i>Alternaria alternata</i>)	54
Figure 25. Droite de régression de la mortalité en probit après traitement par contact (DL 50) (<i>Alternaria tenuissima</i>).....	54
Figure 26. Droite de régression de la mortalité en probit après traitement par contact (DL 50) (<i>Aspergillus niger</i>).....	54
Figure 27. Droite de régression de la mortalité en probit après traitement par contact (DL 50) (<i>Trichoderma</i> sp).....	54
Figure 28. Droite de régression de la mortalité en probit après traitement par ingestion (DL 50) (<i>Alternaria alternata</i>).....	55
Figure 29. Droite de régression de la mortalité en probit après traitement par ingestion (DL 50) (<i>Alternaria tenuissima</i>).....	55
Figure 30. Droite de régression de la mortalité en probit après traitement par ingestion (DL 50) (<i>Aspergillus niger</i>)	55
Figure 31. Droite de régression de la mortalité en probit après traitement par ingestion (DL 50) (<i>Trichoderma</i> sp)	55
Figure 32. Toxicité temporelle des champignons endophytes en fonction des doses sur <i>L.migratoria</i> après traitement par contact.....	57
Figure 33. Toxicité temporelle des champignons endophytes en fonction des doses sur <i>L.migratoria</i> après traitement par ingestion.....	57
Figure 34. Effets morphologiques et pigmentaires des traitements par les extraits fongiques sur <i>Locusta Migratoria</i>	59
Figure 35. Inhibition d'Acétylcholinestérase à 0 minutes pour les différents extraits fongiques.....	68
Figure 36. Inhibition d'Acétylcholinestérase à 15 minutes pour les différents extraits fongiques.....	73
Figure 37. Extraits d' <i>A. alternata</i> et d' <i>A. tenuissima</i>	75
Figure 38. Extraits d' <i>Aspergillus niger</i> et <i>Trichoderma</i> sp.....	75
Figure 39. Courbes d'étalonnage pour le dosage des métabolites secondaires	77
Figure 40. Chromatogrammes des extraits fongiques endophytes	81

Figure 41. Chromatogrammes des Composants volatils du champignon endophyte <i>A. niger</i>	87
Figure 42. Chromatogrammes des Composants volatils du champignon endophyte <i>A. alternata</i>	90
Figure 43. Chromatogrammes des Composants volatils du champignon endophyte <i>A. tenuissima</i>	93
Figure 44. Chromatogrammes des Composants volatils du champignon endophyte <i>Trichoderma</i> sp.....	97

Liste des tableaux

Tableau 1. Métabolites secondaires des extraits fongiques.....	48
Tableau 2. Toxicité des champignons endophytes sur <i>L. migratoria</i> après traitement par contact et ingestion en fonction des doses	52
Tableau 3. DL ₅₀ en g/l après traitement par contact et ingestion.....	53
Tableau 4. Newman-Keuls (SNK) / Analyse des différences entre les modalités avec un intervalle de confiance à 95%	56
Tableau 5. Groupe forme par les champignons endophytes calculé sur la base du test de Newman-Keuls	56
Tableau 6. Toxicité temporelle (TL ₅₀)_des champignons endophytes sur <i>L. migratoria</i>	57
Tableau 7. TL ₅₀ des champignons endophytes après traitements par contact et ingestion sur <i>L. migratoria</i>	58
Tableau 8. L'analyse de la variance ANOVA des taux d'inhibition d'Acétylcholinestérase à 0 minutes pour <i>Alternaria alternata</i>	63
Tableau 9. Newman-Keuls (SNK) / Analyse des différences entre les modalités avec un intervalle de confiance à 95% (0 minutes, <i>Alternaria alternata</i>).....	64
Tableau 10. Groupes homogènes des moyennes estimées d'inhibition d'Acétylcholinestérase à 0 minutes pour <i>Alternaria alternata</i>	64
Tableau 11. L'analyse de la variance ANOVA des taux d'inhibition d'Acétylcholinestérase à 0 minutes pour <i>Alternaria tenuissima</i>	65
Tableau 12. Newman-Keuls (SNK) / Analyse des différences entre les modalités avec un intervalle de confiance à 95% (0 minutes, <i>Alternaria tenuissima</i>).....	65
Tableau 13. Groupes homogènes des moyennes estimées d'inhibition d'Acétylcholinestérase à 0 minutes pour <i>Alternaria tenuissima</i>	66
Tableau 14. L'analyse de la variance ANOVA des taux d'inhibition d'Acétylcholinestérase à 0 minutes pour <i>Aspergillus niger</i>	66
Tableau 15 . Newman-Keuls (SNK) / Analyse des différences entre les modalités avec un intervalle de confiance à 95% (0 minutes, <i>Aspergillus niger</i>).....	66
Tableau 16. Groupes homogènes des moyennes estimées d'inhibition d'Acétylcholinestérase à 0 minutes pour <i>Aspergillus niger</i>	67

Tableau 17. L'analyse de la variance ANOVA des taux d'inhibition d'Acétylcholinestérase à 0 minutes pour <i>Trichoderma</i> sp.....	67
Tableau 18. Newman-Keuls (SNK) / Analyse des différences entre les modalités avec un intervalle de confiance à 95% (0 minutes, <i>Trichoderma</i> sp	67
Tableau 19 . Groupes homogènes des moyennes estimées d'inhibition d'Acétylcholinestérase à 0 minutes pour <i>Trichoderma</i> sp.....	68
Tableau 20. L'analyse de la variance ANOVA des taux d'inhibition d'Acétylcholinestérase à 15 minutes pour <i>Alternaria alternata</i>	68
Tableau 21. Newman-Keuls (SNK) / Analyse des différences entre les modalités avec un intervalle de confiance à 95% (15 minutes, <i>Alternaria alternata</i>).....	69
Tableau 22. Groupes homogènes des moyennes estimées d'inhibition d'Acétylcholinestérase à 15 minutes pour <i>Alternaria alternata</i>	69
Tableau 23. L'analyse de la variance ANOVA des taux d'inhibition d'Acétylcholinestérase à 15 minutes pour <i>Alternaria tenuissima</i>	69
Tableau 24. Newman-Keuls (SNK) / Analyse des différences entre les modalités avec un intervalle de confiance à 95% (15 minutes, <i>Alternaria tenuissima</i>).....	70
Tableau 25. Groupes homogènes des moyennes estimées d'inhibition d'Acétylcholinestérase à 15 minutes pour <i>Alternaria tenuissima</i>	70
Tableau 26. L'analyse de la variance ANOVA des taux d'inhibition d'Acétylcholinestérase à 15 minutes pour <i>Aspergillus niger</i>	70
Tableau 27. Newman-Keuls (SNK) / Analyse des différences entre les modalités avec un intervalle de confiance à 95% (15 minutes, <i>Aspergillus niger</i>).....	71
Tableau 28 . Groupes homogènes des moyennes estimées d'inhibition d'Acétylcholinestérase à 15 minutes pour <i>Aspergillus niger</i>	71
Tableau 29. L'analyse de la variance ANOVA des taux d'inhibition d'Acétylcholinestérase à 15 minutes pour <i>Trichoderma</i> sp.....	72
Tableau 30. Newman-Keuls (SNK) / Analyse des différences entre les modalités avec un intervalle de confiance à 95% (15 minutes, <i>Trichoderma</i> sp).....	72
Tableau 31. Groupes homogènes des moyennes estimées d'inhibition d'Acétylcholinestérase à 15 minutes pour <i>Trichoderma</i> sp.....	72
Tableau 32. Teneurs en polyphénols, tanins, alcaloïdes et saponines des extraits fongiques.....	78

Tableau 33. Taux des polyphénols totaux des endophytes de la plante <i>Eugenia jambolana</i> (Myrtaceae)	79
Tableau 34. Les taux de saponines totaux des filtrats des champignons endophytes d' <i>Aralia elata</i> (Araliaceae).....	80

Sommaire

CHAPITRE I

TAXONOMIE ET CARACTERISTIQUES BOTANIQUES ET ECOLOGIQUES DU RICIN COMMUN *RICINUS COMMUNIS* L.

INTRODUCTION.....	1
I. SYSTEMATIQUE ET SYNONYMIE DE <i>RICINUS COMMUNIS</i> L....	4
1. Taxonomie.....	4
2. Synonymie.....	4
II. CARACTERISTIQUES BOTANIQUES	5
1. Système racinaire.....	5
2. Tige.....	5
3. Feuilles	5
4. Fleurs	5
5. Fruit	5
6. Graines.....	5
III. DISTRIBUTION GEOGRAPHIQUE ECOLOGIE	5
1. Distribution géographique.....	5
2. Ecologie.....	6
IV. COMPOSITION CHIMIQUE	7
V. IMPORTANCE AGRONOMIQUE ET MEDICALE ET INDUSTRIELE	7
1. Importance agronomique.....	7
1.1. Fertilisation organique.....	7
1.2. Activité insecticide.....	7
1.3. Activité acaricide	8
1.4. Activité fongicide	8
1.5. Activité nématocide	9
2. Intérêt médicinale et industrielle	9

CHAPITRE II
REVUE BIBLIOGRAPHIQUE SUR LES CHAMPIGNONS
ENDOPHYTES

I. TAXONOMIE ET COLONISATION DES CHAMPIGNONS	
ENDOPHYTES	11
1. Taxonomie des champignons endophytes...	11
1.1. Endophytes <i>Clavicipitaceae</i> (Classe I)	11
1.2. Endophytes <i>non-Clavicipitaceae</i> (Classe II)	11
1.3. L Endophytes <i>non-Clavicipitaceae</i> (Classe III)	11
1.4. Endophytes <i>non-Clavicipitaceae</i> (Classe IV)	11
2. Colonisation des tissus des végétaux	12
II. TRANSMISSION ET INTERACTION PLANTE-CHAMPIGNONS	12
1. Transmission des champignons endophytes	12
1.1. Transmission verticale	12
1.2. Transmission horizontale	13
2. Interaction plante- champignons endophytes	13
III. ROLES DES CHAMPIGNONS ENDOPHYTES	13
1. Rôles physiologiques	13
1.1. Solubilisation du phosphore	13
1.2. Production des Sidérophores	14
1.3. Production des phytohormones	14
2. Rôles en protection des végétaux	15
2.1. Insectes	15
2.2. Nématodes	16
2.3. Champignons phytopathogènes	16
2.4. Mauvaises herbes	18
3. Rôles des facteurs abiotiques	19
3.1. Tolérance aux métaux lourds	19
3.2. Tolérance à la sécheresse	19
3.3. Tolérance à la salinité	20

CHAPITRE III
CARACTERES MORPHOLOGIQUES ET BIOECOLOGIQUES
DE *LOCUSTA MIGRATORIA CINERASCENS* (FABRICIUS, 1781).

I. POSITION SYSTEMATIQUE ET SYNONYMIE.....	21
1. Taxonomie	21
2. Synonymes	21
3. Noms communs	21
II. CARACTERES MORPHOLOGIQUES	22
1. Description.....	22
1.1. Les œufs.....	22
1.2. Larves.....	22
1.3. Adultes	22
III. CARACTERES BIOLOGIQUES.....	23
1. Cycle biologique	23
2. Transformation phasaire	25
IV .ECOLOGIE ET DISTRIBUTION GEOGRAPHIQUE.....	25
1. Exigences écologiques	25
2. Régime alimentaire	26
V. DEGATS ET MOYENS DE LUTTE.....	26
1. Dégâts.....	26
2. Moyens de lutte	26
2.1. Lutte préventive.....	26
2.2. Lutte chimique	26
2.3. Lutte biologique.....	27

CHAPITRE IV
PARTIE EXPERIMENTALE

I. MATERIEL ET METHODES.....	29
1. Matériel végétale.....	29
1.1. Isolement et identification	29
1.2. Fréquence de colonisation.....	31

1.3. Fermentation submergée et production des extraits fongiques...	31
2. Matériel acridien.....	31
2.1. Elevage de masse de <i>L. migratoria</i>	31
3. Dispositif expérimental.....	32
4. Traitement de <i>L. migratoria</i> par contact et ingestion	33
4.1. Traitement par contact	33
4.2. Traitement par ingestion.....	33
4.3. Calcul de la mortalité corrigée.....	34
5. Test d'inhibition d'Acétyl cholinestérase	34
6. Analyse chimique des extraits fongiques.....	35
5. Analyse spectroscopie d'infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) en réflexion totale atténuée (ATR) des extraits.....	35
6. Analyse des composants volatiles des extraits fongiques.....	36
7. Analyse des composants volatiles produits des hyphes fongiques ..	36
8. Dosage de la teneur en métabolites secondaires des extraits fongiques.....	38
8.1. Dosage du teneur en polyphénols totaux.....	38
8.2. Dosage de la teneur en alcaloïdes totaux.....	38
8.3. Dosage de la teneur en saponines totaux.....	39
8.4. Dosage de la teneur en tanins totaux.....	40
9. Analyses statistiques.....	41
II. RESULTATS ET DISCUSSION.....	42
1. Composition et critères d'identification d'isolats fongiques.....	42
1.1. <i>Alternaria alternata</i>	42
1.2. <i>Alternaria tenuissima</i>	42
1.3. <i>Aspergillus niger</i>	43
1.4. <i>Trichoderma sp</i>	44
1.5. <i>Gliocladium sp</i>	44
2. Fréquence de colonisation d'isolats fongiques	45
3. Fermentation submergée et production des extraits fongiques.....	46
4. Analyse chimique préliminaire des extraits fongiques.....	47
5. Traitement par contact et par ingestion.....	51
5.1. Evolution de la toxicité selon la dose.....	51

5.2. Détermination de la DL ₅₀	53
5.3. Evolution de la toxicité temporelle	56
5.4. Détermination de la TL ₅₀	58
5.5. Modifications physiologiques.....	58
6. Inhibition d'Acétyl cholinestérase par les extraits fongiques.....	63
7. Analyse spectroscopie d'infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) en réflexion totale atténuée (ATR) des extraits fongiques.....	74
8. Dosage du teneur de métabolites secondaires.....	77
9. Analyse des composants volatils des extraits fongiques.....	80
III. DISCUSSION GENERALE.....	100
IV. CONCLUSION GENERALE.....	105
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	107

INTRODUCTION

Les criquets sont présentés dans l'ancien testament comme la huitième plaie d'Égypte (Dajoz, 1983), et ils sont considérés au même titre que les catastrophes naturelles les plus terrifiantes (Pasquier & Gerbinot, 1945). Les Acridiens ravageurs, contre lesquels l'homme est en guerre permanente pour défendre ses récoltes. Ils sont capables de migrations car ils ont la capacité de passer d'une phase solitaire à une phase grégaire qui constitue la phase la plus dangereuse pour les cultures. Ce phénomène est identifié comme polymorphisme phasaire, dont l'occurrence est principalement conditionnée par la densité des criquets, induisant ainsi la création d'essaims impressionnants qui engendrent des dommages significatifs aux cultures (Sangbaramou *et al.*, 2018). En effet, les criquets, locustes et sauteriaux, constituent l'un des problèmes majeurs de défense des cultures pour toute la zone soudano-sahélienne, des îles du Cap-Vert au Tchad. Tous les pays regroupés au sein du CILSS sont concernés ; ils sont à la ligne de front face à ce fléau. En 1986, 35 millions de dollars ont été consacrés à la lutte contre les criquets dans les différents États du Comité Inter-États de lutte contre la Sécheresse dans le Sahel (CILSS) (Lecoq, 1988).

L'Algérie a connu de nombreuses invasions acridiennes au cours de son histoire, en particulier par le criquet migrateur (*Locusta migratoria*), une espèce largement répandue et connue pour son potentiel destructeur sur les cultures agricoles.

Au XX^e siècle, l'Algérie a connu plusieurs épisodes majeurs d'invasion. Entre 1930 et 1935, de vastes essaims ont été signalés dans le Sud algérien, s'étendant jusqu'aux Hauts Plateaux. Une autre vague d'infestation a eu lieu entre 1954 et 1956, causant des dégâts considérables aux cultures agricoles. Plus récemment, durant la période 1987-1989, une invasion acridienne d'ampleur régionale a touché l'ensemble de l'Afrique du Nord, dont l'Algérie, nécessitant des campagnes intensives de lutte chimique (Launois & Launois-Luong, 1988). Dans les années 2000, des foyers larvaires ont été détectés dans les régions sahariennes, notamment à Tamanrasset, Illizi et Adrar. Ces zones sont particulièrement sensibles en raison de leur proximité avec les aires de reproduction traditionnelles situées dans le Sahel (Niger, Mali, Mauritanie) et de leur régime pluviométrique instable qui peut déclencher des explosions démographiques chez les criquets (Cirad, 2004).

Le Criquet migrateur est très largement répandu dans l'Ancien Monde. On le trouve en Afrique, au sud du Sahara, dans la péninsule Arabique et Indo-Pakistanaise, en Europe ainsi que sur les bords de la Méditerranée, en Asie orientale ainsi qu'en Australie (Cirad, 2024). L'espèce *migratoria* comprend au moins une douzaine de sous-espèces, chacune possédant

des particularités bioécologiques liées aux caractéristiques éco climatiques de leur domaine d'existence (Cirad, 2024). *Locusta migratoria* est l'espèce de locuste qui a la plasticité écologique et l'extension géographique les plus grandes (Launois-Luong & Lecoq, 1993). A l'état grégaire il forme d'énormes essaims qui causent des dégâts qui dépassent le seuil économiquement supportable dans les zones subtropicales, les fellahs payent alors un lourd tribut sur le plan financier. Mais ces invasions sont devenues rares en Afrique, mais se produisent encore une à deux fois tous les 10 ans. Elles sont très improbables en zone tempérée (Cirad, 2024). Par ailleurs les orthoptères criquets, sauterelles, grillons sont des marqueurs écologiques de la structure physique des milieux qu'ils occupent. La diversité d'un peuplement traduit la diversité des niches écologiques en lien avec l'étagement de la végétation (Richaud & Delauge, 2015). En d'autres termes, ils sont des bioindicateurs importants de la santé des écosystèmes en raison de leurs préférences spécifiques en matière d'habitat et de leur sensibilité à tout changer dans leurs biotopes (Wysiecki *et al.*, 2011).

Ils sont également des marqueurs écologiques de la structure physique des milieux qu'ils occupent. La diversité d'un peuplement traduit la diversité des niches écologiques en lien avec l'étagement de la végétation, la hauteur et la densité de la strate herbacée, la présence de surfaces nues, le degré d'humidité du milieu, les températures moyennes, etc (Richaud & Delauge, 2015). Bien que les orthoptères soient moins sensibles aux insecticides, la plupart des insectes sont décimés par l'agriculture chimique dite conventionnelle, en particulier les insectes pollinisateurs et auxiliaires à l'homme en raison de l'utilisation de pesticides neurotoxiques pour lutter contre les insectes. En effet, le contrôle des insectes, en général, repose en grande partie sur de vastes campagnes chimiques de lutte antiacridienne largement majoritaires à l'heure actuelle qui nécessitent l'application de quantités considérables d'insecticides chimiques englobant les organophosphorés, les carbamates, les pyréthrinoides et les régulateurs ou inhibiteurs de croissance (Shuping & Eloff, 2017 ; Zhang & Lecocq, 2021). Malgré leur rentabilité et leur efficacité, il est impératif de mettre en place une réglementation environnementale plus stricte quant à utilisation des insecticides quel que soit leur nature, car ils constituent un péril de par non seulement les problèmes de résistance des insectes aux insecticides, mais aussi, la pollution environnementale et les conséquences préjudiciables sur le bien-être humain qu'ils engendrent (Shuping & Eloff, 2017 ; Berestetskiy & Hu, 2021). D'après Zhang et Lecoq (2021), l'une des alternatives les plus prometteuses aux pesticides chimiques est la lutte biologique qui a déjà utilisé comme agents biologiques la microsporidienne *Nosema locustae* et le champignon *Metarhizium acridum*, qui ont tous deux été assez largement utilisés dans le contrôle. En effet, il est connu que les acridiens

possèdent beaucoup d'ennemis naturels aussi bien vertébrés qu'invertébrés : prédateurs, parasitoïdes, parasites, agents pathogènes (champignons, bactéries, protozoaires, virus) qui entraînent leur mort (Greathead *et al.*, 1994). C'est pourquoi avons-nous jugé utile d'étudier l'impact des champignons endophytes sur *Locusta migratoria* afin de contribuer à l'amélioration de la stratégie de lutte anti-acridienne. Ceux-ci sont reconnus comme l'un des ensembles biologiques les plus encourageants pour la préservation des cultures contre une multitude d'insectes nuisibles y compris les acridiens, en générant des composés métaboliques secondaires bioactifs ayant une action insecticide (Yan *et al.*, 2018 ; Toghueo, 2019 ; Kaur, 2020). Les champignons endophytes produisent également des métabolites secondaires naturels bioactifs identiques ou similaires à ceux produits par leurs plantes hôtes et avec une diversité chimique exceptionnelle et un large spectre d'activités biologiques (Momesso *et al.*, 2008 ; Toghueo, 2019). Les extraits de champignons endophytes isolés du ricin (*Ricinus communis*) pourraient exercer une activité insecticide notable contre le criquet migrateur (*Locusta migratoria*). Cette activité pourrait s'expliquer par divers mécanismes biologiques, notamment des effets neurotoxiques perturbant la transmission synaptique, des altérations des processus digestifs entraînant une inhibition de l'assimilation des nutriments, ou encore une interférence avec les hormones de mue, perturbant ainsi le développement et la métamorphose des insectes. L'identification et la caractérisation de ces effets ouvrent des perspectives prometteuses pour le développement de bio-insecticides d'origine fongique, respectueux de l'environnement. Partant de cela, la présente étude consiste en une étude sur l'activité insecticide des extraits des champignons endophytes présents dans les feuilles du ricin commun *Ricinus communis* L. (Euphorbiaceae, Malpighiales) contre le criquet migrateur *Locusta migratoria* L. (Oedipodinae, Acrididae).

CHAPITRE I
TAXONOMIE ET CARACTERISTIQUES BOTANIQUES DU RICIN
COMMUN *Ricinus Communis* L.

I. TAXONOMIE ET SYNONYMIE DE *Ricinus communis* L.

1. Taxonomie

Selon Jitendra & Gupta (2012), la classification du ricin comme est comme suit :

Règne..... Plantae

Ordre..... Malpighiales

Famille..... Euphorbiaceae

Sous famille... Acalyphoideae

Genre..... Ricinus

Espèce..... *Ricinus Communis* L.

2. Synonymie

Ricinus africanus Mill; *Ricinus angulatus* Thunb.; *Ricinus armatus* Andrews; *Ricinus atropurpureus* Pax & K. Hoffm; *Ricinus badius* Rchb; *Ricinus cambodgensis* Benary; *Ricinus digitatus* Noronha; *Ricinus europaeus* T. Nees; *Ricinus giganteus* Pax & K. Hoffm.; *Ricinus glaucus* Hoffmanns.; *Ricinus hybridus* Besser; *Ricinus inermis* Mill.; *Ricinus japonicus* Thunb; *Ricinus krappa* Steud; *Ricinus laevis* DC; *Ricinus leucocarpus* Bertol; *Ricinus lividus* Jacq; *Ricinus macrocarpus* Popova; *Ricinus macrophyllus* Bertol.; *Ricinus medicus* Forssk.; *Ricinus medius* J.F. Gmel.; *Ricinus megalospermus* Delile; *Ricinus messeniacus* Heldr; *Ricinus metallicus* Pax & K. Hoffm; *Ricinus microcarpus* Popova; *Ricinus minor* Mill; *Ricinus nanus* Bald; *Ricinus obermannii* Groenl; *Ricinus peltatus* Noronha; *Ricinus perennis* Steud; *Ricinus persicus* Popova; *Ricinus purpurascens* Bertol.; *Ricinus ruber* Miq.; *Ricinus rugosus* Mill.; *Ricinus rutilans* Müll. Arg; *Ricinus sanguineus* Groenl.; *Ricinus scaber* Bertol. ex Moris; *Ricinus speciosus* Burm. f.; *Ricinus spectabilis* Blume; *Ricinus tunisensis* Desf (Paniagua-Zambrana et al.,2020).

II. CARACTERISTIQUES BOTANIQUES

Le ricin commun est appelé castor oil plant en anglais ; الخروع en arabe. Le ricin est un arbuste vivace à croissance rapide atteignant 4 à 5 mètres de hauteur (Figure 1A).

1. Système racinaire

Le système racinaire du ricin est constitué d'une racine principale pivotante plus au moins développée et des racines secondaires latérales (Figure 1B).

2. Tige

La tige de ricin est de couleur rougeâtre à violette, est ramifiée, parfois recouverte d'une couche cireuse et à nœuds bien développés (Figure 1C).

3. Feuilles

Les feuilles sont caduques, alternes, d'environ 15 à 45 centimètres de longueur, d'une couleur qui varie du vert clair au rouge foncé, palmées avec 5 à 11 lobes et possédant un long pétiole (Figure 1D).

4. Fleurs

Le ricin se caractérise par des fleurs mâles et des fleurs femelles insérées sur la même inflorescence sous forme d'une grappe pyramidale qui peut atteindre 1 mètre de hauteur. Les fleurs staminées mâles sont placées sur la partie inférieure de l'inflorescence. Elles ont un calice vert profondément découpé en 3 à 5 segments qui renferme de nombreuses étamines jaunes ramifiées. Par contre les fleurs pistillées femelles occupent la partie supérieure et sont couronnées par trois stylets rouges. Dans certains cas, l'inflorescence peut être formée uniquement par des fleurs pistillées (Figure 1E).

5. Fruit

Le fruit est une capsule épineuse globulaire, tricoque qui s'ouvre à maturité. Lorsqu'il devient dur et cassant, il abandonne la columelle sur laquelle s'insèrent les graines (Figure 1F).

6. Graines

Les graines sont brillantes et tachetées, de 0,8 à 1,9 cm de diamètre, pesant entre 0,08 à 0,9 g par graine et se caractérisent par la présence d'un endosperme et d'un embryon spatulé axialement (Figure 1G) (Shifriss, 1966 ; William *et al.*, 1967 ; Weiss, 2000 ; Ghrabi, 2005 ; Prat *et al.*, 2005 ; Wan, 2006 ; Akande *et al.*, 2012 ; Jitendra & Gupta, 2012 ; Falasca *et al.*, 2013 ; Salihu Bolaji *et al.*, 2014).

III. DISTRIBUTION GEOGRAPHIQUE ET ECOLOGIE

1. Distribution géographique

Le ricin est un arbuste vivace originaire d'Afrique de l'est, néanmoins il se trouve

à l'état sauvage ou cultivé dans de nombreuses régions tropicales, subtropicales, tempérées, arides et semi arides du globe

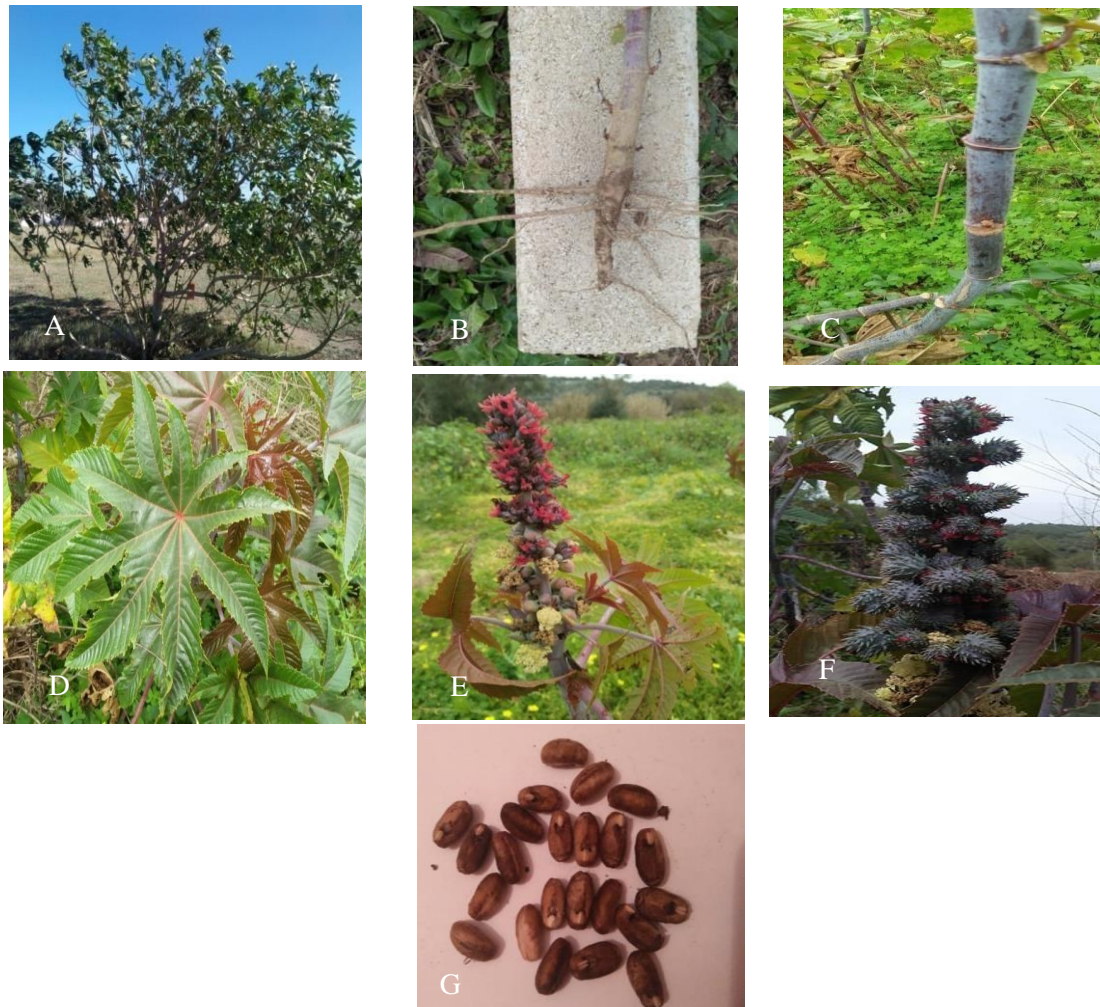


Figure 1. Arbuste et organes du ricin commun. A. Arbuste, B. Système racinaire, C. Tige, D. Feuille, E. Fleurs, F. Fruits, G. Graines (Laib *et al.*,2023)

2. Ecologie

Le ricin tolère la sécheresse et peut pousser sous des précipitations annuelles allant de 200 à 4 290 mm, à une altitude de 300 à 1800 m et une température annuelle allant de 0 à 40 ° C .il a une tolérance modérée au stress salin, mais pas dans les premiers stades de croissance .Il a une grande capacité d'accumulation de Ni, Zn et Fe dans les sols pollués et peut supporter des ph du sol de 4,5 à 8,3. Cependant, il préfère des pluviométries assez élevées de 450 à 1000 mm, une température optimale de 20 à 26° C des pentes qui ne dépassent pas 12%, des sols argileux-siliceux profonds dont le pH ne dépasse pas 7 (Déthiollaz, 2003 ; Pinheiro *et al.*, 2008 ; Rousset *et al.*, 2008 ; Chan *et al.*, 2010 ; Nielsen *et al.*, 2011 ; Radhamani *et al.*, 2012 ; Salihu Bolaji, 2014 ; Kallamadi *et al.*, 2015 ; Lakhani *et al.*, 2015).

IV. COMPOSITION CHIMIQUE

Les feuilles contiennent des alcaloïdes (ricinine et le N-déméthylricinine), des flavonoïdes (kaempferol-3-O-β-D-xylopyranoside, kaempferol-3-O-β-D-glucopyranoside, quercétin-3-O-β-D-xylopyranoside, quercétin-3-O-β-D-glucopyranoside, kaempferol-3-O-β-rutinoside and quercétin-3-O-β-rutinoside), des phénols (l'acide gallique, l'acide gentsique, l'acide ellagique, la quercétine, la rutine et l'épicatéchine) et des terpenoïdes (1,8-cinéole, camphre et α-pinène, β-caryophyllène) (Kang *et al.*, 1985 ; Khogali *et al.*, 1992 ; Kadri *et al.*, 2011 ; Darmanin *et al.*, 2009 ; Jitendra & Gupta, 2012). La tige contient également de la ricinine. Les graines contiennent des stéroïdes (l'ergostérol ; le stigmastérol, le Y-sitostérol, le fucostérol) et les terpénoïdes (Lupéol, 30-Norlupane-3β-ol-20-one) et 45% d'huile qui contient de glycosides, d'acides gras ricinoléique, isoricinoléique, stéarique et dihydroxystéarique, palmitique, arachidique, hexadécénoïque, oléique, linoléique ainsi que des lipases et de la ricinine. L'acide indole-3-acétique (une auxine) est contenu dans les racines. L'huile essentielle du ricin renferme des terpenoïdes (1,8 cinéole, l'α-pinène, le camphre, le camphène, l'α-thujone) (Kang *et al.*, 1985 ; Khogali *et al.*, 1992 ; Kadri *et al.*, 2011 ; Darmanin *et al.*, 2009 ; Jitendra & Gupta, 2012).

IV. IMPORTANCE AGRONOMIQUE, MEDICAL ET INDUSTRIEL

1. Importance agronomique

1.1. Fertilisation organique

L'utilisation de la farine des graines du ricin comme engrais organique est très avantageuse en raison de sa teneur élevée en azote et de sa minéralisation très rapide (7 fois plus rapide que le fumier bovin). Les cosse des graines du ricin peuvent également être utilisées comme engrais organique, mais elles doivent être mélangées avec une matière organique riche en azote pour fournir un meilleur équilibre nutritif pour la croissance des plantes (Lima *et al.*, 2006 ; Salihu Bolaji *et al.*, 2014).

1.2. Activité insecticide

L'extrait méthanolique et d'acétate d'éthyle ont montré un effet insecticide sur les larves de *Bactrocera cucurbitae* (Diptera, Tephritidae) avec des TL₅₀ de 0,22 mg/ml à 0,93 mg/ml. L'extrait méthanolique a également montré un effet insecticide contre *Bactrocera zonata* (Diptera, Tephritidae) avec un TL₅₀ de 2,88 mg/ml. La poudre de feuilles du ricin montre aussi une bonne activité insecticide contre le bruche du haricot, *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera, Chrysomelidae) et la teigne des fruits secs ou pyrale indienne des fruits secs, *Plodia interpunctella* (Lepidoptera, Pyralidae)

(Lagunes ,1993 ; Collavino *et al.*, 2006 ; Rampadarath *et al.*, 2014). L'extrait méthanolique et d'éther de pétrole à 15000 ppm ont également provoqué des taux de mortalités du Charançon du riz (*Sitophilus oryzae*) (Coleoptera, Curculionidae) de 60% à 89% (Calle *et al.*, 1996). D'après Tinzaara *et al.*, (2006), l'application de l'extrait aqueux des feuilles de ricin à 20% inhibe la ponte chez *Cosmopolites sordidus*(Coleoptera,Curculionidae). Aussi, l'effet des extraits des graines et des feuilles du ricin sur *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera, Noctuidae)ont donnés des TL₅₀ qui sont de 750 à 1970 ppm pour les extraits de graines et de 483 à 1001 ppm pour l'extrait de feuilles(Ramos-López *et al.*, 2010).Ces mêmes extraits de graines de ricin macérées 24 heures avant leur application ont causé une mortalité de 50%chez le charançon du piment *Anthonomus eugenii* (Coleoptera, Curculionidae)(Palma & Serrano, 1997).Il en est de même de l'émersion des fragments de feuilles de piment *Capsicum annum* (Solanaceae) pendant 10 secondes dans un extrait aqueux de graines de ricin à 125 000ppm après 72hde macération, provoque une inhibition de la prise alimentaire de *A. eugenii*. Ces différents types d'extraits de ricin montrent des effets insecticide, répulsif et inhibiteur de ponte et de prise alimentaire des insectes ravageurs des cultures grâce à leur composition chimique grâce à la présence d'alcaloïdes et des flavonoïdes (Skursky *et al.*,1969 ; Kang *et al.*, 1985 ; Upsani *et al.*, 2003).

1.3. Activité acaricide.

L'extrait éthanolique provoque des taux de mortalité variant de 35 à 95 % et un taux d'inhibition de la ponte de 36,4 à 63,1% sur les tiques *Rhipicephalus microplus* (Arachnida : Ixodidae) un taux de mortalité de 100% a été enregistré après 24 heures de leur exposition. Le même taux de mortalité a été enregistré, après application conjointe de l'huile du karanja de neem et du ricin, à une dose de 200 mg/ml de l'extrait éthanolique (Ghosh *et al.*, 2013 ; Sudha Rani *et al.*,2018). En outre, ce mélange améliore la croissance de la racine de noix de coco et repousse 90% des de l'acarien du cocotier, *Aceria guerreronis* (Arachnida : Eriophyidae) (Das *et al.*, 2015)

1.4. Activité fongicide

L'application de l'extrait méthanolique des feuilles du ricin à 500 µg/ml a entraîné une inhibition de 71,46% de la croissance mycélienne d'*Aspergillus niger* (Eurotiales : Trichocomaceae) mais, l'extrait éthanolique à 40 mg/ml inhibe, plus efficacement, la croissance mycélienne de 91,10% du Mildiou de la pomme de terre, *Phytophthora infestans* (Hypocreales : Nectriaceae).et de 89,90% du *Fusarium solani* (Hypocreales :

Nectriaceae). Aussi l'huile essentielle des feuilles de ricin démontre une bonne activité antifongique contre *Botrytis cinerea* (Helotiales : Sclerotiniaceae) et *Penicillium digitatum* (Eurotiales : Trichocomaceae). Par ailleurs, l'extrait d'acétone des graines à 52 mg/ml donne des valeurs de concentration minimale inhibitrice de 0,84 pour *Fusarium oxysporum* (Hypocreales : Nectriaceae), 2,50 pour *Pythium ultimum* (Peronosporales : Pythiaceae) , 0,32 pour *Rhizoctonia solani* (Cantharellales : Ceratobasidiaceae), 0,64 pour *Aspergillus parasiticus* (Eurotiales : Trichocomaceae) et *Aspergillus niger* (Eurotiales : Trichocomaceae), 0,53 pour *Phytophthora nicotiana*, 1,05 pour *Colletotrichum gloeosporioides* (Glomerellales : Glomerellaceae), 2,50 pour *Trichoderma harzianum* (Hypocreales : Hypocreaceae) et 0,43 pour *Penicillium expansum* (Eurotiales : Trichocomaceae) (Mdee *et al.*, 2009 ; Zarai *et al.*, 2012 ; Alwan, 2018 ; Carolina *et al.*, 2019).

1.5. Activité nématocide

Un taux de mortalité de 29,67 % des juvéniles J2 des nématodes à galles *Meloidogyne javanica* (Tylenchida : Heteroderidae) a été obtenu après 72 heures d'incubation dans l'extrait méthanolique des parties aériennes de *Ricinus communis* à 100 µg/ml. Egalement, l'incorporation de 30 g de graines broyées du ricin par 2,5 kg de sol éliminent 100 % des juvéniles J2 de *Meloidogyne incognita* (Tylenchida : Heteroderidae) et réduit 67,06% des galles formées sur les racines de la tomate. Similairement, L'application des extraits aqueux et méthanolique du ricin sur des pots contenant des plants de tomates infestés par des juvéniles J2 de *Meloidogyne incognita* (Tylenchida : Heteroderidae) ont montrés des valeurs de TL₅₀ de 0,75 pour l'extrait méthanolique et de 0.83 pour l'extrait aqueux (Mayad *et al.*, 2006 ; Hatipoğlu & Kaşkavalci, 2007 ; Zaidat *et al.*, 2020).

2. Intérêt industriel et médicinal

Les feuilles de ricin soulagent les maux de tête et le rhumatisme (Kota & Manthri, 2011). Les feuilles, les racines et les graines sont utilisées pour la contraception, l'avortement et le traitement des inflammations et des maladies du foie. Elles ont également des propriétés hépato protectrice, diurétique et antibactérienne (Khan *et al.*, 1978 ; Kirtikar & Basu, 1991; Visen *et al.*, 1992; Nath, 2010 ; Kalita *et al.*, 2011). L'huile de ricin est utilisée dans des traitements purgatifs ou laxatifs, en cosmétique comme crèmes solaires, crèmes antirides, pour le soin des durillons, des kystes et de certaines plaies ouvertes. La solution obtenue après décoction des fruits de ricin, est utilisée comme un antidysentérique (Polvèche, 1996).

L'huile de ricin est largement utilisée comme lubrifiant grâce à sa souplesse, résistance mécanique, résistante à des températures de -40 °C à +130°C et elle a une grande affinité à l'égard des surfaces métalliques. Elle est utilisée également dans la fabrication des fibres de nylon, vernis, savons, peintures, biodiesel biodégradable (Polvèche,1996 ; Forero, 2004 ; Perret, 2007; Rousset *et al.*, 2008).

CHAPITRE II

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE SUR LES CHAMPIGNONS ENDOPHYTES

I. TAXONOMIE ET COLONISATION DES CHAMPIGNONS ENDOPHYTES

1. Taxonomie des champignons endophytes

Les champignons endophytes se catégorisent en deux principales catégories : les *Clavicipitaceae* et les non-*Clavicipitaceae*, chacune de ces catégories se subdivise en quatre classes distinctes.

1.1. Les endophytes *Clavicipitaceae* (Classe I)

Ils comprennent Les champignons qui appartiennent aux groupes Ascomycota et Hypocreales, y compris les espèces de *Balanica*, *Neotyphodium*, *Epichloe* et *Claviceps*. Ces champignons se propagent systématiquement à l'intérieur des cellules végétales et sont transmis de manière verticale par le biais des graines. Ils offrent à leurs hôtes divers avantages, tels qu'une augmentation de la biomasse, une résistance à la sécheresse et une protection contre les insectes nuisibles (Rodriguez *et al.*, 2009 ; Mishra *et al.*, 2014).

1.2. Les endophytes non-*Clavicipitaceae* (Classe II)

Ces organismes, qui font partie des Ascomycota et Basidiomycota, colonisent les espaces intracellulaires des plantes en utilisant des appressoria ou en pénétrant directement dans les tissus de l'hôte par le biais des hyphes. Ils sont transmis de manière verticale à travers les graines. De plus, ils favorisent la croissance des plantes et les protègent contre le stress abiotique en absorbant les nutriments (Rodriguez *et al.*, 2009 ; Hardoim *et al.*, 2015 ; Mishra *et al.*, 2015).

1.3. Les endophytes non-*Clavicipitaceae* (Classe III)

Ces organismes, qui font partie des Ascomycota et Basidiomycota, sont exclusivement liés aux parties aériennes d'une variété de plantes. Cela comprend les plantes non vasculaires et vasculaires, les conifères, ainsi que les angiospermes des régions tropicales, boréales, arctiques et antarctiques. Ils se transmettent de manière horizontale (Rodriguez *et al.*, 2009 ; Hardoim *et al.*, 2015).

1.4. Les endophytes non-*Clavicipitaceae* (Classe IV)

Ces champignons se distinguent par leur teinte brune et leur structure cloisonnée. Ils sont principalement classés parmi les Ascomycota, caractérisés par leur stérilité ou leur capacité à former des conidies, ainsi que par la présence de structures telles que les hyphes

et les microsclérotés. Ils se caractérisent par la nature dans leurs hyphes par la présence de mélanine qui leur donne un aspect sombre. Ils se retrouvent souvent associés à des arbustes ou arbres, en particulier les espèces de conifères (Rodriguez *et al.*, 2009). Ils ont un rôle particulièrement important dans les milieux arides, semi-arides, alpins ou subalpins (environnement à haut stress abiotique) (Porrás-Alfaro *et al.*, 2008). Ils se propagent latéralement (Rodriguez *et al.*, 2009), favorisent la croissance de la plante et la préservent des microorganismes pathogènes et des insectes nuisibles en réduisant le taux de carbone dans la rhizosphère et en produisant des métabolites secondaires à effet insecticide (Mandyam & Jumpponen, 2005).

2. Colonisation des tissus des végétaux

Des méthodes de séquençage à haut débit ont récemment permis d'estimer qu'il existe au moins un million d'espèces de champignons endophytes, dont la relation avec les plantes remonte à plus de 400 millions d'années (Mane *et al.*, 2018 ; Yan *et al.*, 2018). Ces champignons endophytes, qui sont pratiquement présents dans toutes les plantes (Wang & Dai, 2011), colonisent les tissus de leurs plantes hôtes sans provoquer de symptômes d'infestation visibles (Porrás Alfaro & Bayman, 2011 ; Kaul *et al.*, 2012). Ils sont omniprésents et colonisent également divers types de plantes, comme les mousses, les plantes non vasculaires, les fougères, les conifères et les plantes à fleurs, y compris celles qui poussent dans différents écosystèmes (désert, toundra arctique, mangroves, forêts tempérées et tropicales, prairies et savanes, ainsi que les terres cultivées) (Yan *et al.*, 2018)

Le champignon endophyte infecte la plante hôte en pénétrant directement dans la paroi cellulaire par les appressoriums et les haustorium ou bien à travers les ouvertures naturelles comme les stomates. Puis il colonise les tissus internes de différentes parties de la plante hôte tels que le système racinaire, les feuilles, les tiges des plantes d'une manière intracellulaire limitée, intercellulaire localisée ou systémique, ou bien intra et intercellulaire à la fois (Sieber, 2002 ; Schulz & Boyle, 2005 ; Stone *et al.*, 2004).

II. TRANSMISSION ET INTERACTION PLANTE-CHAMPIGNONS

1. Transmission des champignons endophytes

1.1. Transmission verticale

La transmission verticale se caractérise par la pénétration des hyphes de formes végétatives des champignons endophytes à l'intérieur des tissus de semences ou la descendance de la plante hôte. Après colonisation, les semences du végétal portent elles-mêmes leur propre inoculum du champignon endophyte (Faeth, 2002)

1.2. Transmission horizontale

La transmission horizontale se caractérise par la dissémination de spores qui sont déposées sur les différentes parties du végétal d'un hôte n'ayant pas de lien avec l'hôte primaire. Après germination l'hyphe pénètre et colonise la nouvelle plante soit par les stomates soit par pénétration directe à travers l'épiderme (Arnold *et al.*, 2001).

2. Interaction plante - champignons endophytes

Les champignons endophytes comprennent des espèces qui sont des saprophytes latents, des mutualistes et des pathogènes latents. Par conséquent, l'interaction entre la plante et l'endophyte peut varier de l'antagonisme au mutualisme (Zabalgoeazcoa, 2008). Certains d'entre eux ont la capacité de survivre et de se développer en tant que saprophytes décomposant la litière après la mort des tissus de leur plante hôte (Zabalgoeazcoa, 2008 ; Unterseher *et al.*, 2013 ; Hirose *et al.*, 2013). Les champignons endophytes mutualistes augmentent la tolérance de la plante hôte au stress d'origine biologique et environnementale (Ullah *et al.*, 2019). En échange, les plantes hôtes approvisionnent des nutriments, une disposition spatiale et, dans le cas d'une transmission verticale, la propagation de ces champignons à la prochaine génération de la plante hôte (Clay, 1988 ; Wolock-Madej & Clay, 1991 ; Knoch *et al.*, 1993 ; Saikkonen *et al.*, 1998 ; Faeth & Fagan, 2002 ; Rudgers *et al.*, 2004). Les pathogènes latents résident à l'intérieur des tissus de la plante sans provoquer de symptômes apparents. Cependant, si la plante est soumise à un stress lors de sa sénescence, les pathogènes produisent des spores et infectent leurs plantes hôtes (Sieber, 2007)

III. ROLES DES CHAMPIGNONS ENDOPHYTES

1. Rôles physiologiques

1.1. Solubilisation du phosphore

Le phosphore est un élément peu mobile dans le sol. Il est disponible sous forme d'ions ortho phosphatés et représente 1 à 5 % de la matière sèche de la plante. Il joue un rôle majeur dans le stockage et le transfert d'énergie (ADP, ATP) nécessaire au transport et à l'absorption des ions dans les processus, de photosynthèse et de respiration d'une part et, d'autre part à la formation des nucléotides, des acides nucléiques des coenzymes et des phospholipides. Ils interviennent non seulement dans le pouvoir germinatif des semences, la croissance et le développement des racines, mais aussi dans l'initiation florale, la formation des grains, des fruits et le développement et la maturation des fruits (Uchida, 2000 ; Ronen, 2007 ; Hamdani, 2020).

L'inoculation des plantes avec les champignons *Penicillium spp*, *Aspergillus awamori*, *Trichoderma sp* améliore les propriétés physico-chimiques et biologiques des sols assurant ainsi, une meilleure stabilité structurale des agrégats du sol et des niveaux plus élevés de carbone dans celui-ci (Kucey *et al.*, 1989 ; Board, 2004 ; Anand *et al.*, 2016 ; Nosheen *et al.*, 2021). Ils solubilisent également de 0,1 à 0,5 % des formes insolubles du phosphore tel que HPO_4 et H_2PO_4 , en formes solubles par la production des acides organiques ayant des groupes hydroxyle et carboxyle qui chélatent le cation P et réduisent également le pH du sol dissolvant ainsi le phosphore lié et le rendent disponible aux plantes (Reddy *et al.*, 2002 ; Antoun, 2012 ; Sharma *et al.*, 2013 ; Itelima *et al.*, 2018 ; Kalayu, 2019 ; Prabhu *et al.*, 2019 ; Nosheen *et al.*, 2021).

1.2. Production des Sidérophores

Le Fer est un microélément immobile disponible sous forme de Fe^{2+} ou Fe^{3+} avec une concentration moyenne dans les tissus végétaux de 100 ppm. Il contribue à la pigmentation et à la respiration des feuilles, la formation et le maintien de la chlorophylle, la formation et l'activation des enzymes des végétaux. En plus, Il assure également la viabilité des microorganismes (Machuca & Milagres, 2003 ; Uchida, 2000 ; Ronen, 2007 ; Hamdani, 2020).

Certains champignons endophytes excrètent des chélateurs spécifiques de Fe^{3+} nommés sidérophores qui permettent la solubilisation du fer du sol pour augmenter et mobiliser le fer nécessaire dans les environs immédiats des racines de la plante pour son activité métabolique (Machuca & Milagres, 2003 ; Kajula *et al.*, 2010 ; Ratul *et al.*, 2012). Parmi ces champignons endophytes, il y a *Phialocephala fortinii* qui a été isolé des racines de *Pinus sylvestris* (Pinales : Pinaceae) (Bartholdy *et al.*, 2001) et *Acremonium sclerotigenum* de *Terminalia bellerica* (Myrtales : Combretaceae) (Prathyusha *et al.*, 2015).

1.3. Production des phytohormones

Les champignons endophytes sont capables de produire ou d'induire la synthèse de phytohormones chez les plantes. L'acide indole-3-acétique, une de ces hormones, favorise la croissance des racines et la production de biomasse végétale. Par exemple, l'analyse des filtrats de *Fusarium tricinctum* RSF-4L et *Alternaria alternata* RSF-6L, isolés des feuilles de *Solanum nigrum*, a révélé la présence de 54 et 30 $\mu\text{g/ml}$ d'acide indole-3-acétique respectivement, stimulant la croissance des plants de riz (Khan *et al.*, 2015). De même, *Fusarium oxysporum*, un champignon endophyte isolé de *Phyllanthus*

niruri (Phyllanthaceae), sécrète des concentrations de 23,52 µg/ml et de 5,95 µg/ml d'acide indole-3-acétique (Junaidi & Bolhassan, 2017).

Les acides gibbérelliques jouent un rôle crucial dans les processus de croissance et de développement des plantes, intervenant dans la germination des graines, l'élongation des tiges, la floraison et le développement des fruits (Leitão & Enguita, 2016). Par exemple, le filtrat d'*Aspergillus clavatus* Y2H0002, isolé de *Nymphoides peltata* (Menyanthaceae), contient des acides gibbérelliques (GA1, GA3 et GA4) qui stimulent la croissance des plantules de riz (You *et al.*, 2015).

D'autres études ont démontré la capacité des champignons endophytes à stimuler la croissance des plantes en utilisant d'autres phytohormones, telles que l'acide abscissique (Dai *et al.*, 2008), l'acide salicylique (Ismail *et al.*, 2018) et les cytokinines (Vadassery *et al.*, 2008)

2. Rôle en protection des végétaux

Les champignons endophytes protègent leur plantes hôtes des insectes, les nématodes, les champignons phytopathogènes et les mauvaises herbes (Sturz *et al.*, 2000 ; Liarzi & Ezra, 2014 ; Ullah *et al.*, 2019).

2.1. Insectes

Les champignons endophytes protègent la plante contre la pullulation des insectes ravageurs par la production de métabolites secondaires ou mycotoxines (Johnson *et al.*, 2013 ; Tripathi *et al.*, 2008). En effet, un mélange d'extrait fongique et de suspensions de spores de 1×10^7 spores/ml d'extrait dissous d'*Isaria fumosorosea* isolé à partir des feuilles de ricin commun, entraîne une mortalité de 80% des adultes du bruché du haricot, *Acanthoscelides obtectus*, coléoptère de la famille des Chrysomelidae après 72h d'application (Laib, 2020a). Il en est de même pour le traitement par émulsions inverses contenant des filtrats et des suspensions conidiennes du champignon endophyte *Cladosporium oxysporum* isolé à partir des tiges d'*Euphorbia bupleuroides* qui provoque une mortalité de 91,94% du puceron noir de la fève, *Aphis fabae* petit insecte de l'ordre des hémiptères et de la famille des aphididés après 48 heures (Bensaci *et al.*, 2015). Aussi, des souches entomopathogènes du champignon endophyte *Beauveria bassiana* isolée à partir des plantes de *Solanum lycopersicum* L et *Musa spp* infectent et tuent le charançon noir du bananier *Cosmopolites sordidus*, coléoptère de la famille des Curculionidae (Akello *et al.*, 2008).

2.2. Nématodes

Les champignons endophytes protègent les plantes hôtes contre les nématodes phytoparasites soit par un processus d'hyper parasitisme impliquant des forces mécaniques sous forme de structures apprésoriales et d'enzymes lytiques pour pénétrer les œufs, les larves et les adultes de nématodes (Curtis *et al.*, 2011 ; Lin *et al.*, 2013 ; Yao *et al.*, 2015), ou soit par la sécrétion des métabolites secondaires ou mycotoxines qui ont un effet toxique contre ces ravageurs. Parmi les isolats fongiques endophytes nématophages *Acremonium implicatum*, *Paecilomyces lilacinus*, *Arthrobotrys oligospora* et *Trichoderma asperellum* peuvent piéger ou attaquer, tuer et dévorer des nématodes dans le sol ou dans les racines (Bordallo *et al.*, 2002 ; Escudero & Lopez-Llorca, 2012 ; Rumbos & Kiewnick, 2006 ; Singh & Mathur, 2010). Les filtrats de culture de plusieurs champignons endophytes du genre *Neotyphodium* spp appliqués au sol, entraînent un effet répulsif et provoquent même une mortalité des larves du nématode, *Meloidogyne incognita* qui est due aux mycotoxines comme la loline, l'ergovaline et l' α -ergocryptine (Bacetty *et al.*, 2009a ; Bacetty *et al.*, 2009b ; Jia *et al.*, 2013).

Parmi les métabolites secondaires nématocides (chaétoglobosine A, la chaétoglobosine B, la flavipine, 3-méthoxyépicocone, le 4,5,6-trihydroxy-7-méthylphthalide) obtenus à partir du filtrat de *Chaetomium globosum* YSC5, espèce de champignons lignivores à une dose 200 μ g/ml, ont montré une activité nématocide variable contre les juvéniles de deuxième stade de *Meloidogyne javanica* (Khan *et al.*, 2019).

Le champignon endophyte *Fusarium oxysporum* EF119 produit deux composés nématocides le bikavérine et l'acide fusarique à 100 mg/ml. Ces derniers provoquent des taux de mortalité respectifs de 50% et 43 % sur le nématode *Bursaphelenchus xylophilus* (Kwon *et al.*, 2007).

2.3. Champignons phytopathogènes

Les champignons endophytes assurent la protection des plantes grâce à une colonisation efficace et rapide de tissus végétaux, par la production de la lignine qui limite la capacité de pénétration des tissus de la plante hôte et la disponibilité des éléments nutritifs pour les agents pathogènes ou en dégradant les parois des champignons phytopathogènes par un processus d'hyper parasitisme, par l'emploi des enzymes hydrolytiques et par la production des métabolites secondaires antifongiques (Harman *et al.*, 2004 ; Pal & Gardener, 2006 ; Gunatilaka, 2006 ; Ting, 2014). Quelques champignons endophytes présents dans l'orge induisent un épaissement des parois cellulaires de la plante. En conséquence, ils entravent l'invasion de celle-ci par l'agent pathogène

Verticillium longisporum (Narisawa *et al.*, 2004). Ils produisent également les sidérophores qui sont des molécules ayant des capacités de fixation du fer, l'augmentation de la disponibilité du fer soluble autour des racines stimulant ainsi le développement de leurs plantes hôtes (Marek-Kozaczuk *et al.*, 1996).

L'hyperparasitisme, une stratégie écologique employée par les endophytes, sert à protéger la plante. Au cours de ce processus, l'agent pathogène est directement attaqué et éliminé par un champignon endophyte spécifique (Tripathi *et al.*, 2008). La plupart des champignons phytopathogènes ont une paroi cellulaire munie de chitine comme squelette structurel disposé en couches régulièrement ordonnées et des b-1,3-glucanes comme matériau de remplissage disposés de manière amorphe (Chemin & chet, 2002). En utilisant des enzymes telles que les chitinases et les b-1,3-glucanases, les champignons endophytes parasitent l'hyphe des champignons pathogènes pour les plantes. Ces enzymes permettent aux endophytes de pénétrer les parois cellulaires des pathogènes et de décomposer leurs macromolécules complexes en unités plus petites. Ces unités sont ensuite utilisées comme source de carbone, d'énergie et de nutriments pour la croissance des endophytes (Limon *et al.*, 1999 ; Yadav *et al.*, 2015). Ils synthétisent aussi un éventail de métabolites secondaires antifongiques de poids moléculaire faible, qui sont fonctionnels même à des concentrations réduites, induisant une croissance aberrante des hyphes de l'agent pathogène fongique (Guo *et al.*, 2000 ; Ting, 2014). Parmi ces composés on peut citer la trichodermine isolée à partir du champignon endophyte *Trichoderma brevicompactum* souche 0248 obtenue d'*Allium sativum* qui a montré une puissante activité inhibitrice contre *Rhizoctonia solani*, avec une CE50 de 0,25 µg / ml et contre *B. cinerea*, avec une CE50 de 2,02 µg / ml (Shentu *et al.*, 2014). La trichothécine secrétée par *Trichothecium* sp isolé des feuilles de *Phyllanthus* sp, présente une activité antifongique variable contre *Fusarium oxysporum*, *Penicillium expansum*, *Trichoderma viride*, *Paecilomyces varioti* et *Aspergillus niger* avec une concentration minimale inhibitrice de 10, 30, 40, 20 et 12 µg/mL, respectivement (Taware *et al.*, 2015).

Le phénolone produit par *Xylaria* sp. isolé à partir *Piper aduncum* et 3,12-dihydroxycadalène produit par *Phomopsis cassiae* isolé à partir *Cassia spectabilis* possèdent une bonne activité antifongique contre *Cladosporium cladosporioides* et *C. sphaerospermum* (Silva *et al.*, 2006, Silva *et al.*, 2010).

Les composés stéroïdes 3b, 5 α - dihydroxy - 6 β - acétoxy - ergosta - 7,22 - diène , 3 β, 5 α - dihydroxy - 6 β -phénylacétyloxy – ergosta - 7,22 - diène, 3 β – hydroxy – ergosta – 5 - ène , 3 – oxo – ergosta - 4, 6, 8 , 22 - tétraène isolés du filtrat du champignon

endophyte *Colletotrichum* sp isolés à partir des tiges d'*Artemisia annua* sont dotés d'une activité antifongique contre *Phytophthora capsici*, *Gaeumannomyces graminis*, *Rhizoctonia cerealis* et *Helminthosporium sativum* (Lu *et al.*, 2000).

La chaétoglobosine A et D ont été isolées *Chaetomium globosum* CDW7, un endophyte de *Ginkgo biloba* a démontré une efficacité antifongique notable envers *Sclerotinia sclerotiorum* avec des valeurs CI50 de 0,35 et 0,62 µg / ml respectivement (Zhao *et al.*, 2017).

Le bipolamide B isolé de *Bipolaris* sp. MU34, un champignon endophyte associé aux feuilles de *Gynurahispida Thwaites* a démontré une activité antifongique moyenne avec des valeurs MIC de 16, 32, 32, 64 et 64 µg / mL, contre *Cladosporium cladosporioides*, *C. cucumerinum*, *Aspergillus niger* et *Rhizopus oryzae* respectivement (Siriwach *et al.*, 2014).

La koningiopisine C produite par le champignon endophyte *Trichoderma koningiopsis* YIM PH30002 isolé à partir de *Panax notoginseng* a révélé une activité antifongique respectivement contre *F. oxysporum*, *A. panax*, *F. solani* et *P. cucumerina* avec des CMI à 32, 64, 32 et 16 µg/ml (Liu *et al.*, 2016).

Le champignon endophyte *Cytospora* sp produit le seiricardine D antifongique contre *Magnaporthe oryzae* avec une CMI de 839 µM (Deng *et al.*, 2018).

Le champignon endophyte *Trichothecium crotocinigenum* est la source de trichothecrotocines A, B, C à capacité antifongique contre *A. solani* et *F. oxysporum* avec une CI50 entre 8 à 32 µg/ml (Yang *et al.*, 2018a).

Le champignon endophyte *Rhizopycnis vagum* Nitaf 22 isolé à partir de la racine de *Nicotiana tabacum* est la source de *Rhizopycnine* D et TMC - 264 qui ont montré une forte inhibition de la germination des spores de *Magnaporthe oryzae* avec des valeurs CI50 de 9,9 et 12,0 µg/ml, respectivement (Lai *et al.*, 2016).

2.4. Mauvaises herbes

Les champignons endophytes peuvent éliminer les mauvaises herbes (Kowalski *et al.*, 2015) en produisant des métabolites secondaires herbicides (Wang *et al.*, 2007). En effet l'ascotoxine produite par *Paraconiothyrium* sp. Inhibe la germination des graines de la laitue *Lactuca sativa* (astéracée) et la poacée *Echinochloa crus-galli* (Khan *et al.*, 2012 a) alors le Brefeldin A, inhibiteur du transport des protéines est produit par *Cladosporium* sp. Il inhibe la maturité du tube pollinique de la mauvaise herbe *Picea meyeri* qui est un conifère de la famille des Pinacées (Wang *et al.*, 2007). Les dérivés d'azaphilone, dont la capacité herbicide n'est plus à démontrer sont produits par le champignon *Chaetomium*

globosum isolé des feuilles de *Amaranthus viridis* (Piyasena *et al.*, 2015). En revanche, l'indole alcaloïde est un métabolite produit par *Fusarium chlamydosporum* qui se distingue non seulement par son activité phytotoxicité, mais aussi par son inhibition de la croissance des racines d'*Echinochloa crusgalli* de la famille des Poaceae (Wang *et al.*, 2018).

3. Tolérance des facteurs abiotiques

Les champignons endophytes sont impliqués dans la protection des plantes contre les divers stress abiotiques comme les métaux lourds, la sécheresse et la salinité (Stepniewska & Kuzniar, 2013 ; Saikkonen *et al.*, 2010 ; Malinowski *et al.*, 2005 ; Ullah *et al.*, 2019).

3.1. Tolérance aux métaux lourds

Les champignons endophytes peuvent dégrader et bio-restaurer les métaux lourds, améliorer l'absorption des éléments nutritifs, le taux de germination et de croissance, augmenter la biomasse végétale et par conséquent ce qui améliore la tolérance des plantes aux métaux lourds (Aly *et al.*, 2011 ; Stepniewska & Kuzniar, 2013). Par exemple, le champignon endophyte *Microsphaeropsis* sp. LSE10 montre une capacité de biosorption maximale de cadmium de 247,5mg/g (Xiao *et al.*, 2010). La biosorption est un processus physico-chimique naturel et passif, agissant chez certaines espèces de bactéries, champignons, plantes ou animaux, leur permettant de bioconcentrer passivement certains métaux, radionucléides, minéraux ou molécules organiques toxiques. Plusieurs autres champignons notamment *Lasiodiplodia* sp. MXSF31 provenant des tiges du Pourpier potager *Portulaca oleracea*, considéré comme une adventice, augmente la biomasse et la capacité d'absorption de *Brassica napus*, plante à fleurs jaunes de la famille des Brassicacées, dans les sols contaminés par le cadmium et le plomb (Deng *et al.*, 2014). Par ailleurs, *Trichoderma* sp H8 et *Aspergillus* sp G16 augmentent le poids frais de la plante dans des sols contaminés toujours par le cadmium et le nickel (Jiang *et al.*, 2008).

3.2. Tolérance à la sécheresse

Les endophytes aident la plante à la tolérance de la sécheresse en produisant des hormones de croissance telles que les gibbérellines et les auxines ou en incitant la plante à les sécréter elle-même. Ces hormones améliorent le rythme et l'extension temporelle de la croissance des racines et des poils absorbants. De plus ils améliorent le métabolisme des nutriments, stimulent la croissance et l'augmentation de la biomasse de la plante l'hôte (Malinowski *et al.*, 2005 ; Davies, 2004 ; Khan *et al.*, 2013 ; Kuldau & Bacon, 2008 ;

Malinowski *et al.*, 1997 ; Koevoets *et al.*, 2016). Aussi ils interviennent dans la production des métabolites osmoprotectants qui affectent l'équilibre osmotique, ce qui atténue les conséquences de la déshydratation et préserve les protéines, les enzymes, les organites, les membranes cellulaires ainsi que le matériel génétique de la dénaturation (Malinowski & Belesky, 2000 ; Bush *et al.*, 1997 ; Hahn *et al.*, 2007 ; Ullah *et al.*, 2017). Ils augmentent également, la biomasse végétale de la plante sous des conditions de manque d'eau (Waqas *et al.*, 2012 ; Bacon & Hill, 1996 ; Bacon, 1993 ; West, 1994 ; Joost, 1995 ; Singh *et al.*, 2011). Par exemple *Cladosporium sphaerospermum* produit des gibbérellines GA3, GA4 et GA7 qui induisent la croissance des plantes en général, du riz et du soja en particulier (Hamayun *et al.*, 2009). De même, l'inoculation du champignon *Curvularia* sp améliore la croissance des plantes et la tolérance de celles-ci aux températures élevées du sol en impliquant des métabolites osmolytes comme le tréhalose, la glycine, la bêtaïne, la taurine et la mélanine (Redman *et al.*, 2002 ; Khan *et al.*, 2012b ; Morsy *et al.*, 2010).

3.3. Tolérance à la salinité

Les sols salins englobent 7% de la surface du globe terrestre (Ruiz Lozano *et al.*, 1996) et cinq pour cent des sols agricoles (Munn *et al.*, 1999). Cette surface restreinte constitue une menace pour le rendement des cultures (Singh *et al.*, 2011 ; Govindasamy *et al.*, 2018). L'endophyte *Piriformospora indica* contribue à la tolérance de la salinité par la plante (orge) en augmentant l'activité métabolique de ses feuilles, en induisant des changements dans la composition de leurs acides gras, en régulant l'activité de leurs enzymes antioxydantes et en augmentant leur biomasse (Baltruschat *et al.*, 2008 ; Waller *et al.*, 2005). Il stimule aussi la production d'éthylène au niveau des racines (Cao *et al.*, 2006). Certains champignons comme *Paecilomyces formosus* LHL10, *Phoma glomerata* LWL2 et *Penicillium* sp. LWL3, aident la plante à tolérer la salinité en améliorant la croissance, la biomasse et l'incorporation des nutriments. Indispensables en situation de salinité élevée (Khan *et al.*, 2012c ; Waqas *et al.*, 2012). Par contre, *Exophiala* sp. LHL08 produit de l'acide salicylique pour que la plante tolère la salinité (Khan *et al.*, 2011b). En effet une suspension sporale d'*Aspergillus flavus* appliquée sur le Riz variété Waito-C CHS1, augmente sa teneur en chlorophylle, sa production de biomasse, la longueur de ses racines, et la tolérance à la salinité d'une concentration de 400 mm. Ces effets bénéfiques sont dus à la capacité de solubilisation du phosphate et à la production d'acide indole acétique et de gibbérellines par ce champignon (Lubna *et al.*, 2018).

CHAPITRE III
CARACTERES MORPHOLOGIQUES ET BIOECOLOGIQUES
DE *LOCUSTA MIGRATORIA CINERASCENS* (FABRICIUS, 1781).

I.POSITION SYSTEMATIQUE ET SYNONYMIE

1. Taxonomie

Selon Louveaux et Ben-halima (1987), le criquet migrateur est classé comme suit :

Regne Animalia
Embranchement Arthropoda
Classe.....Insecta
Ordre..... Orthoptera
Famille..... Acrididae
Sous-famille.....Oedipodinae
Genre..... *Locusta*
Espèce..... *Locusta migratoria* L.
Sous/Espèce..... *Locusta migratoria cinerascens* (Fabricius
,1781).

2. Synonymes

Gryllus danica (Linnaeus, 1767);*Gryllus migratorius* (Linnaeus, 1758) ;*Locusta cinerascens* (Fabricius, 1781);*Acrydium manilensis* (Meyen, 1835);*Oedipoda migratorioides* (Reiche & Fairmaire, 1849) ;*Pachytylus brasiliensis* (Walker, 1870) ;*Pachytylus australis* (Saussure, 1884) ;*Pachytylus capito* (Saussure, 1884);*Locusta rossica* (Uvarov & Zolotarevsky, 1929) ;*Gastrimargus affinis* (Sjöstedt, 1931) ;*Gastrimargus morio* (Sjöstedt, 1931);*Locusta gallica* (Remaudière, 1947) ;*Locusta danica burmana* (Ramme, 1951);*Locusta migratoria solitaria* (Carthy, 1955);*Pachytylus punctifrons* (Dirsh, 1961);*Locusta migratoria migratoria form remaudierei* (Harz, 1962) ;*Locusta migratoria tibetensis* (Chen, 1963).

3. Noms communs

On l'appelle criquet migrateur en français, The migratory locust en anglais et الجراد المهاجر en arabe (Defaut et *al.*, 2013 ; Ali, 2014).

II. CARACTERES MORPHOLOGIQUES

4. Description

4.1. Les œufs

Les œufs mesurent de 5,5 à 7,1 mm, de couleur jaune ou brun clair, à forme allongée légèrement courbée et avec des extrémités arrondies. Ils sont déposés dans le sol avec une orientation bilatérale dans une oothèque, surmontée d'un bouchon spumeux à structure spongieuse, de couleur blanche ou brun clair (Popov *et al.*, 1990 ; Balachowsky&Mesnil, 1936) (Figure. 2).



Figure 2. Œufs de *Locusta migratoria cinerascens*. (Laïb *et al.*, 2023).

4.2. Larves

La morphologie des stades larvaires ressemble à celle des adultes ailés. À l'état grégaire les larves sont de couleur grise au début de développement et deviennent orange ou noire à la fin de développement larvaire. A la phase solitaire, elles sont de couleur verte ou brune selon l'humidité et le milieu ambiant (Duranton *et al.*, 1982) (Figure. 3). Les 3 premiers stades se ressemblent avec une augmentation de taille, qui est visible surtout au niveau de la tête et du thorax, l'abdomen s'allonge entre les mues avec la prise alimentaire. Les larves du 4ème et 5ème stade se distinguent des autres stades par leur taille et la direction des ébauches alaires qui sont dirigées vers le haut alors qu'aux stades précédents elles étaient dirigées vers le bas (Bellmann et Luquet, 1995).

4.3. Adultes

Les adultes grégaires présentent un corps de couleur jaune et noire, mesurant entre 40 et 50 mm chez les mâles et 46 et 56 mm chez les femelles. Ils possèdent un pronotum court et arrondi, pourvu d'une carène médiane concave ou droite à la partie postérieure de celui-ci. En revanche, les adultes solitaires, se distingue par un corps de couleur verte qui mesure entre 34 et 60 mm chez les femelles et 29 et 46 mm chez les mâles avec un pronotum long qui présente une carène médiane convexe et forme un angle aigu à l'arrière

de la partie postérieure du corps (Balachowsky& Mesnil, 1936 ; Duranton *et al.*, 1987 ; Bonnemaïson,1961).

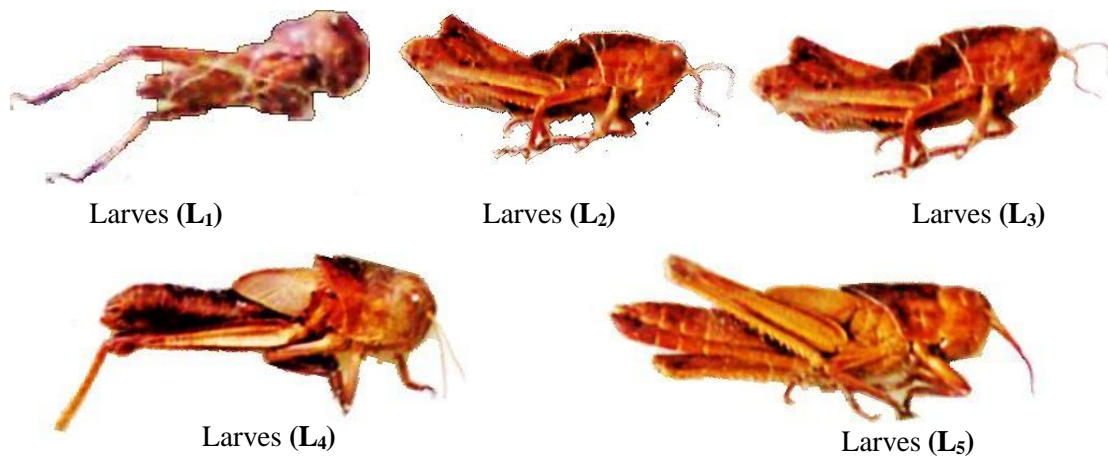


Figure 3. Stades larvaires de *Locusta migratoria*. (Laïb *et al.*,2023)

Pour les deux formes, la tête est arrondie portant des antennes filiformes, l'abdomen est de couleur brune jaunâtre, les élytres dépassent l'extrémité abdominale, sont ornés de nombreuses petites taches brunes disposées en zone transversale, les ailes sont transparentes avec des nervures noires légèrement enfumées vers l'apex (Chopard ,1943 ; Bonnemaïson ,1961) (Figure. 4).



Figure 4. Adultes mâles et femelles de *L. migratoria*. (Laïb *et al.*,2023).

II. CARACTERES BIOLOGIQUES

1. Cycle biologique

Le criquet migrateur passe par trois états biologiques successifs : l'état embryonnaire (Figure 5), l'état larvaire et l'état imaginal (Bonnemaïson, 1961 ; Duranton *et al.*, 1982 ; Launois luong&Lecoq, 1989).

Les œufs sont déposés dans une oothèque recouverte d'une matière spumeuse. Après 5 jours de la ponte, le développement embryonnaire commence et dure de 10 à 30 jours selon l'humidité et la température d'incubation dans le sol (Bonnemaison, 1961 ; Duranton *et al.*, 1982 ; Launois luong & Lecoq, 1989)

A l'éclosion de l'œuf, la larve vermiforme est enfermée dans un étui transparent et devient, après une mue intermédiaire, une larve du premier stade (Albrecht, 1967).

Les larves passent par 5 stades larvaires, séparées par des mues larvaires. Le stade larvaire dure de 21 à 30 jours environ. *L. migratoria* effectue 4 à 5 générations par an à sa phase solitaire et 3 à sa phase grégaire (Launois luong & lecoq, 1989).

À la mue imaginale, les imagos de *L. migratoria* recherchent un biotope favorable à l'alimentation pour augmenter leur poids et accumuler du corps gras, cela permet aux femelles de préparer leur future première ponte (Lecoq, 1975).

La réduction et le dessèchement progressif de la végétation réduit les lieux favorables au développement des criquets, ce qui les conduit à se rassembler dans les lieux contenant encore une végétation verte (Girardie, 1991).



Figure 5. Stades embryonnaires de *L. migratoria* après la ponte

a : stade IIb à 3 jours ; b : stade IIIb à 4 jours ; c : stade IIIc à 5 jours ; d : stade IV à 6 jours ; e1 et e2 : stades IV b1 et IV b2 à 7 jours ; f1 et f2 : stade Va et V b à 8 jours ; g : stade VI à 10 jours ; h 1: stade Stade VII à 11 jours ; h2 : stade VII+ à 12 jours ; i : stade VIIIa 13 jours ; j : stade VIIIb à 14 jours ; k : stade IXa à 16 jours ; l : stade IXb à 17 jours (Harrat & Petit, 2009).

2. Transformation phasaire

Lorsque la densité dépasse un seuil de 2 000 ailés par hectare il y'aura une augmentation des contacts interindividuels et un déclenchement du processus de transformation phasaire qui s'exprime par des différences morphologiques (diminution de taille et changement de couleur chez les grégaires par rapport aux solitaires), anatomiques (diminution du nombre moyen d'ovarioles et de tubes séminifères chez les grégaires par rapport au solitaires), biologiques (diminution du nombre de générations par an chez les grégaires par rapport aux solitaires) écologiques (les grégaires volent plus longtemps et plus loin et occupent une aire géographique plus étendue que les solitaires) et physiologiques (les grégaires ont un métabolisme plus élevé que les solitaires) (Launois luong & Lecoq, 1989 ; Popov, 1996 ; Rasolomandimby, 1996).

III. ECOLOGIE ET DISTRIBUTION GEOGRAPHIQUE

2. Exigences écologiques

Le choix d'un habitat par le criquet migrateur dépend de la structure de la végétation, le nombre d'espèces végétales, le climat, les caractéristiques édaphiques, la disponibilité des plantes nourricières et des sites de ponte (Otte, 1977).

A l'état solitaire, le criquet migrateur préfère des milieux à optimum thermique autour de 20° à 25°C et pluviométrique de 50 à 100 mm par mois où il trouve une alimentation et une nature du sol qui lui permet d'effectuer sa maturation sexuelle, une production d'œufs suffisante et la ponte.

En phase grégaire, Le criquet migrateur préfère une pluviométrie qui se situe autour de 25 à 100 mm par mois où les biotopes constitués par des formations herbacées denses sur sols alluviaux, des steppes et les savanes à faible couvert ligneux et susceptibles d'aboutir directement ou indirectement à des densités pouvant entraîner la transformation phasaire. (Launois luong & Lecoq, 1989 ; Popov *et al.*, 1991).

Le criquet migrateur présente des sous espèces paléarctiques telles que *Locusta rossica* Uvarov & Zolotarevsky 1929, *Locusta gallica* Remaudière, 1947 qui n'ont qu'une génération par an, une diapause prolongée, des œufs résistants au gel et une phase solitaire relativement sédentaire. Les sous espèces tropicales, sub-tropicales et des zones tempérées chaudes de l'hémisphère sud sont *Locusta cinerascens* Fabricius, 1781 ; *Locusta migratorioides* Reiche et Fairmaire, 1849 ; *Locusta manilensis* Meyen, 1835 ; *Locusta burmana* Ramme, 1951 ; *Locusta capito* Saussure, 1884 ; *Locusta Australis* Saussure, 1884 sont multivoltines, sans diapause, et avec des œufs sensibles au gel (Farrow & Colless, 1980 ; Défaud *et al.*, 2013).

En Algérie, on trouve la sous-espèce *Locusta migratoria cinerascens* dans les zones littorales, les plaines de l'atlas tellien et le sud de l'Atlas saharien (Chopard,1943).

3. Régime alimentaire

Le régime alimentaire de *Locusta migratoria* varie selon la région et les sous espèces. Il est principalement par les graminées (Uvarov,1923 ; Uvarov,1936 ; Zolotarevsky, 1934).

Pendant l'invasion par les bandes de larves et les essaims, plusieurs plantes sont susceptibles d'être dévorées, qu'elles soient ligneuses ou graminées (Couturier *et al.*, 1946).

III. DEGATS ET MOYENS DE LUTTE

1. Dégâts

Les dégâts dont il responsable le criquet migrateur à la surface du globe peuvent être comparé aux grands fléaux de l'humanité, aux inondations, aux tremblements de terre et aux épidémies. A l'état grégaire le criquet migrateur est le plus dévastateur, puisque ses invasions s'étendent à toutes les zones steppiques d'Europe, d'Asie ainsi qu'aux régions tropicales de l'Afrique et le Madagascar .De nombreuses plantes sont susceptibles d'être attaquées en période d'invasion, qu'elles soient ligneuses ou graminées (Balachowsky & Mesnil, 1936 ; Couturier *et al.*, 1946).

2. Moyens de lutte

2.1. Lutte préventive

La lutte préventive est basée sur des réseaux de surveillance des aires grégarigènes afin d'éliminer d'une manière précoce et efficace les premières concentrations de criquets et éviter une invasion acridienne (Launois Luong *et al.*, 1988). Cette opération est renforcée par l'utilisation des satellites écologiques et météorologiques et des systèmes d'informations géographiques permettant de fournir des informations et des prévisions sur les sites potentiellement favorables pour le développement et la pullulation de *L. migratoria* (Popov,1997).

2.2. Lutte chimique

à l'échelle mondiale, la lutte antiacridienne se fait par l'application des produits insecticides organophosphorés, les carbamates, les pyréthriinoïdes et les régulateurs ou inhibiteurs de croissance (Rachadi, 1991 ; Launois Luong *et al.*, 1988), par voie terrestre pour de petites pullulations et aérienne en cas de forte pullulation ou invasion (Latchininsky & Launois Luong, 1992). En Algérie, les insecticides employés pour la lutte antiacridienne appartiennent aux pyréthriinoïdes (cypermethrine,

alphacypermethrine, beta-cypermethrine, deltamethrine, lambda cyhalothrine), organophosphorés (chlorpyrifos, chlorpyrifosethyl), dérégulateurs de croissance (diflubenzuron) (MADRP, 2015).

Les organophosphorés et les carbamates inhibent la dégradation de l'acétylcholine au niveau des synapses cholinergiques ce qui provoque une activité neuronale récurrente conduisant à la mortalité de l'insecte (Buffat *et al.*, 1989 ; Testud et Grillet, 2017).

Les pyréthriinoïdes agissent en augmentant la fréquence des décharges nerveuses (ou le temps d'ouverture des canaux de sodium (Na⁺), ce qui provoque une transmission répétée ou continue de l'influx nerveux et entraîne des convulsions puis une tétanie de l'insecte (Testud & Grillet, 2017).

Les régulateurs de croissance des insectes sont des insecticides sélectifs qui perturbent l'action des hormones de développement, ce qui induit une mue prématurée, incomplète et létale (Dallaire *et al.*, 2004). Ils inhibent également la synthèse de la cuticule et empêchent l'insecte de muer correctement et provoquent ainsi sa mort (Biddinger & Hull, 1995 ; Hoffmann & Lorenz, 1998 ; Gordan *et al.*, 1989 ; Berry *et al.*, 1993).

2.3. Lutte biologique

L'emploi des bio pesticides à base d'extraits végétaux, de champignons ou bactéries entomopathogènes constitue une intéressante alternative aux pesticides chimiques synthétiques grâce à leurs efficacité, biodégradabilité et spécificité (Welling & Zimmermann, 1997 ; Prior & Greathead, 1989 ; Grethead *et al.*, 1994).

Les bio pesticides à base du champignon *Metarhizium* spp éliminent 70 à 90% des criquets traités après 14 à 20 jours, sans effets indésirables sur les organismes non cibles (Kooyman *et al.*, 1997, Lomer *et al.*, 2001). En effet l'application d'une dose de 2×10^3 blastospores de *Metarhizium anisopliae* contre les adultes de *Locusta migratoria* var. *acridum* provoque la réduction du nombre des hémocytes, la colonisation du corps et enfin, la mort de 17,3% à 100 % des criquets au bout de 6 jours, selon l'absence ou la présence de thermorégulation. Cette dernière est une fièvre comportementale développée par l'insecte après l'infection (Ouedraogo, 2005). Les bactéries entomopathogènes, *Bacillus thuringiensis* et *Bacillus sphaericus* incorporées dans l'alimentation des larves de *Locusta migratoria* montrent une efficacité comparable à celle des pesticides chimiques grâce aux toxines produites par la bactérie qui provoquent la lyse et la destruction des cellules épithéliales intestinales (Dunphy & Tibelius, 1992 ; Zimmerman *et al.*, 1994 ; Mohandkaci *et al.*, 2014).

Des individus de *Locusta migratoria* traités par 3 concentrations croissantes de 1,72 mg/ml, 0,75 mg/ml et 0,28 mg/ml de *B. sphaericus* ont causé des mortalités respectives de 76, 67% ; 53, 33% et 43, 33% au 22ème jour après le traitement (Mohandkaci *et al.*, 2014).

Comme les champignons et les bactéries, l'extrait aqueux de *Schinus molle* à une concentration de 166,66g/L provoque une forte mortalité de 100% de larves L₅, après 10 jours pour le traitement par ingestion et 7 jours celui par contact. Cette mortalité est due aux métabolites secondaires présentes dans les feuilles de *Schinus* comme le limonène et le α phéllandrène, la timol, la citronelilacetate, et β -cariophylène, cis-menth-2 et-1-ol y trans-piperitol (Chilali&Benrima,2018). Quant à l'extrait méthanolique d'*Olea europaea* à une concentration de 8% a engendré une mortalité de 82,26% sur les larves L₅ de *Locusta migratoria* après 8 jours du traitement (Abdellaoui *et al.*, 2018).

D'après Benhamouda *et al.*, (2016), cet est causé par les quantités élevées de composés phénoliques contenus dans les feuilles d'olivier, en particulier l'oleuropéine. Toujours d'après ces mêmes auteurs, l'ingestion de l'acide gibbérellique (GA3), hormone végétale, provoque chez *Locusta migratoria* une diminution, une inhibition du développement des larves et des adultes, un ralentissement et une dérégulation du processus de la mue.

CAPITRE IV

PARTIE EXPERIMENTALE

I.MATERIEL ET METHODES

1. Matériel végétal

Les feuilles âgées de *Ricinus communis*, communément appelé ricin, sont collectées via un scalpel sur cinq spécimens sains provenant d'une flore indigène dans la région de Beni Bechir (Skikda) (36°46'20° N et 6°57'30° E) en 2018 (Figure 6).



Figure 6. Feuilles de *Ricinus communis* (Laib *et al.*,2023)

1.1.Isolement et identification

L'objectif de cette phase est de procéder à l'isolement, à l'identification et au calcul de la fréquence de colonisation des champignons endophytes associés aux feuilles de *Ricinus communis*, communément appelé ricin. L'isolement des champignons endophytes a été effectué 48 heures après la collecte du matériel végétal, en utilisant la méthode décrite par Li *et al.* (2015), avec quelques modifications (Figure 7). Les feuilles ont été soigneusement lavées à l'eau courante pour éliminer les particules de sol, puis découpées en segments de 5 x 5 mm à l'aide d'une lame de rasoir stérilisée sur une source de chaleur. Ces segments ont ensuite été placés dans de l'éthanol à 75% pendant 1 minute, suivis de trois rinçages successifs à l'eau distillée stérile pendant 3 minutes pour éliminer l'excès d'éthanol. Ils ont ensuite été séchés à l'aide de papier filtre stérile dans des conditions aseptiques avant d'être transférés de manière uniforme et aseptique dans des boîtes de Pétri contenant du milieu PDA supplémenté avec de la streptomycine (200 mg/l) pour inhiber toute croissance bactérienne. Ces boîtes ont été scellées en utilisant du parafilm, puis incubées à une température ambiante de 25°C pendant 21 jours pour permettre la croissance des champignons endophytes. Les champignons émergeant des tissus végétaux situés aux extrémités des segments ont été immédiatement isolés et transplantés dans un nouveau milieu PDA sans antibiotiques, puis incubés à 25 °C

pendant 3 à 6 jours. L'identification morphologique des souches fongiques isolées a été réalisée à l'aide d'un microscope optique, en se basant sur les caractéristiques morphologiques et phénotypiques (couleur, aspect), les caractéristiques des spores et les structures de reproduction des colonies fongiques.

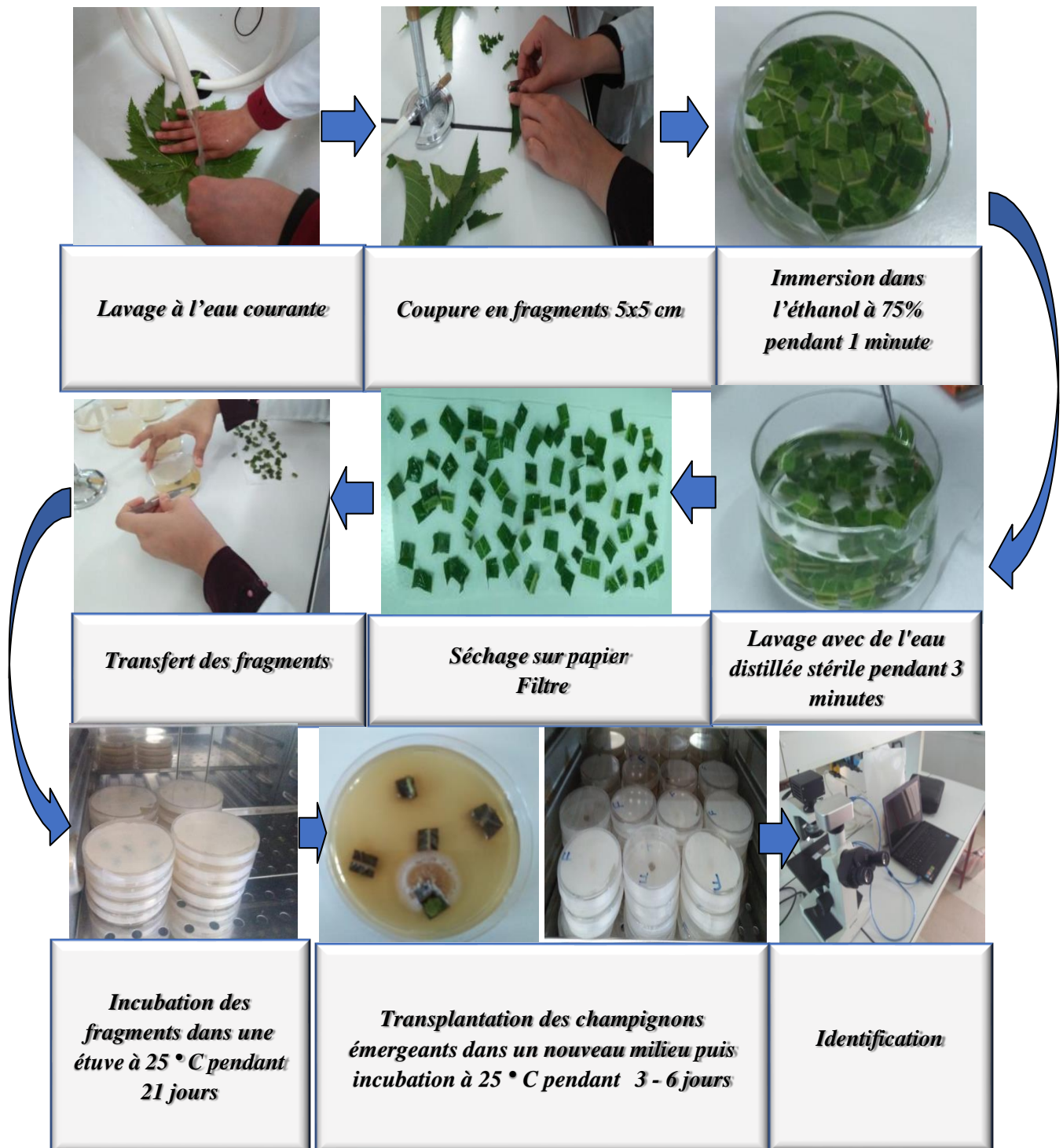


Figure 7. Méthode d'isolement et identification des champignons endophytes associés aux feuilles de ricin commun *Ricinus communis* (Laib et al.,2023)

1.1. Fréquence de colonisation

La fréquence de colonisation (FC) ou d'infection est calculée et exprimée en % en se basant sur la méthode de Fisher et Petrini(1987). Elle s'écrit comme suite :

$$FC \% = (N_c/N_t) \times 100$$

N_c : est le nombre de segments colonisés par une espèce ou un groupe fongique.

N_t : est le nombre total des segments.

1.2. Fermentation submergée et production des extraits fongiques

La production des extraits fongiques des champignons endophytes associés aux feuilles de ricin est effectuée en utilisant la méthode décrite par Dolatabad *et al.* (2017) avec de légères modifications (Figure 8). En effet des disques d'agar, associés aux mycéliums des champignons endophytes, ont été placés dans des flacons de 250 ml contenant 50 ml du milieu PDB que l'on ferme hermétiquement pour éviter les contaminations. Pour homogénéiser le milieu et la biomasse fongique, les cultures sont incubées pendant 21 jours à $25 \pm 2^\circ\text{C}$, puis elles sont agitées intermittemment pendant une heure à l'aide d'un agitateur « va et vient ».Après 21 jours de croissance et lorsque la biomasse est importante, les mycéliums sont séparés du milieu par filtration à l'aide d'un papier filtre Whatman n°1.Le filtrat issu de la filtration est mélangé ensuite avec l'acétate d'éthyle.Le mélange (filtrat +acétate d'éthyle) est laissé pendant 10 minutes jusqu'à sa séparation en deux couches non miscibles (organique et aqueuse).L'acétate d'éthyle est éliminé à l'aide d'un évaporateur rotatif et l'extrait est dissout dans 1 ml de l'eau distillée et conservé à 4°C pour son utilisation ultérieure .

2. Matériel acridien

2.1. Elevage de masse

La méthode d'élevage en masse des insectes, légèrement modifiée par rapport à celle décrite par Ouedraogo *et al.* (2002), est mise en œuvre dans une cage en bois de 50*100 cm. Cette cage est recouverte de tulle pour permettre une bonne aération pour les criquets et est équipée d'une porte coulissante. Le fond de la cage contient des pondoires remplis aux deux tiers de tourbe et au tiers de sable de rivière, tous deux stérilisés et humidifiés à 10%, afin de faciliter la récupération des oothèques. L'alimentation de *L. migratoria* se compose de feuilles fraîches de blé et la photopériode est assurée par une ampoule à incandescence de 60 watts12/12 heures tandis que la température était de $30 \pm 1^\circ\text{C}$.L'humidité oscille entre 50 et 60% au maximum (Figure 9).

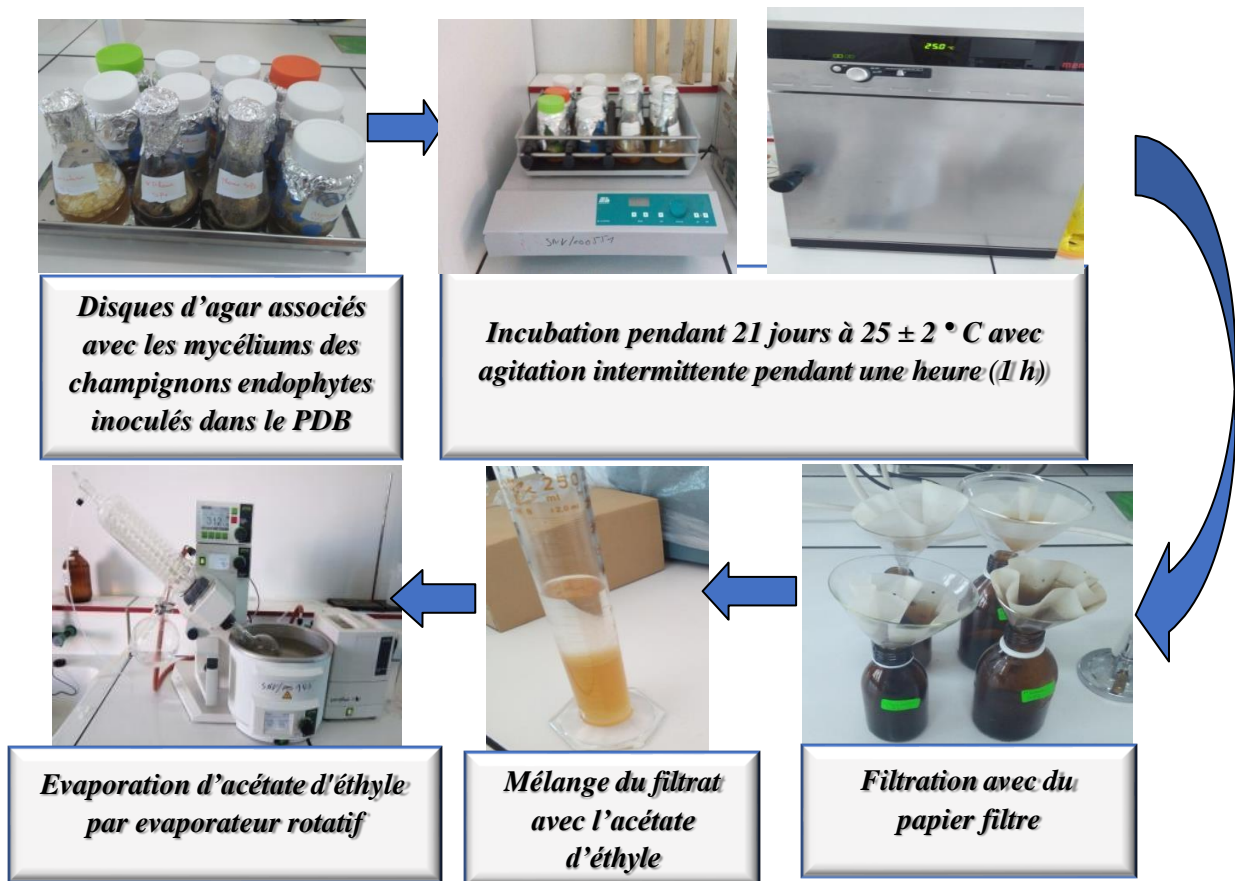


Figure 8. Fermentation submergée et production des extraits fongiques (Laib *et al.*,2023)



Figure 9. Cage d'élevage de *Locusta migratoria*. (Laib *et al.*,2023)

2.2. Dispositif expérimental

Le dispositif expérimental se compose de 10 blocs et cinq répétitions où celles-ci contiennent 20 individus dans chaque contenant c'est dire à dire dans chaque répétition, soit 55 observations et 1100 individus traités en tout pour les 10 blocs. Le premier bloc comprend cinq répétitions et 20 individus pour chaque'une d'elles ; il est traité à l'eau

distillée en tant que témoin (Figure 10). Dix doses de l'extrait fongique ont été retenues, de 0,2 ; 0,4 ; 0,6 ; 0,8 ; 1,0 ; 1,2 ; 1,4 ; 1,6 ; 1,8g et 2 g/L et deux modes de traitement, chacun avec cinq répétitions et 10 blocs ont été effectués.

2.3. Traitement fongique de *L. migratoria*

2.3.1. Traitement par contact

Le traitement par contact consiste à pulvériser l'extrait fongique directement sur du papier filtre qui tapisse le fond des contenants en matière plastique sur lesquels sont déposés 20 individus de *L. migratoria* par contenant de dimensions 40x40x12 cm. On a utilisé 10 doses, de 0,2 à 2 g/L de l'extrait fongique et 5 répétitions pour chaque bloc, soit 10 blocs et un bloc témoin traité à l'eau distillée. Le suivi de la mortalité fait après 24 heures pendant 7 jours de suite.

2.2.2. Traitement par ingestion

Après un jeun de 24 heures, l'extrait fongique selon les concentrations retenues, est pulvérisé sur l'aliment qui se compose de feuilles de blé dur *Triticum durum* dans des contenants de dimensions 40x40x12 cm dans lesquels sont mis des adultes de *L. migratoria*. Chaque contenant contient 20 individus issus de l'élevage de masse et traités avec les doses citées ci-dessus. Le premier bloc, servant de témoin, comprend également 20 individus. Le suivi de la mortalité fait après 24 heures pendant 7 jours de suite.

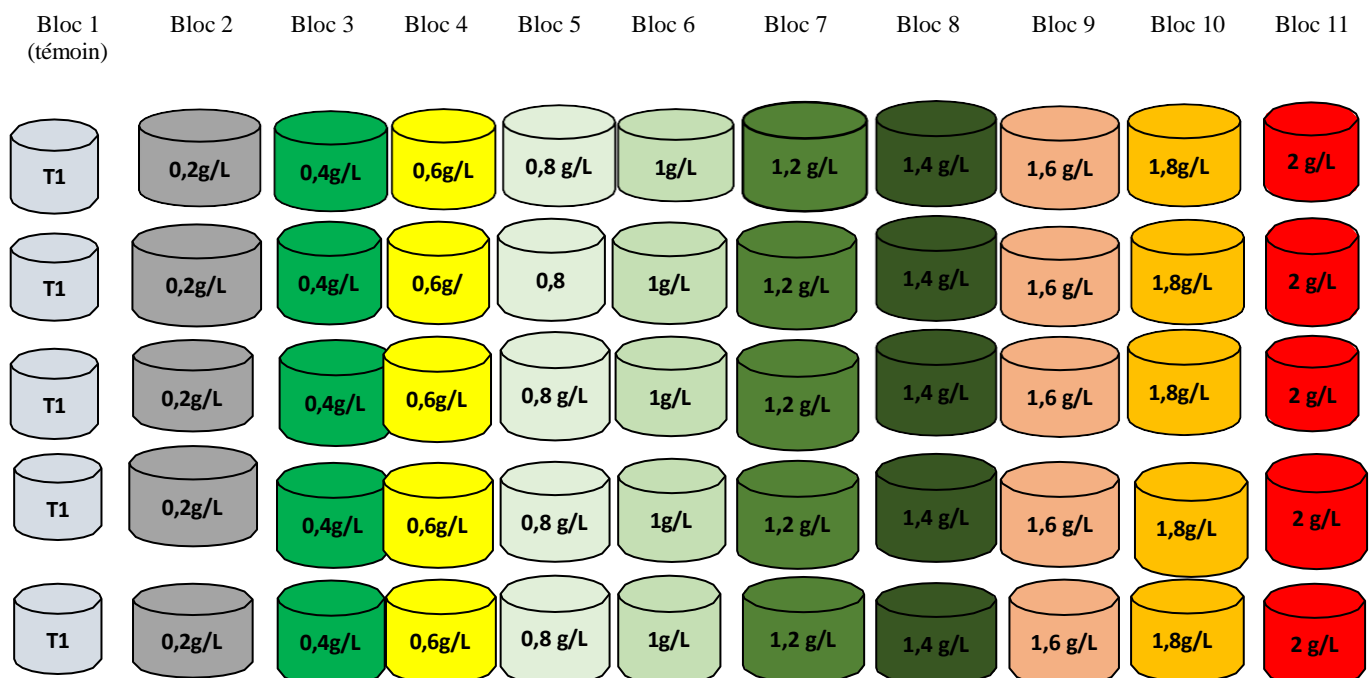


Figure 10. Dispositif expérimental des traitements par contact et ingestion de *L. migratoria*.
(Laib et al.,2023)

2.2.3. Calcul de la mortalité corrigée

Le taux de mortalité corrigée (en pourcentage) a été calculé pour chaque traitement sur 7 jours selon la formule d'Abbott (1925). Elle s'écrit comme suit :

$$\text{Mortalité corrigée (\%)} = \frac{\text{Mortalité enregistrée (\%)} - \text{Mortalité témoin (\%)}}{100 - \text{Mortalité témoin (\%)}}$$

3. Test d'inhibition d'Acétyl cholinestérase

Cette étape consiste à connaître l'effet des extraits sur le système nerveux des insectes traités. L'activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase (Ache) a été testée selon le protocole décrit par Ellman *et al.* (1961) où l'acétylthiocholine est habituellement utilisé comme substrat artificiel de l'AChE dont l'hydrolyse provoque la formation de thiocholine. Cette dernière réagit avec le DTNB [acide 5,5'-dithio-bis-(2-nitrobenzoïque)], présent dans le milieu réactionnel, et le clivage du pont disulfure existant dans sa structure permet de libérer l'anion 3-carboxy-4- nitrobenzène-thiolate de couleur jaune. Celui-ci devient alors détectable par spectrophotométrie UV à 412 nm. Ce protocole est effectué comme suit : 150 μ L de 100 mM du tampon sodium phosphate (Ph =8) est ajouté au 20 μ L d'Ache + 10 μ L de chaque concentration d'extrait fongique, ce mélange est incubé ensuite à 25 °C pendant 15 minutes avant l'ajout de 10 μ L de DNTB (0.5mM)+ 10 μ L d'acetyl choline iodide (0.71 mM).

Des lectures à 412 nm à 0 et 15 minutes ont été effectuées en utilisant un lecteur de plaques (Figure 11) et le pourcentage d'inhibition de l'enzyme Ache est déterminé par la formule suivante :

$$\text{Inhibition de l'enzyme Ache (\%)} = (E-S)/E * 100$$

Où E = Activité de l'enzyme sans extrait, S = Activité de l'enzyme avec l'extrait.

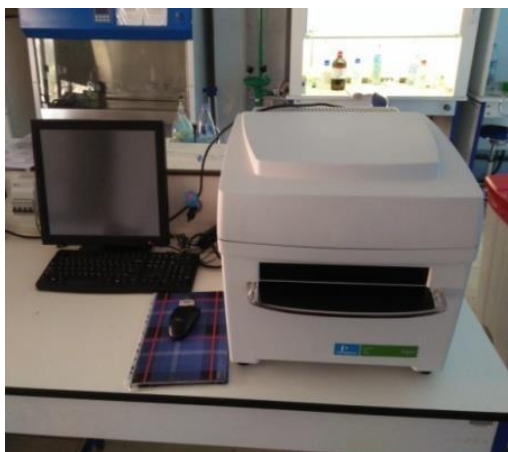


Figure 11. Lecteur de plaques (Laib *et al.*,2023).

4. Analyse chimique des extraits fongiques

L'analyse chimique des extraits de champignons révèle leur composition chimique et identifie les métabolites secondaires qui sont responsables de leur activité insecticide. Les principales classes de métabolites secondaires ont été détectées en utilisant les techniques décrites par Harborne (1998). Les extraits de champignons ont été dissous individuellement dans de l'acide chlorhydrique dilué (HCl), filtrés, puis traités avec le réactif de Mayer (iodure mercurique de potassium (HgI_4K_2)). La formation d'un précipité jaune indique la présence d'alcaloïdes. Les flavonoïdes dans les extraits de champignons ont été détectés en ajoutant quelques gouttes de solution d'hydroxyde de sodium (NaOH). L'apparition d'une couleur jaune intense qui devient incolore après l'ajout d'acide chlorhydrique dilué (HCl) indique la présence de flavonoïdes. Pour détecter les phénols dans les extraits de champignons, quelques gouttes d'une solution de chlorure ferrique à 5% (FeCl_3) ont été dissoutes dans 5 ml d'eau distillée. L'apparition d'une couleur vert foncé indique la présence de composés phénoliques. Les saponines, contenues dans l'eau distillée, ont été vigoureusement agitées avant d'être laissées au repos pendant 10 minutes. La formation d'une émulsion stable indique la présence de saponines. Les terpénoïdes dans l'extrait de champignon ont été mis en évidence à l'aide de chloroforme et d'acide sulfurique, ce qui a entraîné la formation d'une couleur marron-rouge indiquant la présence de terpénoïdes. Les tanins ont été détectés en traitant l'extrait de champignon avec un réactif alcoolique FeCl_3 , ce qui donne une couleur noire bleuâtre qui disparaît en ajoutant un peu de H_2SO_4 dilué, entraînant la formation d'un précipité brun jaunâtre.

5. Analyse spectroscopie d'infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) en réflexion totale atténuée (ATR) des extraits

L'analyse par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) permet l'analyse des éléments organiques et la détection de liens chimiques et de structures moléculaires de différents types d'échantillons solide ou liquide sans préparation particulière sans pour autant déterminer leur constitution exacte. La spectroscopie utilise le moyen infrarouge qui s'étend de $4\,000\text{ cm}^{-1}$ à 400 cm^{-1} car c'est dans cette gamme que la majorité des composés organiques produisent un spectre d'absorption unique.

L'analyse des échantillons concerne 1mg de chaque extrait fongique. Pour cela, on a utilisé un spectromètre FTIR de la série Cary-630 (Agilent Technologies, Santa Clara, Californie) avec un ATR (MIRacle™ singlereflexion (ATR) configuré avec une plaque diamant (Di) IRE (PIKE Technologies, Fitchburg, Wisconsin). Les acquisitions ont été réalisées en effectuant 8 balayages entre $4\,000$ et 650 cm^{-1} , avec une résolution de 4 cm^{-1} .

Un spectre des conditions ambiantes (background) a été automatiquement soustrait par le logiciel Résolution Pro version 5.0 (Agilent Technologies) pour chaque spectre d'échantillon (Sala *et al.*, 2020) (Figure 12).



Figure 12. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) en mode réflexion totale atténuée (ATR) (Laib *et al.*, 2023).

6. Analyse des composants volatiles des extraits fongiques

L'analyse des composants volatils des extraits par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) est effectuée en utilisant l'instrument GCMS-QP2020 NX Shimadzu (Figure 13) équipé d'une colonne capillaire en silice fondue. L'utilisation de l'instrument (CG-MS) suit les étapes décrites par Senthilkumar *et al.* (2014). Il est paramétré à une température initiale de 100 °C pendant 1 minute, qui est ensuite augmentée progressivement de 5°C/min jusqu'à atteindre 280°C, et maintenue pendant 9 minutes. La température de l'orifice d'injection est maintenue à 270°C, le débit d'hélium est réglé à 1ml/min et la tension d'ionisation est fixée à 70 eV. Un volume de 1 µl de chaque échantillon (dilué dans 1ml de méthanol) est injecté et la plage de balayage du spectre de masse est fixée à 45-450 (m/z). L'interprétation des spectres de masse obtenus par GC-MS-MS est réalisée à l'aide de la base de données du National Institute Standard et Technologie (NIST), qui contient plusieurs modèles. Le spectre des composants inconnus est comparé au spectre des composants connus stockés dans la bibliothèque NIST. Le nom, le poids moléculaire et la formule moléculaire des composants volatils sont ainsi déterminés.

7. Analyse des composants volatiles produits par les hyphes fongiques

L'analyse des composants volatils produits par les hyphes fongiques est réalisée en suivant les étapes décrites par Fiers *et al.* (2013). Pour cela, une solution de spores fongiques (2×10^7 spores/ml) de 50µL est introduite dans des vials de micro-extraction sur phase solide (SPME) inclinés de 20 ml, contenant 7 ml de PDA, de manière à ce que

la suspension couvre entièrement la surface du milieu de culture. Les vials, hermétiquement fermés, sont ensuite placés dans une étuve à une température de 23°C. Avant l'extraction des composants volatils, les fibres (SPME) sont conditionnées à 270°C pendant 1 heure, puis placées sur un support à piston et chaque vial de micro-extraction est placé dans un bain-marie de 25°C pendant 10 minutes afin de concentrer les composants volatils dans l'espace de tête du vial. Chaque fibre (SPME) est ensuite introduite à l'intérieur d'un vial en perçant son bouchon, puis libérée et exposée aux composants volatils produits accumulés pendant 20 minutes à une température de 23°C. L'instrument (GC-MS-MS) a été paramétré à une température initiale de 100 °C pendant 1 minute. Celle-ci est augmentée progressivement jusqu'à 250°C, d'abord à un rythme de 35°C pendant 2 minutes, puis à un intervalle de 5°C/min jusqu'à 155°C, et enfin de 20°C/min jusqu'à 250°C pendant 10 minutes. La température de l'orifice d'injection est maintenue à 250°C, le débit d'hélium à 1,5 ml/min et la tension d'ionisation à 70 eV. La fibre SPME est placée dans l'injecteur du GC et la plage de balayage du spectre de masse a été fixée à 45-450 (m/z). L'interprétation des spectres de masse obtenus par GC-MS a été réalisée à l'aide de la base de données du National Institute Standard et Technologie (NIST). Le nom, le poids moléculaire et la formule moléculaire des composants volatils ont ensuite été déterminés.



Figure 13. Analyse GC-MS des composants volatiles des extraits et des hyphes fongiques.

(Laib *et al.*,2023)

8. Dosage de la teneur en métabolites secondaires des extraits fongiques

8.1. Dosage du teneur en polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols dans les extraits fongiques a été effectué en utilisant une méthode basée sur celle développée par Waterhouse (1999), avec quelques adaptations. Dans cette méthode, 2 grammes de l'extrait sont mélangés avec 0,2 millilitres du réactif Folin-Ciocalteu et 1,4 millilitres de Na₂CO₃ à 2% (poids/volume). Ce dernier consiste en un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄₀). Lorsque les phénols sont oxydés, ce mélange se réduit pour former un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. Ensuite, le mélange est agité et incubé à l'obscurité à température ambiante pendant 2 heures. La coloration se développe avec une absorption maximale comprise entre 725 et 760 nanomètres, laquelle est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits fongiques (Boizot et Charpentier, 2006). Les absorbances sont ensuite mesurées à 760 nanomètres à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible 1800 (Shimadzu).

Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait en se référant à une courbe d'étalonnage de l'acide gallique établie à partir de 6 valeurs de concentrations variant de 0 à 1 milligramme par millilitre. Le contenu phénolique total de l'extrait est calculé en utilisant la formule suivante :

$$QP = \frac{C_0 V_0 F}{m}$$

Où :

- QP : la teneur en polyphénols en mg EAG/ g d'extrait brut
- m: la masse d'extrait solubilisé pour préparer la solution mère en mg
- C₀ : la concentration de l'extrait obtenue à partir de la courbe d'étalonnage en mg EAG/ml
- V₀ : le volume final de la solution (volume des réactifs + le volume de la solution fille) en ml
- F : le facteur de dilution= V_m /V_f dont V_m est le volume de la solution mère en ml et V_f est le volume de la solution fille prélevé en ml.

8.2. Dosage de la teneur en alcaloïdes totaux

La quantité totale d'alcaloïdes a été évaluée selon la méthode décrite par Shamsa *et al.* (2008). Pour cette méthode, un mélange de solution VBC a été préparé en combinant 69,8 milligrammes de réactif vert de bromocrésol (VBC) avec 3 millilitres de NaOH (2N) et 5 millilitres d'eau distillée. Parallèlement, une solution tampon phosphate à pH 4,7 a

été préparée en dissolvant 71,6 grammes de phosphate de sodium (Na_2HPO_4) 2 M et 0,2 M d'acide citrique dans 1 litre d'eau distillée.

Pour l'analyse, 2 grammes de l'extrait fongique ont été dissous dans de l'acide chlorhydrique (HCl) 2N et filtrés. Ensuite, le pH de l'extrait a été ajusté en ajoutant du NaOH (0,1 N). Dans un autre tube, 5 millilitres de l'extrait fongique dissous ont été mélangés avec 5 millilitres de la solution VBC et 5 millilitres de la solution tampon phosphate, puis le mélange a été vigoureusement agité.

L'absorbance a été mesurée à 470 nanomètres. Les alcaloïdes totaux ont ensuite été calculés en se référant à une courbe d'étalonnage de l'atropine, selon la formule suivante :

$$QA = \frac{C_0 V_0 F}{m}$$

Où :

- QA : la teneur en alcaloïdes en mg équivalent de l'atropine / g d'extrait brut
- m: la masse d'extrait solubilisé pour préparer la solution mère en mg
- C_0 : la concentration de l'extrait obtenue à partir de la courbe d'étalonnage en mg équivalent d'atropine/ml
- V_0 : le volume final de la solution (volume des réactifs + le volume de la solution fille) en ml
- F : le facteur de dilution= V_m / V_f dont V_m est le volume de la solution mère en ml et V_f est le volume de la solution fille prélevé en ml.

8.3. Dosage de la teneur en saponines totaux

La concentration totale en saponines (TSC) des extraits a été évaluée conformément à la méthode décrite par Navarro del Hierro et al. (2018). Pour cette méthode, les extraits ont été préparés à une concentration de 2 milligrammes par millilitre (mg/mL) dans du méthanol.

Pour chaque échantillon, 2 grammes d'extrait ont été combinés avec 2 microlitres de vanilline dissoute dans de l'éthanol (à 0,8% poids/volume) et 2 millilitres d'acide sulfurique dilué dans de l'eau (à 72% volume/volume). Un échantillon témoin a été également préparé en utilisant uniquement du méthanol. Les échantillons ont été agités vigoureusement à l'aide d'un agitateur vortex, puis chauffés à 60°C pendant 10 minutes. Par la suite, les flacons ont été refroidis dans de la glace pendant 5 minutes.

L'absorbance a été mesurée à une longueur d'onde de 520 nanomètres en utilisant un spectrophotomètre UV-visible (UV-visible 1800, Shimadzu) par rapport à

l'échantillon témoin contenant uniquement du méthanol. La concentration en saponines a été déterminée en se référant à deux courbes d'étalonnage. Une courbe d'étalonnage de l'acide oléanolique a été utilisée comme standard représentatif des saponines.

Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalents d'acide oléanolique par gramme d'extrait, calculés selon la formule suivante :

$$QS = \frac{C_0 V_0 F}{m}$$

Où :

- QS : la teneur en saponine en mg équivalent d'acide oléanolique / g d'extrait brut
- m: la masse d'extrait solubilisé pour préparer la solution mère en mg
- C₀ : la concentration de l'extrait obtenue à partir de la courbe d'étalonnage en mg équivalent d'acide oléanolique ou de diosgénine /ml
- V₀ : le volume final de la solution (volume des réactifs + le volume de la solution fille) en ml
- F : le facteur de dilution= V_m /V_f dont V_m est le volume de la solution mère en ml et V_f est le volume de la solution fille prélevé en ml.

8.4. Dosage de la teneur en tanins totaux

Les tanins, lorsqu'ils sont soumis à la chaleur en milieu acide, se décomposent en produisant une coloration spécifique dont l'absorption maximale se situe à 530 nm (Skerget et al., 2005).

Le dosage des tanins implique le mélange de 2 grammes d'extrait fongique avec 2 millilitres de solution de réactif butanol-HCL, comprenant également 77 milligrammes de FeSO₄ dissous dans 500 millilitres de butanol-HCL. Après incubation de la solution pendant 15 minutes, l'absorbance est mesurée à 530 nm. La concentration des tanins est ensuite déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage de l'acide tannique, et la teneur en tanins est exprimée en milligrammes équivalents d'acide tannique par gramme d'extrait.

La concentration des tanins est calculée selon la formule suivante :

$$QT = \frac{C_0 V_0 F}{m}$$

Où :

- QT : la teneur en tanins en mg EAT/ g d'extrait brut
- m: la masse d'extrait solubilisé pour préparer la solution mère en mg
- C₀ : la concentration de l'extrait obtenue à partir de la courbe d'étalonnage en mg EAT/ml

- V_0 : le volume final de la solution (volume des réactifs + le volume de la solution fille) en ml
- F : le facteur de dilution = V_m / V_f dont V_m est le volume de la solution mère en ml et V_f est le volume de la solution fille prélevé en ml.

9. Analyse statistique des données.

L'Analyse de Variance (ANOVA) et le test de Newman-Keuls (SNK), avec un intervalle de confiance de 95%, ont été utilisés pour comparer et regrouper les valeurs enregistrées du taux de mortalité corrigé et de l'inhibition de l'acétylcholinestérase. La Concentration Létale 50 (CL50) est déterminée à partir de la ligne de régression des probits en fonction du logarithme de la dose, correspondant aux pourcentages de mortalité ajustés en fonction des logarithmes des doses de traitement. Le Temps Létal 50 (TL50) est calculé en se basant sur la ligne de régression des probits en fonction du logarithme de la dose, associée aux pourcentages de mortalité ajustés en fonction des logarithmes des temps de traitement. Toutes les analyses statistiques des données ont été réalisées en utilisant le logiciel XLSTAT 2019 (Addinsoft, 2019. Solution d'Analyse Statistique de Données XLSTAT, Paris, France).

II. RESULTATS ET DISCUSSION

1. Composition et critères d'identification d'isolats fongiques

Les critères d'identification de champignons endophytes nous ont permis d'isoler cinq espèces fongiques contenues dans les feuilles de ricin commun (*R. communis*) : il s'agit de *Alternaria alternata*, *Alternaria tenuissima*, *Aspergillus niger*, *Trichoderma sp* et *Gliocladium sp*.

1.1. *Alternaria alternata*

La colonie de couleur verdâtre et laineuse au revers noir, pousse rapidement (Figures 14 a et 14 b). Elle se distingue par des conidiophores formées de plusieurs cellules (Figure 14 c), à conidies brunes, disposées en chaîne acropétale ou isolées, d'aspect piriforme ou ovoïde, à base élargie avec des septations transversales, longitudinales et obliques (Figure 14d et 14e).

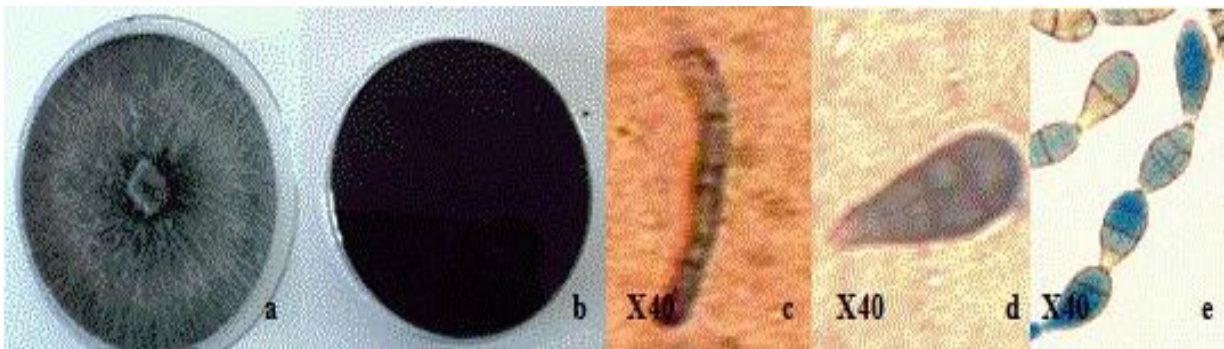


Figure 14. Colonie de champignon endophyte d'*Alternaria alternata*,
Conidiophore et Conidie et chaîne acropétale

a : Colonie face (verdâtre), b : colonie revers (noir), c : conidiophore, d : conidie (Laib *et al.*, 2023).

1.2. *Alternaria tenuissima*

La colonie de couleur gris verdâtre, laineuse, au revers noir, pousse rapidement. Elle possède des conidiophores bruns formés de plusieurs cellules ayant des conidies brunes groupées qui prennent naissance à partir du conidiophore (Figure 15).

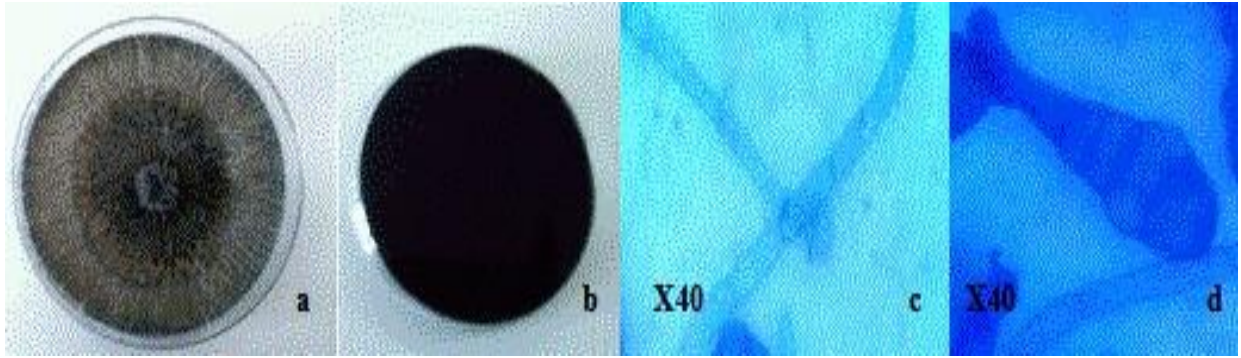


Figure 15. Colonie de champignon endophyte d'*Alternaria tenuissima*,
Conidiophore et Conidie

a : Colonie face (gris verdâtre, laineuse), b : colonie revers (noir), c :
conidiophore, d : conidie (Laib *et al.*,2023).

1.3. *Aspergillus niger*

La colonie pousse rapidement. Poudreuse, elle se reconnaît par sa couleur verdâtre, à revers et par ses organes de reproduction asexuée. Les têtes aspergillaires et les conidies sphériques, sont non septées, Celles-ci se caractérisent par des cicatrices visibles jaunes (Figure 16).

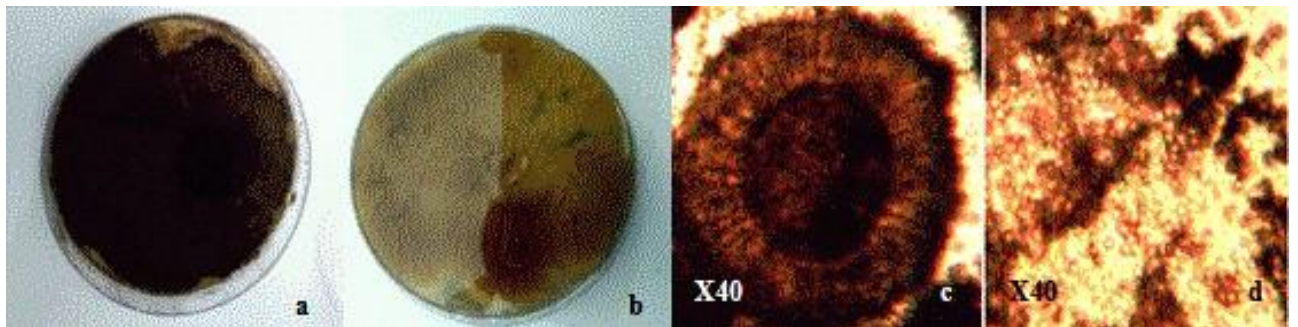


Figure 16. Colonie de champignon endophyte d'*Aspergillus niger*,
Tête aspergillaire et Conidies sphériques.

a : Colonie face (verdâtre), b : colonie revers (jaune), c :Tête aspergillaire,
d : Conidies sphériques (Laib *et al.*,2023).

1.4. *Trichoderma sp*

La colonie pousse rapidement. Elle se reconnaît grâce à sa couleur blanche et ses conidies de couleur verte, globuleuses et unicellulaires. Les phialides, ovoïdes à ellipsoïdales, isolées ou groupées sont en petit nombre (2-3) et disposées sur les branches, généralement, perpendiculaires à l'axe (Figure 17).

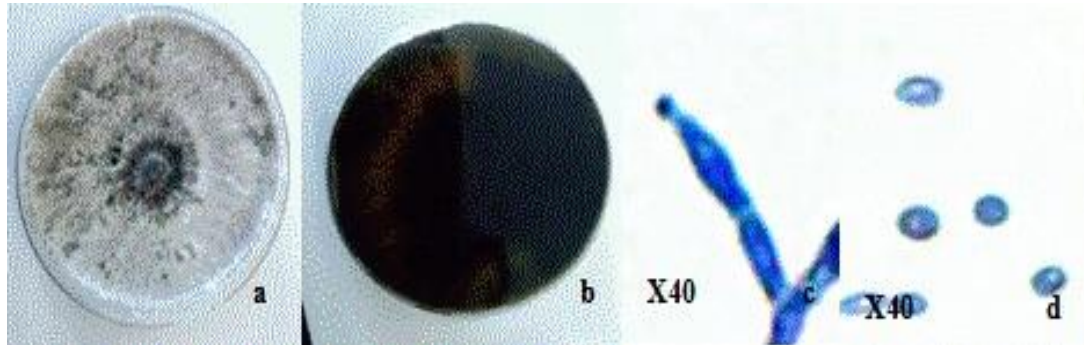


Figure 17. Colonie de champignon endophyte de *Trichoderma sp* Phialides et Conidies. a : Colonie face (blanche), b : colonie revers, c : Phialide, d. Conidies (Laib *et al.*,2023).

1.5. *Gliocladium sp*

La colonie est duveteuse, blanche, ayant des conidiophores ramifiés en forme de pinces et des conidies de forme arrondies, elle pousse lentement. Il ne fera pas l'objet de notre travail (Figure 18).



Figure 18. Colonie de champignon endophyte de *Gliocladium sp* Phialides et Conidies. a : Colonie face (blanche), b : colonie revers, c :conidiophores portant des conidies (Laib *et al.*,2023).

2. Fréquence de colonisation d'isolats fongiques

Les espèces *Alternaria alternata* et *Alternaria tenuissima* représentent une fréquence de colonisation totale de 29% chacune. Ils sont suivis par *Trichoderma* sp et *Aspergillus niger* dont les fréquences respectives sont de 21% et de 14%. Ayant une fréquence de colonisation faible *Gliocladium* sp ne compte que 7% (Figure 19).

Plusieurs études en matière d'isolement, d'identification et de fréquences de colonisation des champignons endophytes ont été réalisés à travers le monde.

En effet, D'après Jain & Sharma (2015) les champignons endophytes isolés contenus dans les feuilles, les graines et les tiges de ricin sont respectivement *Cephalosporium* sp, *Aspergillus* sp, *Penicillium* sp, *Rhizopus* sp et *Gliocladium* sp.

D'après ces mêmes auteurs, leur fréquence de colonisation totale est de 25,82%. Par contre, *Cephalosporium* sp, *Rhizopus* sp et *Gliocladium* sp ont une fréquence de colonisation de 0,83% chacun. Les champignons ayant des fréquences de 12,5% et 10,83% sont *Penicillium* sp et *Aspergillus* sp.

D'autres champignons endophytes ont été identifiés dans les feuilles de ricin : il s'agit par ordre croissant d'*Aspergillus fumigatus* (12,50%), *Aspergillus repens* (12,5%), *Aspergillus japonicus* (18,75%), *Curvularia pallescens* (18,75%), *Phoma hedericola* (12,50%), *Alternaria tenuissima* (25%). En revanche *Aspergillus niger* (25%), *Fusarium semitectum* (14,28%) sont contenus dans les tiges tandis qu'à partir des racines, deux champignons ont été isolés, *Fusarium solani* (14,28%), *Drechslera australiensis* (7,14%).

De même, plusieurs espèces du genre *Alternaria* comme *Alternaria Arborescens* MUCL, *Alternaria Arborescens* MUCL (2), *Alternaria tenuissima* EF 04, *Alternaria alternata*, *Alternaria*KI-2010, *Alternaria* Cas 1, *Alternaria Brassicae*M6, *Alternaria*Longipes, *Alternaria alternata* HDJZ-zwm-34, *Alternaria Porri* Ap-18, *Alternaria Porri* Ap-3, *Alternaria brassicae* B70, *Alternaria* sp.Wangcy 003, *Aspergillus fumigatus* ont été isolés, mais une seule espèce du genre *Aspergillus* (*Aspergillus fumigatus*) a été enregistré dans le ricin (Singh *et al.*, 2012).

Cette différence est due à plusieurs facteurs tels que l'âge de la plante, la composition chimique de ses différents organes, la capacité des champignons endophytes à produire certaines enzymes et à résister à certaines molécules chimiques de sa plante hôte, ce qui leur permettent de coloniser une partie de celle-ci. En plus les conditions environnementales et la composition en éléments minéraux nutritifs sont primordiales pour la biodiversité des champignons endophytes (Sim *et al.*, 2010 ; Li *et al.*, 2012 ; Zheng *et al.*, 2016 ; Park *et al.*, 2017 ; Yu *et al.*, 2018). En comparant nos résultats, les champignons endophytes isolés à partir du ricin commun, ne sont que peu conformes malgré quelques ressemblances par rapport aux auteurs cités ci-dessus.

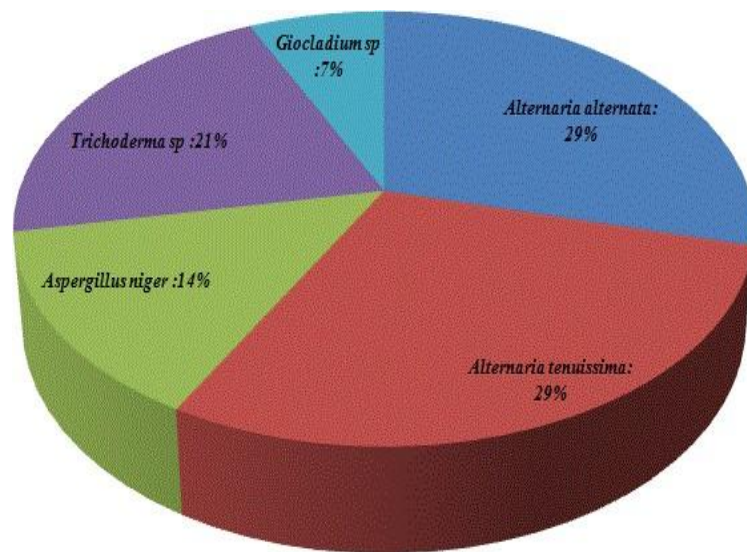


Figure 19. Fréquences de colonisation des champignons endophytes de *R. communis*.

3. Fermentation submergée et production des extraits fongiques.

La fermentation submergée a permis d'isoler et de produire 4 extraits fongiques susceptibles d'être utilisés en tant que bioinsecticides contre les insectes en général et les locustes comme *Locusta migratoria* en particulier. Il s'agit d'*Alternaria alternata*, *Alternaria tenuissima*, *Aspergillus niger*, *Trichoderma sp* et *Gliocladium sp* (Figure 20). Ces composés chimiques bioactifs seront destinés pour des traitements contre *Locusta migratoria*.

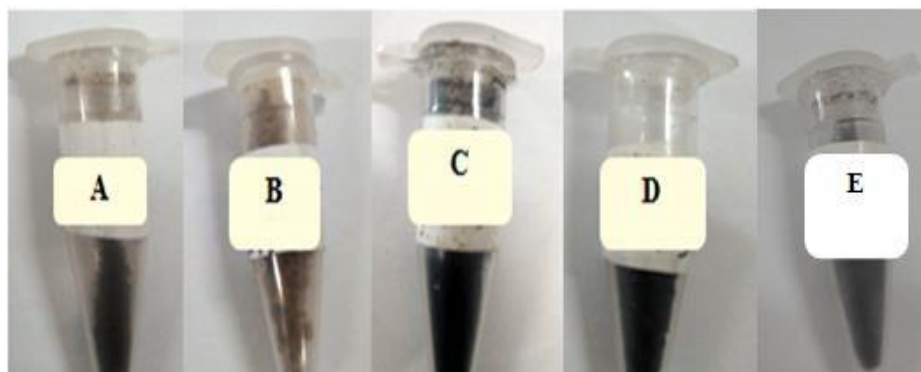


Figure 20. Extraits des champignons endophytes des feuilles de *R. communis*
A : *Alternaria alternata*, B : *Alternaria tenuissima*, C. *Aspergillus niger*, D.
Trichoderma sp., E. *Gliocladium* sp. (Laib *et al.*,2023).

Il est connu en effet que les champignons endophytes constituent une source importante de métabolites secondaires bioactifs (El-Sayed *et al.*, 2020). A cet effet, la fermentation submergée a été adoptée en raison du temps relativement court pour la production de métabolites secondaires bioactifs en un espace limité. Elle réduit, en outre, les risques de contamination et contrôle les conditions physico-chimiques tel que le pH initial. Elle emploie également des milieux de cultures à base de substrats peu chers, ce qui réduit considérablement le coût de production de ces métabolites (Horgan & Murphy, 2011 ; Xu *et al.*, 2008 ; Saltarelli *et al.*, 2009 ; Zhong & Xiao, 2009 ; Zhou *et al.*, 2012 ; Upadhyay *et al.*, 2014 ; Tan *et al.*, 2015 ; Papinutti, 2010 ; Zhang *et al.*, 2010 ; Patil *et al.*, 2016).

4. Analyse chimique préliminaire des extraits fongiques.

Après le test chimique préliminaire d'extraits d'*Alternaria alternata* et *Aspergillus niger*, il a été identifié la présence de polyphénols, alcaloïdes, terpenoïdes et saponines (émulsion assez stable), mais ils sont dépourvus de tanins. Le premier est fortement pourvu en polyphénols comme *Trichoderma* sp alors que le second est riche en alcaloïdes. Les mêmes métabolites se retrouvent dans les extraits de *Trichoderma* sp et *Alternaria tenuissima* qui sont riche en polyphénols mais en plus il y a présence de tanins. On reconnaît la présence des polyphénols grâce à leur couleur verte alors que les alcaloïdes sont jaunes, les terpenoïdes marron-rouge, les tanins bleus. Les saponines apparaissent sous forme d'émulsion assez stable. Tous les extraits fongiques se caractérisent par l'absence de flavonoïdes (Tableau 1 et Figure 21).

Tableau 1. Métabolites secondaires des extraits fongiques.

Champignon endophyte	Polyphenols	Alcaloïdes	Terpenoïdes	Saponines	Tanins
<i>Aspergillus niger</i>	+	++	+	+	-
<i>Alternaria alternata</i>	++	+	+	+	-
<i>Trichoderma</i> sp	+++	+	+	+	+
<i>Alternaria tenuissima</i>	+	++	+	+	+

(+) Présence, (++) Forte présence, (+++) Très forte présence, (-) Absence

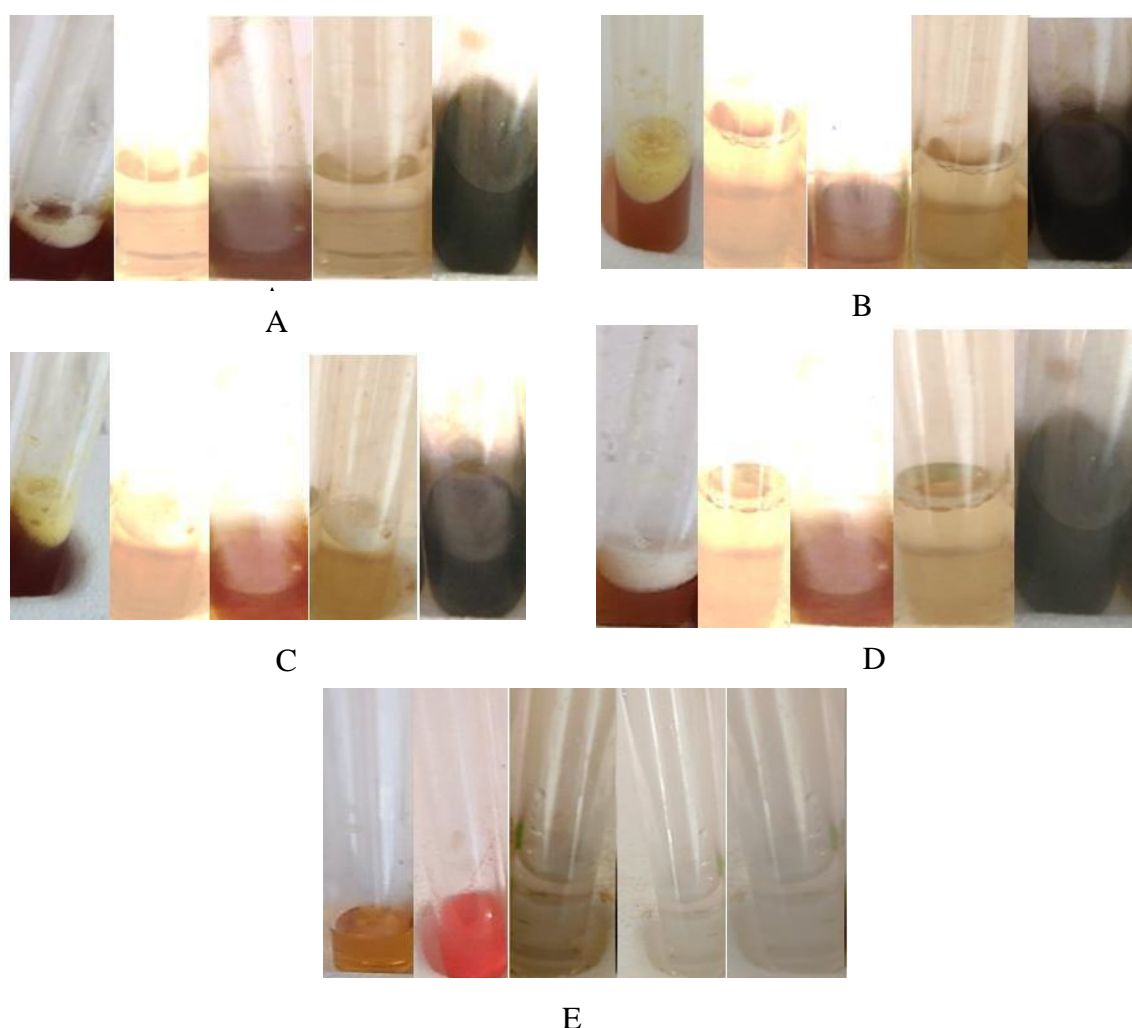


Figure 21. Analyse chimique préliminaire des extraits fongiques. A : *A. niger*, B : *A. alternata*, C : *A. tenuissima*, D : *Trichoderma* sp, E : Témoin (Laib *et al.*,2023).

Les champignons endophytes sont des organismes fascinants qui vivent à l'intérieur des tissus des plantes sans causer de dommages apparents. Ils offrent à la plante une protection contre les insectes nuisibles (El-Sayed *et al.*, 2017) par la production de métabolites secondaires spécifiques bioactifs impliqués dans des interactions écologiques entre la plante et son environnement. Ces métabolites secondaires spécifiques bioactifs modulent la qualité nutritionnelle de la plante ou en émettent des substances volatiles pour repousser les insectes ravageurs (Bartelt & Wicklow, 1999 ; Strobel, 2003 ; Howe *et al.*, 2008 ; Hardoim *et al.*, 2015). Ils constituent également un réservoir de composés biologiquement actifs inexploités, et de nouveaux produits agrochimiques qui pourraient être un moyen de lutte alternatif aux insecticides chimiques (Demain *et al.*, 2000 ; El-Sayed *et al.*, 2020). Les métabolites secondaires qui se distinguent par une activité insecticide sont le plus souvent les terpénoïdes, les alcaloïdes et les composés phénoliques (Boulogne *et al.*, 2012). Plusieurs terpénoïdes à activité insecticide sont produites et isolées à partir des cultures de champignons endophytes parmi eux les sesquiterpènes tels que l'acide heptélidique et l'acide hydroheptélidique produites par le champignon *Phyllosticta* sp isolé à partir du sapin baumier *Abies balsamea*. Ces sesquiterpènes présentent une toxicité pour la tordeuse des bourgeons du blé *Cnephasia pumicana* et des larves de *Choristoneura fumiferana* (Calhoun *et al.*, 1992). Dans le même ordre d'idées, deux benzofuranes contenant des dérivés normonoterpéniques sont toxiques pour les larves de la tordeuse des bourgeons de l'épinette *Choristoneura fumiferana* (Findlay *et al.*, 1995).

Les composés phénoliques sont des composés défensifs (Sharma *et al.*, 2009) ; ils sont toxiques et agissent par ingestion chez les insectes (Kortbeek *et al.*, 2019). L'oxydation des phénols par les polyphénols oxydase (PPO) et la peroxydase (POD) est un mécanisme de défense potentiel chez les plantes contre les insectes. Les quinones formées par cette oxydation se lient aux protéines des feuilles et inhibent leur digestion par les insectes (Bhonwong *et al.*, 2009). Les polyphénols et les acides phénoliques sont fréquemment détectés dans les cultures de champignons endophytes et ont des activités insecticides importantes. Par exemple des composés phénoliques purifiés à partir de l'extrait d'acétate d'éthyle de *Cladosporium* sp isolé de *Tinospora cordifolia* provoquent une mortalité importante et inhibent le développement et la survie du ver gris du tabac *Spodoptera litura* (Singh *et al.*, 2015).

Les tanins sont des toxines qui affectent la croissance et le développement des insectes en agissant comme dissuasifs alimentaires contre de nombreux insectes ravageurs. Ils chélatent les éléments ou ions minéraux, réduisant ainsi leur biodisponibilité pour les

insectes. Ils réduisent la digestibilité des protéines végétale, diminuent la valeur nutritive de la plante. De plus ils précipitent les enzymes digestives, réduisent l'efficacité d'absorption des nutriments et causent des lésions dans l'intestin moyen des insectes (Sharma & Agarwal, 1983 ; Sharma *et al.*, 2009 ; Barbehenn & Peter Constabel, 2011 ; War *et al.*, 2012 ; Taye & Borkataki, 2020).

Les saponines, qui ont une activité insecticide et répulsive, jouent un rôle déterminant dans le contrôle de la croissance des insectes. En se liant au cholestérol, elles perturbent la production d'ecdystéroïdes, ce qui interfère avec la mue des insectes. Elles fonctionnent également comme des inhibiteurs de protéase et sont cytotoxiques pour certains types d'insectes (Chaib, 2010). Par contre les terpénoïdes sont impliqués dans l'inhiber de l'activité des récepteurs stéroïdiens d'insectes (Molécules protéiques qui permettent à la cellule de détecter la présence d'hormones (Clouse, 2011). Ces substances jouent un rôle crucial dans la prévention de la transmission de maladies virales en créant une barrière entre la plante et l'insecte, réduisant ainsi le risque d'infection (Kortbeek *et al.*, 2019). De même ils sont impliqués dans la défense en tant que toxines chez un grand nombre d'insectes ravageurs (Gershenson & Croteau, 1991).

Il est admis que les champignons endophytes produisent des métabolites secondaires à activité insecticide tels que les alcaloïdes (péramines, alcaloïdes de l'ergot, lolitremes, alcaloïdes de la loline). Ces alcaloïdes ont été détectés dans les cultures de champignons endophytes associés aux graminées, comme le genre *Epichloe* spp et *Neotyphodium* spp (Muller & Krauss, 2005 ; Zhang *et al.*, 2012). Ils sont classés en trois groupes : les amines et les amides, les dérivés d'indole et les pyrrolizidines. Parmi les amines et les amides, la peramine est toxique pour les insectes et a une forte capacité dissuasive contre le charançon argentin *Listronotus bonariensis* ainsi que d'autres insectes ravageurs (Rowan *et al.*, 1990 ; Rowan *et al.*, 1993). Elle est sans effet indésirable pour les mammifères (Dew *et al.*, 1990 ; Rowan & Latch, 1994). Les alcaloïdes de l'ergot du seigle (*Claviceps purpurea* Tul.) est un champignon vénéneux du groupe des ascomycètes, parasite du seigle (et d'autres céréales) offrent également une résistance significative contre les insectes ravageurs (Potter *et al.*, 2008). Parmi les dérivés d'indole, il a été démontré que les lolitrem C et F confèrent une résistance contre un certain nombre d'espèces d'insectes (Parish *et al.*, 2003). D'autres dérivés d'indole, à savoir la chanoclavine, l'agroclavine et l'elymo-clavine isolés à partir la culture de *Neotyphodium* spp (Strobel *et al.*, 2004), se sont révélés toxiques pour certains insectes (Ball *et al.*, 1997). Les alcaloïdes lolines ont également démontré une activité insecticide par ingestion

contre une large gamme d'insectes ravageurs (Siegel *et al.*, 1990 ; Bacetty *et al.*, 2009b). Parmi les pyrrolizidines, les alcaloïdes aminopyrrolizidiniques saturés comme la norloline, la N-formylloline, la N-acétylnorloline, la N-acétylloline ont été exclusivement trouvés dans les graminées. En effet l'ascomycètes de la famille des Clavicipitaceae, *Neotyphodium coenophialum* infeste *Festuca arundinacea* tandis que *Neotyphodium uncinatum* infecte *Festuca pratensis* (Schardl & Phillips, 1997).

5. Traitement par contact et par ingestion

5.1. Evolution de la toxicité selon la dose

L'activité insecticide des extraits fongiques des champignons endophytes *Alternaria alternata*, *Alternaria tenuissima*, *Aspergillus sp*, *Trichoderma sp* contre *Locusta migratoria* a montré une efficacité relative selon le champignon, la dose ainsi que le temps d'exposition au traitement. En effet, la mortalité est d'autant plus forte que la dose est élevée et *A. alternaria* reste le plus performant en raison de la forte mortalité qu'il provoque à la dose de 2 g/l après traitement par contact (72,22%) (Tableau 2, Figure 22). Il est suivi de *A. tenuissima* et *Aspergillus sp* qui entraînent également une mortalité de (72,22%) à la même dose que *A. alternaria*. *Trichoderma sp*, par contre provoque une mortalité de 66,67% toujours à la même dose. Pour les champignons endophytes *A. alternaria* et *A. tenuissima*, on note un taux de mortalité respectif de 55,56% et 61,11% à la dose de 1,4 g/l à l'opposé de *Aspergillus niger* et *Trichoderma sp* qui atteint une mortalité de 38,89% toujours à la dose de 1,4 g/l. Ce dernier champignon n'est pas efficace pour les doses de 0,2 à 1,6g/l où la mortalité n'excede pas 38,89% quel que soit la concentration exception faites de celles de 1,8g/l et de 2g/l qui causent 61,11% 66,67% de mortalité. Par contre *Aspergillus niger* entraine une mortalité de 55,56% à la dose de 1,6g/l tandis que pour les autres concentrations, la mortalité reste faible, elle est inférieure à 40% (38,89%) (Tableau 2, Figure 18). Par ailleurs, le traitement par ingestion est plus efficace et agit avec des doses plus faibles que le traitement par contact. En effet, à partir de 0,8g/l, *A. alternaria* arrive à tuer 50% de criquets, mais entre 1g/l, les champignons endophytes aussi bien *A. alternaria* qu'à *A. tenuissima* entraine respectivement 61,11% et 55,56% de mortalité. Au-delà de cette concentration c'est-à-dire 1g/l, la mortalité est tres élevée et atteint 88,89% pour l'un et l'autre champignons. Au début du traitement par ingestion, *Aspergillus niger* est peu efficace sur *L. migratoria*, en particulier, pour les doses entre 0,2g/l et 1,4g/l, son activité sur l'acridien commence à la dose de 1,6g/l où la mortalité est de 66,67%. Celle-ci augmente jusqu'à 77,78% à la dose de 2g/l. Mais

Trichoderma sp ne donne pas des résultats probants dans la mesure ou les doses entre 0,2 g/l et 1,6 g/l donne une mortalité très faible qui ne dépasse pas 38,89% (Tableau 2, Figure 23).

Tableau 2. Toxicité des champignons endophytes sur *L. migratoria* après traitement par contact et ingestion en fonction des doses

Doses	<i>A. alternaria</i>		<i>A. Tenuissima</i>		<i>Aspergillus niger</i>		<i>Trichoderma sp</i>	
	Contact	Ingestion	Contact	Ingestion	Contact	Ingestion	Contact	Ingestion
0,2g/l	16,67	22,22	11,11	16,67	5,56	5,56	11,11	11,11
0,4g/l	22,22	33,33	11,11	22,22	5,56	16,67	16,67	16,67
0,6g/l	27,78	38,89	16,67	33,33	11,11	22,22	16,67	16,67
0,8g/l	33,33	50	27,78	38,89	16,67	33,33	22,22	22,22
1,0g/l	38,89	61,11	38,89	55,56	27,78	38,89	27,78	27,78
1,2g/l	44,44	66,67	50,00	66,67	33,33	55,56	33,33	33,33
1,4g/l	55,56	72,22	61,11	72,22	38,89	61,11	38,89	38,89
1,6g/l	61,11	77,78	66,67	77,78	55,56	66,67	38,89	38,89
1,8g/l	66,67	88,89	72,22	83,33	66,67	72,22	61,11	61,11
2,0g/l	72,22	88,89	72,22	88,89	72,22	77,78	66,67	66,67

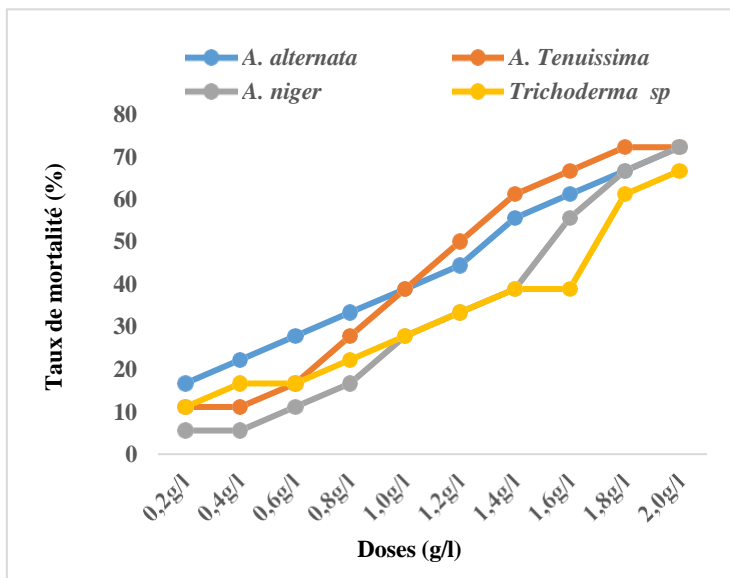


Figure 22. Toxicité des champignons endophytes en fonction des doses Sur *L. Migratoria* après traitement par contact

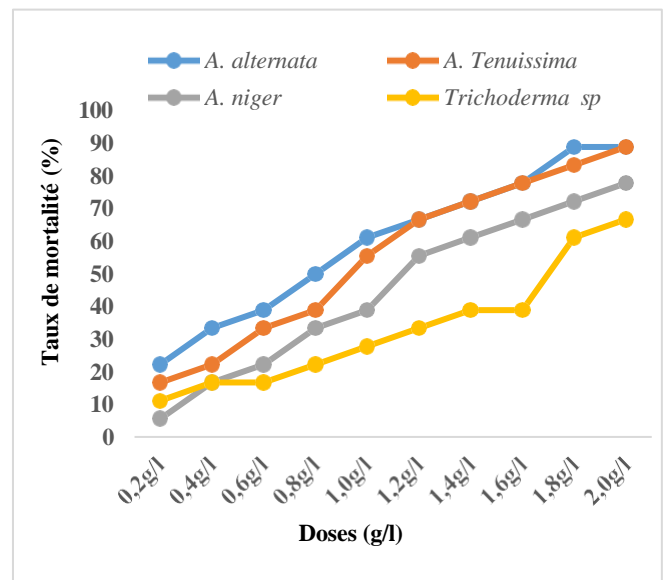


Figure 23. Toxicité des champignons endophytes en fonction des doses Sur *L Migratoria* après traitement par ingestion

5.2. Détermination de la DL₅₀ en g/l

Le calcul de la DL₅₀ après traitement par contact montre que *A. tenuissima* et *A. alternata* ont sensiblement des valeurs sensiblement égales et que leur activité est intéressante pour leur utilisation éventuelle dans le contrôle biologique. En revanche *Aspergillus niger* et *Trichoderma sp* ont également des DL₅₀ qui sont proches l'une de l'autre et indiquent que leur activité est bien que plus que les deux champignons endophytes précédents, mais leur activité insecticide n'est pas à négliger. Le traitement par ingestion a donné des valeurs des DL₅₀ plus faibles que celles obtenues après le traitement par contact. *A. tenuissima* se distingue par une DL₅₀ n'excédant pas 0,65, il est suivi par *A. alternata* (0,88), et *Aspergillus niger* (1,08). C'est *Trichoderma sp* qui vient en dernier avec une DL₅₀ de 1,47 (Tableau 3, Figures 24, 25, 26, 27)

Les valeurs des DL₅₀ résultants du traitement par ingestion sont largement plus faibles que celles obtenues après traitement par contact. Il s'avère que de point de vue efficacité en tant que biopesticide, *A. tenuissima* et *A. alternata* ont montré une plus grande toxicité à l'égard de *L. migratoria* sans pour autant négliger aussi bien *Aspergillus niger* que *Trichoderma sp* dont l'activité toxique est appréciable (Tableau 3, Figures 28,29,30,31). L'analyse de la variance indique qu'il n'y a pas de différence significative entre les champignons endophytes et que leur action toxique est avérée (DDL = 3, F = 0,5371, Pr (0,6614) > F (0,5371). De même le test de Newman-Keuls (SNK) qui consiste en une analyse des différences entre les modalités avec un intervalle de confiance à 95% indique qu'il n'existe pas de différence significative entre les champignons endophytes vis-à-vis de *L. migratoria* (Tableau 4). Par conséquent, ces derniers forment un seul groupe homogène toujours sur la base de la comparaison des moyennes par le biais du test de Newman-Keuls (Tableau 5).

Tableau 3. DL₅₀ en g/l après traitement par contact et ingestion

Espèces	Contact	Ingestion
<i>Alternaria tenuissima</i>	1,17	0,65
<i>Alternaria alternata</i>	1,20	0,88
<i>Aspergillus niger</i>	1,56	1,08
<i>Trichoderma sp</i>	1,79	1,47

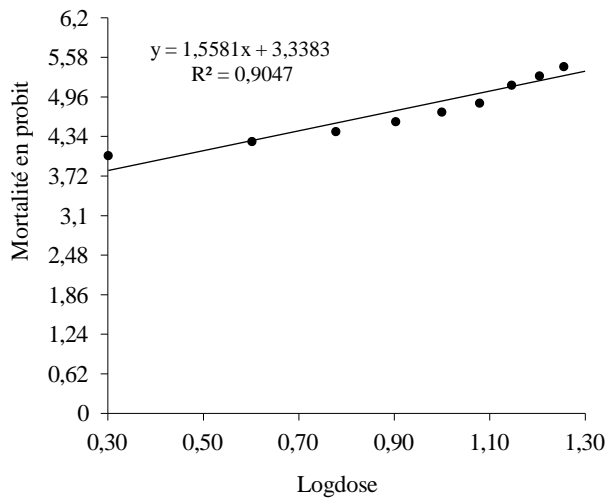


Figure 24. Droite de regression de la mortalité en probit après traitement par contact (DL50) (*Alternaria alternata*)

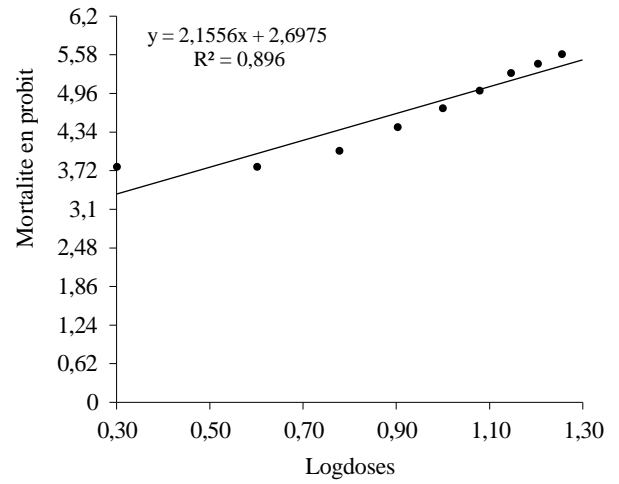


Figure 25. Droite de regression de la mortalité en probit après traitement par contact (DL50) (*Alternaria tenuissima*)

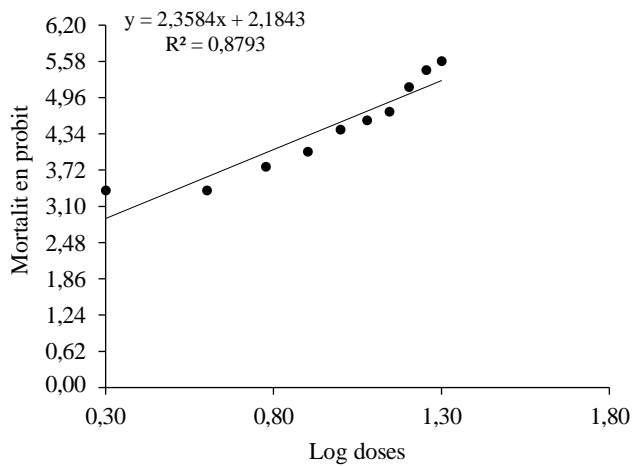


Figure 26. Droite de regression de la mortalité en probit après traitement par contact (DL50) (*Aspergillus niger*)

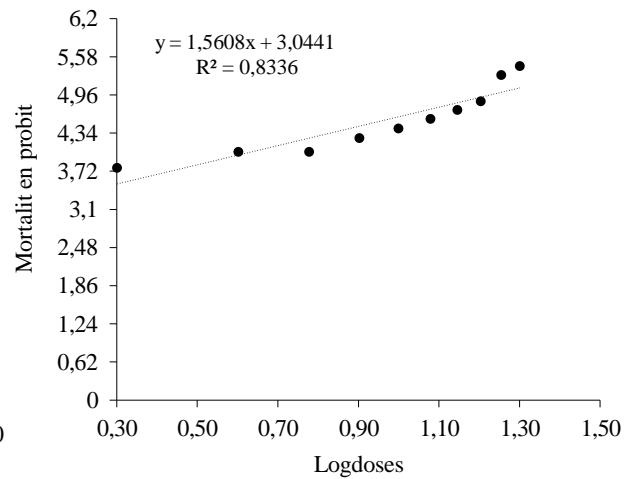


Figure 27. Droite de regression de la mortalité en probit après traitement par contact (DL50) (*Trichoderma sp.*)

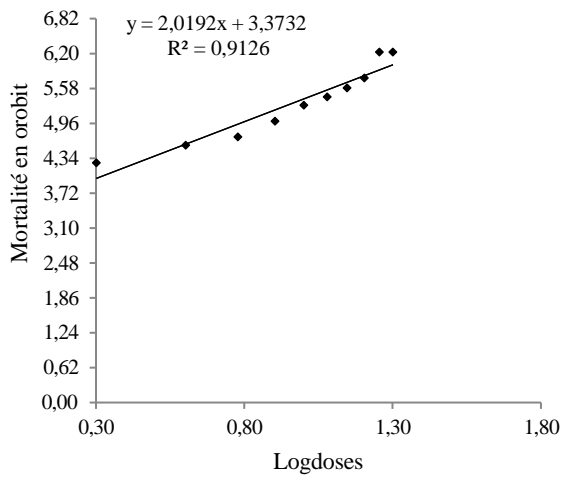


Figure 28. Droite de regression de la mortalité en probit après traitement par ingestion (*Alternaria alternata*)

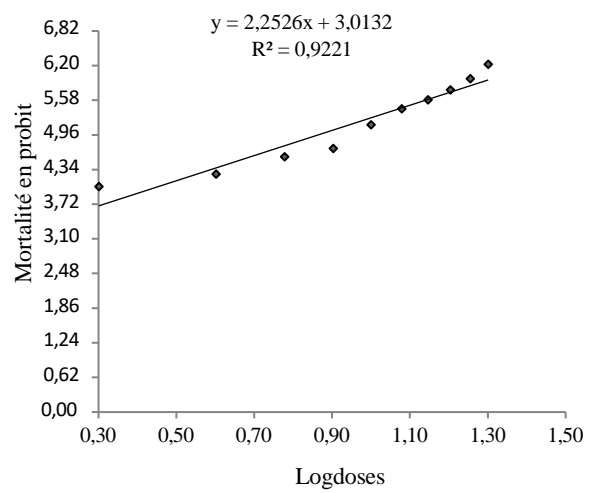


Figure 29. Droite de regression de la mortalité en probit après traitement par ingestion (*Alternaria tenuissima*)

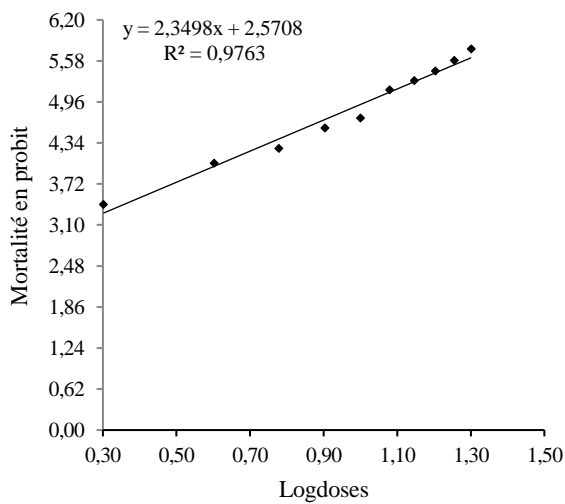


Figure 30. Droite de regression de la mortalité en probit après traitement par ingestion (*Aspergillus niger*)

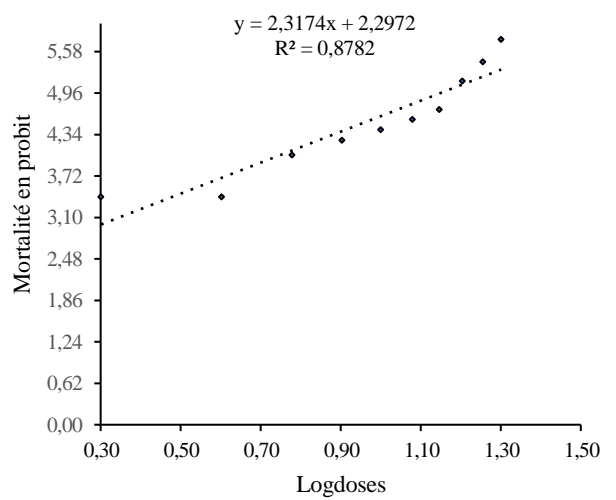


Figure 31. Droite de regression de la mortalité en probit après traitement par ingestion (*Trichoderma sp.*)

Tableau 4. Newman-Keuls (SNK) / Analyse des différences entre les modalités avec un intervalle de confiance à 95% :

Contraste	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Pr > Diff	Significatif
<i>A. tenuissima</i> vs <i>A. alternata</i>	2,286	1,0364	2,7587	0,7301	Non
<i>A. tenuissima</i> vs <i>A. niger</i>	2,286	1,0364	2,4975	0,5617	Non
<i>A. tenuissima</i> vs <i>Trichoderma sp</i>	2,286	1,0364	2,0639	0,3104	Non
<i>Trichoderma sp</i> vs <i>A. alternata</i>	0,000	0,0000	2,4975	1,0000	Non
<i>Trichoderma sp</i> vs <i>A. niger</i>	0,000	0,0000	2,0639	1,0000	Non
<i>A.niger</i> vs <i>A. alternata</i>	0,000	0,0000	2,0639	1,0000	Non

Tableau 5. Groupes formés par les champignons endophytes calculé sur la base du test de Newman-Keuls

Modalité	Moyenne estimée	Groupes
<i>A. tenuissima</i>	13,7143	A
<i>A. alternata</i>	11,4286	A
<i>Aspergillus niger</i>	11,4286	A
<i>Trichoderma sp</i>	11,4286	A

5.3. Evolution de la toxicité temporelle

Après 24 heures, la mortalité demeure faible au premier jour, quelque soit le champignon (5,56%) pour *Aspergillus niger*, *Trichoderma*, *A. alternaria* et *A. Tenuissima sp* après le traitement par contact. Ce n'est que 48 heures après que le taux de mortalité se différencie, il est de 16,67% aussi bien pour *A. alternaria* que pour *A. Tenuissima* alors que *Aspergillus niger* et *Trichoderma sp* ont un taux de 11,11% chacun et les écarts se creusent davantage selon le temps, entre la mortalité provoquée par les champignons. *A. Tenuissima* provoque une mortalité de 55,56% au 5^{ème} jour, soit 120 heures après le traitement et au 6^{ème} c soit 144 heures après le traitement pour *A. alternaria*. Ce dernier avec *A. Tenuissima* causent l'un et l'autre un taux de mortalité maximum de 77,78% au 7^{ème} jour, soit 168 heures après le traitement par contact. Par contre *Aspergillus sp* et *Trichoderma sp* provoque une faible mortalité au 7^{ème} jour n'excédant pas 38,89% chacun (Tableau 6, Figure 32). Contrairement au traitement par contact, celui par ingestion entraîne une mortalité, bien que peu importante, de plus de 16,67% pour *A. alternaria* et 11,11% pour *A. Tenuissima*, celle-ci ne dépasse pas 5,56% pour *Aspergillus niger* et

Trichoderma sp au premier jour de traitement. L'un des deux champignons notamment *A. niger* apparaît plus toxique vis-à-vis de *L. migratoria* du moment qu'il provoque au 6^{ème} et au 7^{ème} 55,56% et 66,67% (144 et 168 heures après) par rapport à *Trichoderma sp* dont la mortalité est de 38,89% au 7^{ème} jour, soit 168 heures après. Ce sont *A. alternata* et *A. tenuissima* qui sont vraisemblablement promoteur en tant que biopesticide pour le contrôle non seulement les insectes en général mais aussi, *L. migratoria* en particulier. En effet les deux champignons entraînent un taux de mortalité de 55,56% au 4^{ème} jour (96 heures) pour *A. alternata* au 5^{ème} jour (120 heures) pour *A. tenuissima*. Au 7^{ème} jour la mortalité est la même pour les deux champignons, celle-ci atteint 77,78%. En résumé la mortalité est d'autant plus grande que le temps d'exposition est grand (Tableau 6, Figure 33).

Tableau 6. Toxicité temporelle (TL50) des champignons endophytes sur *L. migratoria*

Temps	<i>A. alternata</i>		<i>A. Tenuissima</i>		<i>Aspergillus niger</i>		<i>Trichoderma sp</i>	
	Contact	Ingestion	Contact	Ingestion	Contact	Ingestion	Contact	Ingestion
24	5,56	16,67	5,56	11,11	5,56	5,56	5,56	5,56
48	16,67	22,22	16,67	16,67	11,11	11,11	11,11	11,11
72	22,22	33,33	22,22	22,22	16,67	16,67	16,67	22,22
96	27,78	55,56	33,33	38,89	22,22	22,22	22,22	33,33
120	38,89	61,11	55,56	55,56	27,78	33,33	27,78	33,33
144	55,56	66,67	66,67	66,67	27,78	55,56	38,89	38,89
168	77,78	77,78	77,78	77,78	38,89	66,67	38,89	38,89

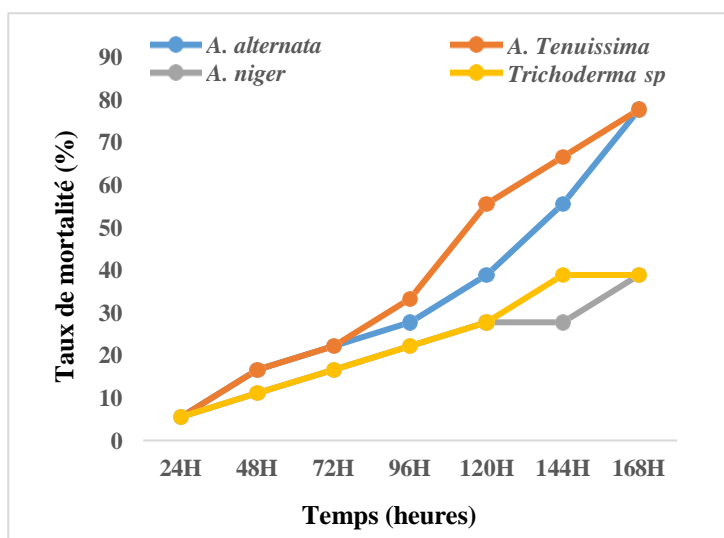


Figure 32. Toxicité temporelle des champignons endophytes sur *L. migratoria* après traitement par contact

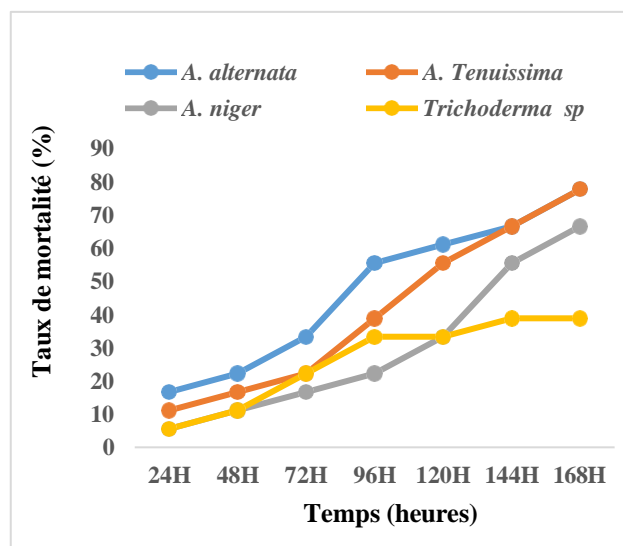


Figure 33. Toxicité temporelle des champignons endophytes sur *L. migratoria* après traitement par ingestion

5.4. Détermination de la TL50

Après le traitement par contact, le temps léthal pour *A. alternata* est 108,62 heures, soit 4, 53 jours à l'opposé de *A. Tenuissima* où son activité pour provoquer 50% de mortalité s'élève à 126,65 heures, soit 5,28 jours. Le temps léthal augmente progressivement pour *Aspergillus niger* et *Trichoderma sp*, celui-ci atteint 205,52 soit 8 jours et 216,10 soit 9 jours. Par contre le traitement par ingestion a une activité toxique précoce et les TL₅₀ sont largement supérieure à celles du traitement par contact. En effet *A. alternaria* se distingue par une TL₅₀ égale à 88,02 heures, soit 3,67 jours alors que *A. Tenuissima* détruit 50% de la population de *L. migratoria* au bout de 106,22, soit 4,43 jours. Les deux champignons moins efficaces que les précédents, sont intéressants et méritent également peut-être plus d'attention car leurs temps léthales est encourageant dans la mesure où ils entraînent 50% de mortalité au bout de 205,52 heures, soit 6,34 jours et 216,10, soit 7,20 jours (Tableau 7).

Tableau 7. TL₅₀ des champignons endophytes après traitements par contact et ingestion sur *L. migratoria*

Espèces	Contact		Ingestion	
	En heures	En jours	En heures	En jours
<i>Alternaria alternata</i>	108,62	4,53	88,02	3,67
<i>Alternaria tenuissima</i>	126,65	5,28	106,22	4,43
<i>Aspergillus niger</i>	205,52	8	152,22	6,34
<i>Trichoderma sp</i>	216,10	9	172,86	7,20

5.5. Modifications physiologiques

L'application des extraits fongiques induit une modification de la pigmentation corporelle des criquets, qui vire au rouge suite à un traitement par contact (Figure 34A, B, C et D), et une coloration noire de la face ventrale (emplacement du tube digestif) après le traitement par ingestion (Figure 34E, F, G et H). Une diminution de l'activité motrice, des défécations intensives et des pertes hydriques anormales sont observées chez les individus traités par ingestion.

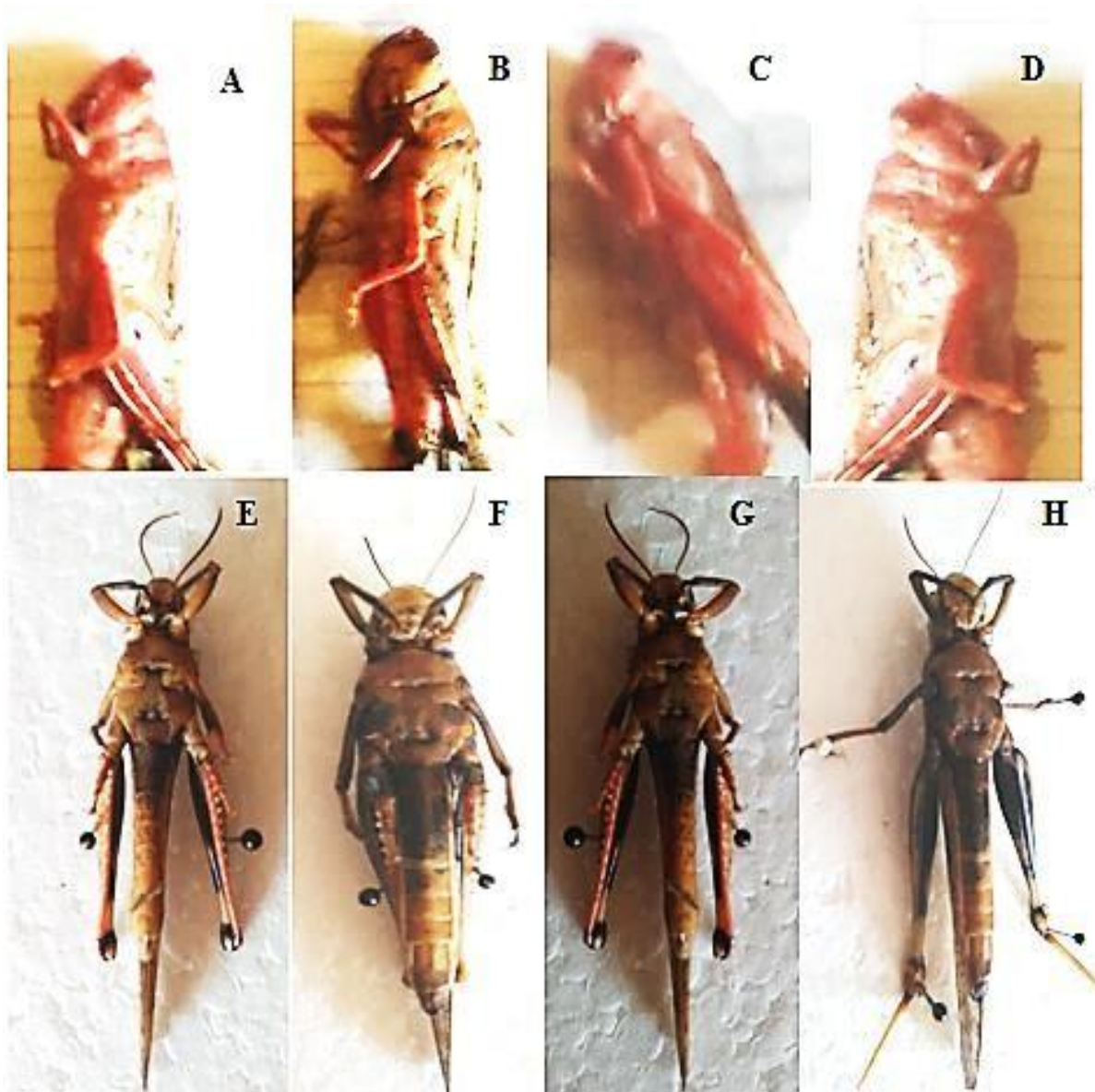


Figure 34. Effets morphologiques et pigmentaires des traitements par les extraits fongiques sur *Locusta Migratoria*.

A. Effet de l'extrait d'*Alternaria alternata* par contact, B. effet de l'extrait d'*Alternaria tenuissima* par contact, C. Effet de l'extrait d'*Aspergillus niger* par contact, D. Effet de l'extrait de *Trichoderma sp* par contact, E. Effet de l'extrait d'*Alternaria alternata* par ingestion, F. Effet de l'extrait d'*Alternaria tenuissima* par ingestion, G. effet de l'extrait d'*Aspergillus niger* par ingestion, H. Effet de l'extrait de *Trichoderma sp* par ingestion

(Laib *et al.*, 2023).

Les extraits des champignons endophytes *A. Alternata*, *A. tenuissima*, *A. niger* et *Trichoderma* sp montrent qu'ils sont dotés d'activité insecticide variables selon la concentration utilisée et le temps de traitement. La concentration 2 g/l est la plus efficace contre ces insectes avec des taux de mortalités maximales enregistrés après 7 jours du traitement de 77,78%, aussi bien pour le traitement par contact que par ingestion notamment pour *A. alternata* que *A. tenuissima*. Au contraire *A. niger* entraîne une mortalité de 38,89% et 66,67% après traitement par contact et ingestion tandis que *Trichoderma* sp ne cause que 38,89% quel que soit la nature du traitement. Le champignon endophyte *Gliocladium* sp n'a montré aucune activité insecticide contre *L. migratoria* et ne fait, donc, pas l'objet de notre travail. Les doses léthales après traitement par contact sont encourageants et varient de 1,17 g/l pour *A. tenuissima* à 1,70 g/l pour *Trichoderma* sp. Elles sont grandement plus basses pour le traitement par ingestion dans la mesure où nous avons noté par ordre croissant 0,65 g/l *A. tenuissima*, 0,88 g/l pour *A. alternata*, 1,08 g/l *Aspergillus niger* et 1,47 g/l pour *Trichoderma* sp. Les Symptômes observés sont des signes d'intoxication des criquets dus aux extraits fongiques (Kemassi *et al.*, 2018). En effet les extraits fongiques provoquent également un changement de la pigmentation du corps du criquet vers une couleur rouge après traitement par contact et l'apparition d'une couleur noire au niveau de l'abdomen après traitement par ingestion. Le pigment au niveau du prosternum est la mélanine qui est responsable de la couleur noire (Chauvin, 1956) observée après traitement est dû à une mélanisation très poussée, provoquée par une toxicité intestinale (Chauvin, 1956). Les pigments de mélanine, des carotènes, des ptérides et de biliverdine sont présents dans l'hémolymphe du criquet migrateur, *Locusta migratoria* (Goodwin & Srisukh, 1948 ; Fuzeau-Braesch, 1985 ; Kayser, 1985). Le pigment à l'origine de la coloration rouge de la cuticule des criquets est la β -carotène. Par conséquent, la teinte rouge foncée observée après traitement est attribuable à une surproduction de ce pigment (Yang *et al.*, 2019). Le changement de couleur corporelle est un phénomène adaptatif effectué par les insectes exposés à des changements environnementaux, ou des maladies (Burmeister *et al.*, 2005 ; Henderson *et al.*, 2017). De même, le manque de tonus nerveux se produit à cause de l'action insecticide des extraits sur le système nerveux centrale qui provoque également une distension et des nécroses cellulaires.

Le tube digestif de *Locusta migratoria* est composé de stomodeum (œsophage, jabot), proctodeum d'origine ectodermique et de mésentéron avec ses diverticules, les caecums gastriques sont d'origine endodermique (Boufersaoui & Matz, 1968). Le

stomodeum est subdivisé en quatre parties ; pharynx, œsophage, jabot et gésier, lorsque le criquet migrateur découpe sa nourriture grâce à ses pièces buccales de type broyeur. Celle-ci passe dans le pharynx et l'œsophage et transite vers le jabot responsable de la trituration, du stockage et du broyage des aliments grâce à des épines ayant un rôle de dents. Ensuite le gésier accumule ces aliments broyés avant de passer dans l'intestin moyen du mésentéron où ils vont être dégradés grâce à la sécrétion d'enzymes digestives pour être absorbés par la suite (Romoser, 1998). Les caecums gastriques du mésentéron assurent l'augmentation de la surface d'absorption des aliments. Le proctodeum est subdivisé en trois parties l'intestin postérieur proprement dit, le rectum et l'ampoule rectale, la réabsorption d'eau et d'ions se fait au niveau de l'intestin postérieur proprement dit et le rectum assure l'évacuation des produits (Romoser, 1998). Une réaction physiologique s'ensuit pour essayer de cicatriser les blessures causées par les extraits au niveau de l'intestin qui ne peut plus remplir son rôle d'absorption et d'assimilation des nutriments, Cela entraîne une carence en protéines et en lipides, conduisant à la mort des insectes (Idrissi Hassani & Hermas, 2008 ; Shamim *et al.*, 2014).

D'autres études portant sur l'activité insecticide des champignons endophytes contre les insectes ont été étudiés. Effectivement, Yang *et al.* (2012) ont rapporté que l'extrait brut d'*Alternaria alternata* souche 7484, pulvérisé à une concentration de 50 µg/ml, stimule la résistance de *Rosa chinensis* contre *Macrosiphum rosivorum*. De plus, des extraits de filtrats d'*Alternaria alternata* à des concentrations de 5 ; 10 ; 15 ; 20 et 25 µl/ml induisent des effets délétères sur la viabilité, le développement et la croissance des larves de *Spodoptera litura* (Kaur *et al.*, 2013). Podova *et al* (1977) ont isolé une substance insecticide efficace à partir de différentes souches d'*Alternaria* spp, qui inhibe le développement de *Drosophila melanogaster*. En plus de sa présence dans les plantes, *Alternaria alternata* a été isolé à partir des cadavres de *Zyginidia pullula* (Hemiptera, Cicadellidae) (Ozino, 1982) et des adultes hivernants de *Corythuca ciliata* (Hemiptera, Tingidae) (Ozino & Menardo, 1984). Il a été identifié comme entomopathogène contre les thrips (Raizada, 1976), bien qu'il présente une faible activité insecticide sur *Oulema gallaeciana* (Machowicz-Stefaniak & Miczulski, 1985). Il est reconnu que les espèces du genre *Alternaria* produisent des molécules insecticides pertinentes (Singh *et al.*, 2012) et *Alternaria alternata*, en particulier, présente un potentiel aphidicide considérable (Christias *et al.*, 2001). Dans le même ordre d'idées, *Alternaria infectoria* et *Alternaria alternata* ont été utilisés comme agent de lutte biologique contre les cochenilles et les pucerons (Shabana & Ragab, 1997 ; Christias *et al.*, 2001). Une souche d'*Alternaria*

tenuis est également ,notée comme entomopathogène à l'égard d'*Oulema gallaeciana* par Miczulski & Machowicz-Stefaniak (1977) d'une part, et d'autre part *Alternaria* sp est très efficace sur le 3ème et le 4ème stade larvaire d'*Aedes*, d'*Anopheles* et de *Culex* spp. (Rybalchenko & Gopkalo, 1980). Il est démontré qu'*Alternaria kikuchiana* produit des mycotoxines comme les enniatins EA1, E-B, EB₁ qui possédant d'excellente activité insecticide (Turner & Aldridge, 1983). Ces mycotoxines sont utilisées en tant qu'entomopathogènes contre le *Thrips tabaci*, *Oulema gallaeciana* (Machowicz-Stefaniak & Miczulski, 1985), *Anopheles* sp et *Culex* sp (Rybalchenko & Gopkalo, 1980). Les champignons du genre *Aspergillus* produisent également des métabolites à activité insecticide importante comme la nominine, la tubingensine, la leporine A et la carbonarine (Gloer, 1995). L'extrait d'*Aspergillus fumigatus* JRJ111048, contenant l'aspergide responsable de son activité larvicide contre le premier stade de *Spodoptera litura* (Lepidoptera, Noctuidae) a été isolé à partir de feuilles d'*Acrostichum specioum*. D'après Guo et al., (2017), cet aspergillus a causé un taux de mortalité de 76,67% sur ce lépidoptère après 20 jours de traitement. D'après El-Sayed et al., (2020) *Aspergillus nidulans* isolé à partir *Lantana camara* (*Magnoliopsida, Verbenaceae*), contient des métabolites bioactifs tels que le 1-docosanol et le 1-octadecanol qui se distinguent par une forte activité larvicide sur le second stade larvaire de *Spodoptera littoralis* dont la TL₅₀ est de 34,4 µg/ml après 18 jours du traitement. Toujours ce même champignon isolé à partir *Melia azedarach* contient des composés secondaires (fumitremorgine B, C, verruculogène, 3-hydroxyfumiquinazoline A, tryptoquivaline O, Fumiquinazoline D et F. Il a une activité insecticide contre les larves de *Spodoptera frugiperda* (Li et al., 2012). Par contre *Aspergillus ochraceus* produit de la destruxine DA qui se caractérise, aussi, par une bonne activité insecticide (Turner & Aldridge, 1983).

Trichoderma sp EFI671, champignon endophyte extrait à partir de *Laurus* sp (Laurales, Lauracées), contenant les acides oléique, linoléique et palmitique, montre un fort effet répulsif des pucerons notamment *Myzus persicae* (Kaushik et al., 2020). Lorsque le filtrat de *Trichoderma harzianum*, ayant une concentration de chitinase de 2000 U/ml, est appliqué de manière topique, il en résulte une mortalité larvaire de 70% chez *Helicoverpa armigera*.(Binod et al., 2007). D'autres extraits de champignons endophytes ont effet répulsif ou une activité insecticide avéré. A titre d'exemple *Diaporthe miriciae* issu du *Cyperus iria* peut avoir une forte activité répulsive comme il peut être un inhibiteur de la ponte ou même peut agir en tant que biopesticide contre *Plutella xylostella* (Lepidoptera ,*Plutellidae*) en raison de la présence de la phyllostine

acétate (Ratnaweera *et al.*, 2019). Il en est de même pour *Emericella nidulans* BPPTCC 6038 dont la TL₅₀ 1102,27 ppm quant aux larves de *Spodoptera litura*, qui a été extrait de feuilles de mangrove *Rhizophora mucronata* (Malpighiales, Rhizophoraceae) (Abraham *et al.*, 2015).

6. Inhibition d'Acétyl cholinestérase par les extraits fongiques

A la lumière des résultats, il ressort que les extraits des champignons endophytes d'*A. alternata*, *A. tenuissima*, *A. niger* et *Trichoderma* sp possèdent une activité inhibitrice d'Acétylcholinestérase où les taux d'inhibition respectifs maximum ont respectivement de 62,22% ; 73,11% ; 53,77% et 80% après 15 minutes (Figure 36)

L'analyse de la variance ANOVA et le test Newman et keuls des taux d'inhibition respectifs des extraits fongiques après 0 et 15 minutes sont indiquées dans les tableaux (8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22,23,24,25,26,27,28,29,30,31)

Tableau 8. L'analyse de la variance ANOVA des taux d'inhibition 'Acétylcholinestérase à 0 minutes pour *A. alternata*

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	6,000	14670,000	2445,000	2139,375	<0,0001
Erreur	28,000	32,000	1,143		
Total corrigé	34,000	14702,000			

Tableau 9. Newman-Keuls (SNK) / Analyse des différences entre les modalités avec un intervalle de confiance à 95%

Contraste	Diff	Diff standardisée	Valeur critique	Pr > Diff	Significatif
4 µg/ml vs 0,05µg/ml	49,000	72,472	3,172	<0,0001	Oui
4 µg/ml vs 0,1µg/ml	49,000	72,472	3,056	<0,0001	Oui
4 µg/ml vs 0,25µg/ml	45,000	66,556	2,913	<0,0001	Oui
4 µg/ml vs 0,5µg/ml	37,000	54,724	2,730	<0,0001	Oui
4 µg/ml vs 1µg/ml	15,000	22,185	2,474	<0,0001	Oui
4 µg/ml vs 2µg/ml	1,000	1,479	2,048	0,150	Non
2µg/ml vs 0,05µg/ml	48,000	70,993	3,056	<0,0001	Oui
2µg/ml vs 0,1µg/ml	48,000	70,993	2,913	<0,0001	Oui
2µg/ml vs 0,25µg/ml	44,000	65,077	2,730	<0,0001	Oui
2µg/ml vs 0,5µg/ml	36,000	53,245	2,474	<0,0001	Oui
2µg/ml vs 1µg/ml	14,000	20,706	2,048	<0,0001	Oui
1µg/ml vs 0,05µg/ml	34,000	50,287	2,913	<0,0001	Oui
1µg/ml vs 0,1µg/ml	34,000	50,287	2,730	<0,0001	Oui
1µg/ml vs 0,25µg/ml	30,000	44,371	2,474	<0,0001	Oui
1µg/ml vs 0,5µg/ml	22,000	32,538	2,048	<0,0001	Oui
0,5µg/ml vs 0,05µg/ml	12,000	17,748	2,730	<0,0001	Oui
0,5µg/ml vs 0,1µg/ml	12,000	17,748	2,474	<0,0001	Oui
0,5µg/ml vs 0,25µg/ml	8,000	11,832	2,048	<0,0001	Oui
0,25µg/ml vs 0,05µg/ml	4,000	5,916	2,474	<0,0001	Oui
0,25µg/ml vs 0,1µg/ml	4,000	5,916	2,048	<0,0001	Oui
0,1µg/ml vs 0,05µg/ml	0,000	0,000	2,048	1,000	Non

Tableau 10. Groupes homogènes des moyennes estimées d'inhibition d'Acétylcholinestérase pour *A. alternata*

Modalité	Moyennes estimées	Groupes				
4 µg/ml	59,000	A				
2µg/ml	58,000	A				
1µg/ml	44,000		B			
0,5µg/ml	22,000			C		
0,25µg/ml	14,000				D	
0,05µg/ml	10,000					E
0,1µg/ml	10,000					E

Tableau 11. L'analyse de la variance ANOVA des taux d'inhibition d'Acétylcholinestérase (*A. tenuissima*).

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	6,000	13524,286	2254,048	1127,024	<0,0001
Erreur	28,00	56,000	2,000		
Total corrigé	34,00	13580,286			

Tableau 12. Newman-Keuls (SNK) / Analyse des différences entre les modalités avec un intervalle de confiance à 95% (*A. tenuissima*) :

Contraste	Diff	Diff standardisée	Valeur critique	Pr > Diff	Significatif
4 µg/ml vs 0,05µg/ml	62,00	69,318	3,172	<0,0001	Oui
4 µg/ml vs 0,1µg/ml	46,00	51,430	3,056	<0,0001	Oui
4 µg/ml vs 0,25µg/ml	39,00	43,603	2,913	<0,0001	Oui
4 µg/ml vs 0,5µg/ml	37,00	41,367	2,730	<0,0001	Oui
4 µg/ml vs 1µg/ml	18,00	20,125	2,474	<0,0001	Oui
4 µg/ml vs 2µg/ml	14,00	15,652	2,048	<0,0001	Oui
2µg/ml vs 0,05µg/ml	48,00	53,666	3,056	<0,0001	Oui
2µg/ml vs 0,1µg/ml	32,00	35,777	2,913	<0,0001	Oui
2µg/ml vs 0,25µg/ml	25,00	27,951	2,730	<0,0001	Oui
2µg/ml vs 0,5µg/ml	23,00	25,715	2,474	<0,0001	Oui
2µg/ml vs 1µg/ml	4,000	4,472	2,048	0,000	Oui
1µg/ml vs 0,05µg/ml	44,00	49,193	2,913	<0,0001	Oui
1µg/ml vs 0,1µg/ml	28,00	31,305	2,730	<0,0001	Oui
1µg/ml vs 0,25µg/ml	21,00	23,479	2,474	<0,0001	Oui
1µg/ml vs 0,5µg/ml	19,00	21,243	2,048	<0,0001	Oui
0,5µg/ml vs 0,05µg/ml	25,00	27,951	2,730	<0,0001	Oui
0,5µg/ml vs 0,1µg/ml	9,000	10,062	2,474	<0,0001	Oui
0,5µg/ml vs 0,25µg/ml	2,000	2,236	2,048	0,033	Oui
0,25µg/ml vs 0,05µg/ml	23,00	25,715	2,474	<0,0001	Oui
0,25µg/ml vs 0,1µg/ml	7,000	7,826	2,048	<0,0001	Oui
0,1µg/ml vs 0,05µg/ml	16,00	17,889	2,048	<0,0001	Oui

Tableau 13. Groupes homogènes des moyennes estimées d'inhibition d'Acétylcholinestérase (*A. tenuissima*).

Modalité	Moyennes estimées	Groupes						
4 µg/ml	67,000	A						
2µg/ml	53,000		B					
1µg/ml	49,000			C				
0,5µg/ml	30,000				D			
0,25µg/ml	28,000					E		
0,1µg/ml	21,000						F	
0,05µg/ml	5,000							G

Tableau 14. L'analyse de la variance ANOVA des taux d'inhibition Acétylcholinestérase (*A. niger*)

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	6,000	2774,286	462,381	340,702	<0,0001
Erreur	28,000	38,000	1,357		
Total corrigé	34,000	2812,286			

Tableau 15. Newman-Keuls (SNK) / Analyse des différences entre les modalités avec un intervalle de confiance à 95% (*A. niger*)

Contraste	Diff	Diff standardisée	Valeur critique	Pr > Diff	Significatif
4 µg/ml vs 0,05µg/ml	27,00	36,646	3,172	<0,0001	Oui
4 µg/ml vs 0,1µg/ml	27,00	36,646	3,056	<0,0001	Oui
4 µg/ml vs 0,25µg/ml	27,00	36,646	2,913	<0,0001	Oui
4 µg/ml vs 0,5µg/ml	23,00	31,217	2,730	<0,0001	Oui
4 µg/ml vs 1µg/ml	22,00	29,859	2,474	<0,0001	Oui
4 µg/ml vs 2µg/ml	22,00	29,859	2,048	<0,0001	Oui
2µg/ml vs 0,05µg/ml	5,000	6,786	3,056	<0,0001	Oui
2µg/ml vs 0,1µg/ml	5,000	6,786	2,913	<0,0001	Oui
2µg/ml vs 0,25µg/ml	5,000	6,786	2,730	<0,0001	Oui
2µg/ml vs 0,5µg/ml	1,000	1,357	2,474	0,376	Non
2µg/ml vs 1µg/ml	0,000	0,000	2,048	1,000	Non
1µg/ml vs 0,05µg/ml	5,000	6,786	2,913	<0,0001	Oui
1µg/ml vs 0,1µg/ml	5,000	6,786	2,730	<0,0001	Oui
1µg/ml vs 0,25µg/ml	5,000	6,786	2,474	<0,0001	Oui
1µg/ml vs 0,5µg/ml	1,000	1,357	2,048	0,186	Non
0,5µg/ml vs 0,05µg/ml	4,000	5,429	2,730	<0,0001	Oui
0,5µg/ml vs 0,1µg/ml	4,000	5,429	2,474	<0,0001	Oui
0,5µg/ml vs 0,25µg/ml	4,000	5,429	2,048	<0,0001	Oui
0,25µg/ml vs 0,05µg/ml	0,000	0,000	2,474	1,000	Non
0,25µg/ml vs 0,1µg/ml	0,000	0,000	2,048	1,000	Non
0,1µg/ml vs 0,05µg/ml	0,000	0,000	2,048	1,000	Non

Tableau 16 . Groupes homogènes des moyennes estimées d'inhibition d'Acétylcholinestérase (*A. niger*)

Modalité	Moyennes estimées	Groupes		
4 µg/ml	28,000	A		
1µg/ml	6,000		B	
2µg/ml	6,000		B	
0,5µg/ml	5,000		B	
0,1µg/ml	1,000			C
0,25µg/ml	1,000			C
0,05µg/ml	1,000			C

Tableau 17 . L'analyse de la variance ANOVA des taux d'inhibition d'Acétylcholinestérase (*Trichoderma sp*)

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	6,000	3710,000	618,333	309,167	<0,0001
Erreur	28,000	56,000	2,000		
Total corrigé	34,000	3766,000			

Tableau 18. Newman-Keuls (SNK) / Analyse des différences entre les modalités avec un intervalle de confiance à 95% (*Trichoderma sp*)

Contraste	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Pr > Diff	Significatif
4 µg/ml vs 0,05µg/ml	32,000	35,777	3,172	<0,0001	Oui
4 µg/ml vs 0,1µg/ml	28,000	31,305	3,056	<0,0001	Oui
4 µg/ml vs 0,25µg/ml	19,000	21,243	2,913	<0,0001	Oui
4 µg/ml vs 0,5µg/ml	12,000	13,416	2,730	<0,0001	Oui
4 µg/ml vs 1µg/ml	11,000	12,298	2,474	<0,0001	Oui
4 µg/ml vs 2µg/ml	10,000	11,180	2,048	<0,0001	Oui
2µg/ml vs 0,05µg/ml	22,000	24,597	3,056	<0,0001	Oui
2µg/ml vs 0,1µg/ml	18,000	20,125	2,913	<0,0001	Oui
2µg/ml vs 0,25µg/ml	9,000	10,062	2,730	<0,0001	Oui
2µg/ml vs 0,5µg/ml	2,000	2,236	2,474	0,082	Non
2µg/ml vs 1µg/ml	1,000	1,118	2,048	0,273	Non
1µg/ml vs 0,05µg/ml	21,000	23,479	2,913	<0,0001	Oui
1µg/ml vs 0,1µg/ml	17,000	19,007	2,730	<0,0001	Oui
1µg/ml vs 0,25µg/ml	8,000	8,944	2,474	<0,0001	Oui
1µg/ml vs 0,5µg/ml	1,000	1,118	2,048	0,273	Non
0,5µg/ml vs 0,05µg/ml	20,000	22,361	2,730	<0,0001	Oui
0,5µg/ml vs 0,1µg/ml	16,000	17,889	2,474	<0,0001	Oui
0,5µg/ml vs 0,25µg/ml	7,000	7,826	2,048	<0,0001	Oui
0,25µg/ml vs 0,05µg/ml	13,000	14,534	2,474	<0,0001	Oui
0,25µg/ml vs 0,1µg/ml	9,000	10,062	2,048	<0,0001	Oui
0,1µg/ml vs 0,05µg/ml	4,000	4,472	2,048	0,000	Oui

Tableau 19. Groupes homogènes des moyennes estimées d'inhibition d'Acétylcholinestérase (*Trichoderma sp*)

Modalité	Moyennes estimées	Groupes				
4 µg/ml	74,000	A				
2µg/ml	64,000		B			
1µg/ml	63,000		B			
0,5µg/ml	62,000		B			
0,25µg/ml	55,000			C		
0,1µg/ml	46,000				D	
0,05µg/ml	42,000					E

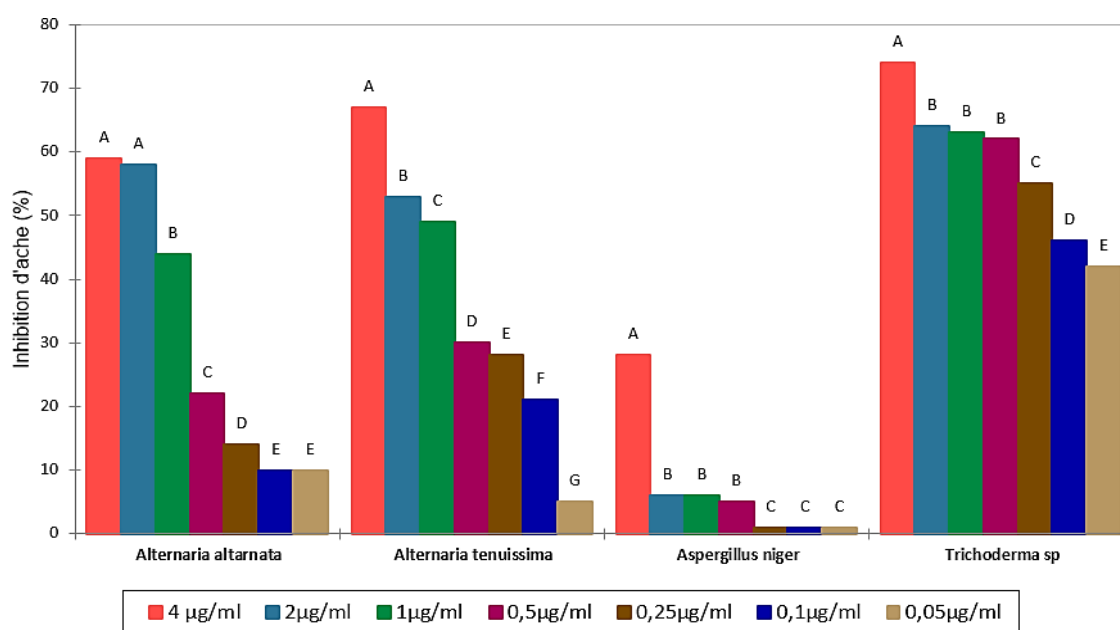


Figure 35. Inhibition d'Acétylcholinestérase à 0 minutes pour les différents extraits fongiques

Tableau 20. L'analyse de la variance ANOVA des taux d'inhibition d'Acétylcholinestérase (*A. alternata*).

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > f
Modèle	6,000	12680,636	2113,439	1232,834	<0,0001
Erreur	28,000	48,000	1,714		
Total Corrigé	34,000	12728,636			

Tableau 21. Newman-Keuls (SNK) / Analyse des différences entre les modalités avec un intervalle de confiance à 95% (*A. alternata*).

Contraste	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Pr > Diff	Significatif
4 µg/ml vs 0,05µg/ml	50,220	60,646	3,172	<0,0001	Oui
4 µg/ml vs 0,1µg/ml	48,220	58,231	3,056	<0,0001	Oui
4 µg/ml vs 0,25µg/ml	31,220	37,702	2,913	<0,0001	Oui
4 µg/ml vs 0,5µg/ml	19,220	23,210	2,730	<0,0001	Oui
4 µg/ml vs 1µg/ml	17,220	20,795	2,474	<0,0001	Oui
4 µg/ml vs 2µg/ml	0,220	0,266	2,048	0,792	Non
2µg/ml vs 0,05µg/ml	50,000	60,381	3,056	<0,0001	Oui
2µg/ml vs 0,1µg/ml	48,000	57,965	2,913	<0,0001	Oui
2µg/ml vs 0,25µg/ml	31,000	37,436	2,730	<0,0001	Oui
2µg/ml vs 0,5µg/ml	19,000	22,945	2,474	<0,0001	Oui
2µg/ml vs 1µg/ml	17,000	20,529	2,048	<0,0001	Oui
1µg/ml vs 0,05µg/ml	33,000	39,851	2,913	<0,0001	Oui
1µg/ml vs 0,1µg/ml	31,000	37,436	2,730	<0,0001	Oui
1µg/ml vs 0,25µg/ml	14,000	16,907	2,474	<0,0001	Oui
1µg/ml vs 0,5µg/ml	2,000	2,415	2,048	0,023	Oui
0,5µg/ml vs 0,05µg/ml	31,000	37,436	2,730	<0,0001	Oui
0,5µg/ml vs 0,1µg/ml	29,000	35,021	2,474	<0,0001	Oui
0,5µg/ml vs 0,25µg/ml	12,000	14,491	2,048	<0,0001	Oui
0,25µg/ml vs 0,05µg/ml	19,000	22,945	2,474	<0,0001	Oui
0,25µg/ml vs 0,1µg/ml	17,000	20,529	2,048	<0,0001	Oui
0,1µg/ml vs 0,05µg/ml	2,000	2,415	2,048	0,023	Oui

Tableau 22. Groupes homogènes des moyennes estimées d'inhibition d'Acétylcholinestérase à 15 minutes pour (*A. alternata*).

Modalité	Moy estimées	Groupes					
4 µg/ml	62,220	A					
2µg/ml	62,000	A					
1µg/ml	45,000		B				
0,5µg/ml	43,000			C			
0,25µg/ml	31,000				D		
0,1µg/ml	14,000					E	
0,05µg/ml	12,000						F

Tableau 23. L'analyse de la variance ANOVA des taux d'inhibition d'Acétylcholinestérase à 15 minutes pour *Alternaria tenuissima*

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	6,00	5978,895	996,482	664,32	<0,0001
Erreur	28,00	42,000	1,500		
Total corrigé	34,00	6020,895			

Tableau 24. Newman-Keuls (SNK) / Analyse des différences entre les modalités avec un intervalle de confiance à 95% (*A. tenuissima*).

Contraste	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Pr > Diff	Significatif
4 µg/ml vs 0,05µg/ml	43,110	55,655	3,172	<0,0001	Oui
4 µg/ml vs 0,1µg/ml	31,110	40,163	3,056	<0,0001	Oui
4 µg/ml vs 0,25µg/ml	15,110	19,507	2,913	<0,0001	Oui
4 µg/ml vs 0,5µg/ml	14,110	18,216	2,730	<0,0001	Oui
4 µg/ml vs 1µg/ml	13,110	16,925	2,474	<0,0001	Oui
4 µg/ml vs 2µg/ml	13,110	16,925	2,048	<0,0001	Oui
2µg/ml vs 0,05µg/ml	30,000	38,730	3,056	<0,0001	Oui
2µg/ml vs 0,1µg/ml	18,000	23,238	2,913	<0,0001	Oui
2µg/ml vs 0,25µg/ml	2,000	2,582	2,730	0,069	Non
2µg/ml vs 0,5µg/ml	1,000	1,291	2,474	0,412	Non
2µg/ml vs 1µg/ml	0,000	0,000	2,048	1,000	Non
1µg/ml vs 0,05µg/ml	30,000	38,730	2,913	<0,0001	Oui
1µg/ml vs 0,1µg/ml	18,000	23,238	2,730	<0,0001	Oui
1µg/ml vs 0,25µg/ml	2,000	2,582	2,474	0,039	Non
1µg/ml vs 0,5µg/ml	1,000	1,291	2,048	0,207	Non
0,5µg/ml vs 0,05µg/ml	29,000	37,439	2,730	<0,0001	Oui
0,5µg/ml vs 0,1µg/ml	17,000	21,947	2,474	<0,0001	Oui
0,5µg/ml vs 0,25µg/ml	1,000	1,291	2,048	0,207	Non
0,25µg/ml vs 0,05µg/ml	28,000	36,148	2,474	<0,0001	Oui
0,25µg/ml vs 0,1µg/ml	16,000	20,656	2,048	<0,0001	Oui
0,1µg/ml vs 0,05µg/ml	12,000	15,492	2,048	<0,0001	Oui

Tableau 25. Groupes homogènes des moyennes estimées d'inhibition d'Acétylcholinestérase (*A. tenuissima*)

Modalité	Moyennes estimées	Groupes			
4 µg/ml	73,110	A			
1µg/ml	60,000		B		
2µg/ml	60,000		B		
0,5µg/ml	59,000		B		
0,25µg/ml	58,000		B		
0,1µg/ml	42,000			C	
0,05µg/ml	30,000				D

Tableau 26. L'analyse de la variance ANOVA des taux d'inhibition d'Acétylcholinestérase (*A.niger*).

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	6,000	11730,412	1955,069	2280,895	<0,0001
Erreur	28,000	24,000	0,857		
Total corrigé	34,000	11754,413			

Tableau 27. Newman-Keuls (SNK) / Analyse des différences entre les modalités avec un intervalle de confiance à 95% (*A. niger*).

Contraste	Différence	Diff Standardisée	Valeur critique	Pr > Diff	Significatif
4 µg/ml vs 0,05µg/ml	52,770	90,122	3,172	<0,0001	Oui
4 µg/ml vs 0,1µg/ml	52,770	90,122	3,056	<0,0001	Oui
4 µg/ml vs 0,25µg/ml	52,770	90,122	2,913	<0,0001	Oui
4 µg/ml vs 0,5µg/ml	48,770	83,290	2,730	<0,0001	Oui
4 µg/ml vs 1µg/ml	32,770	55,965	2,474	<0,0001	Oui
4 µg/ml vs 2µg/ml	27,770	47,426	2,048	<0,0001	Oui
2µg/ml vs 0,05µg/ml	25,000	42,695	3,056	<0,0001	Oui
2µg/ml vs 0,1µg/ml	25,000	42,695	2,913	<0,0001	Oui
2µg/ml vs 0,25µg/ml	25,000	42,695	2,730	<0,0001	Oui
2µg/ml vs 0,5µg/ml	21,000	35,864	2,474	<0,0001	Oui
2µg/ml vs 1µg/ml	5,000	8,539	2,048	<0,0001	Oui
1µg/ml vs 0,05µg/ml	20,000	34,156	2,913	<0,0001	Oui
1µg/ml vs 0,1µg/ml	20,000	34,156	2,730	<0,0001	Oui
1µg/ml vs 0,25µg/ml	20,000	34,156	2,474	<0,0001	Oui
1µg/ml vs 0,5µg/ml	16,000	27,325	2,048	<0,0001	Oui
0,5µg/ml vs 0,05µg/ml	4,000	6,831	2,730	<0,0001	Oui
0,5µg/ml vs 0,1µg/ml	4,000	6,831	2,474	<0,0001	Oui
0,5µg/ml vs 0,25µg/ml	4,000	6,831	2,048	<0,0001	Oui
0,25µg/ml vs 0,05µg/ml	0,000	0,000	2,474	1,000	Non
0,25µg/ml vs 0,1µg/ml	0,000	0,000	2,048	1,000	Non
0,1µg/ml vs 0,05µg/ml	0,000	0,000	2,048	1,000	Non

Tableau 28. Groupes homogènes des moyennes estimées d'inhibition d'Acétylcholinestérase (*A. niger*).

Modalité	Moyennes estimées	Groupes				
4 µg/ml	53,770	A				
2µg/ml	26,000		B			
1µg/ml	21,000			C		
0,5µg/ml	5,000				D	
0,05µg/ml	1,000					E
0,1µg/ml	1,000					E
0,25µg/ml	1,000					E

Tableau 29. L'analyse de la variance ANOVA des taux d'inhibition d'Acétylcholinestérase (*Trichoderma* sp).

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	6,000	37,886	6,314	3,778	0,007
Erreur	28,000	46,800	1,671		
Total corrigé	34,000	84,686			

Tableau 30. Newman-Keuls (SNK) / Analyse des différences entre les modalités avec un intervalle de confiance à 95% (*Trichoderma* sp)

Contraste	Diff	Diff Standardisée	Valeur critique	Pr > Diff	Significatif
4 µg/ml vs 0,05µg/ml	3,000	3,669	3,172	0,016	Oui
4 µg/ml vs 0,1µg/ml	2,000	2,446	3,056	0,175	Non
4 µg/ml vs 0,25µg/ml	2,000	2,446	2,913	0,133	Non
4 µg/ml vs 1µg/ml	1,000	1,223	2,730	0,618	Non
4 µg/ml vs 0,5µg/ml	0,800	0,978	2,474	0,596	Non
4 µg/ml vs 2µg/ml	0,000	0,000	2,048	1,000	Non
2µg/ml vs 0,05µg/ml	3,000	3,669	3,056	0,012	Oui
2µg/ml vs 0,1µg/ml	2,000	2,446	2,913	0,133	Non
2µg/ml vs 0,25µg/ml	2,000	2,446	2,730	0,091	Non
2µg/ml vs 1µg/ml	1,000	1,223	2,474	0,450	Non
2µg/ml vs 0,5µg/ml	0,800	0,978	2,048	0,336	Non
0,5µg/ml vs 0,05µg/ml	2,20	2,691	2,913	0,081	Non
0,5µg/ml vs 0,1µg/ml	1,20	1,468	2,730	0,470	Non
0,5µg/ml vs 0,25µg/ml	1,20	1,468	2,474	0,321	Non
0,5µg/ml vs 1µg/ml	0,20	0,245	2,048	0,809	Non
1µg/ml vs 0,05µg/ml	2,00	2,446	2,730	0,091	Non
1µg/ml vs 0,1µg/ml	1,00	1,223	2,474	0,450	Non
1µg/ml vs 0,25µg/ml	1,00	1,223	2,048	0,232	Non
0,25µg/ml vs 0,05µg/ml	1,00	1,223	2,474	0,450	Non
0,25µg/ml vs 0,1µg/ml	0,00	0,000	2,048	1,000	Non
0,1µg/ml vs 0,05µg/ml	1,00	1,223	2,048	0,232	Non

Tableau 31. Groupes homogènes des moyennes estimées d'inhibition d'Acétylcholinestérase (*Trichoderma* sp)

Modalité	Moyennes estimées	Groupes	
2µg/ml	80,000	A	
4 µg/ml	80,000	A	
0,5µg/ml	79,200	A	B
1µg/ml	79,000	A	B
0,1µg/ml	78,000	A	B
0,25µg/ml	78,000	A	B
0,05µg/ml	77,000		B

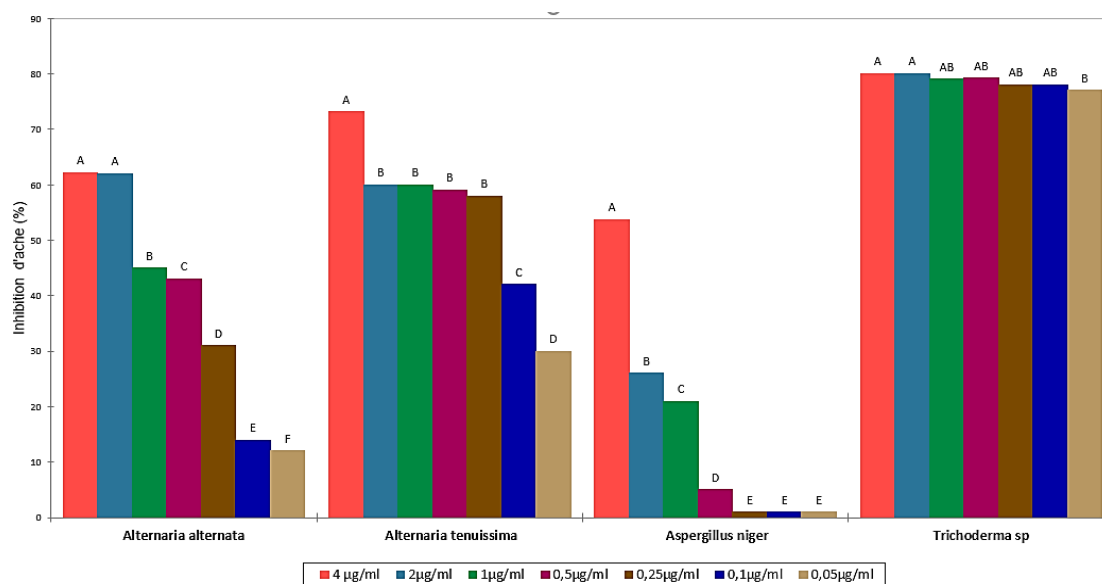


Figure 36. Inhibition d'Acétylcholinestérase à 15 minutes pour les différents extraits fongiques

Les inhibiteurs puissants, principalement utilisés comme toxines neurales et pesticides (Colovic *et al.*, 2013) se composent principalement d'alcaloïdes et de terpénoïdes (Su *et al.*, 2017). L'acétylcholinestérase est un enzyme carboxylestérase responsable de l'hydrolyse rapide après la transmission de l'information de l'acétylcholine neurotransmetteur (Cheung *et al.*, 2012). En l'absence de cette hydrolyse, le taux d'acétylcholine augmente et induit une activité répétitive des neurones entraînant la mort de l'insecte (Su *et al.*, 2017). L'extrait d'*Alternaria sp* isolé à partir de *R. communis* se distingue par une activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase dont le taux d'inhibition est de 60% (Singh *et al.*, 2012). Plusieurs champignons endophytes appartenant au genre *Alternaria spp* et isolés à partir *Azadirachta indica*, *Ocimum tenuiflorum*, *Withania somnifera*, *Vinca rosea*, *Ficus carica*, *Spindus detergens*, *Psidium guajava*, *Ricinus communis* produisent des inhibiteurs d'acétylcholinestérase d'une capacité d'inhibition qui varie de 3% à 85% (Singh *et al.*, 2014).

Provenant de produits de fermentation submergés, l'huperzine A est un alcaloïde inhibiteur de l'acétylcholinestérase. Celle-ci a une concentration inhibitrice médiane égale à 0,6 µM des champignons endophytes isolés à partir d'*Huperzia serrata*, *Aspergillus flavus* LF40 (Wang *et al.*, 2011a), *Penicillium griseofulvum* LF146 (Wang *et al.*, 2011b), *Paecilomyces tenuis* YS-13 (Su & Yang, 2015), *Acremonium sp.* 2F09P03B (Li *et al.*,

2007), *Botrytis* sp. HA23 (Ju *et al.*, 2009), *Colletotrichum gloeosporioides* ES026 (Zhao *et al.*, 2013), *Alternaria* sp. YD-01 (Yang *et al.*, 2011), *Cladosporium cladosporioides* LF70 (Yang *et al.*, 2011), *Shiraia* sp. Slf14 (Zhu *et al.*, 2010) et *Xylaria* sp. YS-02 (Su *et al.*, 2011). Le champignon endophyte *Aspergillus terreus* produit un terpenoïde inhibiteur d'acétyl cholinestérase Territrem B à concentration inhibitrice médiane de 7,6 μM (Ling *et al.*, 1979). En revanche, *Aspergillus terreus* (No. GX7-3B) isolé à partir de *Bruguiera gymnoihiza* produit le terpenoïde NGA0187 à concentration inhibitrice médiane de 1,89 μM (Deng *et al.*, 2013). Mais *Penicillium* sp., sk5GW1L isolé à partir de *Kandelia candel*, produit trois terpénoïdes l'arigsugacine I, l'arigsugacine F et le Territrem présentant une bonne activité inhibitrice d'acétylcholinestérase avec des valeurs respectives de 0,64 ; 0,37 et 7,03 μM , (Huang *et al.*, 2013).

7. Analyse spectroscopie d'infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) en réflexion totale atténuée (ATR) des extraits fongiques.

L'analyse FTIR-ATR de l'extrait d'*A. alternata* a révélé la présence des groupes alcool (1000 - 1260 cm^{-1}), sulfone (1100 - 1150 cm^{-1}), nitro (1250 - 1400 cm^{-1}), imine (1480 - 1690 cm^{-1}), éther d'enol (1600 - 1660 cm^{-1}), alcyne (2100 - 2300 cm^{-1}), hydroxyle (3300 - 3500 cm^{-1}) (Figure. 37A). L'extrait d'*A. tenuissima* indique la présence des groupes sulfone (1100 - 1150 cm^{-1}), nitro (1250 - 1400 cm^{-1}), imine (1480 - 1690 cm^{-1}), éther d'enol (1600 - 1660 cm^{-1}), alcyne (2100 - 2300 cm^{-1}), hydroxyle (3300 - 3500 cm^{-1}) (Figure. 37B). *A. niger* montre la présence des groupes alcool (1000 - 1260 cm^{-1}), nitro (1250 - 1400 cm^{-1}), imine (1480 - 1690 cm^{-1}), alcyne (2100-2300 cm^{-1}), hydroxyle (3300 - 3500 cm^{-1}) (Figure. 38A). De même *Trichoderma* sp a révélé quant à lui, la présence des groupes alcool (1000 - 1260 cm^{-1}), nitro (1250 - 1400 cm^{-1}), éther d'enol (1600 - 1660 cm^{-1}), alcyne (2100 - 2300 cm^{-1}), hydroxyle (3300 - 3500 cm^{-1}) (Figure. 38B).

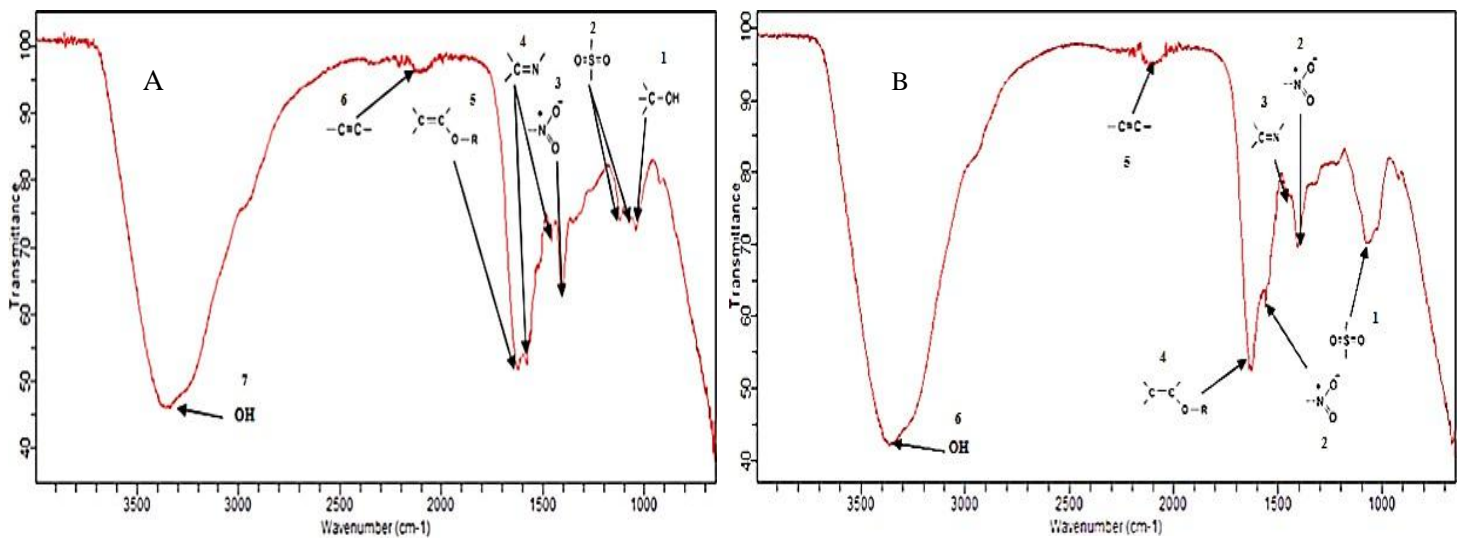


Figure 37. FTIR-ATR des Extraits d'*A. alternata* et d'*A. tenuissima*

A. *A. alternata*, B. *A. tenuissima*

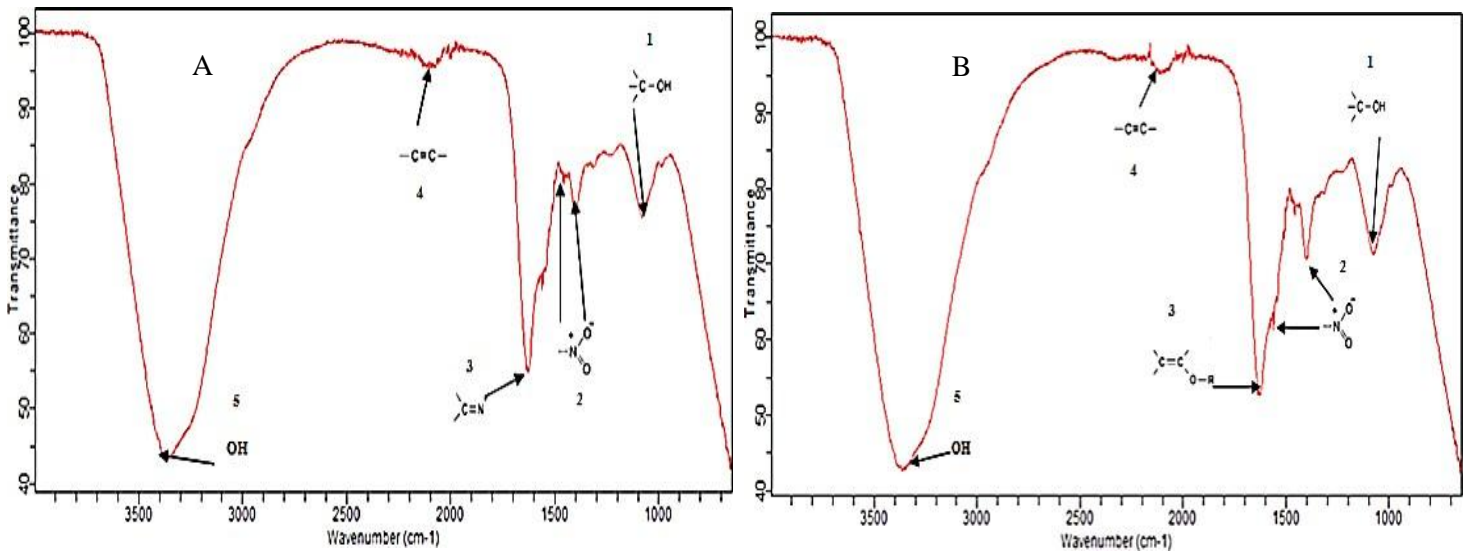


Figure 38. FTIR-ATR des extraits d'*A. niger* et *Trichoderma* sp.

A. *A. niger* B. *Trichoderma* sp.

L'analyse FTIR-ATR permet de mieux connaître la nature chimique et les métabolites responsables de l'activité insecticide des extraits des champignons endophytes. Selon Field *et al.*, (2008) l'analyse FTIR-ATR de l'extrait d'*A. alternata* et *A. tenuissima* possèdent des métabolites identiques à l'opposé d'*A. niger* où l'éther d'énol (1600-1660 cm^{-1}) est absent et *Trichoderma* sp où l'imine (1480-1690 cm^{-1}) fait également défaut. La détection de groupe hydroxyle par FTIR -ATR confirme la présence de phénols et ou des tanins dans les extraits fongiques (Sharaf *et al.*, 2013).

Les imines et leurs dérivés sont reconnus depuis longtemps comme des intermédiaires clés pour la synthèse d'hétérocycles azotés, en particulier dans le domaine de la synthèse des alcaloïdes (Martin, 2009) ce qui implique, par conséquent, l'existence des alcaloïdes dans les extraits fongiques alors que la détection du groupe alcool par FTIR – ATR met en exergue la présence des saponines dans les extraits fongiques (Chaib, 2010). Les sulfones sont des membres des composés organo-soufrés qui ont été explorés en raison de leur importance en tant qu'intermédiaires de synthèse pour la production d'une large gamme de molécules chimiquement et biologiquement actives et ayant des activités antibactériennes et antifongiques (Ahmad & Shagufta, 2015). Parmi les insecticides portant un groupe sulfone appartenant à la famille chimique des phénylpyrazoles, il y a le fipronil qui présente une excellente activité insecticide (Delso *et al.* , 2015). Il se lie aux récepteurs GABA (canaux_ioniques des membranes des neurones), ce qui les bloquent et conduisent à une excitation du système nerveux due à l'accumulation du neurotransmetteur (GABA) (acide γ - aminobutyrique) aux jonctions synaptiques et puis à la mort de l'insecte (Tingle *et al.*, 2003). De nombreux dérivés d'alcyne sont des intermédiaires clés dans la synthèse de nombreux produits agrochimiques utilisés contre une large gamme des mauvaises herbes, des insectes et des maladies fongiques (Lamberth, 2009). Parmi les insecticides portant un groupe alcyne les pyréthriinoïdes neurotoxiques agissant à faible dose sur le système nerveux central des insectes en bloquant leur canal de sodium et en provoquant un manque de tonus nerveux et ainsi la mort des insectes (Lamberth, 2009). Le groupe nitro est considéré comme un groupe fonctionnel polyvalent et unique en chimie, il est utilisé dans la production de fongicides, insecticides et herbicides (Strauss, 1979 ; Boelsterli, 2006). Parmi les groupes nitro les plus utilisés les dinitrophénols comprennent des composés comme le 2,5-dinitro-o-crésol, le dinoseb et le binapacryl (Ware, 1994). Les éthers d'énols sont également des intermédiaires dans la synthèse de nombreux produits insecticides (Chen *et al.*, 2005).

8. Dosage du teneur de métabolites secondaires

Les teneurs en polyphénols totaux, tanins, alcaloïdes et saponines des extraits fongiques ont été estimées en utilisant des courbes d'étalonnage (Figure 39 A, B, C, D) établies par l'emploi respectivement de l'acide gallique, l'acide tannique, l'atropine et l'acide oléanolique. Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalent acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g d'extrait) pour le dosage des polyphénols totaux, en mg équivalent d'acide tannique par gramme d'extrait (mg EAT/g d'extrait), en mg équivalent d'atropine par gramme d'extrait et mg équivalent d'acide tannique par gramme d'extrait (mg EA/g d'extrait) et en mg d'acide oléanolique par gramme d'extrait (mg EAO/g d'extrait)

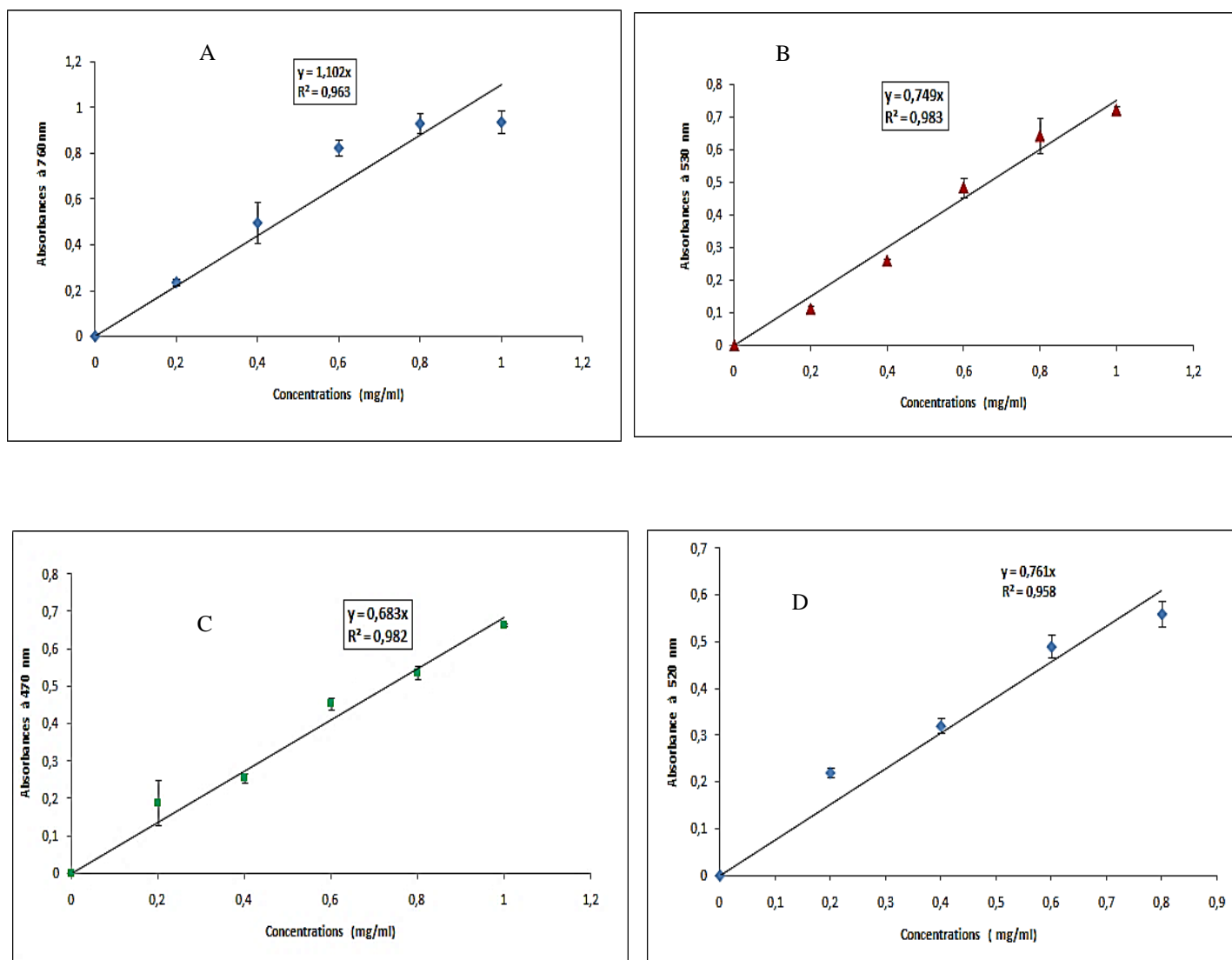


Figure 39. Courbes d'étalonnage pour le dosage des métabolites secondaires
A : Composés phénoliques, B : Tanins, C : Alcaloïdes, D : Saponines.

Selon les résultats obtenus, les teneurs en polyphénols totaux, alcaloïdes et saponines de l'extrait d'*A. alternata* sont de $83,20 \pm 0,20$ mg EAG/g d'extrait, $85,27 \pm 0,21$ mg EA/ g d'extrait et $4,25 \pm 0,25$ mg EAO/g d'extrait respectivement. Une absence des tanins a été constatée pour cette espèce. Pour *A. tenuissima*, les résultats obtenus indiquent que les teneurs en polyphénols totaux, tanins, alcaloïdes et saponines sont de $70,58 \pm 0,02$ mg EAG/g d'extrait, $20,58 \pm 0,14$ mg EAT/g d'extrait, $105,5 \pm 0,06$ mg EA /g d'extrait, $3,26 \pm 0,12$ mg EAO/g d'extrait respectivement. Pour *A. niger* une absence des tanins a été constatée pour cette espèce. Tandis que les teneurs en poly phénols, alcaloïdes et les saponines enregistrées pour cette espèce sont de $69,5 \pm 0,02$ mg EAG/g, $95,58 \pm 0,16$ mg EA /g d'extrait et $2,26 \pm 0,10$ mg EAO/g d'extrait, respectivement. Les quatre composés bioactifs ont été détectés dans l'extrait de *Trichoderma* sp avec des quantités de : $89,50 \pm 0,05$ mg EAG/g d'extrait pour les polyphénols totaux, $15,25 \pm 0,24$ mg EAT/g d'extrait pour les tanins, $88,26 \pm 0,08$ EA/g d'extrait pour les alcaloïdes et $5,25 \pm 0,15$ mg EAO/g d'extrait pour les saponines (Tableau 32).

Tableau 32. Teneurs en polyphénols, tanins, alcaloïdes et saponines des extraits fongiques.

Champignons endophytes	Polyphénols (mg EAG/g d'extrait)	Tanins (mg EAT/g d'extrait)	Alcaloïdes (mg EA/g d'extrait)	Saponines (mg EAO/g d'extrait)
<i>A. alternata</i>	$83,20 \pm 0,20$	-	$85,27 \pm 0,21$	$4,25 \pm 0,25$
<i>A. tenuissima</i>	$70,58 \pm 0,02$	$20,58 \pm 0,14$	$105,5 \pm 0,06$	$3,26 \pm 0,12$
<i>A. niger</i>	$69,5 \pm 0,02$	-	$95,58 \pm 0,16$	$2,26 \pm 0,10$
<i>Trichoderma</i> sp.	$89,50 \pm 0,05$	$15,25 \pm 0,24$	$88,26 \pm 0,08$	$5,25 \pm 0,15$

Les teneurs en polyphénols totaux, tanins, alcaloïdes et saponines des extraits fongiques ont été estimées en utilisant des courbes d'étalonnage établies par l'emploi de l'acide gallique, l'acide tannique, l'atropine et l'acide oléanolique respectivement. Les résultats ont montré que les teneurs en polyphénols totaux, alcaloïdes et saponines de l'extrait d'*A. alternata* sont de $83,20 \pm 0,20$ mg EAG/g d'extrait, $85,27 \pm 0,21$ mg EA/g d'extrait et $4,25 \pm 0,25$ mg EAO/g d'extrait respectivement. Une absence des tanins a été constatée pour cette espèce.

Pour ce qui est d'*A. tenuissima*, les teneurs en polyphénols totaux, tanins, alcaloïdes et saponines s'élèvent à $70,58 \pm 0,02$ mg EAG/g d'extrait, $20,58 \pm 0,14$ mg EAT/g d'extrait, $105,5 \pm 0,06$ mg EA/g d'extrait, $3,26 \pm 0,12$ mg EAO/g d'extrait respectivement. Par

contre *A. niger* se distingue par une absence des tanins, mais les teneurs en polyphénols, alcaloïdes et saponines enregistrent respectivement $69,5 \pm 0,02$ mg EAG/g, $95,58 \pm 0,16$ mg EA/g d'extrait et $2,26 \pm 0,10$ mg EAO/g d'extrait. Les quatre composés bioactifs détectés dans l'extrait de *Trichoderma* sp sont de $89,50 \pm 0,05$ mg EAG/g d'extrait pour les polyphénols totaux, $15,25 \pm 0,24$ mg EAT/g d'extrait pour les tanins, $88,26 \pm 0,08$ EA/g d'extrait pour les alcaloïdes et $5,25 \pm 0,15$ mg EAO/g d'extrait pour les saponines. La comparaison avec d'autres travaux antérieurs portant sur le dosage des métabolites secondaires, il ressort que le taux des polyphénols totaux d'un champignon endophyte *Penicillium* sp, isolé à partir de *Nothapodytes foetida* a une biomasse de 59,42 mg GAE/g (Sogra & Raj, 2013). Dans le même ordre d'idées, le taux des polyphénols totaux des endophytes de la plante *Eugenia jambolana* (Myrtaceae) sont regroupés dans le Tableau 33 suivant (Yadav *et al.*, 2014).

Tableau 33. Taux des polyphénols totaux des endophytes de la plante *Eugenia jambolana* (Myrtaceae)

Champignons endophytes	Biomasse en mg de GAE/g	Champignons endophytes	Biomasse mg de GAE/g
<i>Fusarium sp,</i>	$4,46 \pm 0,15$	<i>Aspergillus peyronelii,</i>	$4,23 \pm 0,15$
<i>Coprinopsis cinerea</i>	$26,70 \pm 0,26$	<i>Aspergillus nigerular</i>	$22,97 \pm 0,30$
<i>Penicillium spinulosum</i>	$23,90 \pm 0,20$	<i>Aspergillus tubing alternata</i>	$60,13 \pm 0,41$
<i>Aspergillus flavus</i>	$48,93 \pm 0,25$	<i>Syncephalastrum racemosum</i>	$23,43 \pm 0,20$
<i>Isaria tenuipes</i>	$4,25 \pm 0,20$	<i>Choanephora</i> sp	$9,66 \pm 0,15$
<i>Coprinopsis cinere</i>	$55,43 \pm 0,15$	<i>Chaetomium</i> sp	$9,66 \pm 0,15$
<i>Penicillium spinulosum</i>	$56,83 \pm 0,76$	<i>Trichoderma longibrachiatum</i>	$41,20 \pm 0,40$
<i>Aspergillus flavus</i>	$23,16 \pm 0,25$	<i>Aspergillus japonicas</i>	$33,83 \pm 0,35$
<i>Isaria tenuipes</i>	$24,43 \pm 0,15$	<i>Aspergillus terreus</i>	$19,83 \pm 0,20$
<i>Aspergillus</i> sp,	$23,43 \pm 0,25$		

La teneur totale en phénol de l'extrait d'acétate d'éthyle de *Curvularia aeria* MTCC-12847 isolé à partir des feuilles de *Tribulus terrestris* L. est de $34,67 \pm 0,577$ µg GAE /mg d'extrait (Sahani *et al.*, 2019). Alors que la teneur totale en alcaloïdes de l'extrait d'acétate d'éthyle de *Curvularia aeria* MTCC-12847 isolé de la feuille de *Tribulus terrestris* L. est de $2,99 \pm 0,0057$ µg d'extrait AE/mg (Sahani *et al.*, 2019). La teneur phénolique totale évaluée par le test Folin-Ciocalteu de l'extrait d'acétate d'éthyle du champignon endophyte *Cladosporium velox* TN-9S isolé à partir de *Tinospora cordifolia* est de 730 µg/ml (Singh *et al.*, 2016). Par ailleurs après huit jours de fermentation, les saponines

produites dans les cultures liquides des champignons endophytes *Fusarium* sp. PN8 et *Aspergillus* sp. PN17 isolés à partir *P. notoginseng* est de 1,061 et 0,583 mg/ml, respectivement (Jin *et al.*, 2017).

Le taux de saponines totaux de l'endophyte *Curvularia aerea* MTCC-12847 dans la plante *Tribulus terrestris* L. (Zygophyllaceae), est de $3,496 \pm 0,0057$ µg de DE/mg d'extrait (Sahani *et al.*, 2019) tandis que celui des endophytes présents dans *Aralia elata* (Araliaceae) sont variables selon les espèces (Wu *et al.*, 2012). En effet, les taux de saponines totaux des filtrats des champignons endophytes d'*Aralia elata* (Araliaceae) sont regroupés dans le Tableau 34.

Tableau 34. Les taux de saponines totaux des filtrats des champignons endophytes d'*Aralia elata* (Araliaceae)

Champignons endophytes	Taux de saponines	Champignons endophytes	Taux de saponines
<i>Penicillium</i> sp	2.049 ± 0.044	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	$0.066 \pm 0,006$
<i>Dictyochaeta</i> sp	0.162 ± 0.004	<i>Trasarium paravichenese</i>	$0,065 \pm 0,003$
<i>Camarosporium leucadendri</i>	0.156 ± 0.006	<i>Alternaria</i> sp	$0,060 \pm 0,006$
<i>Cladosporium</i> sp	0.131 ± 0.003	<i>Corynespora smithii</i>	$0,059 \pm 0,002$
<i>Schizophyllum commune</i>	0.120 ± 0.003	<i>Botryosphaeria dothidea</i>	$0,048 \pm 0,001$
<i>Peniophora</i> sp	0.109 ± 0.006	<i>Nectria haematococca</i>	$0,038 \pm 0,004$
<i>Diaporthe</i> sp	0.084 ± 0.005	<i>Cryptosporiopsis</i> sp	$0,032 \pm 0,005$
<i>Epicoccum</i> sp,	0.066 ± 0.005		

9. Analyse des composants volatiles des extraits fongiques

La chromatographie en phase gazeuse (CG) est une méthode d'analyse qui sépare les composants d'un mélange en fonction de leur volatilité. Elle utilise une phase mobile gazeuse pour transporter l'échantillon à travers une colonne stationnaire où la séparation des composants a lieu en fonction de leur affinité pour la phase stationnaire.

Les "pics" dans un chromatogramme CG-MS (Figure 40A, B, C, D) représentent les différents composants séparés de l'échantillon, et chaque pic est associé à un composant spécifique présent dans l'échantillon. L'axe des abscisses du chromatogramme représente le temps (ou le volume) de rétention des composants, tandis que l'axe des ordonnées représente l'intensité du signal, qui est généralement proportionnelle à la quantité de composant détecté (Figure 40).

La spectrométrie de masse (MS) est une technique analytique qui mesure la masse et la structure des ions formés à partir de molécules ionisées. Elle permet d'identifier les

composants d'un échantillon en fonction de leurs masses moléculaires et de leurs fragments caractéristiques. Lorsque la chromatographie en phase gazeuse est couplée à la spectrométrie de masse (CG-MS), elle permet une séparation efficace des composants d'un mélange suivi d'une identification précise de ces composants à l'aide de leur spectre de masse.

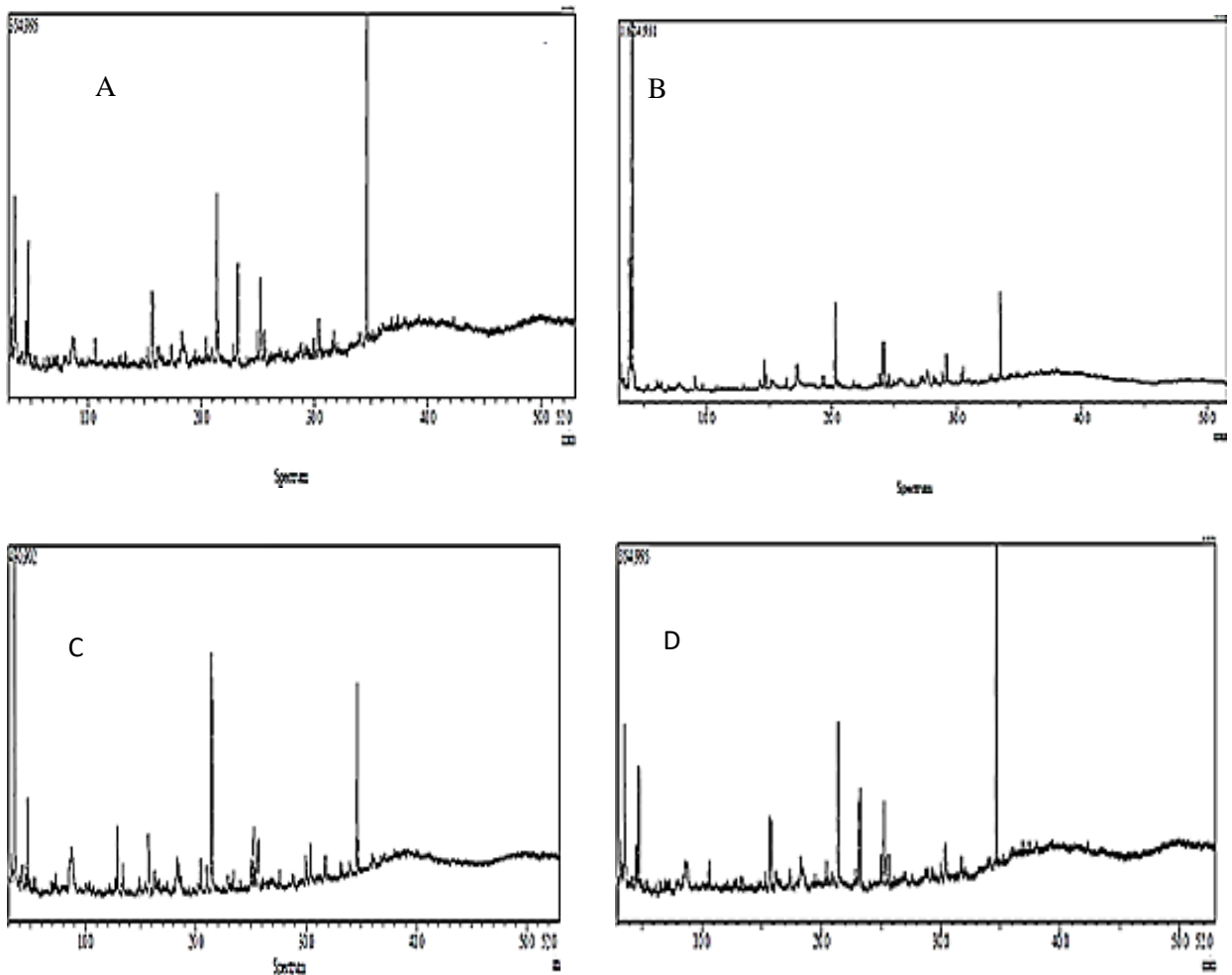


Figure 40. Chromatogrammes des extraits fongiques endophytes ; A. *alternaria* ; B. *A. tenuissima* ; C. *Aspergillus niger* ; D. *Trichoderma* sp.

L'analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) a été effectuée en se basant sur les données du National Institute of Standards and Technology (NIST), permettant ainsi la détermination des noms, des poids moléculaires et des formules moléculaires des composés volatils Figures (41, 42, 43, 44). Les résultats (Figures 40, 41, 42, 43, 44) montrent que les champignons endophytes du ricin commun et leurs extraits constituent une source potentielle de plusieurs métabolites secondaires volatiles. Ces derniers sont produits par les champignons endophytes sous forme de mélanges d'hydrocarbures simples, hétérocycles, aldéhydes, cétones, acides, alcools, esters, phénols, lipides thioalcools, thioesters et leurs dérivés, des dérivés du benzène, des cyclohexanes, des dérivés de naphthalène (Chiron et Michelot, 2005 ; Korpi *et al.*, 2009 ; Ortiz-Castro *et al.*, 2009 ; Strobel *et al.*, 2001 ; Daisy *et al.*, 2002 ; Strobel *et al.*, 2008).

L'Actinomycine C2 est un chromo peptide à activités antimicrobienne, anticancer et antioxydante (Saravana kumar *et al.*, 2014). L'hydroxytoluène butyle est un phénol à activité antioxydante employé comme additif alimentaire en industrie agroalimentaire, dans l'industrie pharmaceutique et dans la production du caoutchouc et les produits pétroliers (Yehye *et al.*, 2015). La désoxyspergualine est un amidine analogue de la spergualine, doté des activités antibiotique, immunosuppresseur et anti tumorale in vitro et in vivo (Holmes et Twentyman., 1995). Le 4-(2-Aminoéthyl) phénol et le 4-(2-Aminoéthyl)phénol chlorhydrate sont des arômes alimentaires employés pour donner un goût sucré pour les viandes (FAO, 2005). Les analogues de 2,4-Di-Tert-Butylphenol sont dotés des activités antioxydante, anti - inflammatoire, anticancer, insecticide, nématicide, antibactérienne, antiviral, antifongique et herbicide (Zhao *et al.*, 2020). 3,5 - Dimethyl - 1, 3, 4 - hexane triol est un composé à activité anti cancéreuse (Prakash *et al.*, 2020). Le 9,9 - Dimethoxybicyclo [3. 3. 1] nona - 2,4 - dione est une cétone sans activité signalée (Dhanalakshmi & Manavalan, 2014). L'Ethyl iso-allocholate est un dérivé stéroïdien avec une activité antimicrobienne et antioxydante (Malathi *et al.*, 2016 ; Hussein *et al.*, 2016). Les isoxazoles incluant l'hexahydro-1H-cyclopenta [c] isoxazole - 4, 5, 6 - triol sont des azoles à capacité insecticide, antibactérienne, antibiotique, anti tumorale, antifongique, antituberculeuse, anticancéreuse et ulcérogène (Chikkula & Raja, 2017). Les dérivés de pyrazine sont des composés hétérocycliques qui ont des propriétés antimycobactériennes (Zitko *et al.*, 2013) effet antibactérienne (Servusová *et al.*, 2014), antivirale (Trehan, 1990), antitumorale, antifongique et herbicide (Doležal, 2006). Le 7 - Héxadécenal, (Z) est un aldéhyde à activité antivirale, utilisé également comme engrais

organique (Devakumar *et al.*, 2017). L'acide malique est un acide carboxylique à activité antioxydante (Alakolanga *et al.*, 2015). Utilisé comme acidulant dans les aliments et les boissons (Mondala, 2015 ; Chi *et al.*, 2016). Le nettoyage des métaux, la finition du textile et pour solubiliser le phosphate d'aluminium dans le sol (Khan *et al.*, 2014). Les composés contenant de l'aziridine possèdent de nombreuses activités biologiques, en particulier antitumorale et antibactériennes, en raison de la présence du cycle aziridine (Ismail *et al.*, 2009).

Le naphthalène, un insecticide volatil, est toxique pour les stades adultes et larvaires de divers lépidoptères nuisibles. Il est aussi utilisé en administration orale pour éliminer les parasites internes du bétail (Herbst, 2015). Le 1,5 - Pentanediamine est un composé diamine impliquée dans la croissance et le développement des plantes (germination des graines et dans le développement des semis, ouverture et fermeture des stomates) (Tomar *et al.*, 2013). L'utilisation de l'acide propénoïque induit une réaction de répulsion chez *Callosobruchus maculatus*, entraîne une réduction de la ponte et, 24 heures après le traitement, provoque une mortalité totale (Krzyzowski *et al.*, 2020). Les dérivés d'acétamide sont dotés des activités antioxydantes et anti-inflammatoires (Autore *et al.*, 2010). Le Tyrosol est un phenylethanoïde antioxydant cellulaire stable, Il maintient son activité antioxydante dans des conditions critiques par rapport aux autres polyphénols (Di Benedetto *et al.*, 2007). L'(E) – Hexadec – 2 - enal est un aldéhyde antifongique qui inhibe de la croissance mycélienne et de la germination des spores des maladies fongiques d'après récolte (Hamilton-Kemp *et al.*, 1992) comme les champignons phytopathogènes *A. alternata*, *B. cinerea* et *Colletotrichum gloeosporioides* in vitro (Vaughn *et al.*, 1993). Le Cyclopentadecanone, 2 - hydroxy est une cétone à activité anti-inflammatoire et anti cancer (Hussein *et al.*, 2016). Le 9,19 – Cyclolanost – 6 – ene - 3,7-diol, diacétate est un composé à capacité insecticide contre plusieurs espèces de moustiques (Almarzouqi *et al.*, 2016). L'Acide 9-octadécénoïque, 1,2,3-propanetriylester, (E, E, E) est un acide gras antispasmodique et un modulateur immunitaire (Almarzouqi *et al.*, 2016). L'Acide E-9-tétradécénoïque est un acide gras à activité analgésique et anti-inflammatoire (Almarzouqi *et al.*, 2016). Le 1,3-Pentanediol, 2,2,4-trimethyl est un glycol insecticide et repulsive contre *A.aegypti*, *A.communis*, *A. punctor*, *A. pionips*, *A. excrucians*, *A. cinereus*, *A. fitchii*, *A. decticus*, *A. impiger*, *Culiseta alaskensis*, *Culex* sp., *A. freeborni*, *A. thainiorynchus*, *L. bequaerti*, *E. alfreddugesii* (Gerber, 1966).

L'Acide 2 - dodécénoïque est un acide gras à activité antivirale, antibactérienne, anticancer, antioxydante (Sandhya *et al.*, 2016).

Le Trans-2-Aminocyclohexanol est un composé à activités leishmanicide et trypanocide contre *Leishmania* spp. Et *Trypanosoma cruzi* (Rebollo et al.,2007). Le Curlone est un composé à activité insecticide contre les larves d'*Anopheles gambiae* (Ajaiyeoba et al.,2008).

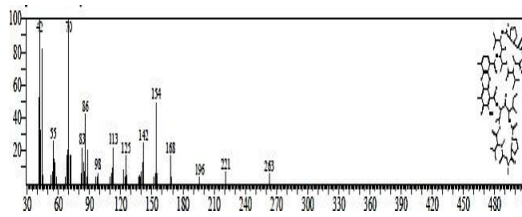
Le 1, 2, 3 - Propanetriol est un composé à activité antifongique, utilisé dans la fabrication des mélanges d'antigel, explosifs, dynamite, poudre sans fumée, comme colorants pour solvant et dans le tannage du cuir (Ashwathanarayana & Naika, 2017). L'aspidospermine est un indole alcaloïde provoquant un blocage adrénérgique relaxant ainsi les vaisseaux et abaissant la pression artérielle des tissus urogénitaux (Deutsch et al., 1994). L'érythritol, un alcool de sucre non glycémique, possédant un potentiel anti-hyperglycémique et antidiabétique, réduit l'absorption du glucose par l'intestin, augmente l'absorption du glucose par les muscles, améliore les activités des enzymes métaboliques du glucose (Chukwuma et al., 2017). Le tyramine, N-formyl est un composé sans aucune activité enregistrée (Ashwathanarayana & Naika, 2017). Les pyrimidinones constituent une classe très importante de composés hétérocycliques à capacité anti-VIH (Dzik et al., 1993) et antimicrobienne (Sharma et al., 2014). Les coumarines sont des composés hétérocycliques dotés des activités biologiques importantes, telles que l'inhibition de l'agrégation plaquettaire (Cravotto et al., 2001) et de la protéase du VIH (Mitra et al., 1998), antibactérien et anticancéreux (Kayser & Kolodziej, 2010 ; Kostova, 2005). Les dicétopipérazines sont actifs contre les champignons phytopathogènes, notamment *Phytophthora capsici*, *P. colocasiae*, *Botrytis cinerea* et *Colletotrichum gloeosporioides* (Kumar & Nambisan, 2014). L'acide undécénoïque est doté d'une activité antifongique, utilisé dans les crèmes topiques pour le traitement des infections cutanées (Hunting, 1981). Le E, E, Z - 1, 3, 12 – Nonadecatriène - 5, 14 - diol est un alcool sans aucune activité signalé (Hase et al., 2017). Les thiadiazolines et les thiadiazoles et leurs dérivés possèdent un large éventail d'activités biologiques et agissent comme des anthelminthiques, antitumorale (Ilies et al., 2003), analgésique, anticancéreux, anti-inflammatoire et antibactérien (Amir et Shikha, 2004). Les polycycloalcanes incluant le 2 – Hydroxy - 3, 5, 5 -triméthyl – cyclohex – 2 - énone constitue une famille de propulseurs non toxiques largement utilisés pour les roquettes et les missiles et en raison de leurs densités (ou valeurs de chaleur volumétrique) relativement plus élevées que les carburants raffinés traditionnels, les polycycloalcanes peuvent être utilisé pour augmenter la portée des avions sans augmenter le volume de leur réservoir de carburant (Chung et al., 1999).

L'Acide 2-oxoacétique, ester éthylique, oxime est un acide organique important dans l'industrie chimique, cosmétique, pharmaceutique et alimentaire (Abdulwahed *et al.*, 2020).

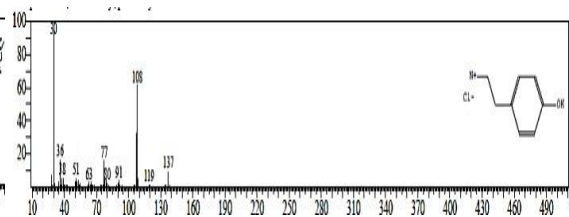
Les cétones insaturées comme le 1, 1 - D2 – 2 - (d3 - methyl) – 4 – methyl – 1 - pentene ont nombreuses propriétés pharmacologiques telles que des activités anticancéreuse, cytotoxique, anti-inflammatoire, analgésique (Nowakowska, 2007) antibactérienne, antifongique, antiulcéreuse (Dimmock *et al.*, 1999). L'acide tétradécénoïque possède des activités répulsive et larvicide contre les moustiques *Aedes aegypti* et *Culex quinquefasciatus* (Sivakumar *et al.*, 2011). Le 12 – méthyl - E, E - 2, 13 -octadécadièn - 1- ol (Wei *et al.*, 2011) L'alcool pentadecenol (Chatterjee *et al.*, 2017), le 2-Imidazolidienethione, 3-(2-imidazolin-2-yl) (Sztanke *et al.*, 2006) Le glycerine (Nalawade *et al.*, 2015) sont des composés à activité antibactérienne

L'ester méthylique de l'acide 6,7-époxyoctadécénoïque est une substance ajoutée à une résine synthétique pour favoriser la plasticité et la flexibilité et réduire la fragilité des matières (Greenspan & Gall, 1953). Le Cyclo (L – prolyl – L - valine) est un dicétopipérazine à activité anti - proliférative contre les lignées de cellules tumorales humaines (Tafolla *et al.*, 2019). Le Chimilether est un composant à capacité antioxydante et anti-inflammatoire (Kim *et al.*, 2013). Le 7,9 – Di – tert – butyl – 1 -oxaspiro (4,5) deca - 6,9 – diene - 2,8 - dione est utilisé dans la fabrication des matériaux d'emballage pharmaceutiques (Singh *et al.*, 2018). L'ester de (2 - phényl -1,3 – dioxolan – 4 - yl) méthylique d'acide 9 - octadécénoïque, cis est un composant à capacité Antioxydante et anti cancer (Syeda *et al.*, 2011). Les dérivés de 3,5-diméthyl-1,3,4-hexanetriol sont dotés d'une activité anticancéreuse (Prakash *et al.*, 2020). La 2-éthylhexylamine est utilisée comme intermédiaire pour fabriquer certains produits chimiques agricoles englobant les insecticides (Hermann & Brenzinger, 1987). Le 9,9 - diméthoxybicyclo [3.3.1] nona - 2,4 - dione est une cétone avec aucune activité enregistrée actuellement (Subavathy & Thilaga, 2016). Le 9 - tétradécénoate de n - propyle est un émollient polaire utilisé dans les préparations médicinales cosmétiques et topiques pour une bonne absorption par la peau (Engelbrecht *et al.*, 2012). Le 2H - Oxecin – 2 – one 3,4,7,8,9,10 – hexahydro – 4 – hydroxy -10 – methyl , [4S-(4R*, 5E, 10S*)] est un composé à activité antimicrobienne (Mohammed *et al.*, 2016). Le n-Butylamine est utilisé dans la fabrication de pesticides tels que les thiocarbazides, des produits pharmaceutiques et certains émulsifiants (Eller *et al.*, 2005). Le dioxa-tricyclo [4. 4. 0. 0 (3,8)] décane et ses dérivés sont des composés ont une activité nématocide contre une large gamme de nématodes phytoparasites

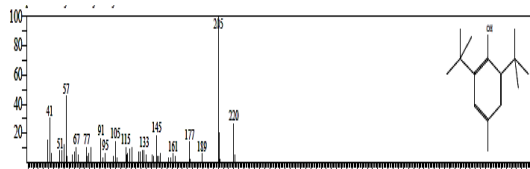
(Geivandov *et al.*, 1989). Ces résultats montrent que les champignons endophytes du ricin commun et leurs extraits constituent une source potentielle de plusieurs métabolites secondaires à activités insecticides et peuvent être utilisés comme insecticides de contact ou ingestion contre *L. Migratoria*. Ainsi que d'autres métabolites à activités nématocide, antimicrobienne, anticancéreuse, antioxydante, anti-inflammatoire, antibactérienne, antifongique, antiulcéreuse, antiproliférative, analgésique, cytotoxique, anthelminthique, antiviral, leishmanicide, trypanocide, antispasmodique, herbicide, immunosuppresseur qui peuvent être utilisés dans l'industrie chimique, cosmétique, pharmaceutique, alimentaire et agronomique.



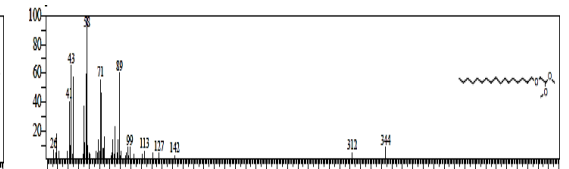
Composé chimique volatil :
 (Actinomycine C2)
 Formule : $(C_{63}H_{88}N_{12}O_{16})$
 Poids moléculaire (g/Mol) : 1268



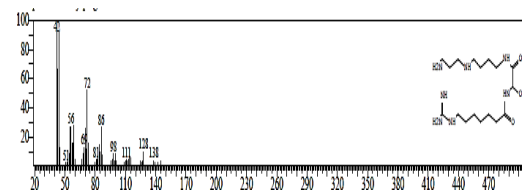
Composé chimique volatil :
 Chlorhydrate de 4-(2-aminoéthyl) phénol
 Formule : $C_8H_{12}ClNO$
 Poids moléculaire (g/Mol) : 173



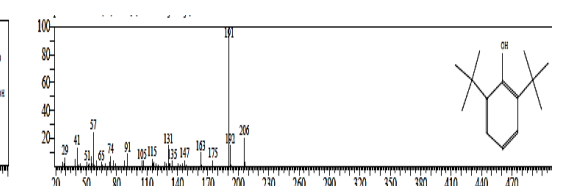
Composé chimique volatil : Hydroxytoluène
 butylé
 Formule : $(C_{63}H_{88}N_{12}O_{16}) : C_{15}H_{24}O$
 Poids moléculaire (g/Mol) : 220



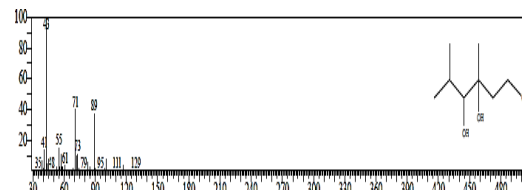
Composé chimique volatil : Chimilether
 Formule : $(C_{63}H_{88}N_{12}O_{16}) : C_{21}H_{44}O_3$
 Poids moléculaire (g/Mol) : 344



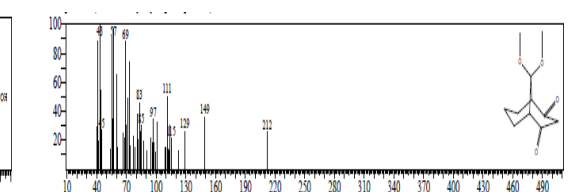
Composé chimique volatil :
 Désoxyspergualine
 Formule : $(C_{17}H_{37}N_7O_3)$
 Poids moléculaire (g/Mol) : 387



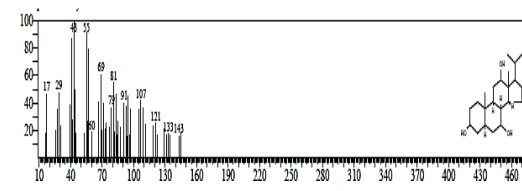
Composé chimique volatil : 2,6-Di-tert-
 butyl-4-méthyl-phénol
 Formule : $C_{15}H_{24}O$
 Poids moléculaire (g/Mol) : 220



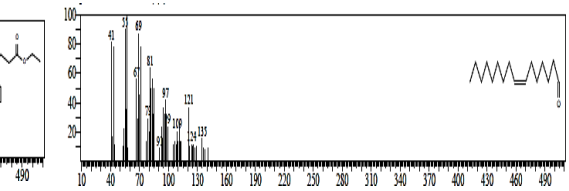
Composé chimique volatil : 3,5-diméthyle-
 1,3,4-hexane triol
 Formule : $C_8H_{18}O_3$
 Poids moléculaire (g/Mol) : 162



Composé chimique volatil : 9,9-
 diméthoxybicyclo [3.3.1] nona-2,4-dione
 Formule : $C_{11}H_{16}O_4$
 Poids moléculaire (g/Mol) : 212

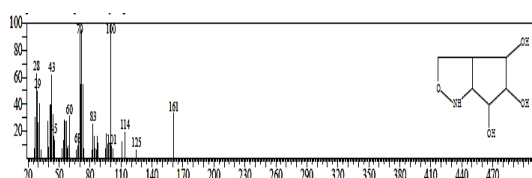


Composé chimique volatil : Iso-allochololate
 d'éthyle
 Formule : $C_{26}H_{44}O_5$
 Poids moléculaire (g/Mol) : 436

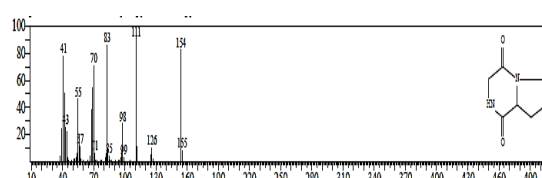


Composé chimique volatil : 7-
 hexadécéanal, (Z)
 Formule : $C_{16}H_{30}O$
 Poids moléculaire (g/Mol) : 238

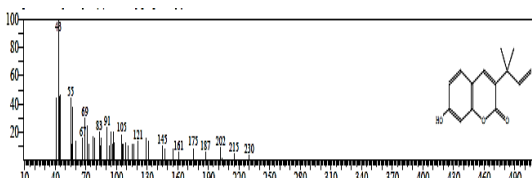
Figure 41. Chromatogrammes des Composants volatils du champignon
 endophyte *A. niger*



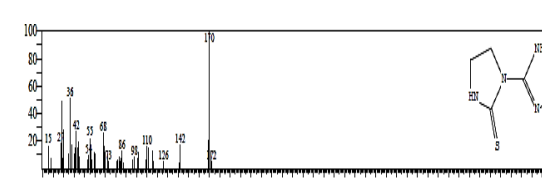
Composé chimique volatil : Hexahydro-1H-cyclopenta [c] isoxazole-4,5,6-triol
Formule : $C_6H_{11}NO_4$
Poids moléculaire (g/Mol) : 161



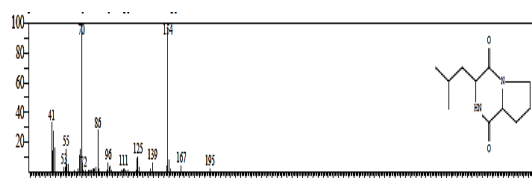
Composé chimique volatil : 2,3,6,7,8,8a-hexahydropyrrolo [1,2-a] pyrazine-1,4-dione
Formule : $C_7H_{10}N_2O_2$
Poids moléculaire (g/Mol) : 154



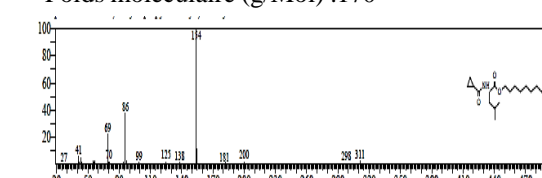
Composé chimique volatil : 7-Hydroxy-3-(1,1-diméthylprop-2-ényl) coumarine
Formule : $C_{14}H_{14}O_3$
Poids moléculaire (g/Mol) : 230



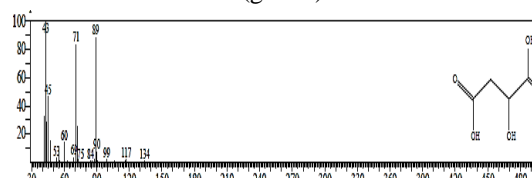
Composé chimique volatil : 2-Imidazolidiéthionone, 3-(2-imidazolin-2-yl)
Formule : $C_6H_{10}N_4S$
Poids moléculaire (g/Mol) : 170



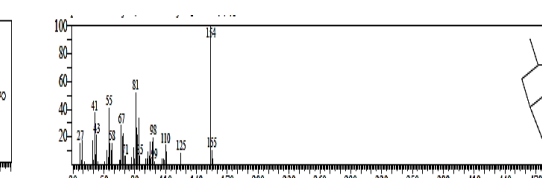
Composé chimique volatil : 3-isobutylhexahydropyrrolo [1,2-a] pyrazine-1,4-dione
Formule : $C_{11}H_{18}N_2O_2$
Poids moléculaire (g/Mol) : 210



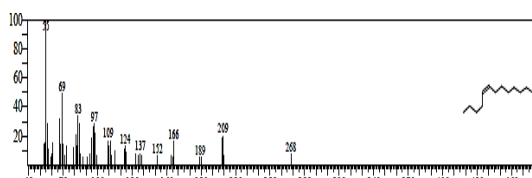
Composé chimique volatil : L-Leucine, N-cyclopropylcarbonyl-, ester dodécylique
Formule : $C_{22}H_{41}NO_3$
Poids moléculaire (g/Mol) : 367



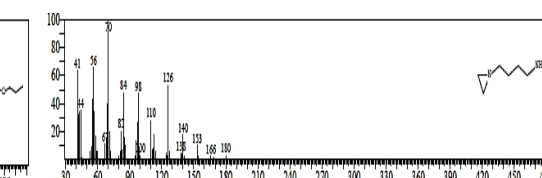
Composé chimique volatil : L'acide malique
Formule : $C_4H_6O_5$
Poids moléculaire (g/Mol) : 134



Composé chimique volatil : 4-méthyl-2,7-dioxa-tricyclo [4.4.0.0 (3,8)] décane
Formule : $C_9H_{14}O_2$
Poids moléculaire (g/Mol) : 154

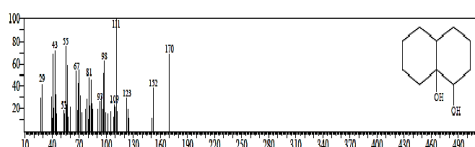


Composé chimique volatil : 9-tétradécénoate n-propyle
Formule : $C_{17}H_{32}O_2$
Poids moléculaire (g/Mol) : 268

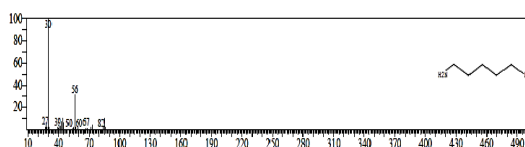


Composé chimique volatil : N-[4-cyclooctylaminobutyl] aziridine
Formule : $C_{14}H_{28}N_2$
Poids moléculaire (g/Mol) : 224

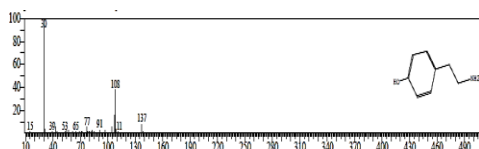
Figure 41. Chromatogrammes des Composants volatils du champignon endophyte *A. niger* (suite)



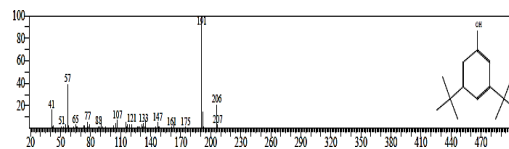
Composé chimique volatil : 2,3,4,4a,
5,6,7,8-octahydro-1H-naphthalène-1,8a-diol
Formule : $C_{10}H_{18}O_2$
Poids moléculaire (g/Mol) : 170



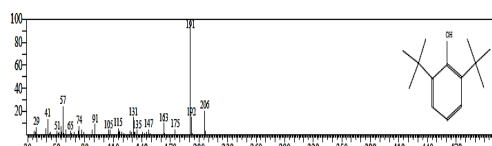
Composé chimique volatil : 1,5-
pentanediamine
Formule : $C_5H_{14}N_2$
Poids moléculaire (g/Mol) : 102



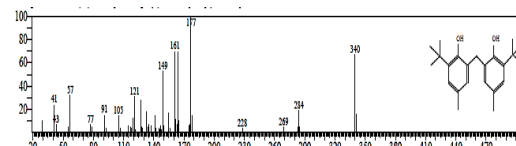
Composé chimique volatil : Phénol, 4- (2-
aminoéthyl)
Formule : $C_8H_{11}NO$
Poids moléculaire (g/Mol) : 137



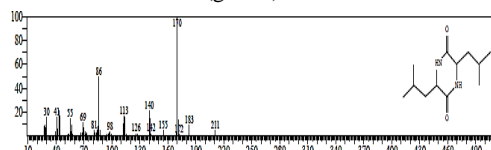
Composé chimique volatil : Phénol, 3,5-bis (1,1-
diméthyléthyle) -
Formule : $C_{14}H_{22}O$
Poids moléculaire (g/Mol) : 206



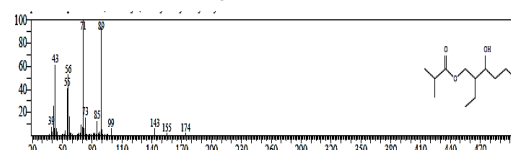
Composé chimique volatil : Phénol, 2,6-bis
(1,1-diméthyléthyle)
Formule : $C_{14}H_{22}O$
Poids moléculaire (g/Mol) : 206



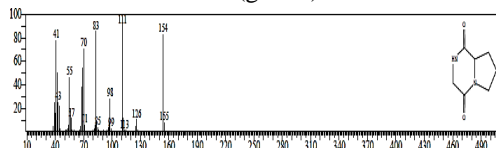
Composé chimique volatil : Phénol, 2,2'-
méthylènebis [6- (1,1-diméthyléthyle) -4-méthyl-
Formule : $C_{23}H_{32}O_2$
Poids moléculaire (g/Mol) : 340



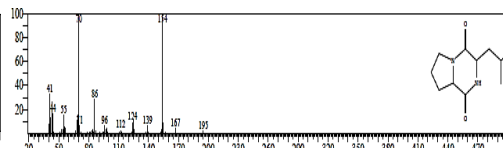
Composé chimique volatil : 2,5-
pipérazinedione, 3,6-bis (2-méthyle propyle)
Formule : $C_{12}H_{22}N_2O_2$
Poids moléculaire (g/Mol) : 226



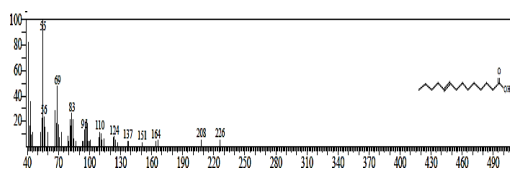
Composé chimique volatil : Ester 2-
méthylrique, 2-éthyle-3-hydroxyhexylique
d'acide propanoïque
Formule : $C_{12}H_{24}O_3$



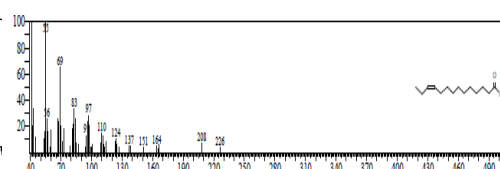
Composé chimique volatil : Pyrrolo [1,2-a]
pyrazine-1,4-dione, hexahydro-
Formule : $C_7H_{10}N_2O_2$
Poids moléculaire (g/Mol) : 154



Composé chimique volatil : Pyrrolo [1,2-a]
pyrazine-1,4-dione, hexahydro-3- (2-
méthylpropyl) -
Formule : $C_{11}H_{18}N_2O_2$
Poids moléculaire (g/Mol) : 210



Composé chimique volatil : Acide E-9-
tétradécénoïque
Formule : $C_{14}H_{26}O_2$
Poids moléculaire (g/Mol) : 226



Composé chimique volatil : Acide Z-11-
tétradécénoïque
Formule : $C_{14}H_{26}O_2$
Poids moléculaire (g/Mol) : 226

Figure 41. Chromatogrammes des Composants volatils du champignon endophyte *A. niger* (suite)

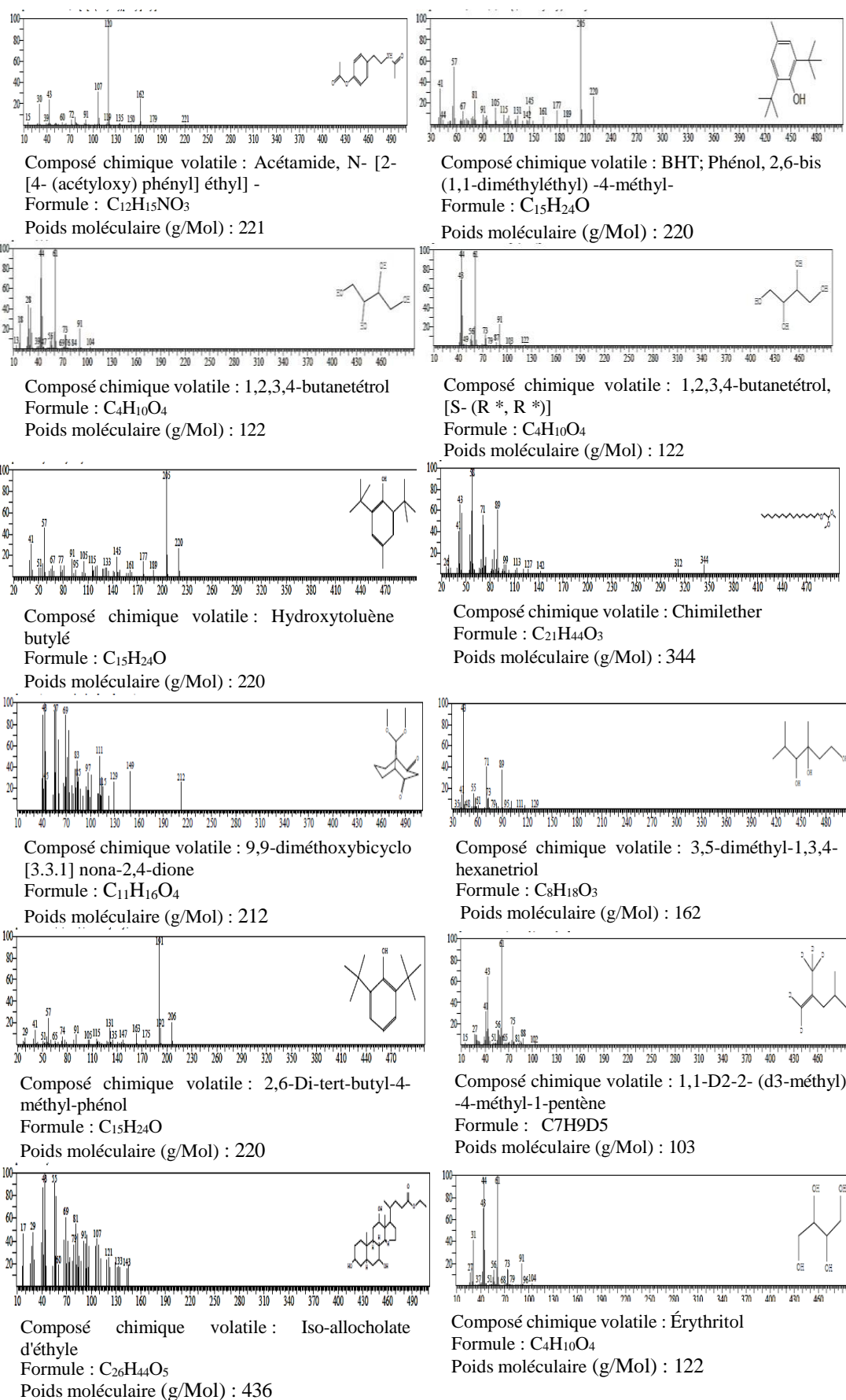
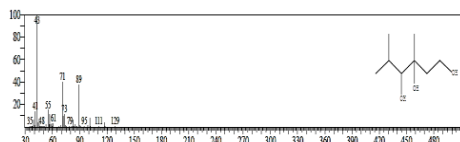
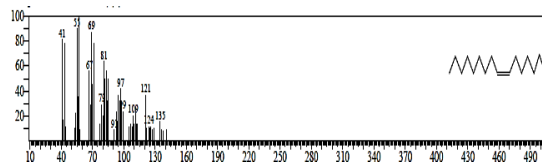


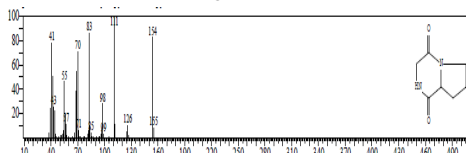
Figure 42. Chromatogrammes des Composants volatils du champignon endophyte *A. alternata*



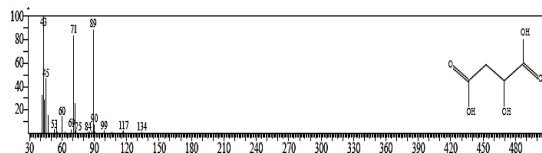
Composé chimique volatil : Hexane-1,3,4-triol, 3,5-diméthyle
Formule : $C_8H_{18}O_3$
Poids moléculaire (g/Mol) : 162



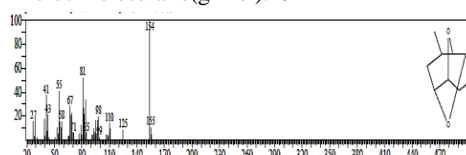
Composé chimique volatil : 7-hexadécénal, (Z)
Formule : $C_{16}H_{30}O$
Poids moléculaire (g/Mol) : 238



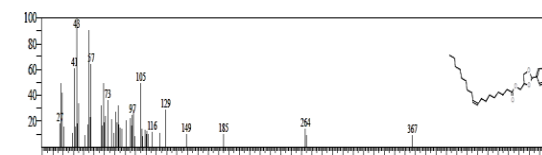
Composé chimique volatil : 2,3,6,7,8,8a-hexahydropyrrolo [1,2-a] pyrazine-1,4-dione
Formule : $C_7H_{10}N_2O_2$
Poids moléculaire(g/Mol):154



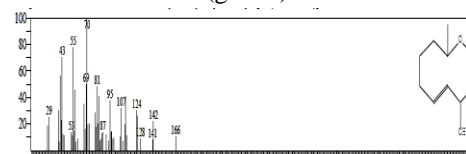
Composé chimique volatil : L'acide malique
Formule : $C_4H_6O_5$
Poids moléculaire (g/Mol) : 134



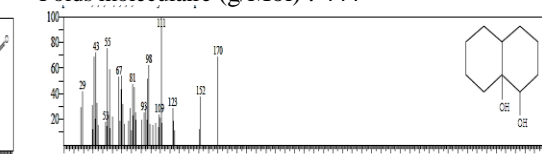
Composé chimique volatil : 4-méthyl-2,7-dioxatricyclo [4.4.0.0 (3,8)] décane
Formule : $C_9H_{14}O_2$
Poids moléculaire (g/Mol) : 154



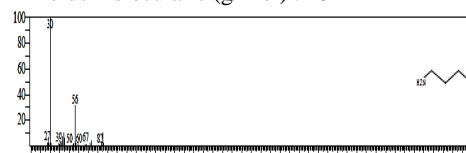
Composé chimique volatil : Acide 9-octadécénoïque, ester (2-phényl-1,3-dioxolan-4-yl) méthylique, cis-
Formule : $C_{28}H_{44}O_4$
Poids moléculaire (g/Mol) : 444



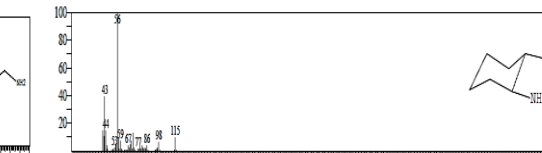
Composé chimique volatil : 2H-oxécine-2-one, 3,4,7,8,9,10-hexahydro-4-hydroxy-10-méthyl-, [4S- (4R*, 5E, 10S*)] -
Formule : $C_{10}H_{16}O_3$
Poids moléculaire (g/Mol) : 184



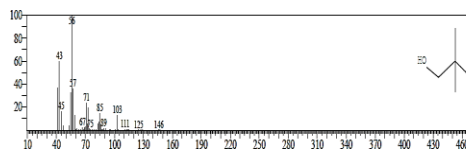
Composé chimique volatil : 2,3,4,4a, 5,6,7,8-tetrahydro-1H-naphtalène-1,8a-diol
Formule : $C_{10}H_{18}O_2$
Poids moléculaire (g/Mol) : 170



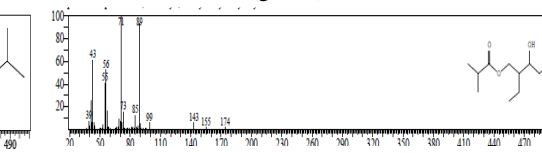
Composé chimique volatil : 1,5-pentanediamine
Formule : $C_5H_{14}N_2$
Poids moléculaire (g/Mol) : 102



Composé chimique volatil : Trans-2-Aminocyclohexanol
Formule : $C_6H_{13}NO$
Poids moléculaire (g/Mol) : 115

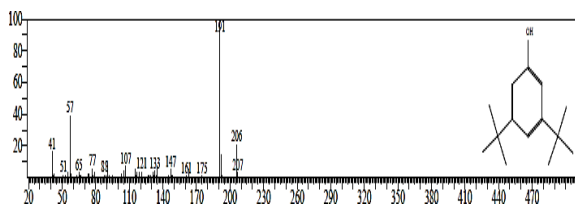


Composé chimique volatil : 1,3-pentadiol, 2,2,4-triméthyl-
Formule : $C_8H_{18}O_3$
Poids moléculaire (g/Mol) : 146

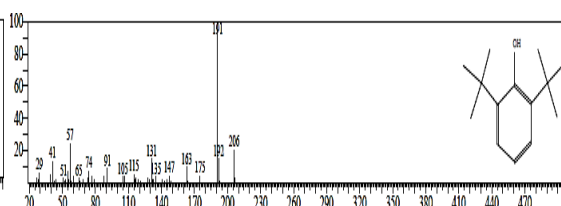


Composé chimique volatil : Ester 2-méthylrique, 2-éthyl-3-hydroxyhexylique d'acide propanoïque
Formule : $C_{12}H_{24}O_2$
Poids moléculaire (g/Mol) : 146

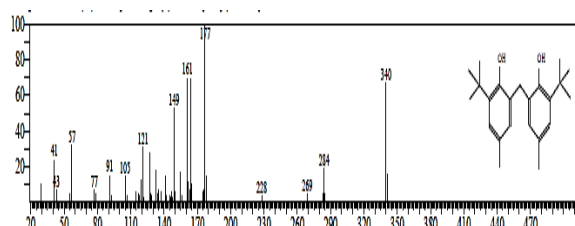
Figure 42. Chromatogrammes des Composants volatils du champignon endophyte *A. alternata* (Suite)



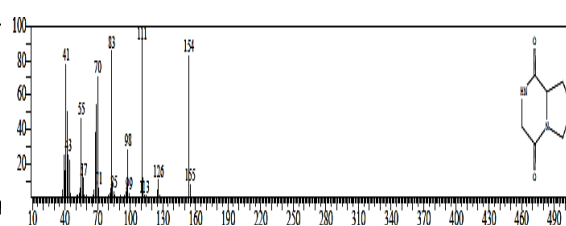
Composé chimique volatil : Phénol, 3,5-bis (1,1-diméthyléthyl) -
Formule : $C_{14}H_{22}O$
Poids moléculaire (g/Mol) : 206



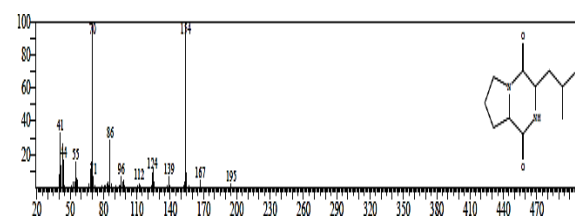
Composé chimique volatil : Phénol, 2,6-bis (1,1-diméthyléthyl) -
Formule : $C_{14}H_{22}O$
Poids moléculaire (g/Mol) : 206



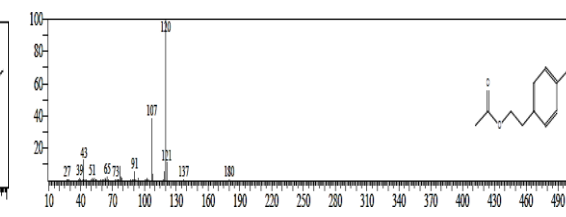
Composé chimique volatil : Phénol, 2,2'-méthylènebis [6- (1,1-diméthyléthyl) -4-méthyl-
Formule : $C_{23}H_{32}O_2$
Poids moléculaire (g/Mol) : 340



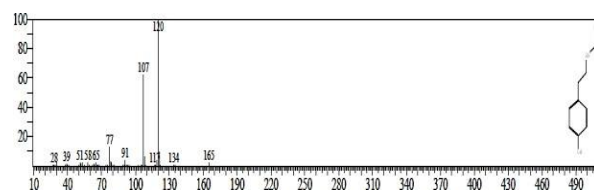
Composé chimique volatil : Pyrrolo [1,2-a] pyrazine-1,4-dione, hexahydro-
Formule : $C_7H_{10}N_2O_2$
Poids moléculaire (g/Mol) : 154



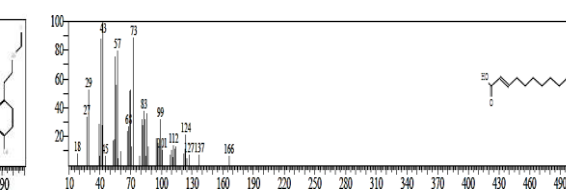
Composé chimique volatil : Pyrrolo [1,2-a] pyrazine-1,4-dione, hexahydro-3- (2-méthylpropyl)
Formule : $C_{11}H_{18}N_2O_2$
Poids moléculaire (g/Mol) : 210



Composé chimique volatil : Tyrosol, acetate
Formule : $C_{10}H_{12}O_3$
Poids moléculaire (g/Mol) : 180

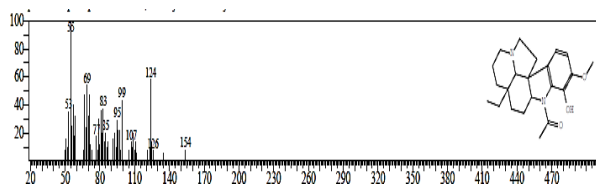


Composé chimique volatil : Tyramine, N-formyl-
Formule : $C_9H_{11}NO_2$
Poids moléculaire (g/Mol) : 165

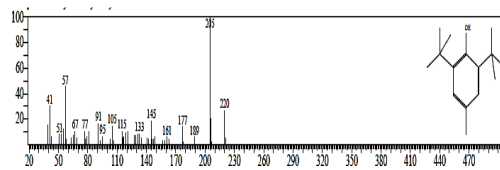


Composé chimique volatil : acide trans-2-undécénoïque
Formule : $C_{11}H_{20}O_2$
Poids moléculaire (g/Mol) : 184

Figure 42. Chromatogrammes des Composants volatils du champignon endophyte *A. alternata* (suite)



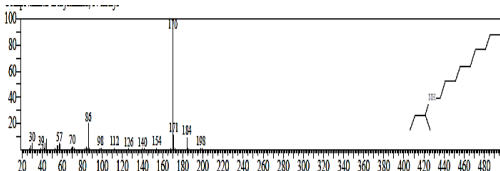
Composé chimique volatil : Aspidospermidin-17-ol, 1-acétyl-16-méthoxy-Formule : $C_{22}H_{30}N_2O_3$
Poids moléculaire (g/Mol) : 370



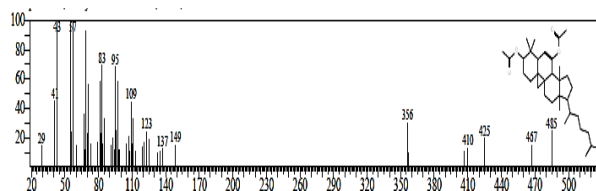
Composé chimique volatil : Hydroxytoluène butylé
Formule : $C_{15}H_{24}O$
Poids moléculaire (g/Mol) : 220



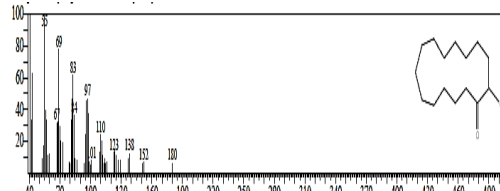
Composé chimique volatil : BHT; Phénol, 2,6-bis(1,1-diméthyléthyl)-4-méthyl-
Formule : $C_{15}H_{24}O$
Poids moléculaire (g/Mol) : 220



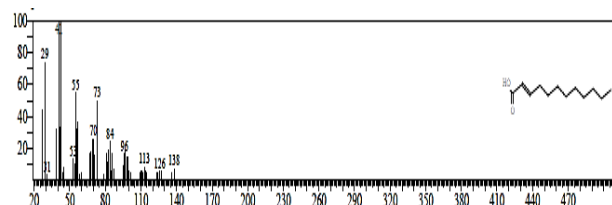
Composé chimique volatil : 2-butylamine, N-nonyl-
Formule : $C_{13}H_{29}N$
Poids moléculaire (g/Mol) : 199



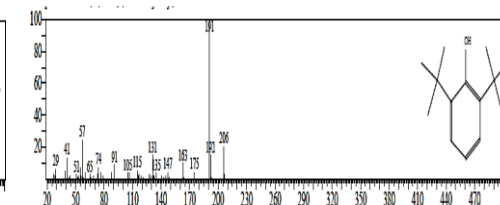
Composé chimique volatil : 9,19-cyclolanost-6-ène-3,7-diol, diacétate
Formule : $C_{34}H_{53}DO_4$
Poids moléculaire (g/Mol) : 527



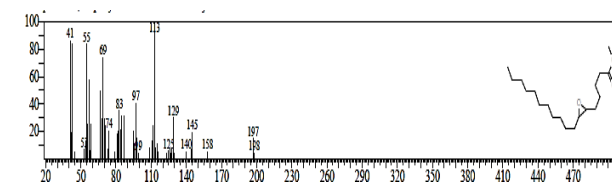
Composé chimique volatil : Cyclopentadécane, 2-hydroxy-Formule : $C_{15}H_{28}O_2$
Poids moléculaire (g/Mol) : 240



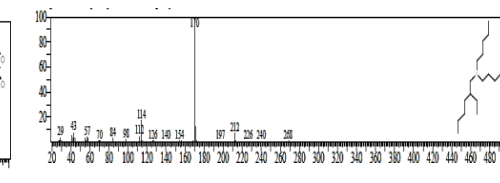
Composé chimique volatil : Acide 2-dodécénoïque
Formule : $C_{12}H_{22}O_2$
Poids moléculaire (g/Mol) : 198



Composé chimique volatil : 2,6-Di-tert-butyl-4-méthyl-phénol
Formule : $C_{15}H_{24}O$
Poids moléculaire (g/Mol) : 220



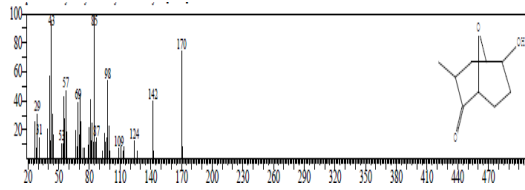
Composé chimique volatil : Ester méthylique de l'acide 6,7-époxyoctadécénoïque
Formule : $C_{19}H_{36}O_3$
Poids moléculaire (g/Mol) : 312



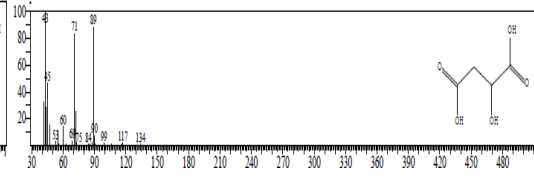
Composé chimique volatil : 2-éthylhexylamine, N,N-dipentyl-
Formule : $C_{18}H_{39}N$
Poids moléculaire (g/Mol) : 269

Figure 43. Chromatogrammes des Composants volatils du champignon endophyte

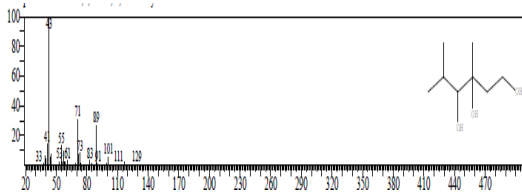
A. tenuissima



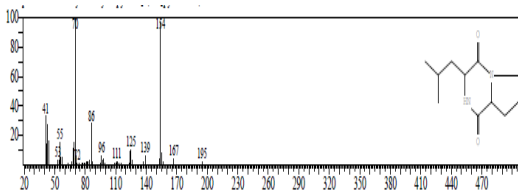
Composé chimique volatile : 6-Hydroxy-3-méthyl-9-oxabicyclo [3.3.1] nonan-2-one
Formule : $C_9H_{14}O_3$
Poids moléculaire (g/Mol) : 170



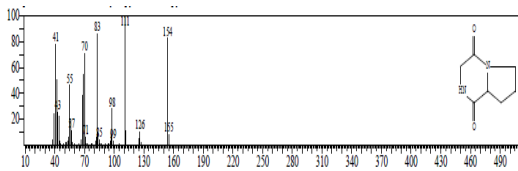
Composé chimique volatile : 3-Isobutylhexahydropyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione
Formule : $C_{11}H_{18}N_2O_2$
Poids moléculaire (g/Mol) : 210



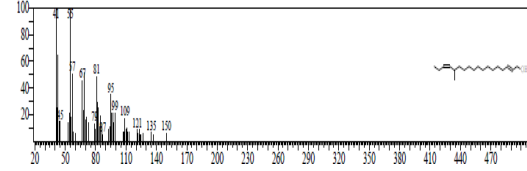
Composé chimique volatile : Hexane-1,3,4-triol, 3,5-diméthyle
Formule : $C_8H_{18}O_3$
Poids moléculaire (g/Mol) : 162



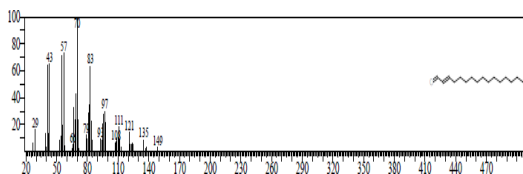
Composé chimique volatile : 2,3,6,7,8,8a-hexahydropyrrolo [1,2-a] pyrazine-1,4-dione
Formule : $C_7H_{10}N_2O_2$
Poids moléculaire (g/Mol) : 154



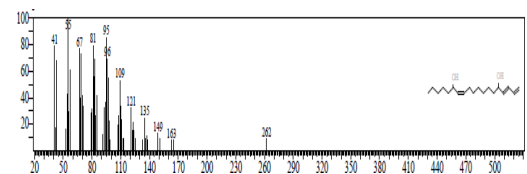
Composé chimique volatile : 2,3,6,7,8,8a-hexahydropyrrolo [1,2-a] pyrazine-1,4-dione
Formule : $C_7H_{10}N_2O_2$
Poids moléculaire (g/Mol) : 154



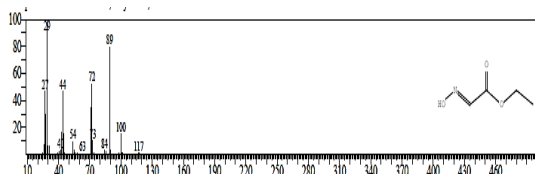
Composé chimique volatile : 12-méthyl-E, E-2,13-octadécadièn-1-ol
Formule : $C_{19}H_{36}O$
Poids moléculaire (g/Mol) : 280



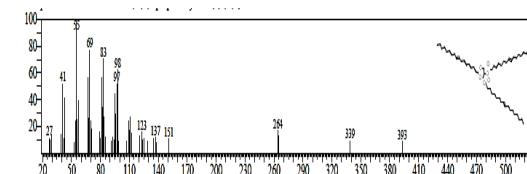
Composé chimique volatile : (E)-Hexadéc-2-éнал
Formule : $C_{16}H_{30}O$
Poids moléculaire (g/Mol) : 238



Composé chimique volatile : E, E, Z-1,3,12-Nonadécatriène-5,14-diol
Formule : $C_{19}H_{34}O_2$
Poids moléculaire (g/Mol) : 294

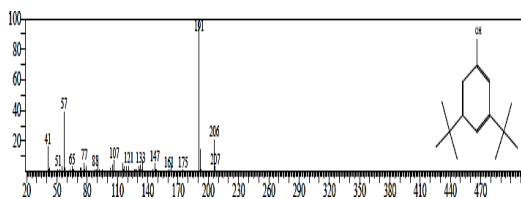


Composé chimique volatile : 2-Oxoacetic acid, ethyl ester, oxime
Formule : $C_4H_7NO_3$
Poids moléculaire (g/Mol) : 117

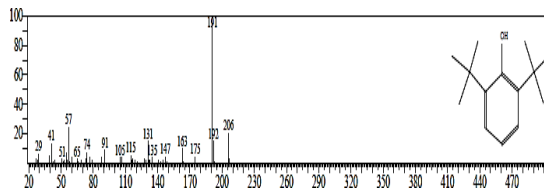


Composé chimique volatile : Ester 1,2,3-propanetriylique d'acide 9-octadécénoïque, (E, E, E)
Formule : $C_{57}H_{104}O_6$
Poids moléculaire (g/Mol) : 885

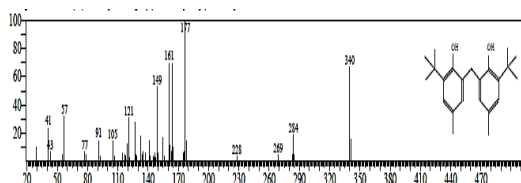
Figure 43. Chromatogrammes des Composants volatils du champignon endophyte *A. tenuissima* (suite)



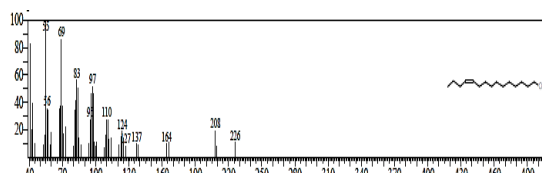
Composé chimique volatil : Phénol, 3,5-bis (1,1 - diméthyléthyl) -
Formule : $C_{14}H_{22}O$
Poids moléculaire (g/Mol) : 206



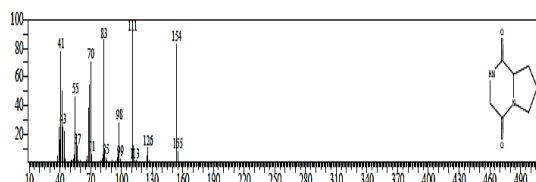
Composé chimique volatil : Phénol, 2,6-bis (1,1- diméthyléthyl) -
Formule : $C_{14}H_{22}O$
Poids moléculaire (g/Mol) : 206



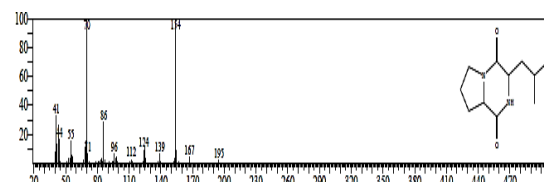
Composé chimique volatil : Phénol, 2,2'- méthylènebis [6- (1,1-diméthyléthyl) -4- méthyl- Formule : $C_{23}H_{32}O_2$
Poids moléculaire (g/Mol) : 340



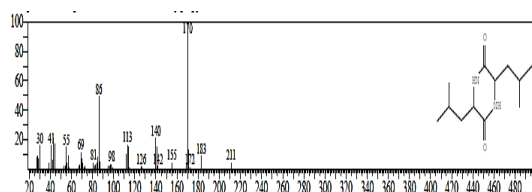
Composé chimique volatil : Z-11-Pentadécénol
Formule : $C_{15}H_{30}O$
Poids moléculaire (g/Mol) : 226



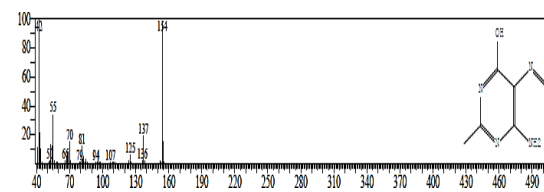
Composé chimique volatil : Pyrrolo [1,2-a] pyrazine-1,4-dione, hexahydro
Formule : $C_7H_{10}N_2O_2$
Poids moléculaire (g/Mol) : 154



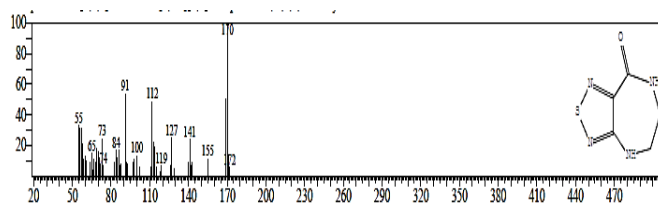
Composé chimique volatil : Pyrrolo [1,2-a] pyrazine-1,4-dione, hexahydro-3- (2- méthylpropyl) -
Formule : $C_{11}H_{18}N_2O_2$
Poids moléculaire (g/Mol) : 210



Composé chimique volatil : 2,5-pipérazinedione, 3,6-bis (2-méthylpropyl) -
Formule : $C_{12}H_{22}N_2O_2$
Poids moléculaire (g/Mol) : 226

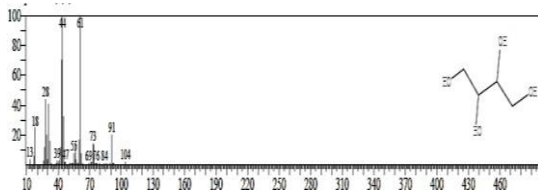


Composé chimique volatil : 4 (1H) -Pyrimidinone, 6-amino-2-méthyl-5-nitroso-
Formule : $C_5H_6N_4O_2$
Poids moléculaire (g/Mol) : 154

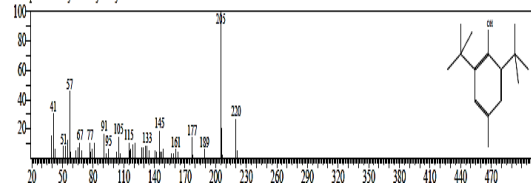


Composé chimique volatil : 8H- [1,2,5] Thiadiazolo [3,4-e] [1,4] diazépin-8-one, 4,5,6,7-tétrahydro
Formule : $C_5H_6N_4OS$
Poids moléculaire (g/Mol) : 170

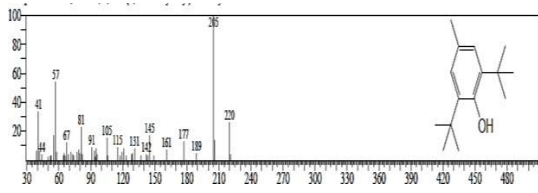
Figure 43. Chromatogrammes des Composants volatils du champignon endophyte *A. tenuissima* (suite)



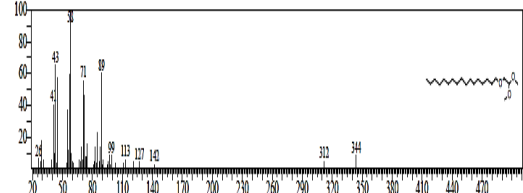
Composé chimique volatile : 1,2,3,4-
butanediol
Formule : $C_4H_{10}O_4$
Poids moléculaire (g/Mol) : 122



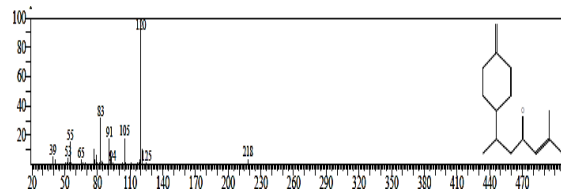
Composé chimique volatile :
Hydroxytoluène butylé
Formule : $C_{15}H_{24}O$
Poids moléculaire (g/Mol) : 220



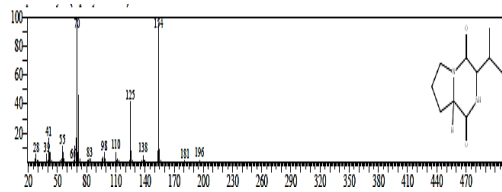
Composé chimique volatile : BHT; Phénol,
2,6-bis (1,1-diméthyléthyl) -4-méthyl-
Formule : $C_{15}H_{24}O$
Poids moléculaire (g/Mol) : 220



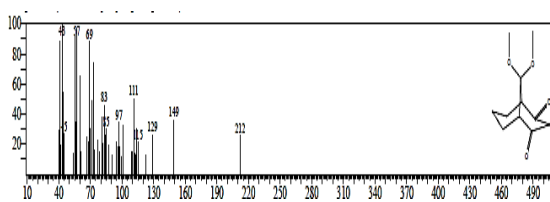
Composé chimique volatile : Chimilether
Formule : $C_{21}H_{44}O_3$
Poids moléculaire (g/Mol) : 344



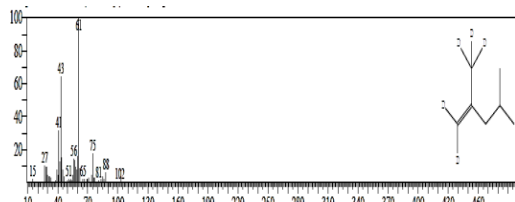
Composé chimique volatile : Curlone
Formule : $C_{15}H_{22}O$
Poids moléculaire (g/Mol) : 218



Composé chimique volatile : Cyclo (L-
prolyl-L-valine)
Formule : $C_{10}H_{16}N_2O_2$
Poids moléculaire (g/Mol) : 196

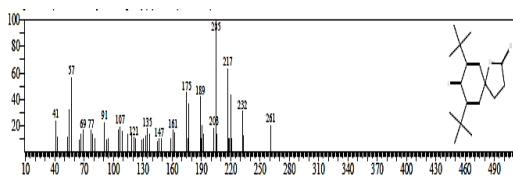


Composé chimique volatile : 9,9-
diméthoxybicyclo [3.3.1] nona-2,4-dione
Formule : $C_{11}H_{16}O_4$
Poids moléculaire (g/Mol) : 212

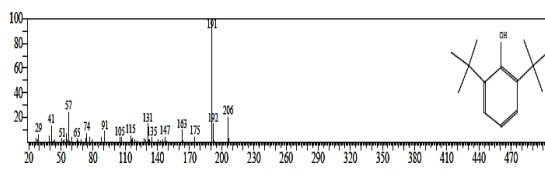


Composé chimique volatile : 1,1-D2-2- (d3-
méthyl) -4-méthyl-1-pentène
Formule : $C_7H_9D_5$
Poids moléculaire (g/Mol) : 103

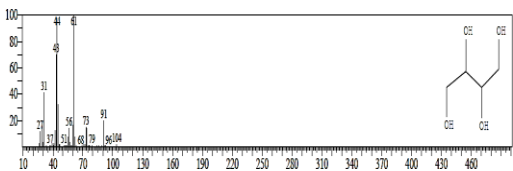
Figure 44. Chromatogrammes des Composants volatils du champignon endophyte *Trichoderma sp*



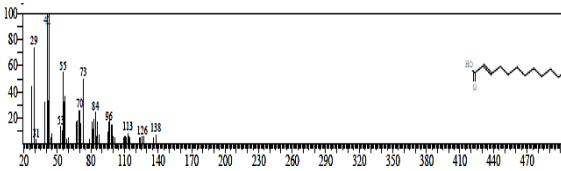
Composé chimique volatile : 7,9-Di-tert-butyl-1-oxaspiro (4,5) déca-6,9-diène-2,8-dione
Formule : $C_{17}H_{24}O_3$
Poids moléculaire (g/Mol) : 276



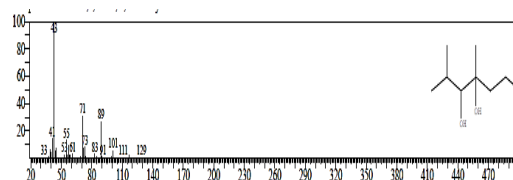
Composé chimique volatile : 2,6-Di-tert-butyl-4-méthyl-phénol
Formule : $C_{15}H_{24}O$
Poids moléculaire (g/Mol) : 220



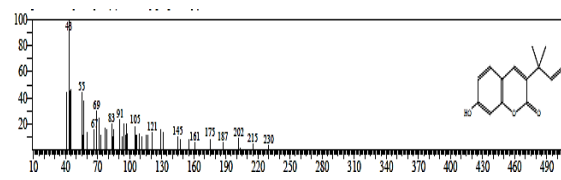
Composé chimique volatile : Érythritol
Formule : $C_4H_6O_5$
Poids moléculaire (g/Mol) : 134



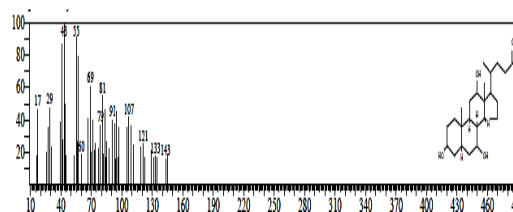
Composé chimique volatile : Acide 2-dodécénoïque
Formule : $C_{12}H_{22}O_2$
Poids moléculaire (g/Mol) : 198



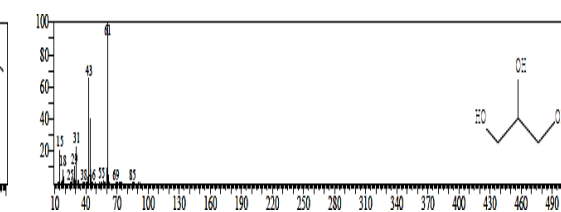
Composé chimique volatile : Hexane-1,3,4-triol, 3,5-diméthyle
Formule : $C_8H_{18}O_3$
Poids moléculaire (g/Mol) : 162



Composé chimique volatile : 7-Hydroxy-3-(1,1-diméthylprop-2-ényl) coumarine
Formule : $C_{14}H_{14}O_3$
Poids moléculaire (g/Mol) : 230

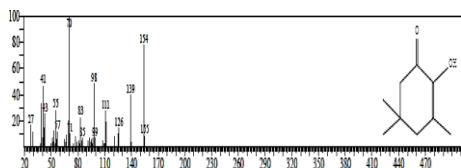


Composé chimique volatile : Isoallocholate d'éthyle
Formule : $C_{26}H_{44}O_5$
Poids moléculaire (g/Mol) : 436

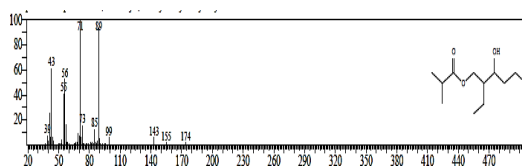


Composé chimique volatile : glycérine
Formule : $C_3H_8O_3$
Poids moléculaire (g/Mol) : 92

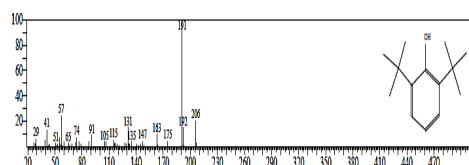
Figure 44. Chromatogrammes des Composants volatils du champignon endophyte *Trichoderma sp* (suite)



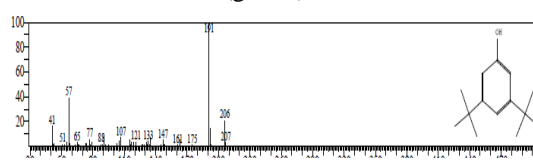
Composé chimique volatil : 2-Hydroxy-3,5,5-triméthyl-cyclohex-2-énone
Formule : $C_9H_{14}O_2$
Poids moléculaire (g/Mol) : 154



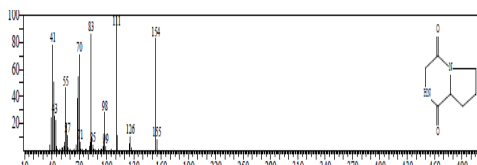
Composé chimique volatil : Ester 2-méthyl-2-éthyl-3-hydroxyhexylique d'acide propanoïque
Formule : $C_{14}H_{22}O$
Poids moléculaire (g/Mol) : 206



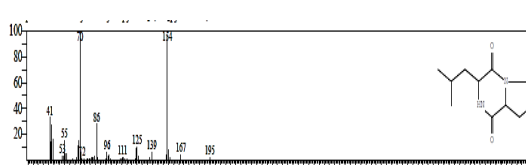
Composé chimique volatil : Phénol, 2,6-bis(1,1-diméthyléthyl)
Formule : $C_{14}H_{22}O$
Poids moléculaire (g/Mol) : 206



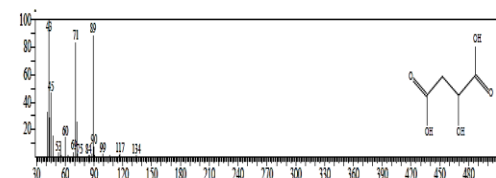
Composé chimique volatil : Phénol, 3,5-bis(1,1-diméthyléthyl)
Formule : $C_7H_{10}N_2O_2$
Poids moléculaire (g/Mol) : 154



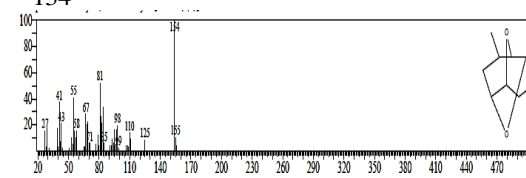
Composé chimique volatil : 2,3,6,7,8,8a-hexahydropyrrolo [1,2-a] pyrazine-1,4-dione
Formule : $C_{11}H_{18}N_2O_2$ Poids moléculaire



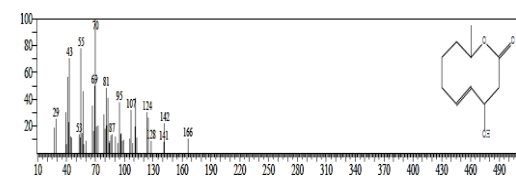
Composé chimique volatil : 3-Isobutylhexahydropyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione
Formule : $C_4H_6O_5$ Poids moléculaire (g/Mol) : 134



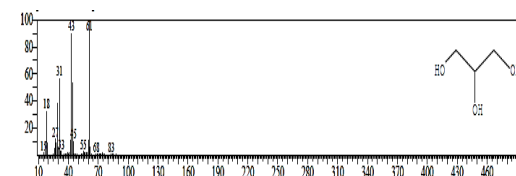
Composé chimique volatil : L'acide malique
Formule : $C_4H_6O_5$
Poids moléculaire (g/Mol) : 134



Composé chimique volatil : 4-méthyl-2,7-dioxa-tricyclo [4.4.0.0 (3,8)] décane
Formule : $C_9H_{14}O_2$
Poids moléculaire (g/Mol) : 154

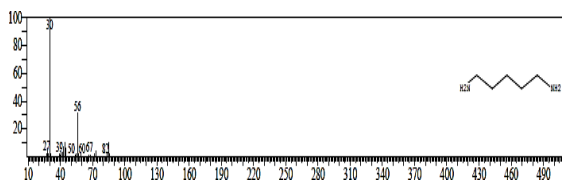


Composé chimique volatil : 2H-oxécine-2-one, 3,4,7,8,9,10-hexahydro-4-hydroxy-10-méthyl-, [4S-(4R*, 5E, 10S*)]
Formule : $C_{10}H_{16}O_3$
Poids moléculaire (g/Mol) : 184

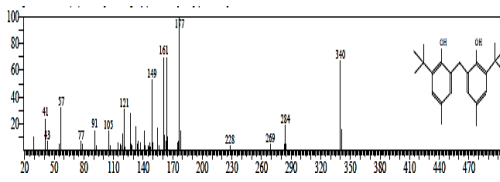


Composé chimique volatil : 1,2,3-propanetriol
Formule : $C_3H_8O_3$
Poids moléculaire (g/Mol) : 102

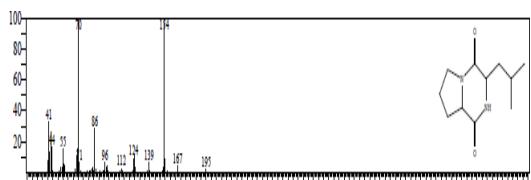
Figure 44. Chromatogrammes des Composants volatils du champignon endophyte *Trichoderma sp* (suite)



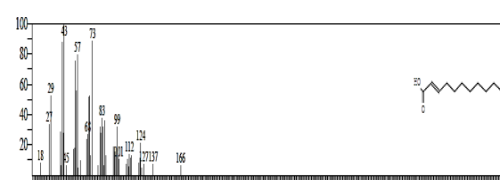
Composé chimique volatile : 1,5-pentanediamine
Formule : $C_5H_{14}N_2$
Poids moléculaire (g/Mol) : 102



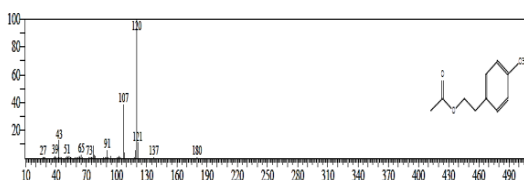
Composé chimique volatile : Phénol, 2,2'-méthylènebis [6- (1,1-diméthyléthyl) -4-méthyl-
Formule : $C_{23}H_{32}O_2$
Poids moléculaire (g/Mol) : 340



Composé chimique volatile : Pyrrolo [1,2-a] pyrazine-1,4-dione, hexahydro-3- (2-méthylpropyl) -
Formule : $C_{11}H_{18}N_2O_2$
Poids moléculaire (g/Mol) : 210



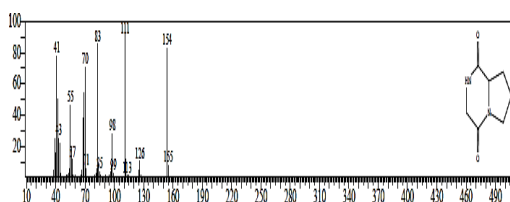
Composé chimique volatile : acide trans-2-undécénoïque
Formule : $C_{10}H_{12}O_3$
Poids moléculaire (g/Mol) : 180



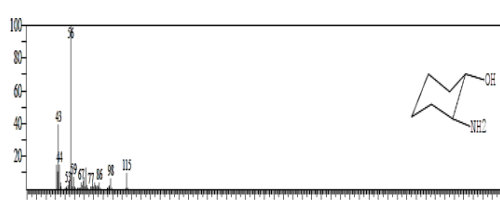
Composé chimique volatile : Tyrosol, acetate
Formule : $C_9H_{11}NO_2$
Poids moléculaire (g/Mol) : 165



Composé chimique volatile : Tyramine, N-formyl-
Formule : $C_6H_{13}NO$
Poids moléculaire (g/Mol) : 115



Composé chimique volatile : Pyrrolo [1,2-a] pyrazine-1,4-dione, hexahydro-
Formule : $C_7H_{10}N_2O_2$
Poids moléculaire (g/Mol) : 154



Composé chimique volatile : Trans-2-Aminocyclohexanol
Formule : $C_6H_{13}NO$
Poids moléculaire (g/Mol) : 115

Figure 44. Chromatogrammes des Composants volatils du champignon endophyte *Trichoderma sp* (suite)

III. DISCUSSION GENERALE

Les champignons endophytes résident dans les tissus internes des plantes hôtes sans provoquer de signes visibles d'infection (Porrás Alfaro et Bayman, 2011 ; Kaur, 2020)

Cette capacité à coloniser les tissus internes des plantes a fait des endophytes un outil précieux pour améliorer les performances des cultures en agriculture (Zhang *et al.*, 2012). En outre, ces champignons jouent un rôle crucial dans la protection des plantes hôtes contre les insectes ravageurs et les champignons phytopathogènes (Breen, 1993 ; Clement *et al.*, 2005 ; Reinhold-Hurek & Hurek, 2011). Ils produisent au cours de leur phase de croissance active de nombreux métabolites secondaires bioactifs volatils et non volatils, à capacité insecticide et répulsive pour les insectes. Ces métabolites peuvent être similaires à ceux de leurs hôtes respectifs ou encore plus actifs (Strobel, 2003 ; Mantzoukas et Lagogiannis, 2019 ; El-Sayed *et al.*, 2020). En conséquence, les endophytes fongiques ont trouvé de nombreuses applications en agrochimie, renforçant ainsi leur importance dans la protection et l'amélioration des cultures (Nisa *et al.*, 2015). Parmi les métabolites secondaires à activités insecticide et antifongique produits par les champignons endophytes, on trouve les chitinases, les protéases, ainsi que les molécules inhibitrices de l'acétylcholinestérase telles que les alcaloïdes et les flavonoïdes (Pérez *et al.*, 2014 ; Lopez-Illorca *et al.*, 2002 ; Tiwari *et al.*, 2011). En effet, ces composés jouent un rôle essentiel en protection des végétaux et agissent contre les acridiens tels que *L. migratoria* et *B. cinerea*. Les chitinases sont induites en présence de chitine colloïdale comme source de carbone, et elles exercent une activité hydrolytique contre la chitine. Celle-ci est décomposée en molécules de faible poids moléculaire sous l'action des chitinases. En présence de caséine, les protéases en tant que source d'azote, présentent une activité protéolytique ; Elles sont sécrétées par de nombreuses espèces de champignons endophytes. Les mécanismes de production de chitinases et de protéases sont courants chez les champignons entomopathogènes, notamment les *Trichoderma* spp qui jouent un rôle clé lors de l'infection des insectes (Seidl, 2008). Ils contribuent également à la résistance des plantes hôtes contre les champignons phytopathogènes (Tan & Zou, 2001). En parallèle, les métabolites secondaires non volatils, tels que les alcaloïdes, les phénols, les terpénoïdes, les saponines, et les tanins, sont également impliqués dans la défense des plantes contre les insectes (Kortbeek *et al.*, 2019 ; Taye & Borkataki, 2020 ; Hussain *et al.*, 2019). Les alcaloïdes, par exemple, agissent en tant que composants dissuasifs et anti-alimentaires pour divers insectes herbivores. Les phénols

exercent leur effet toxique par ingestion tandis que les saponines agissent en tant qu'insecticides, répulsifs, perturbateurs de la mue et régulateurs de la croissance des insectes en perturbant la synthèse des écdystéroïdes. Les tanins agissent en tant que répulsifs alimentaires.

Les champignons produisent des molécules inhibitrices de l'acétylcholinestérase qui pourraient être utilisées en agriculture pour lutter contre les insectes et autres arthropodes nuisibles en agissant sur leur système nerveux (Singh *et al.*, 2012 ; Cheung *et al.*, 2012 ; Su *et al.*, 2017). Parmi ces composés, les terpénoïdes ont une activité répulsive contre les insectes en réduisant le contact plante-insecte et la transmission de maladies virales. Ils agissent également en tant que toxines neurales qui affectent le système nerveux des insectes (Su *et al.*, 2017). L'acétylcholinestérase est une enzyme carboxylestérase qui catalyse l'hydrolyse rapide du neurotransmetteur acétylcholine. Si cette hydrolyse ne se produisait pas, une augmentation du niveau d'acétylcholine induirait une activité neuronale répétitive, ce qui entraînerait une diminution de l'activité motrice de l'insecte et conduirait finalement à sa mort (Champ, 1986).

La détection de groupes hydroxyle, alcool, et imine par FTIR-ATR confirme la présence de phénols, tanins, saponines, et alcaloïdes dans les extraits fongiques (Sharaf *et al.*, 2013 ; Veiga *et al.*, 2018 ; Lv *et al.*, 2021). Les imines et leurs dérivés sont depuis longtemps reconnus comme des intermédiaires clés dans la synthèse de composés hétérocycliques azotés, notamment dans le domaine de la synthèse d'alcaloïdes (Lv *et al.*, 2021). Les groupes sulfone, nitro, éthers d'énol et dérivés alcynes sont largement reconnus comme des groupes fonctionnels exceptionnels en chimie, fréquemment utilisés en tant qu'intermédiaires clés dans la synthèse de nombreuses molécules chimiquement et biologiquement actives possédant des propriétés insecticides (Liu *et al.*, 2015 ; Yu *et al.*, 2016 ; Nishiwaki, 2020). Les sulfones, sont des composés organosoufrés qui ont été étudiés en raison de leur rôle essentiel en tant qu'intermédiaires de synthèse pour produire une vaste gamme de molécules ayant des propriétés insecticides (Yu *et al.*, 2016). De plus, de nombreux dérivés alcynes sont importants dans la fabrication de divers insecticides, parmi lesquels on cite les pyréthroïdes neurotoxiques. Ces derniers agissent à faibles doses sur le système nerveux central des insectes en bloquant les canaux sodium, ce qui provoque une perte de tonus nerveux et entraîne ainsi la mort de l'insecte (Soderlund, 2012). Le groupe nitro est également un groupe fonctionnel remarquable en chimie ; il est fréquemment employé dans la production de produits chimiques agricoles tels que les fongicides et les insecticides (Nishiwaki, 2020). Les éthers énoles

interviennent communément dans la synthèse de nombreux produits insecticides (Liu *et al.*, 2015).

De plus, on y trouve des composés volatils qui présentent un potentiel insecticide, tels que le naphthalène et les analogues de 1,3-pentanediol, 2,2,4-triméthyl et 2,4-di-tert-butylphénol qui ont été mis en exergue par Herbst (2015), Gerber (1966), Zhao *et al.* (2020). Le naphthalène, un insecticide volatil, présente une toxicité pour les stades larvaires et adultes de divers lépidoptères nuisibles. De plus, il est utilisé en administration orale pour éradiquer les parasites internes chez le bétail (Herbst, 2015 ; Chikkula et Raja, 2017 ; Krzyzowski *et al.*, 2020). Les isoxazoles, par le biais des azoles, en l'occurrence l'acide propénoïque provoquent également un effet répulsif chez *Callosobruchus maculatus* ; ils réduisent la ponte et entraînent une mortalité de 100 % après 24 heures de traitement.

Lors de notre expérimentation et après l'application des extraits fongiques sur *L. migratoria*, il y a eu apparition notable des signes d'intoxication, notamment une réduction de l'activité motrice, une défécation intense et une déshydratation, ce qui pourrait être attribué aux effets des extraits fongiques (Kemassi *et al.*, 2018). La couleur rouge brique observée sur la cuticule des insectes est due probablement à une surproduction de β -carotène tandis que la pigmentation sombre sur le tractus digestif peut être attribuée à la présence spécifique de la mélanine (Yang *et al.*, 2019 ; Chauvin, 1956). La couleur noir foncé dans l'abdomen suite au traitement pourrait résulter d'une mélanisation excessive provoquée par la toxicité intestinale, entraînant des perturbations de la fonction nerveuse due aux effets nocifs sur le système nerveux central. De plus, cela pourrait résulter d'une distension, d'une nécrose cellulaire et d'une réaction physiologique visant à guérir les blessures intestinales. L'incapacité des criquets à absorber et à assimiler les nutriments conduit finalement à une carence en protéines et en lipides, ce qui entraîne la mort des insectes (Shamim *et al.*, 2014).

Les entomopathogènes fongiques, tels que les champignons entomopathogènes endophytes, jouent un rôle crucial en tant que facteurs régulateurs écologiques pour la gestion des populations d'insectes (Vega *et al.*, 2009). Ces champignons entomopathogènes endophytes infectent et tuent les insectes en produisant des métabolites secondaires, notamment des mycotoxines, qui contournent les mécanismes de défense des criquets et décomposent la cuticule de ces derniers (Butt *et al.*, 2016). Des études antérieures ont démontré les propriétés insecticides prometteuses des champignons endophytes. A titre d'exemple, le composé 6,8-di-O-méthylbipolarine, produit par le

champignon *Acremonium vitellinum*, a donné une activité larvicide notable contre les larves du troisième stade de *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera : Noctuoidea) à une DL₅₀ égale à 0,72 mg/ml (Yuan *et al.*, 2020). De même, l'endophyte *Curvularia lunata* MRDS 302 possède une activité insecticide exceptionnelle en provoquant un taux de mortalité maximal de 100 % parmi les larves de premier stade de *Sesamia cretica* (Lepidoptera : Noctuidae) (EL-Lebody *et al.*, 2021). Après le traitement topique à l'aide d'un filtrat de culture de *Trichoderma harzianum* Pers., à une concentration de chitinase de 2000 U/ml, celui-ci a engendré un taux de mortalité de 70 % parmi les larves de *H. armigera* Hub. (Lepidoptera : Noctuidae) (Binod *et al.*, 2007). Il en est de même pour *Alternaria* sp. Cas 1 (JX177676), qui présente un taux d'inhibition de l'acétylcholinestérase atteignant 78 % (Singh *et al.*, 2012). Nous rappelons qu'*A. alternata* et *A. tenuissima* sont des sources exceptionnelles de métabolites secondaires à la fois volatils et non volatils, dotés d'une forte activité insecticide contre *L. migratoria*. En effet, l'extrait fongique d'*A. tenuissima*, possède des activités insecticides variables qui dépendent à la fois de la concentration et du temps de traitement. La concentration la plus efficace est celle de 2 g/l, car elle cause une mortalité de 73 % et 91 % chez *L. migratoria* lors des deux traitements par contact et ingestion. De même, *A. niger* est riche en métabolites secondaires à activité insecticide, qu'ils soient volatils ou non volatils, et peut être utilisé efficacement comme insecticide contre les insectes en général (Laib *et al.*, 2020b). D'après Laib *et al.* (2022) l'extrait de celui-ci à une concentration de 2 g/l provoque une mortalité remarquable de 86,95 %.. tandis que *Trichoderma* sp. à une concentration de 0,4 g/l, engendre chez les adultes de *L. migratoria* un taux de mortalité de 56,52 % après 72 heures du traitement. Dans le même ordre d'idées, les différentes souches de *Trichoderma* spp. ont montré une activité antifongique significative contre le champignon *Botrytis cinerea* (Ascomycètes : Sclerotiniaceae) (Demirci *et al.*, 2011). En effet *Trichoderma* sp possède un potentiel significatif en tant que bio insecticide et bio fongicide pour la lutte aussi bien contre *L. migratoria* que *B. cinerea* ; il offre des perspectives encourageantes pour son utilisation en agriculture. Les extraits d'acétate d'éthyle des isolats de *Trichoderma* spp. ont indiqué une activité antibactérienne intéressante contre *Vibrio* sp. Pac, *Serratia marcescens* Biz, *Mycobacterium smegmatis* Trevi et *Bacillus cereus* (Karaoglu *et al.*, 2018). Toujours chez *Trichoderma* sp. 09 isolé à partir de la racine de *M. bontioides* Sie & Zuc., il existe deux composés, la dichlorodiaportinolide (135) et la dichlorodiaportine (136) qui ont une activité antifongique contre les champignons ascomycètes *Colletotrichum musae* Arx et *Rhizoctonia solani* Kuh à des concentration léthales respectives de 6,25 et 150 mg/ml

contre (Li *et al.*, 2016). D'autres métabolites sont extraites du champignon endophytes *Trichoderma brevicompactum* 0248 : il s'agit du trichodermine (137) isolé d'*Allium sativum* (Liliales : Liliaceae) L. qui se distingue par une activité inhibitrice puissante contre *R. solani* (CE50 de 0,25 mg/ml) et contre *B. cinerea* (CE50 de 2,02 mg/ml) (Shentu *et al.*, 2012). *Trichoderma koningiopsis* YIM PH30002, présent dans *Panax notoginseng* Bur., plante de la famille des Araliacées, constitue une source de la koninginine O (131), de la koninginine Q (132), de la 7-O-méthylkoninginine D (133), et de la koningiopisine C (134). Ces derniers composés ont montré différentes activités antifongiques contre *Fusarium oxysporum* champignon largement réparti dans le monde et très redouté à une certaine époque (Li *et al.*, 2016). *T. koningiopsis* YIM PH30002 produisait également deux koninginines R et S (138-139) qui ont une activité antifongique avérée contre *Fusarium flocciferum* Cor. et *F. oxysporum* Sch. (Hu *et al.*, 2017). L'acide harzianique (HA) et la 6-pentyl- α -pyrone (6PP) ont un effet fongique contre *Uncinula necator* Schw (syn. *Erysiphe necator*), champignon responsable de l'oïdium du raisin (Pascale *et al.*, 2017). De même *Trichoderma velutinum* ACR-P1 est un genre fongique filamenteux anamorphique doté d'un immense potentiel de production de petits métabolites secondaires précieux dotés d'activités biologiques indispensables contre *F. oxysporum* Sch., *Verticillium dahliae* (Sharma *et al.*, 2017).

Comparativement à certains champignons endophytes *Isaria* spp. Issue de ricin commun, est un genre de champignons appartenant principalement à l'ordre des Hypocreales et à la famille des Clavicipitaceae. Il comprend un grand nombre d'espèces entomopathogènes, certaines d'entre elles sont exploitées comme biopesticides. En effet, *I. fumosorosea* a révélé une grande efficacité contre *L. migratoria* et *Acanthoscelides obtectus* (Bruche du haricot). Cet endophyte entomopathogènes d'importance majeure et respectueux de l'environnement, présente une distribution mondiale et une variété d'hôtes insectes (Gao *et al.*, 2017 ; Weng *et al.*, 2019). En effet il a été utilisé contre une gamme diversifiée d'insectes nuisibles, comme que *Sitophilus oryzae*, *Nasutitermes corniger*, *Haematobia irritans*, *Tetranychus urticae*, *Planococcus ficus*, *Eurygaster integriceps*, *Eurygaster austriaca*, *Agrilus planipennis*, *Aelia rostrata*, *Pissodes punctatus*, *Hepialus sp* (Weng *et al.*, 2019). En plus, il produit des métabolites secondaires ayant des propriétés insecticides reconnus, notamment la béauvéricine, les béauvérolides, les terpènes (trichocaranes, fumosorinone, farinosones, militarinones), les composés lactones (cépharosporolides), les acides (acide dipicolinique et acide oxalique) et les cycloaspeptides (Weng *et al.*, 2019). L'association d'un myco-extrait avec des

suspensions de spores du champignon endophyte *I. fumosorosea*, isolé des feuilles de la plante de ricin, a provoqué un taux de mortalité impressionnant de 80 % et de 70 % chez les adultes *A. obtectus* (Coleoptera : Chrysomelidae) et *L. migratoria* respectivement après 72 heures (Laib et al., 2020a).

Deux traitements des extraits aqueux de *Peganum harmala* ont été testés sur la mortalité des larves de 5e stade de *Locusta migratoria* : par contact et par ingestion, avec des doses croissantes. Les résultats ont montré une mortalité de 40 % à 60 % pour les doses les plus élevées (0,12 mg/mL et 0,24 mg/mL) après 3 jours. La **LD50** était plus faible pour l'ingestion (0,19 mg/mL) que pour le contact (0,24 mg/mL). Les larves survivantes ont présenté des déformations des ailes, un retard de mue et des changements physiologiques. La fertilité des femelles a également diminué, celles-ci pondant moins d'œufs et moins fréquemment que les femelles non traitées

IV.CONCLUSION GENERALE

Cette étude met en exergue les propriétés insecticides des champignons endophytes comme *A. alternata*, *A. tenuissima*, *A. niger*, et *Trichoderma* sp, isolés à partir du ricin commun contre *L. migratoria*. Aussi, ils se distinguent par la production des métabolites secondaires, à la fois volatils et non volatils. En effet l'analyse chimique préliminaire des extraits fongiques a permis de montrer que les extraits d'*A. alternata* et *A. niger* comprennent des polyphénols, des alcaloïdes, des terpénoïdes et des saponines, mais ils sont dépourvus de tanins.

Les mêmes métabolites se retrouvent dans les extraits de *Trichoderma* sp et *A. tenuissima* qui sont riches en polyphénols et en tanins. La présence de ces métabolites secondaires sont identifiés sur la base de leur coloration.

Tous les extraits fongiques se caractérisent par l'absence de flavonoïdes. L'activité insecticide des extraits fongiques est avérée mais leur efficacité est variable selon le champignon endophyte, la dose ainsi que le temps d'exposition au traitement. *A. alternaria* reste le plus performant en raison de la forte mortalité qu'il provoque à la dose de 2 g/l après traitement par contact (72,22%).

Par contre *Trichoderma* sp, provoque une mortalité de 66,67% toujours à la même dose.

Les taux de mortalité d'*A. alternaria* et *A. tenuissima*, respectifs sont de 55,56% et 61,11% à la dose de 1,4 g/l alors qu'à qu'*A. niger* sp et *Trichoderma* sp celui-ci atteint une mortalité de 38,89% toujours à la dose de 1,4 g/l. Par ailleurs, le traitement par ingestion est plus efficace et agit à des doses plus faibles que le traitement par contact.

En effet, à partir de 0,8g/l, *A. alternaria* arrive à tuer 50% de criquets, mais entre 1g/l, les champignons endophytes aussi bien *A. alternaria* qu'à *A. tenuissima* entraîne respectivement 61,11% et 55,56% de mortalité. Après traitement par contact, la DL₅₀ d'*A. tenuissima* et *A. alternata* ont sensiblement des valeurs sensiblement égales (1,17 et 1,20 g/l). Celle-ci sont encore plus basse quant

au traitement par ingestion ; elles de (0,65 et 0,88 g/l). Le temps léthal (TL₅₀) pour *A. alternata* s'élève à 108,62 heures, 4,53 jours Après traitement par contact alors que pour le traitement par ingestion, la TL₅₀ est de 88,02 heures, soit 3,67 jours.

Par contre *A. Tenuissima* a une TL₅₀ égale à 126,65 heures, soit 5,38 jours. *Aspergillus sp* et *Trichoderma sp* se distinguent par des temps léthaux qui sont plus ou moins élevés par rapport aux deux endophytes précédents, 205,52 heures, soit 8 jours et 216,10 heures soit 9 jours pour le traitement par contact et 152,22 heures 6,34 jours et 172,86 soit 7,20 jours).

De point de vue efficacité en tant que biopesticide, *A. tenuissima* et *A. alternata* ont montré une plus grande toxicité à l'égard de *L. migratoria* sans pour autant négliger aussi bien *Aspergillus sp* que *Trichoderma sp* dont l'activité toxique est appréciable ; En effet, L'analyse de la variance indique qu'il n'y a pas de différence significative quant à l'action toxique des quatre champignons endophytes. Le champignon endophyte *Gliocladium sp* n'a montré aucune activité insecticide contre *L. migratoria*. Quoiqu'il en soit le traitement par les extraits fongiques provoque un changement de la pigmentation des corps des criquets et une apparition d'une coloration noire de la face ventrale ainsi qu'une réduction de l'activité motrice ; Les extraits fongiques d'*A. alternata*, *A. tenuissima*, *A. niger* et *Trichoderma sp* ont une activité inhibitrice sur l'Acétylcholinestérase à des taux d'inhibition respectifs variables de 62,22%, 73,11%, 53,77% et 80 % après 15 minutes. Cette inhibition d'Acétyl cholinestérase est fonction non seulement de la concentration des extraits des champignons endophytes, mais aussi du temps (Jours).

L'analyse spectroscopie d'infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) en réflexion totale atténuée (ATR) d'extraits fongiques montre qu'*Alternata* et *A. tenuissima* comprennent des groupes communs : il s'agit de sulfone, nitro, imine, éther d'enol, alcynes, hydroxyle.

Les sulfones n'existent ni chez *Aspergillus niger* ni chez *Trichoderma sp*, mais ils ont en commun les groupes alcool, nitro, imine, alcynes hydroxyle. Cette analyse par FTIR-ATR a permis de mettre en évidence la richesse en métabolites des champignons étudiés et la présence des composés chimiques dont les propriétés insecticides sont reconnues.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abbott W.S, 1925.** A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology* 18 : 265 - 267. doi : 10.1093/jee/18. 2. 265a.
- Abdellaoui K., Ben Halima Kamel M., Ben Hamouda M.H., 2009.** Effets de l'acide gibbérellique sur le développement et la longévité du criquet migrateur asiatique *Locusta migratoria migratoria* L. (Orthoptera, Acrididae). *Zoologica baetica.*,**20**:3-19.
- Abdellaoui K., Hazzoug M.,boussadia O., Miladi M., Omri G., Acheuk F., benhal ima kamel M.,Brahem M.,2018.**Physiological and biochemical effects of *Olea europaea* leaf extracts from four phenological growth stages on the oogenesis of female locust *Locusta migratoria*. *Physiological Entomology* .,**43**: 129-13. doi :10.1111/phen.12237.
- Abdulwahed M., Mamoly L., Bosnali W.,2020.**A Simple Spectrophotometric Method for Determination of Glyoxylic Acid in Its Synthesis Mixture.*International Journal of Analytical Chemistry* :1-9. doi :10.1155/2020/5417549.
- Abraham S., Basukriadi A., Pawiroharsono S., Sjamsuridzal W., 2015.** Insecticidal Activities of Ethyl Acetate Extract of Indonesian Mangrove Fungus *Emericella nidulans* BPPTCC 6038 on *Spodoptera litura*. *Microbiology Indonesia.*,**9(3)**:97- 105.doi: 10.5454/mi.9.3.1
- Ahmad ., I ., Shagufta.,2015.**Sulfones: An important class of organic compounds with diverse biological activities.*International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences.*,**7(3)**:19-27.
- Ajaiyeoba E. O., Sama W., Essien E. E., Olayemi J. O., Ekundayo O., Walker T. M., Setzer W. N.,2008.** Larvicidal Activity of Turmerone-Rich Essential Oils of *Curcuma longa* Leaf and Rhizome from Nigeria on *Anopheles gambiae*.*Pharmaceutical Biology.*,**46(4)** :279-282.doi :10.1080/13880200701741138
- Akande T.O., Odunsi A.A., Olabode O.S., Ojediran T.K., 2012.**Physical and nutrient characterization of raw and processed castor (*Ricinus communis* L.) seeds in Nigeria. *World Journal of Agricultural Sciences.*, **8(1)**: 89-95.
- Akello J., Dubois T., Coyne D., Kyamanywa S., 2008.**Effect of endophytic *Beauveria bassiana* on populations of the banana weevil, *Cosmopolites sordidus*, and their damage in tissue cultured banana plants. *Entomologia Experimentalis et Applicata.*, 129: 157-165. doi :10.1111/j.1570-7458.2008.00759.x.
- Alakolanga A.G.A.W., Kumar N.S., Jayasinghe L., Fujimoto Y.,2015.** Antioxidant property and α glucosidase, α amylase and lipase inhibiting activities of Flacourtia inermis fruits: characterization of malic acid as an inhibitor of the enzymes.*Journal of Food Science and Technology.*, **52**: 8383-8388. doi:10.1007/s13197-015-1937-6.

- Albrecht, F.O., 1967.**Polymorphisme phasaire et biologie des acridiens migrateurs. Collection GPB, Masson et Cie, Paris, 194 pp.
- Ali A.,Ahmad F., Biondi A.,Wang Y.,&Desneux N.,2012.**Potential for using *Datura alba* leaf extracts against two major stored grain pests,the khapra beetle *Trogoderma granarium* and the rice weevil *Sitophilus oryzae*. *Journal of Pest Science.*,85:359-366. doi : 10.1007/s10340-012-0426-1
- Ali A.I.T., 2014.** Desert Locust dangers - the truth And fiction .*Assiut Journal of Environmental Studies .*,39 :15-27.
- Al-Marzoqi A.H., Hadi M.Y., Hameed I. H.,2016.** Determination of metabolites products by *Cassia angustifolia* and evaluate antimicrobial activity,*Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy .*, 8(2) : 25-48 .doi: 10.5897/jpp2015.0367.
- Alwan A.H., 2018.**Effect of some *Ricinus communis* secondary Metabolites on *Phytophthora Infestans* and *Fusarium Solani*.*Al-Mustansiriyah.Journal of Science.*,29(1):38-43.doi: 10.23851/mjs.v29i1.288.
- Aly A.H., Debbab A.,Proksch P.,2011.**Fungal endophytes: unique plant inhabitants with great promises. *Applied Microbiology and Biotechnology .*,90:1829-1845. doi: 10.1007/s00253-011-3270-y.
- Amir M., Shikha K., 2004.** Synthesis and anti-inflammatory, analgesic, ulcerogenic and lipid peroxidation activities of some new 2-[(2,6-dichloroanilino) phenyl]acetic acid derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry.*, 39(6):535-545.doi: 10.1016/j.ejmech.2004.02.008.
- Anand K., Kumari B., Mallick M., 2016.**Phosphate solubilizing microbes: An effective and alternative approach as biofertilizers. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences.*,8: 37-40.
- Antoun H., 2012.** Beneficial microorganisms for the sustainable use of phosphates in agriculture.*Procedia Engineering.*, 46:62-67.
- Arnold A.E., Maynard Z., Gilbert G.S., 2001.** .Fungal endophytes in dicotyledonous neotropical trees: patterns of abundance and diversity. *Mycological research .*,108 (12): 1502-1507.doi :10.1017/S0953756201004956.
- Ashwathanarayana R., Raja Naika.2017.** Study on aphrodisiac activity of *olea dioica* roxb. bark, leaf extracts, and its pure compound using wistar albino rats .*Asian Journal of Pharmaceuticalland Clinical Research*, 10(12) :8598.doi :10.22159/ajpcr.2017.v10i12.21197
- Autore G., Caruso A., Marzocco S., Nicolaus B., Palladino C., Pinto A., Popolo A., Sinicropi M. S., Tommonaro G., Saturnino C., 2010.**Acetamide Derivatives with Antioxidant Activity and Potential Anti-Inflammatory Activity. *Molecules .*,15 : 2028- 2038. doi: 10.3390/molecules15032028.

- Bacetty A.A., Snook M.E., Glenn A.E., Noe J.P., Hill N., Culbreath A., Timper P., Nagabhyru P., Bacon C.W., 2009a.** Toxicity of endophyte-infected tall fescue alkaloids and grass metabolites on *Pratylenchus scribneri*. *Phytopathology*, **99**: 1336- 1345. doi: 10.1094/phyto-99-12-1336
- Bacetty A.A., Snook M.E., Glenn A.E., Noe J.P., Nagabhyru P., Bacon C.W., 2009b.** Chemotaxis disruption in *Pratylenchus scribneri* by tall fescue root extracts and alkaloids. *Journal of Chemical Ecology*, **35**: 844-850. doi: 10.1007/s10886-009-9657-x.
- Bacon C.W., 1993.** Abiotic stress tolerances (moisture, nutrients) and photosynthesis in endophyte-infected tall fescue. *Agriculture, Ecosystems & Environment* , **44**: 123-141. doi :10.1016/0167-8809(93)90042-N.
- Bacon C.W., Hills N.S., 1996.** Symptomless grass endophytes. products of coevolutionary symbioses and their role in the ecological adaptation of grasses. In: Redlin, S.C. and Carris, L.M. (eds.). Endophytic fungi in grasses and woody plants. American Phytopathological Society Press, St. Paul. London. Pp: 155-178.
- Balachowsky A.S., Mesnil L., 1936.** Les insectes nuisibles aux plantes cultivées, leurs moeurs, leur destruction. Tome II. Volume 3. Edition Etablissement Busson. Paris, 780p.
- Ball O.J.P., Barker G.M., Prestidge R.A., Sprosen J.M. 1997.** Distribution and accumulation of the Mycotoxin Lolitrem B in *Neotyphodium lolii*-infected perennial ryegrass. *Journal of Chemical Ecology*, **23**: 1435-1449. doi: 10.1023/B:JOEC.0000006474.44100.17.
- Baltruschat H., Fodor J., Harrach B.D., Niemczyk E., Barna B., Gullner G., Janeczko A., Kogel K.H., Schäfer P., Schwarczinger I., Zuccaro A., Skoczowski A., 2008.** Salt tolerance of barley induced by the root endophyte *Piriformospora indica* is associated with a strong increase in antioxidants. *New Phytologist*, **180**: 501-510. doi: 10.1111/j.1469-8137.2008.02583. x.
- Barbehenn R.V., Peter Constabel C., 2011.** Tannins in plant herbivore interactions. *Phytochemistry*, **72(15)**: 51-65. doi: 10.1016/j.phytochem.2011.01.040.
- Bartelt R.J., Wicklow D.T., 1999.** Volatiles from *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenb and their attractiveness to nitidulid beetles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* , **47**: 2447-2454. doi: 10.1021/jf9901340.
- Bartholdy, B., Berreck, M. & Haselwandter, K., 2001.** Hydroxamate siderophore synthesis by *Phialocephala fortinii*, a typical dark septate fungal root endophyte. *Biometals* , **14** : 33–42. doi :10.1023/A:1016687021803
- Bellmann H., Luquet G., 1995.** Guide des Sauterelles, Grillons et Criquets d'Europe Occidentale. Edition Delachaux et Niestle. Lausanne. Paris. 383 p.

- Ben Hamouda A., Boussadia O., Bedis K., Chaieb I., Laarif A., Braham M., 2016.**Effect of olive leaf extracts on the feeding, growth and metabolism of *Spodoptera littoralis*. *Tunisian Journal of Plant Protection* ., **11**:63-72.doi: 10.1104/pp.103.034165.
- Bensaci OA., Daoud H., Lombarkia N., Rouabah K., 2015.**Formulation of the endophytic fungus *Cladosporium oxysporum* Berk. & M.A. Curtis, isolated from *Euphorbia bupleuroides* subsp. *luteola*, as a new biocontrol tool against the black bean aphid (*Aphis fabae* Scop.). *Journal of Plant Protection Research*., **55**: 80-87. doi: 10.1515/jppr-2015-0011.
- Benzehra, A., Abdelkrim, A.B., & Khalfi-Habes, O. ,2013.** Effects of aqueous extracts from seeds of *Peganum harmala* L. (Zygophyllaceae) on 5th stadium larvae of *Locusta migratoria cinerascens* (Fabricius, 1781). (Orthoptera: Oedipodinae). *Journal of Life Sciences*, **7(2)** : 159-164
- Berry R.E., Moldenke A.F., Miller J.C., Wernz J.C., 1993.**Toxicity of diflubenzuron in larvae of gypsy moth (Lepidoptera : Lymantridae) : Effects of host plant. *Journal of Economic Entomology*., **86(3)**:809-814. doi :10.1093/jee/86.3.809.
- Berestetskiy A & Hu Q., 2021.** The Chemical Ecology Approach to Reveal Fungal Metabolites for Arthropod Pest Management *Microorganisms* 9:1379.doi :0.3390/ microorganisms9071379.
- Bhonwong A., Stout M J., Attajarusit J., Tantasawat P., 2009.**Defensive role of tomato polyphenol oxidases against cotton bollworm (*Helicoverpa armigera*) and beet armyworm (*Spodoptera exigua*).*Journal of Chemical Ecology*., **35**:28-38.doi :10.1007/s10886-008-9571-7 .
- Biddinger D.J., Hull L.A., 1995.** Effects of several types of insecticides on the mite predator, *Stethorus punctum* (Coleoptera, Coccinellidae), including insect growth regulators and abamectin. *Journal of Economic Entomology*., **88** :358- 366.doi :10.1093/jee/88.2.358.
- Binod P., Sukumaran R.K., Shirke S.V., Rajput J.C., Pandey A., 2007.** Evaluation of fungal culture filtrate containing chitinase as a biocontrol agent against *Helicoverpa armigera*.*Journal of Applied Microbiology*., **103**:1845-1852.doi: 10.1111/j.1365- 2672.2007.03428.x.
- Board N., 2004.** The Complete Technology Book on Bio-Fertilizer and Organic Farming; National Institute of Industrial Research, Delhi, India,620 p.
- Boelsterli U.A., Ho H.K., Zhou S., Leow K.Y., 2006.**Bioactivation and hepatotoxicity of nitroaromatic drugs.*Current Drug Metabolism*., **7** :715-727. doi: 10.2174/138920006778520606.
- Boizot N., Charpentier.J.P., 2006.** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Le cahier des techniques de l'Inra. P : 79-82.

- Bonnemaison L., 1961.** Les ennemis animaux des plantes cultivées et des forêts. Edition Sep.Tome I. Paris.599p.
- Bordallo J.J., Lopez-Llorca LV, Jansson H.B., Salinas J., Persmark L., Asensio L., 2002.** Colonization of plant roots by egg-parasitic and nematode-trapping fungi. *New Phytologist.*,**154**:491-499. doi :10.1046/j.1469-8137.2002.00399.x.
- Boufersaoui A., Matz G., 1968.** Etude de *Pamphagus elephas* (L.). *Bulletin de la Société d'Histoire Naturelle de l'Afrique du Nord* .,**59** : 8
- Boulogne I., Petit P., Ozier-Lafontaine H., Desfontaines L., Loranger-Merciris G.,2012.** Insecticidal and antifungal chemicals produced by plants:A review.*Environmental Chemistry Letters.*,**10(4)**: 325-347. doi : 10.1007/s10311-012- 0359-1
- Breen, J.P,1993.** Enhanced resistance to fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) in *Acremonium* endophyteinfected turfgrasses. *Journal of Economic Entomology.*, **86**:621- 629.
- Buffat J.J., Bonsignour J.P., Ricordel I., Diraison Y., 1989.** Toxicité des " gaz " de combat. In : JEPU (eds). La réanimation respiratoire préhospitalière. Arnette ,Paris ,p : 67-91.
- Burmeister S.S., Jarvis E.D., Fernald R.D., 2005.**Rapid behavioral and genomic responses to social opportunity..*Plos Biology* .,**3**:1996-2004.doi.org/10.1371/journal.pbio.0030363
- Bush L.P., Wilkinson H.H., Schardl C.L., 1997.** Bioprotective alkaloids of grass- fungal endophyte symbioses. *Plant Physiology.*,**114**:1-7. doi: 10.1104/pp.114.1.1
- Butt, T.M., Coates C.J., Dubovskiy I.M., Ratcliffe N.A., 2016.** Entomopathogenic fungi: New insights into host-pathogen interactions. *Advances in Genetics.*, **94** : 307-364.
- Calhoun L.A., Findlay J.A., Miller J.D., Whitney N.J.1992.** Metabolites toxic to spruce budworm from balsam fir needle endophytes. *Mycological Research* .,**96**:281-282. doi :10.1016/S0953-7562(09)80939-8.
- Calle A.J., Pinzón R., Bautista E., Rivera, A., Villegas M.D., 1996.**Insecticidal activity of the ether extract and isolated fractions of leaves of *Ricinus communis* L., on *Sitophilus oryzae* L.*Colombian Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences.*,**25** :12-16.
- Cao W.H., Liu J., He X.J., Mu R.L., Zhou H.L., Chen S.Y., Zhang J.S.,2006.** **Modulation** of ethylene responses affects plant salt-stress responses. *Plant Physiology.*,**140**:707-719. doi: 10.1104/pp.106.094292.
- Champ P., 1986.** Mode d'action et utilisation des organophosphorés., Insectes Insecticides Santé, Acta Publications, Paris, p: 207-223.

- Chan A.P., Crabtree J., Zhao Q., Lorenzi H., Orvis J., Puiu D., Berhan A.M., Jones K.M., Redman J., Chen G., Cahoon E.B., Gedil M., Stanke M., Haas B.J., Wortman J.R., Liggett C.M.F., Ravel J., Rabinowicz P.D., 2010. Draft genome sequence of the oilseed species *R. communis*. *Nature Biotechnology*, 28(9): 951-956. doi: 10.1038/nbt.1674.
- Chatterjee S., Karmakar A., Azmi S. A., Barik A., 2017. Antibacterial Activity of Long-Chain Primary Alcohols from *Solenia amplexicaulis* Leaves." *Proceedings of the Zoological Society* ., 71: 313-319. doi: 10.1007/s12595-017-0208-0.
- Chauvin R., 1956. *Physiologie des insectes. Le comportement, les grandes fonctions, écophysiologie.* Edition INRA. Paris, 917 p.
- Chemin L., Chet I., 2002. Microbial enzymes in the biocontrol of plant pathogens and pests. In: Dick RP, Burns RG (eds) *Enzyme in the environment.* Marcel Dekker, New York, pp: 171-225.
- Chen L., Xu H.H., Hu T.S., Wu Y.L., 2005. Synthesis of spiroketal enol ethers related to tonghaosu and their insecticidal activities. *Pest Management Science* 61:477- 482. doi: 10.1002/ps.991.
- Cheung J., Rudolph M.J., Burshteyn F., Cassidy M.S., Gary E.N., Love J., Franklin M.C., Height J.J., 2012. Structures of Human Acetylcholinesterase in Complex with Pharmacologically Important Ligands. *Journal of Medicinal Chemistry*, 55: 10282- 10286. doi :10.1021/jm300871x.
- Chi Z., Wang Z.P., Wang G.Y., Khan I., Chi Z.M., 2016. Microbial biosynthesis and secretion of L-malic acid and its applications. *Critical Reviews in Biotechnology* ., 36: 99-107. doi: 10.3109/07388551.2014.924474.
- Chikkula K.V., Raja S., 2017. Isoxazole—a potent pharmacophore. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 9(7):13-24. doi :10.22159/ijpps.2017.v9i7.19097.
- Chilali F., Benrima A., 2018. Évaluation de l'activité insecticide de *schinus molle* L. à l'égard du criquet migrateur *Locusta migratoria* (acrididae, oedipodinae). *Revue Agrobiologia* ., 8(1):879-885.
- Chiron, N., Michelot, D., 2005. Odeurs de champignons : chimie et rôle dans les interactions biotiques d'une revue. *Cryptogamie, Mycologie*, 26, 299-364.
- Chopard L., 1943. *Orthoptéroïdes de l'Afrique du nord. Tome I.* Edition Librairie Larose. Paris, 450 p.
- Christias C., Hatzipapas P., Dara A., Kalifas A., Chrysanthis G., 2001. *Alternaria alternata*, a new pathotype pathogenic to aphids. *BioControl* ., 46: 105-124. doi: 10.1023/A:1009930112152

- Chukwuma C.I ., Mopuril R., Nagiah S., Chaturgoon A. A., Islam M.D.S.,2017.** Erythritol reduces small intestinal glucose absorption, increases muscle glucose uptake, improves glucose metabolic enzymes activities and increases expression of Glut-4 and IRS-1 in type 2 diabetic rats. *European Journal of Nutrition.*, **57(7)** :2431-2444. doi: 10.1007/s00394-017-1516-x
- Chung H. S., Chen C. S. H., Kremer R. A., Boulton J. R., Burdette, G. W.1999.** Recent developments in high-energy density liquid hydrocarbon fuels. *Energy Fuels.*, **13**: 641–649. doi :10.1021/ef980195k.
- Clay K., 1988.** Fungal endophytes of grasses: A defensive mutualism between plants and fungi. *Ecology.*,**69**:10-16. doi: 10.1007/s13225-010-0023-7
- Clement, S. L., Elberson L. R., Bosque-Perez N. A., Schotzko D. J., 2005.** Detrimental and neutral effects of wild barley – *Neotyphodium* fungal endophyte associations on insect survival. *Entomologia Experimentalis et Applicata.*, **114**: 119-125.
- Clouse S.D., 2011.**Brassinosteroid signal transduction: From receptor kinase activation to transcriptional networks regulating plant development. *The Plant Cell.*, **23(4)** :1219- 1230. doi: 10.1105/tpc.111.084475.
- Collavino M., Pelicano A., Giménez R.A.,2006.** Insecticidal activity of *Ricinus communis* L. on *Plodia interpunctella* HBN. (Lepidoptera: Phycitinae). *Journal of the Faculty of Agricultural Sciences of the National University of Cuyo.*,**38**:13-18.
- Colovic M.B., Krstic D.Z., Lazarevic-Pasti T.D., Bondzic A.M., Vasic V.M.,2013.** Acetylcholinesterase Inhibitors:Pharmacology and Toxicology.*Current Neuropharmacology.***11**:315-335. doi: 10.2174/1570159X11311030006.
- Couturier A., Remaudiere G., Arnoux J.,1946.** Etat actuel del’invasion du criquet migrateur *L. migratoria* L. dans les Landes de Gascogne.Compte rendu de l’Academie d’ Agriculture de France.,**32** : 226-231.
- Cravotto G., Nano G.M ., Palmisano G., Tagliapietra S.,2001.**,An asymmetric approach to coumarin anticoagulants via hetero Diels Alder cycloaddition. *Tetrahedron Asymmetry* **12(5)**:707-709. doi :10.1016/S0957-4166(01)00124-0.
- Curtis R.H.C., Jones J.T., Davies K.G., Sharon E., Spiegel Y., 2011.** Plant nematode surfaces. In: Davies K., Spiegel Y.(eds). *Biological Control of Plant-Parasitic Nematodes: Building Coherence between Microbial Ecology and Molecular Mechanisms.*Progress in Biological Control.Dordrecht, Springer ,311p
- Daisy B.H., Strobel G.A., Castillo U., Ezra D., Sears J., Weaver D.K., Runyon J.B.,2002.** Naphthalene, an insect repellent, is produced by *Muscodor vitigenus*, a novel endophytic fungus. *Microbiology .*,**148**:3737-3741.doi: 10.1099/00221287-148-11-3737.

- Dajoz, R .,**1982.*Précis d'écologie*, Paris, Gauthier-Villars, 504 p.
- Dallaire R., Labrecque A., Marcotte M., Bauce E., Delisle J., 2004.** The sublethal effects of tebufenozide on the precopulatory and copulatory activities of *Choristoneura fumiferana* and *C. rosaceana*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **112**:169- 181.doi: 10.1111/j.0013-8703.2004.00193.x.
- Darmanin S., Wismaver P.S., Camillerri P.M.T., Micallef M.J., Buhagiar J.A., 2009.**An extract from *Ricinus communis* L. leaves possesses cytotoxic properties and induces apoptosis in SKMEL-28 human melanoma cells. *Natural Product Research* **23(6)**:561-571. doi: 10.1080/14786410802228579
- Das S., Dolai A., Chakraborty S.K., Metya A., Mondal S.,2015.** Insecticidal/acaricidal efficacy of different formulation of plant oil against coconut eriophyid mite, *aceria guerreronis*.*International Journal of Zoology and Research* **5(5)**:2278-8824.
- Davies P. J., 2004.** Plant Hormones: Biosynthesis, Signal production, action, 3rd edition., Dordrecht, Springer Netherlands, 63-94.
- Defaut B., Morichon D., Morin D., Puissant S., 2013.**L'étude de phylogénie moléculaire réalisée par MA & al. (2012) sur le Criquet migrateur : nouvelles conclusions taxonomiques (Caelifera, Acrididae, Locustinae).*Matériaux orthoptériques et entomocénétiques.*,**18** : 45-56.
- Delso N. S., Rogers V. A., Belzunces L. P., Bonmatin J. M., Chagnon M., Downs C., Furlan L., Gibbons D.W., Giorio C., Girolami V., Goulson D., Kreutzweiser D.P., Krupke C.H., Liess M., Long E., McField M., Mineau P., Mitchell E. A. D., Morrissey C. A., Noome D. A., Pisa L., Settele J., Stark J. D., Tapparo A., Van Dyck H., Van Praagh J., Van der Sluijs J.P., Whitehorn P.R., Wiemers M.,2015.** Systemic insecticides (neonicotinoids and fipronil): trends, uses, mode of action and metabolites. *Environmental Science and Pollution Research.*, **22**:5-34.doi: 10.1007/s11356-014-3470- y.
- Demain A. L., 2000.** Microbial natural products: a past with a future In: Wrigley S.K., Hayes M.A., Thomas R., Chrystal E. J. T., Nicholson N (eds). Biodiversity: new leads for pharmaceutical and agrochemical industries. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, p: 3-16.
- Demirci E., Dane E., Eken C., 2011.** In vitro antagonistic activity of fungi isolated from sclerotia on potato tubers against *Rhizoctonia solani*. *Turkish Journal of Biology.*, **35** :457-462 doi :10.3906/biy-1004-98.
- Deng C.M., Liu S.X., Huang C.H., Pang J.Y., Lin Y.C.,2013.** Secondary Metabolites of a Mangrove Endophytic Fungus *Aspergillus terreus* (No. GX7-3B) from the South China Sea.*Marine Drugs.*, **11**: 2616-2624. doi: 10.3390/md11072616

- Deng Z., Zhang R., Shi Y., Hu L., Tan H., Cao L., 2014. Characterization of Cd-Pb- Zn-resistant endophytic *Lasiodiplodia* sp. MXSF31 from metal accumulating *Portulaca oleracea* and its potential in promoting the growth of rape in metalcontaminated soils. *Environmental Science and Pollution Research.*,**21** :2346-2357. doi: 10.1007/s11356- 013-2163-2.
- Deng Q., Li G., Sun M., Yang X., Xu J., 2018.A new antimicrobial sesquiterpene isolated from endophytic fungus *Cytospora* sp. from the Chinese mangrove plant *Ceriops tagal*. *Natural Product Research.*,**34(10)** : 1404-1408.doi :10.1080/14786419.2018.1512993.
- Déthiollaz S., 2003. La ricine, une arme biologique. *Proline* .,**8**:1-4.
- Deutsch H. F., Evenson M.A., Drescher P., Sparwassers C., Madsen P.O.,1994.isolation and biological activity of aspidospermine and quebrachamine from an aspidosperma tree source. *journal of pharmaceutical and biomedical analysis.* **12(10)**: 1283-1287.doi: 10.1016/0731-7085(94)00066-2
- Devakumar J., Keerthana V., Sudha S.S.,2017.Identification of bioactive compounds by gas chromatography-mass spectrometry analysis of *syzygium jambos* (l.) collected from western ghats region coimbatore, tamil nadu.,*Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research.*,**10(1)**: 364-369.doi: 10.22159/ajpcr.2017.v10i1.15508.
- Dew R.K., Boissonneault G.A., Gay N., Boling J.A., Cross R.J., Cohen D.A.,1990. The effect of the endophyte (*Acremonium coenophialum*) and associated toxin of tall fescue on serum titer response to immunization and spleen cell flow cytometry analysis and response to mitogens. *Veterinary Immunology and Immunopathology.*,**26**: 285- 295.doi: 10.1016/0165-2427(90)90097-c.
- Dhanalakshmi R., Manavalan R.2014.Determination of bioactive constituents of leaves of *corchorus aestuans* by gc - ms analysis. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences.*,**6 (9)** :248-251.
- Di Benedetto R., Vari R., Scazzocchio B., Filesi C., Santangelo C., Giovannini C., Matarrese P., D'Archivio M., Masella R.,2007. Tyrosol, the major extra virgin olive oil compound, restored intracellular antioxidant defences in spite of its weak antioxidative effectiveness. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases.*,**17**: 535-545.doi: 10.1016/j.numecd.2006.03.005.
- Dimmock J.R., Elias D.W., Beazely M.A., Kandepu N.M.,1999. Bioactivities of chalcones. *Current Medicinal Chemistry.*,**6(12)**:1125-1149
- Dolatabad H.K., Nikkhah M.J., Shier W.T., 2017.Evaluation of antifungal, phosphate solubilisation, and siderophore and chitinase release activities of endophytic fungi from *Pistacia vera*. *Mycology Progress*:**16(8)**: 777-790. doi:10.1007/s11557-017-1315-z
- Doležal M., 2006. Biological active pyrazines of natural and synthetic origin. *Chemické Listy.*, **100** : 959-966.

- Dunphy G., Tibelius K., 1992.** Les progrès technologiques augmentant l'efficacité de *Bacillus thuringiensis* et *Bacillus sphaericus* en tant qu'insecticides microbiens, *Lutte biologique* : 305-320.
- Duranton J.F., Launois M., Launois-Luong M.H., Lecoq M.,1982.** Manuel de prospection acridienne en zone tropicale sèche.Tome I. Edition Gerdat. Montpellier, 695p.
- Duranton J.F., Launois M., Launois-Luong M.H. Lecoq M.,1987.** Guide anti- acridien du sahel. Edition Cirad-prifas. Montpellier,344 p.
- Dzik J.M., Bretner M., Kulikowski., Gotos B., Jarmuta A., Poznafiski J., Rode W., Shugar D., 1993.** Synthesis and interactions with thymidylate synthase of 2,4-dithio analogues of dUMP and 5-fluoro-dUMP. *Nucleosides Nucleotides.*, **12(2)**: 245-261. doi: 10.1016/0167-4838(95)00219-7.
- Eller K., Henkes E., Roszbacher R., Höke H.,2005.** Amines, Aliphatic Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, Wiley-VCH, Weinheim, 55p
- Ellman G.L., Courtney K.D., Andres V., Featherston R.M., 1961.**A new and rapid colorimetric determination of acetyl cholinesterase activity.*biochemical pharmacology*.7:88-95. doi:10.1016/0006-2952(61)90145-9.
- EL Lebody K.A., Maali S.S., EL-Metwally F.E., Moustafa H.Z., Abd-Elaziz MAA.,2021.** Isolation and pathogenicity of endophytic fungi associated with some maize hybrids against certain Lepidoptera pests.*Egyptian Journal of Agricultural Research*:**99(1)**:49-60. doi:10.21608/ejar.2021.58352.107
- El-Sayed A.S.A., Abdel-Ghany S.E., Ali G.S., 2017.**Genome editing approaches: manipulating of lovastatin and taxol synthesis of filamentous fungi by CRISPR/Cas9 system. *Applied Microbiology Biotechnology.*,**101**:3953-3976. doi :10.1007/s00253-017- 8263-z
- El-Sayed A.S.A., Moustafa A.H., El-Sheikh A .A., Rady A.M., Fathy N.A.M., Hussein H.A., Enan G., Yassin M.A.,2020.**Efficient biocontrol of *Spodoptera littoralis* by *Aspergillus nidulans*, an endophyte of *Lantana camara*.*International journal of pest management*:1-8. doi: 10.1080/09670874.2020.1771472
- Engelbrecht T., Demé B., Dobner B., Neubert R.,2012.** Study of the influence of the penetration enhancer isopropyl myristate on the nanostructure of *stratum corneum* lipid model membranes using neutron diffraction and deuterium labelling. *Skin Pharmacology and Physiology.*,**25**:200-207. doi: 10.1159/000338538.
- Escudero N., Lopez-Llorca L.V., 2012.**Effects on plant growth and root-knot nematode infection of an endophytic GFP transformant of the nematophagous fungus *Pochonia chlamydosporia*. *Symbiosis.*,**57**:33-42. doi :10.3389/fpls.2019.00945.
- Faeth S. H. 2002.** Are entophytic fungi defensive plant mutualists, *Oikos.*, **98**: 25-36. doi: 0.1034/j.1600-0706.2002. 980103.x

- Faeth S.H., Fagan W.F., 2002.** Fungal endophytes: Common host plant symbionts but uncommon mutualists. *Integrative and Comparative Biology*, **42**:360-368. doi :10.1093/icb/42.2.360
- Falasca S., Ulberich A.C., Waldman C., 2013.** Possibilities of Argentina to produce biokerosene for aviation under subhumid dry to arid areas. In: Mendez-Vilas A (eds). *Materials and Processes for Energy: Communicating Current research and technological developments*. Formatex Research Center. Badajoz. p: 327-334
- FAO, 2005.** Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) 65th Meeting Geneva. Switzerland, 7-16
- Farrow R.A., Colless D.H., 1980.** Analysis of the interrelationships of geographical races of *Locusta migratoria* (L.) (Acrididae) by numerical taxonomy, with special reference to sub-speciation in the tropics and affinities of the Australian race. *Acrida*. **7**: 76-96.
- Field L.D., Sternhell S., Kalman J.R. 2008.** *Organic Structures from Spectra 4th Edition* John Wiley & Sons Ltd ,England, p :15-20.
- Fiers M, Lognay G, Fauconnier M.L, Jijakli H, 2013.** Volatile Compound-Mediated Interactions between Barley and Pathogenic Fungi in the Soil, *PLoS ONE* ., **8(6)**:e66805. doi.org/10.1371/journal.pone.0066805
- Findlay J.A., Li G., Penner P.E., Miller J.D., 1995.** Bioactive isocoumarins and related metabolites from conifer endophytes. *Journal of Natural Products*., **58**:1759-1768. doi :10.1021/np50125a021.
- Fisher P.J., Petrini O., 1987.** Location of fungal endophytes in tissues of *Suaeda fruticosa*: a preliminary study. *Mycological Research* ., **89**: 246-249. doi: 10.1016/s0007- 1536(87)80161-4.
- Forero C.L.B., 2004.** Biodiesel from castor oil: a promising fuel for cold weather. University Avenida Gran Colombia, Sciences Francisco de Paula Santander, 12, 96 p.
- Fuzeau-Braesch S., 1985.** Colour change. In Kerkut G.A. & Gilbert L.I. (eds): *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology*. Pergamon Press, New York, pp:549-589.
- Geivandov R.C., Goncharova I.V., Titov V.V., 1989.** Mesomorphic Twistane Derivatives: A New Class of Chiral Nematogens., *Molecular Crystals and Liquid Crystals*., **166**:101-103. doi :10.1080/00268948908037141
- Gerber E.J., 1966.** Field and Laboratory Repellency Tests with 2,2,4-trimethyl-1,3- pentanediol (TMPD) , *Journal of economic entomology*., **59(4)**:872-875. doi :org/10.1093/jee/59.4.872

- Gershenzon J., Croteau R.,1991.** Terpenoids. In: Rosenthal G.A.,Berenbaum, M.R. (eds).Herbivores their interaction with secondary plant metabolites.The chemical participants , San Diego. p : 165-219.
- Ghosh S., Tiwari S.S., Srivastava S., Sharmaa A.K., Kumar S., Raya D.D., Rawat A.K.S., 2013.**Acaricidal properties of *Ricinus communis* leaf extracts against organophosphate and pyrethroids resistant *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.*Veterinary Parasitology.*, **192** :259-267. doi: 10.1016/j.vetpar.2012.09.031.
- Ghrabi Z., 2005.** A Guide to Medicinal Plants in North Africa, *Ricinus communis* L. Center of mediterranean cooperation, Malaga, p : 227-228.
- Girardie J., 1991.** Structure des glandes endocrines et chimie des hormones des criquets grégarisables.La lutte anti-acridienne.Edition Aupelf-uref,John Libbey Eurotext. Paris. p : 101-117.
- Gloer J.B.,1995.** Antiinsectan natural products from fungal *sclerotia*. *Accounts of Chemical Research.* **28**:343-350. doi :10.1021/ar00056a004
- Goodwin T.W., Srisukh S., 1948.**The carotenoids of the locust integument. *Nature.*,**161**: 525-526. doi :10.1038/161525b0
- Gordan R., Yong T.L., Cornect M., Hong D.K., 1989.** Effects of two insect growth regulators on the larval and pupal stages of the cabbage maggot (Diptera, Anthomyiidae). *Journal of Economic Entomology.*, **82(4)**: 1040-1045.
- Govindasamy V., George P., Raina S.K., Kumar M., Rane J., Annapurna K., 2018.**Plant-associated microbial interactions in the soil environment: role of endophytes in imparting abiotic stress tolerance to crops. In: Bal S.K ., Mukherjee J., Choudhury B.U., Dhawan A.(eds).Advances in Crop Environment Interaction. Springer, Singapore, p: 245-284.
- Greathead P.J., Kooyman C., Launois-Luong M.H., Popov G.B.,1994.** Les ennemis naturels des criquets du Sahel.Collection Acridologie Opérationnelle. n° 8. Edition Cirad-Gerdar-Prifas. Montpellier, 147 p.
- Greenspan F.P., Gall R.J., 1953.** Epoxy Fatty Acid Ester Plasticizers .*Industrial and engineering chemistry.* **45(12)**:2722-2726. doi :10.1021/ie50528a048
- Gunatilaka A.A.L., 2006.** Natural products from plant-associated microorganisms: distribution, structural diversity, bioactivity, and implications of their occurrence. *Journal of Natural Products.*, **69**: 509-526. doi :10.1021/np058128n.
- Guo B., Dai J.R., Ng S., Huang Y., Leong C., Ong W., Carte B.K., 2000.** Cytonic acids A and B: novel tridepside inhibitors of HCMV protease from the endophytic fungus *Cytospora* species.*Journal of Natural Products.*,**63**:602-604. doi: 10.1021/np990467r

- Guo Z., Gai C., Cai C., Chen L., Liu S., Zeng Y., Yuan J., Mei W., Dai H.,2017.** Metabolites with Insecticidal Activity from *Aspergillus fumigatus* JRJ111048 Isolated from Mangrove Plant *Acrostichum specioum* Endemic to Hainan Island. *Marine Drugs* , **15** :1-7. doi :10.3390/md15120381.
- Hahn D., Fiehn O., McManus M.A., Scott D.B., 2007.** Metabolic profiling of endophyte-infected and endophyte-free ryegrass grown under sufficient water supply and drought. Proceedings of the 6th International Symposium on Fungal Endophytes of Grasses. New Zealand. p: 189.
- Gov M., Khan S.A., Ahmad N., Tang D., Kang S., Na C., Sohn E., Hwang Y., Shin D., Lee B., Kim J., Lee I.,2009.** *Cladosporium sphaerospermum* as a new plant growth- promoting endophyte from the roots of *Glycine max* (L.) Merr. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*.,**25** :627-632. doi :10.1007/s11274-009-9982-9
- Hamdani F. Z, 2020.** Nutrition minérale et maladies physiologiques des plantes Première édition Al-Kafi Publishing, Distribution & Translation, Algérie.84 pp.
- Hamilton-Kemp T.R.; Mccracken C.T., Loughrin J.H., Andersen R.A., Hildebrand D.F.,1992.** Effects of some natural volatile compounds on the pathogenic fungi *A. alternata* and *Botrytis cinerea*. *Journal of Chemical Ecology*., **18**:1083-1091 doi: 10.1007/bf00980064
- Harborne J.B., 1998.** Phytochemical Methods A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis. 3. Springer Netherlands, Netherlands,302p.
- Hardoim P.R., van Overbeek L.S., Berg G., Pirttila A.M., Compant S., Campisano A., Doring M., Sessitsch A., 2015.**The hidden world within plants: Ecological and evolutionary considerations for defining functioning of microbial endophytes. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*.**79**(3):293- 320.doi: 10.1128/mbr.00050-14.
- Harman G. E., Kubicek C.P., 1998.** *Trichoderma* and *Gliocladium*. Basic Biology, Taxonomy and Genetics, Volume 1, Taylor & Francis Ltd, London,293pp
- Harman G.E., Howell C.R., Viterbo A., Chet I., Lorito M ., 2004.** *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology*.,**2**(1):43- 56. doi :10.1038/nrmicro797.
- Harrat A., Petit D., 2009.** Chronologie du développement embryonnaire de la souche « Espiguette » avec ou sans diapause de *Locusta migratoria* Linnaeus (Orthoptera : Acrididae). *Comptes Rendus Biologies*., **332** : 613-622.doi : 10.1016/j.crv.2009.02.007
- Hase G.J., Deshmukh K.K., Pokharkar R.D., Gaje T. R, Phatanagre N.D., 2017.**Phytochemical Studies on *Nerium oleander* L. Using GC-MS. *International journal of pharmacognosy and phytochemical research*., **9**(6) :885-891. doi: 10.25258/phyto.v9i6.8195

- Hatipoğlu A., Kaşkavalcı G., 2007.** Study of the effectiveness of some plants in the control of root knot nematodes. *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White), *Turkish Journal of entomology.*,**31**: 139-151.
- Henderson A.J., Lasselin J., Lekander M., Olsson M.J., Powis S.J., Axelsson J., Perrett D.I.,2017.**Skin colour changes during experimentally-induced sickness. *Brain, Behavior, and Immunity* .,**60**:312-318. doi: 10.1016/j.bbi.2016.11.008.
- Herbst M. C.,2015.** Fact Sheet on Naphthalene.*IARC Monograph.*, **82** :1-6. doi: 10.13140/rg.2.1.1165.6800
- Hermann L., Brenzinger R.D.,1987.** 2-ethylhexylamine salts of anionic monoazo dyes.,1-44.
- Hirose D., Matsuoka S., Osono T., 2013.**Assessment of the fungal diversity and succession of ligninolytic endophytes in *Camellia japonica* leaves using clone library analysis. *Mycologia.*,**105**:837-843. doi : 10.3852/12-385.
- Hoffmann K.H., Lorenz M.W., 1998.** Recent advances in hormones in insect pest control. *Phytoparasitica.*, **26(4)**: 323-330. doi :10.1007/BF02981447.
- Holmes J.A., Twentymann P. R., 1995.**The activity of deoxyspergualin in multidrug- resistant cells. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology.*, **36**:499-505. doi: 10.1007/BF00685800.
- Horgan K.A., Murphy R.A.,2011.** Pharmaceutical and Chemical Commodities from Fungi,In *Fungi: Biology and Applications*, Second edition.Wiley-Blackwell, Chichester, UK 159-190.
- Howe G.A., Jander G.,2008.** Plant immunity to insect herbivores.*Annual Review of Plant Biology.*, **59**:41-66. doi :10.1146/annurev.arplant.59.032607.092825.
- Hu M., Li QL., Yang YB., Liu K., Miao CP., Zhao LX., Ding ZT.,2017.** Koninginins R-S from the endophytic fungus *Trichoderma koningiopsis*.*Natural Products Reserach.*,**31(7)**:835-839. doi: 10.1080/14786419.2016.1250086.
- Huang X., Sun X., Ding B., Lin, M., Liu L., Huang H., She Z.,2013.** A New Anti-acetylcholinesterase Alpha-pyrone Meroterpene, Arigsugacin I, from Mangrove Endophytic Fungus *Penicillium* sp. sk5GW1L of *Kandelia candel*. *Planta Medica.*, **79**: 1572-1575. doi: 10.1055/s-0033-1350896.
- Hunting A.L.L.,1981.** The sweating of lipsticks. *Cosmet Toilet.*,**96**:29-32.
- Hussain M, Debnath B, Qasim M, Bamisile BS, Islam W, Hameed MS, Wang L, Qiu D., 2019.** Role of Saponins in Plant Defense Against Specialist Herbivores, *Molecules.*,**24**: 2067.doi:10.3390/molecules24112067.
- Hussein J H., Jenan M.U.,Hamid., I.H., 2016.** Gas Chromatography Mass Spectrum Analysis of Volatile Components of Methanolic Leaves Extract of *Cordia Myxa.*, *International Journal of Current Pharmaceutical Review and Research*; **7(6)**: 400-406. doi: 10.4103/0974-8490.122919.

- Idrissi hassani L. M., Hermas J.,2008.** Effets de l'alimentation en *Peganum harmala* L.(Zygophyllaceae) sur le tube digestif du criquet pèlerin *Schistocerca gregaria* Forsk. (Orthoptera, Acrididae). *Zoologica baetica.*, **19**: 71-84.
- Ilies, M.A., Vullo, D., Pastorek, J., Scozzafava, A., Ilies, M., Caproiu, M.T., Pastorokova, S., Supuran, C.T., 2003.** Carbonic Anhydrase Inhibitors. Inhibition of Tumor-Associated Isozyme IX by Halogenosulfanilamide and Halogenophenylaminobenzolamide Derivatives.*Journal of Medicinal Chemistry.*,**46(11)** :2187-2196. doi: 10.1021/jm021123s.
- Ismail F.M.D., Levitsky D.O., Dembitsky V.M., 2009.** Aziridine alkaloids as potential therapeutic agents. *European Journal of Medicinal Chemistry* .,**44**: 3373-3387. doi :10.1016/j.ejmech.2009.05.013.
- Ismail H. M., Hussain A., Iqbal A., Khan S.A., Lee I.J., 2018.** Endophytic fungus *Aspergillus japonicus* mediates host plant growth under normal and heat stress conditions. *BioMed Research International* :1–11
- Itelima J., Bang W., Onyimba I., Oj E., 2018.** A review: Biofertilizer; a key player in enhancing soil fertility and crop productivity. *Journal of Microbiology and Biotechnology Reports.* ,**2**: 22-28.doi:10.26765/drjafs.2018.4815.
- Jain P., Sharma P., 2015.** Isolation and preliminary screening of endophytic fungi of *ricinus communis* for their antimicrobial potential. *Journal of Microbiology Biotechnolgy and Food Sciences.*,**5 (3)** : 230-233. Doi:10.15414/jmbfs.2015/16.5.3.230- 233.
- Jia C., Ruan W.B., Zhu M.J., Ren A.Z., Gao Y.B., 2013.** Potential antagonism of cultivated and wild grass endophyte associations towards *Meloidogyne incognita*. *Biological Control.*,**64**:225-230.
- Jiang, M., Cao, L., Zhang, R., 2008.** Effects of Acacia (*Acacia auriculaeformis* A. Cunn)-associated fungi on mustard (*Brassica juncea* (L.) Coss. var. *foliosa* Bailey) growth in Cd- and Ni-contaminated soils.*Letters in Applied Microbiology.*,**47**: 561-565. doi: 10.1111/j.1472-765X.2008.02454.x
- Jin Z., Lin G., Zhang L., Liu T., Yu F., Zhang Z., Guo Q.,Wang B.,2017.**Antimicrobial activity of saponins produced by two novel endophytic fungi from *Panax notoginseng*.*Natural Product Research* .,**31(22)** : 2700-2703.doi: 10.1080/14786419.2017.1292265.
- Jitendra J., Gupta A.K., 2012.** *Ricinus communis* linn: a phytopharmacological review. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences.*, **4(4)**: 25-29.
- Johnson R.D., Akagi Y., Fleetwood D.J., Gardiner D.M., Kodama M., Young C., Voisey C.R., 2013.**Fungal Toxins of Agricultural Importance.In : Kempken F.(Eds).*Agricultural Applications*. Springer ,Berlin,p :75-99.

- Joost R.E.,1995.** *Acremonium* in fescue and ryegrass:boon or bane?A review.*Journal of Animal Science* .,73:881-888. doi :10.2527/1995.733881x.
- Ju Z., Wang J., Li P.S., 2009.**Isolation and Preliminary Identification of the Endophytic Fungi Which Produce Huperzine A from Four Species in Huperziaceae and Determination of Huperzine A by HPLC. *Fudan University Journal of Medical Sciences.*, **36**: 445-449. doi :10.1038/s41598-019-52481-2.
- Junaidi, A., Bolhassan, M. H.,2017.** Screening of Indole-3-Acetic Acid (IAA) Productions by Endophytic *Fusarium oxysporum* Isolated from *Phyllanthus niruri*. *Borneo Journal of Resource Science and Technology.*,7:56-59. 10.33736/bjrst.393.2017.
- Kadri A., Gharsallah N., Damak M., Gdoura R.,2011.** Chemical composition and *in vitro* antioxidant properties of essential oil of *Ricinus communis* L. *Journal of Medicinal Plants Research* ., **5(8)**: 1466-1470 . doi: 10.1186/1476-511X-11-102.
- Kajula M., Tejesvi MV., Kolehmainen S., Mäkinen A., Hokkanen J., Mattila S., Pirttilä A.M.,2010.** The siderophore ferricrocin produced by specific foliar endophytic fungi in vitro. *Fungal Biology.*,114(2-3):248-54. doi: 10.1016/j.funbio.2010.01.004.
- Kallamadi P.R., Nadigatla V.P.R.G.R., Mulpuri S., 2015.**Molecular diversity in castor (*Ricinus communis* L.). *Industrial Crops and Products.*, **66**: 271–281.doi: 10.1016/j.indcrop.2014.12.061.
- Kalayu G.,2019.** Phosphate solubilizing microorganisms: Promising approach as biofertilizers. *International Journal of Agronomy*, 1-7. doi :10.1155/2019/4917256
- Kalita J.C., Chakrabarty, A., Tanti, B., 2011.** Assessment of antifertility activity of some traditionally used plants by different ethnic communities in three districts of Assam. *Indian Journal of Herbal Medicine and Toxicology.*,5:65-72.
- Kang S.S., Cordell A., Soejarto D.D., Fong H.H.S., 1985.** Alkaloids and flavonoids from *Ricinus communis*. *Journal of Natural Products.*, **48 (1)**: 155-156. doi:10.1021/np50037a041.
- Kaul S., Gupta S., Ahmed M., Dhar M.K., 2012.** Endophytic fungi from medicinal plants: a treasure hunt for bioactive metabolites. *Phytochemistry Reviews.*,11:487-505. doi:10.1007/s11101-012-9260-6.
- Kaur H.P., Singh B., Kaur A., Kaur S.,2013.** Antifeedent and toxic activity of endophytic *Alternaria alternata* against tobacco caterpillar *Spodoptera litura*.*Journal of Pest Science* .,86:543-550. doi:10.1007/s10340-013-0507-9.
- Kaur T.,2020.** Fungal Endophyte-Host Plant Interactions: Role in Sustainable Agriculture Fungal. *Sustainable Crop Production*:1-10. doi:10.5772/intechopen.92367

- Kaushik N., Diaz C. E., Chhipa H., Julio L. F., Andres M.F., Coloma A.G.,2020.** Chemical Composition of an Aphid Antifeedant Extract from an Endophytic Fungus, *Trichoderma* sp. EFI671. *Microorganisms*.8(3): 420. doi: 10.3390/microorganisms8030420
- Kayser H., 1985.**Pigments. In Kerkut G.A. et Gilbert L.I. (eds): Comparative Insect Physiology, Biochemistry, and Pharmacology. Pergamon Press, Oxford, pp:367-415.
- Kayser O., Kolodziej H., Kiderlen A.F.,2001.** Immunomodulatory Principles of *Pelargonium sidoides*..*Phytotherapy Research.*, **15**: 122-126. doi: 10.1002/ptr.785
- Kemassi A., Boual Z., Hadjseyd A., Bouziane Nawal., Herouini Amel., Mensouri K., Bouras N., Ould el hadj-Kelil A., Ould el hadj M. D., 2018.**Effets biotoxiques des extraits de *cleome arabica* l. (capparidaceae) sur le criquet pelrin *schistocerca gregaria* (forskål, 1775) (orthoptera, acrididae). *Algerian journal of arid environment.*,8(2):79-98. doi: 10.12816/0008911.
- Khan M.R., Ndaalio G., Nkunya M.H.H., Wevers H., 1978.**Studies on the rationale of African traditional medicine. Part II-preliminary screening of medicinal plants for anti- gonococci activity. *Pakistan Journal of Scientific and Industrial Research.*, **27**: 189-192.
- Khan A.L., Hamayun M., Ahmad N., Hussain J.,Kang S.M., Kim Y.M., Adnan M.,Tang D.S., Waqas M., Radhakrishnan R., Hwang Y.H., Lee I.J.,2011a.**Salinity stress resistance offered by endophytic fungal interaction between *Penicillium minioluteum* LHL09 and *Glycine max* L.*Journal of Microbiology and Biotechnology.*,**21**:893-902.doi: 10.4014/jmb.1103.03012
- Khan A.L., Hamayun M., Ahmad N., Waqas M., Kang SM., Kim YH., Lee I.J.,2011b.** *Exophiala* sp. LHL08 reprograms *Cucumis sativus* to higher growth under abiotic stresses. *Physiologia Plantarum.*, **143**: 329-343.doi:10.1111/j.1399- 3054.2011.01508. x.
- Khan A.L., Hamayun M., Hussain J, Kang S.M., Lee I.J.,2012 a.** The Newly Isolated Endophytic Fungus *Paraconiothyrium* sp.LK1 Produces Ascotoxin *Molecules.*, **17**: 1103- 1112. doi :10.3390/molecules17011103.
- Khan A.L., Hamayun M., Kang SM., Kim Y.H., Jung H.Y., Lee J.H., Lee I.J.,2012b.** Endophytic fungal association via gibberellins and indole acetic acid can improve plant growth under abiotic stress : an example of *Paecilomyces formosus* LHL10.*BMC Microbiology.*,**12** : 3.doi : 10.1186/1471-2180-12-3.
- Khan A.L., Hamayun M., Radhakrishnan R., Waqas M., Kang S.M., Kim Y.H., Shin J.H., Choo Y.S., Kim J.G., Lee I.J., 2012c.**Mutualistic association of *Paecilomyces formosus* LHL10 offers thermotolerance to *Cucumis sativus*. *Antonie von Leeuwenhoek.*,**101**: 267-279.doi: 10.1007/s10482-011-9630-x.
- Khan A. L., Hussain J., Al-Harrasi A., Al-Rawahi A., Lee I. J., 2013.** Endophytic fungi: a source of gibberellins and crop resistance to abiotic stress. *Critical Reviews in Biotechnology.*,**35** (1): 1-13.

doi: 10.3109/07388551.2013.800018.

-Khan I., Nazir K., Wang Z.P., Liu G.L., Chi Z.M.,2014. Calcium malate overproduction by *Penicillium viticola* 152 using the medium containing corn steep liquor. *Applied Microbiology and Biotechnology.* ,98: 1539–1546.

-Khan B., Yan W., Wei S., Wang Z., Zhao S., Cao L., Rajput N.A., Yonghao Y.,2019.Nematicidal metabolites from endophytic fungus *Chaetomium globosum* YSC5 .*FEMS Microbiology Letters.*, **366 (14)** :3-7.doi :10.1093/femsle/fnz169.

-Khogali A., Barakat, S., Abou Zeid H., 1992. Isolation and identification of the phenolics from *Ricinus communis* L. *Delta journal of science.*, **16**: 198-211.

-Kim D.H., Park M. H., Choi Y. J., Chung K.W., Park C.H., Jang E.J., An H. J., Yu B.P., Chung H.Y.,2013. Molecular Study of Dietary Heptadecane for the Anti- Inflammatory Modulation of NF-kB in the Aged Kidney .*PLoS ONE* **8(3)**: 1-10. doi: 10.1371/journal.pone.0059316.

-Kirtikar K.R., Basu B.A.,1991. Indian medicinal plants, 3, Periodical Experts Book Agency, New Delhi, pp :2274-2277.

-KnochT.R., Faeth S.H., Arnott D.L.,1993. Endophytic fungi alter foraging and dispersal by desert seed-harvesting ants.*Oecologia.*,**95**:470-475.doi: 10.1007/bf00317429.

-Koevoets I.T., Venema J.H., Elzenga J.T., Testerink C.,2016. Roots withstanding their environment: exploiting root system architecture responses to abiotic stress to improve crop tolerance. *Frontiers in Plant Science* .,7: 1335. doi :10.3389/fpls.2016.01335.

-Kooyman C., Bateman R.P., Langewald J., Lomer C.J., Ouambama Z., Thomas M. 1997. Operational scale application of entomopathogenic fungi for control of Sahelian grasshoppers. *Proceedings of the Royal Society of London B264* .London 2.p: 541-546.

-Korpi A., Jarnberg J., Pasanen A.L., 2009. Microbial volatile organic compounds. *Critical Reviews in Toxicology* ., **39**:139-193. doi :10.1080/10408440802291497.

-Kortbeek R.W.J., Van der Gragt M., Bleeker P.M.,2019. Endogenous plant metabolites against insects.*European Journal of Plant Pathology.*,**154**:67 90.doi.org/10.1007/s10658-018-1540-6.

-Kostova I.,2005. Synthetic and natural coumarins as cytotoxic agents.*Current Medicinal Chemistry -Anticancer Agents.*,**5(1)**:29-46.

-Kota C.S., Manthri, S., 2011.Antibacterial activity of *Ricinus communis* leaf extract. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* .,2 :1259-1261.

-Kowalski K. P., Bacon C., Bickford W.,Braun H.,Clay K.,Leduc Lapierre M., Lillard E. , McCormick M.K. , Nelson E., Torres M. , White J., Wilcox .,D.A., 2015.Advancing the science of microbial symbiosis to support invasive species management: A case study on Phragmites in the Great Lakes.*Frontiers in Microbiology*, **6**:1-14. doi :10.3389/fmicb.2015.00095

- Krzyszowski M., Francikowski J., Baran B., Babczynska A .,2020.** The short-chain fatty acids as potential protective agents against *Callosobruchus maculatus* infestation, *Journal of Stored Products Research* ., **86** :1-6. doi :0.1016/j.jspr.2020.101570
- Kucey R. M., Jansen H. H., Leggett M. E., 1989.** Microbial mediated increases in plant-available phosphorus. *Adv. Agron.*, **42**: 199-223.
- Kuldau G., Bacon C.,2008.** Clavicipitaceous endophytes: their ability to enhance resistance of grasses to multiple stresses. *Biological Control.*,**46**:57-71. doi : 10.1016/j.biocontrol.2008.01.023.
- Kumar S.N., Nambisan B., 2014.**Antifungal Activity of Diketopiperazines and Stilbenes Against Plant Pathogenic Fungi In Vitro., *Applied Biochemistry and Biotechnology* ., **172**:741-754. doi: 10.1007/s12010-013-0567-6
- Kwon H.R.,Son S.W., Han H.R., Choi G.J .,Jang K.S., Choi Y.H., Lee S.,Sung, N.D.,Kim J.C .,2007.** Nematicidal activity of bikaverin and fusaric acid isolated from *Fusarium oxysporum* against pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*. *J Plant Pathology.*, **23**:318-321. Doi: 10.5423/PPJ.2007.23.4.318.
- Lagunes, T. A.,1993.** Use of mineral extracts and powders to combat maize and bean pests in subsistence agriculture. College of Post-graduates in Agricultural Sciences. Montecillo, Mexico. 31 p.
- Lai D., Wang A., CaoY., Zhou K., Mao Z., Dong X., Tian J., Xu D., Dai J., Peng Y., Zhou L., Liu Y.,2016.** Bioactive dibenzopyrone derivatives from the endophytic fungus *Rhizopycnis vagum* Nitaf22. *Journal of Natural Products.*,**79**: 2022-2031. doi: 10.1021/acs.jnatprod.6b00327.
- Laib D.E, Benzara A., Akkal S 2020a.** The insecticidal activity of the endophytic fungus *Isaria fumosorosea* Wize isolated from the leaves of the *Ricinus communis* L. against *Locusta migratoria* L. and *Acanthoscelides obtectus* Say.*Acta Scientifica Naturalis.*,**7(1)**: 126-135. doi :10.2478/asn-2020-0012.
- Laib D.E., Benzara A., Akkal S., 2020b.** The anti-acetylcholinesterase, insecticidal and antifungal activities of the entophytic fungus *Trichoderma* sp. isolated from *Ricinus communis* L. against *Locusta migratoria* L. and *Botrytis cinerea* Pers.: Fr. *Acta Scientifica Naturalis.*, **7(1)**: 112-125. doi :10.2478/asn-2020-0011.
- Laib D E., Benzehra A., Rahmani Y., Boulaouad B. A., Akkal S.,2022.** L'emploi de l'extrait du champignon endophyte *Aspergillus niger* isolé à partir des feuilles du ricin commun *Ricinus communis* L. (Euphorbiaceae, Malpighiales) comme agent de lutte biologique contre le criquet migrateur *Locusta migratoria* L. (Oedipodinae, Acrididae).*Journal of Applied Biosciences.*, **170**: 17720– 17738
- Lakhani H.N., Patel S.V., Bodar N.P.,Golakiya B.A .,2015.**RAPD analysis of genetic diversity

of castor bean (*Ricinus communis* L.). *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* .,(1): 696-703. doi :10.5219/1116

-Lamberth C.2009.Alkyne chemistry in crop protection. *Bioorganic & Medicinal Chemistry.*, **17**: 4047-4063.doi: 10.1016/j.bmc.2008.11.037.

-Latchininsky A., Launois-luong M.H., 1992. Le criquet Marocain *Dociostaurus maroccanus* (Thunberg, 1815) dans la partie orientale de son aire de distribution. Edition CIRAD-GERDAT-PRIFAS. Montpellier, Saint-Pétersbourg, 270 p.

-Launois-luong M.A., Launois M., rachadi T., 1988.La lutte chimique contre les criquets du Sahel. 3. Collection Acridologie Opérationnelle, Edition CIRAD/PRIFAS, Montpellier, 125 p.

-Launois-luong M.H., Lecoq M., 1989.Vade Mecum des criquets du Sahel., 5. Collection Acridologie Opérationnelle , Edition CIRAD / PRIFAS, Montpellier, 125 p.

-Launois-Luong M. H., M. Lecoq, 1993. Manuel explicatif du code OMM de transmission des informations sur les criquets ravageurs. OMM, Genève, 31 p.

-Lecoq M., 1975. Les déplacements par vol du Criquet migrateur malgache en phase solitaire : leur importance sur la dynamique des populations et la grégarisation. Ministère de la Coopération (Paris) : 272 pp.

-Lecoq M., 1988. Les criquets du Sahel, Collection Acridologie opérationnelle, 1, Edition CIRAD / PRIFAS, Montpellier,129 p

-Le Gall M, Overson R, Cease A.,2019. A Global Review on Locusts (Orthoptera: Acrididae) and Their Interactions With Livestock Grazing Practices, *Frontiers in Ecology and Evolution.*, **7**:263.doi: 10.3389/fevo.2019.00263.

-Leitão AL., Enguita FJ.,2016. Gibberellins in *Penicillium* strains: Challenges for endophyte-plant host interactions under salinity stress. *Microbiological Research.* **183**: 8-18.doi: 10.1016/j.micres.2015.11.004.

-Leyva C.S., Sánchez D.O.S., Chora G.P, Loyo A.G.T, Cortázar M.G., Zamilpa A.,2020. Insecticidal compounds in *Ricinus communis* L. (Euphorbiaceae) to control *Melanaphis sacchari* Zehntner (Hemiptera: Aphididae). *Florida Entomologist.*,**103** (1) :91-95. doi.org/10.1653/024.103.0415.

-Li W.K., Zhou J.Y., Lin Z.W., Hu Z.B., 2007.Study on Fermentation Condition for Production of Huperzine A from Endophytic Fungus 2F09P03B of *Huperzia serrata*. *Chinese Medical Biotechnology.*,**2**:254-259. doi :10.1007/s10295-010-0905-4

-Li X.J., Zhang Q., Zhang, A.L., Gao J.M.,2012. Metabolites from *Aspergillus fumigatus*, an endophytic fungus associated with *Melia azedarach*, and their antifungal, antifeedant, and toxic activities.,*Journal of Agricultural and Food Chemistry.*, **60(13)**:3424-3231. doi:10.1021/jf300146n.

- Li X., Guo Z., Deng Z., Yang J., Zou K.,2015. A New α -Pyrone Derivative from Endophytic Fungus *Pestalotiopsis microspora*. *Records of Natural Products.*,**9**: 503-508.
- Li Q.,Chen C.,Cheng L., Wei M., Dai C., He Y ., Gong J., Zhu R., Li X., Liu J.,Wang J., Zhu H., Zhang Y.,2019.Emeridones A-F,a series of 3,5-demethylorsellinic acid-based meroterpenoids with rearranged skeletons from an endophytic fungus *Emericella* sp. TJ29. *Journal of Organic Chemistry.*,**84**:1534-1541. doi: 10.1021/acs.joc.8b02830.
- Liarzi O., Ezra D.,2014. Endophyte-Mediated Biocontrol of Herbaceous and Non- herbaceous Plants .*Advances in Endophytic Research.*,**18**:335-356. doi: 10.1007/978-81- 322-1575-2_18.
- Lima R.I.S., Severino S.,Silva M.I.L., Vale I.S.,Beltrao N.E.M.,2006. Recipients volume and substrate composition for castor seedlings production. *Ciência e Agrotecnologia.*,**30**:480-486.
- Limon M.C.,Pintor T.J.A., Benitez T.,1999.Increased antifungal activity of *Trichoderma harzianum* transformants that overexpress a 33-kDa chitinase. *Phytopathology.*, **89**:254-261. doi: 10.1094/phyto.1999.89.3.254
- Lin S., Wu X., Cao J.Z.,Wang F.L.,2013. Biocontrol potential of chitinase-producing nematophagous fungus *Acremonium implicatum* against *Meloidogyne incognita*. *Acta Phytopathologica Sinica.*, **43**:509-517.
- Lin R., Kim H., Hong J., Li Q.J.,2014.Biological Evaluation of Subglutinol A As a Novel Immunosuppressive Agent for Inflammation Intervention.*Medicinal chemistry letters* .,**5**: 485-490 . doi :10.1021/ml4004809.
- Ling K.H., Yang C.K., Peng F.T.,1979. Territrems, Tremorgenic Mycotoxins of *Aspergillus terreus*.*Applied and Environmental Microbiology.*, **37** : 355-357. doi:10.1128/aem.37.3.355-357.1979
- Liu A, Yu W, Liu M, Bai J, Liu W, Liu X, Pei H, Hu L, Huang M, Wang X. ,2015. Synthesis and Insecticidal Activity of Novel Nitropyridyl-Based Dichloropropene Ethers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.*,**63**:7469-7475. doi: 10.1021/acs.jafc.5b02279.
- Liu K., Yang Y., Miao C.P., Zheng Y.K., Chen J.L., Chen Y.W., Xu L.H., Guang H.L., Ding Z.T., Zhao L.X., 2016. Koningiopsisins A-H, polyketides with synergistic antifungal activities from the endophytic fungus *Trichoderma koningiopsis*. *Planta Medica.*, **82**: 371-376.
- Lomer C.J., Bateman R.P., Johnson D.L., Langewald J., Thomas M., 2001. Biological control of locusts and grasshoppers. *Annual Review of Entomology* .,**46** : 667- 701.doi: 10.1146/annurev.ento.46.1.667.
- Lopez-Illorca L.V., Carbonell T., Vidal S.G.,2002. Degradation of insect cuticle by *Paecilomyces farinosus* proteases. *Mycological Progress.*, **1(3)** : 249-256.
- Louveaux A.,Benhalima T., 1987.Catalogue des orthoptères Acridoidea d’Afrique du Nord-Ouest.

Bulletin de la Société Entomologique de France. **91 (3-4)** :73-87.

-Lu H., Zou W.X., Meng J.C., Hu J., Tan R.X. 2000. New bioactive metabolites produced by *Colletotrichum* sp., an endophytic fungus in *Artemisia annua*. *Plant Science.*, **151**: 67-73. doi :10.1016/S0168-9452(99)00199-5.

-Lubna A., Asaf S., Hamayun M., Khan A.L., Waqas M., Khan M.A., Jan R., Leed I.J., Hussain A., 2018. Salt tolerance of *Glycine max.* L induced by endophytic fungus *Aspergillus flavus* CSH1, via regulating its endogenous hormones and antioxidative system. *Plant Physiology and Biochemistry* ., **128** :13-23. doi: 10.1016/j.plaphy.2018.05.007.

-Lv M., Ma Q., Zhang S., Xu H., 2021. Agrochemical properties evaluation of some imines alkaloids of matrine/ oxymatrine. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters.*, **48**:128246. doi :10.1016/j.bmcl.2021.128246.

-Machowicz-Stefaniak Z., Miczulski B., 1985. Tests to determine the pathogenicity of the fungus *Alternaria alternata* Keissler to larvae of the blue cereal leaf beetle *Oulema gallaeciana* Heyden (Coleoptera: Chrysomelidae). *Roczniki Nauk Rolniczych* ., **15**: 151- 157.

-Machuca A., Milagres A. M. F., 2003. Use of cas-agar plate modified to study the effect of different variables on the siderophore production by *Aspergillus*. *Letters in Applied Microbiology.*, **36** : 177-181.

-MADRP., 2015. Index des produits phytosanitaires à usage agricole, Alger, 217 p.

-Mandyam K., Jumpponen A., 2005. Seeking the elusive function of the root-colonising dark septate endophytic fungi. *Studies in Mycology.*, **53**:173-189. doi :10.3114/sim.53.1.173

-Malathi K., Anbarasu A., Ramaiah S., 2016. Ethyl Iso-allocholate from a Medicinal Rice *Karungkavuni* Inhibits Dihydropteroate Synthase in *Escherichia coli*: A Molecular Docking and Dynamics Study., *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*:780-788. doi: 10.4172/pharmaceutical-sciences.1000184

-Malik A., Butt T.A., Naqvi S.T.A., Yousaf S., Qureshi M.K., Zafar M.I., Farooq G., Nawaz I., Iqbal M., 2020. Lead tolerant endophyte *Trametes hirsuta* improved the growth and lead accumulation in the vegetative parts of *Triticum aestivum* L. *Heliyon* ., **6** :1-7. doi: 10.1016/j.heliyon.2020.e04188.

-Malinowski D., Leuchtmann A., Schmidt D., Nösberger J., 1997. Symbiosis with *Neotyphodium uncinatum* endophyte may increase the competitive ability of meadow fescue. *Agronomy Journal.*, **89**:833-839. doi:10.2134/agronj1997.00021962008900050019x.

-Malinowski D. P., Belesky D. P. 2000. Adaptations of endophyte-infected coolseason grasses to environmental stresses: mechanisms of drought and mineral stress tolerance. *Crop Science.*, **40**: 923-940. <https://doi.org/10.2135/cropsci2000.404923x>

- Malinowski D.P., Belesky D.P., Lewis G.C., 2005.** Abiotic stresses in endophytic grasses. In: Roberts C.A., West C.P., Spiers D.E. (eds). *Neotyphodium* in Cool-Season Grasses. Blackwell Publishing, Iowa, p:187-199.
- Marek-Kozaczuk M., Deryto M., Skorupska A., 1996.** The insertion mutants of *Pseudomonas* sp.267 defective in siderophore production and their effect on clover (*Trifolium pretense*) nodulated with *Rhizobium leguminosarum* Trifolli. *Plant Soil.*, **179**: 269-274. doi: 10.1007/bf00009337
- Mane R.S., Paarakh P.M., Vedamurthy A.B., 2018.** Brief Review on Fungal Endophytes. *International Journal of Secondary Metabolite*, **5**: 288-303.
- Mantzoukas S., Lagogiannis I., 2019.** Endophytic Colonization of Pepper (*Capsicum annum*) Controls Aphids (*Myzus persicae* Sulzer) . *Applied Sciences.*, **9** :1-12.
- Martin S.F., 2009.** Recent applications of imines as key intermediates in the synthesis of alkaloids and novel nitrogen heterocycles. *Pure and Applied Chemistry* ., **81(2)**:195-204. doi: 10.1351/PAC-CON-08-07-03.
- Mayad E.H., Ferji Z., Chebli B., Idrissi Hassani L.M., 2006.** Étude in vitro du potentiel nématocide de quelques extraits de plantes médicinales. *Reviews in Biology and Biotechnology.*, **5(2)**: 37-40.
- Miczulski B., Machowicz-Stefaniak Z., 1977.** Fungi associated with the cereal leaf beetle *Oulema gallaeciana* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of Invertebrate Pathology.*, **29**:386-387.
- Mishra Y., Singh A., Batra A., Sharma M.M., 2014.** Understanding the biodiversity and biological applications of endophytic fungi: a review. *Journal of Microbial & Biochemical Technology.*, S8:004. doi: 10.4172/1948-5948.s8-004.
- Mishra M., Prasad R., Varma A., 2015.** Endophytic fungi: biodiversity and functions. *International Journal of Pharmacy and Biological Sciences.*, **6**: 18-36.
- Mitra A.K., De A., Karchaudhuri N., Misra S.K, Mukhopadhyay A.K., 1998.** Synthesis of Coumarins in Search of Better Nonpeptidic HIV Protease Inhibitors. *Journal of Indian Chemistry Society.*, **75**: 666. doi: 10.1002/chin.199949125
- Mohammed G.J., Haider M.H., Kadhim M. J., 2016.** Characterization of Bioactive Chemical Compounds from *Aspergillus terreus* and Evaluation of Antibacterial and antifungal Activity. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research.*, **8(6)**:889-905
- Mohana Kumara P., Zuehlke S., Priti V., Ramesha B.T., Shweta S., Ravikanth G., Vasudeva R., Santhoshkumar T.R., Spittler M., Uma Shaanker R., 2012.** *Fusarium proliferatum*, an endophytic fungus from *Dysoxylum binectariferum* Hook.f, produces rohitukine, a chromane alkaloid possessing anti-cancer activity. *Antonie Van Leeuwenhoek* ., **101**: 323-329 .doi: [10.1007/s10482-011-9638-2](https://doi.org/10.1007/s10482-011-9638-2)

- Mohandkaci H.O., Doumandji-Mitiche B., Behidj N., 2014.** Evaluation de la toxicité de *Pseudomonas fluorescens* et *Bacillus sphaericus* à l'égard du criquet migrateur *Locusta migratoria* (Linné, 1758). *Nature & Technologie* ., **12** :100-109.
- Momesso L.S., Kawano C.Y., Ribeiro P.H., Nomizo A., Goldman G.H., Pupo M.T., 2008.** Chaetoglobosins produced by *Chaetomium globosum*, an endophytic fungus associated with *Viguiera robusta* Gardn. (Asteraceae). *Química Nova*., **31(7)**:1680- 1685. doi:10.1590/S0100-40422008000700015 .
- Mondala A.H.,2015.** Direct fungal fermentation of lignocellulosic biomass into itaconic, fumaric and malic acids: Current and future prospects. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*., **42**: 487–506.doi: 10.1007/s10295-014-1575-4
- Morsy M.R., Oswald J., He J., Tang Y., Roossinck M.J., 2010.** Teasing apart a three- way symbiosis: transcriptome analyses of *Curvularia protuberata* in response to viral infection and heat stress. *Biocheical and Biophysical Research Communications*., **401**:225-230.
- Muller C.B., Krauss J.,2005.** Symbiosis between grasses and asexual fungal endophytes. *Current Opinion in Plant Biology*., **8**:450-456. doi: 10.1016/j.pbi.2005.05.007.
- Munn R., Cramer G.R., Ball M.C., 1999.** Interactions between rising CO₂, soil salinity and plant growth. In: Luo Y., Mooney H.A.(eds). Carbon dioxide and environmental stress. Academic, London, p:139-167.
- Mushobozy M.K., Swella D.G., Nganilevanu G., Ruheza S.,2009.** Plant Oils as Common Bean (*Phaseolus Vulgaris* L.) Seed Protectants Against Infestations by the Mexican Bean Weevil *Zabrotes Subfasciatus* (Boh.). *Journal of Plant Protection Research* ., **49(1)** :35-40.
- Nalawade T.M., Bhat K., Sogi S. H. P., 2015.** Bactericidal activity of propylene glycol, glycerine, polyethylene glycol 400, and polyethylene glycol 1000 against selected microorganisms. *Journal of International Society of Preventive and Community Dentistry*., **5(2)** :114-118.doi: 10.4103/2231-0762.155736.
- Narisawa K., Usuki F., Hashiba T., 2004.** Control of *Verticillium* yellows in Chinese cabbage by the dark septate endophyte fungus LTVB3. *Phytopathology*., **94**:412-418. doi: 10.1094/PHYTO.2004.94.5.412.
- Nath M., Choudhury M.D., 2010.** Ethno-medico-botanical aspects of Hmar tribe of Cachar district, Assam (Part 1). *Indian Journal of Traditional Knowledge*., **9**:760-764.
- Navarro Del Hierro J., Herrera T . , García-Risco M R., Fornari T., Reglero G . , Martín D .,2018 .** Ultrasound-assisted extraction and bioaccessibility of saponins from edible seeds: quinoa, lentil, fenugreek, soybean and lupin . *Food Research International*., **109**:440-447. doi: 10.1016/j.foodres.2018.04.058.

- Nishiwaki N. A.,2020.** Walk through Recent Nitro Chemistry Advances. *Molecules*.,25 :3680. doi :10.3390/ molecules25163680.
- Nielsen F., Hill B., de Jongh J.,2011.** Castor (*Ricinus communis*): potential of castor for biofuel production. 2nd edition. FACT Foundation.liverpool, 17p.
- Nisa, H., Kamili, AN., Nawchoo, I.A., Shafi, S., Shameem, N., Bandh S.A.,2015** Fungal endophytes as prolific source of phytochemicals and other bioactive natural products: a review. *Microbial Pathogenesis*.,**82**: 50-59.
- Nosheen S., Ajmal I., Song Y., 2021.** Microbes as Biofertilizers, a Potential Approach for Sustainable Crop Production. *Sustainability*.,13, 1868. doi:10.3390.
- Nowakowska Z., 2007.**A review of anti-infective and anti-inflammatory chalcones. *European Journal of Medicinal Chemistry*.,**42(2)**: 125-137.doi: 10.1016/j.ejmech.2006.09.019.
- Ortiz-Castro R., Contreras-Cornejo H., Macias-Rodriguez L., Lopez- Bucio J., 2009.** The role of microbial signals in plant growth and development. *Plant Signaling Behav.*, **4**:701-712.doi.org/10.4161/psb.4.8.9047.
- Otte D., 1977.**Species richness patterns of new world desert grasshoppers in relation to plant diversity. *Journal of Biogeography*.,**3**:197-209.
- Ouedraogo R.M., Kamp A., Goettel M.S., Brodeur J., Bidochka M. J., 2002 .** Attenuation of fungal infection in thermoregulating *Locusta migratoria* is accompanied by changes in hemolymph proteins. *Journal of Invertebrate Pathology*.,**81** :19-24. doi: 10.1016/s0022-2011(02)00117-9.
- Ouedraogo R.M., 2005.**Influence de la thermorégulation sur la mycose par *Metarhizium anisopliae* var.. *acridum* chez le criquet migrateur, *Locusta migratoria*. *Phytoprotection*.,**83 (1)** : 62.
- Ozino M.,1982.** Preliminary researches on hyphomycetes isolated from *Zyginidia pullula*. *Allionia Turin*.,**25**: 101-104.
- Ozino M., Menardo R.,1984.** Micromycetes isolated from *Corythuca ciliata*.*Bollettino del laboratorio di Entomologia Agraria Filippo Silvestri* .,**41**: 183 -187.
- Pal K.K., Gardener B.M.,2006.** Biological control of plant pathogens. The plant health Instructor. doi: 10.1094/phi-a-2006-1117-02.
- Palma M. R., Serrano L. 1997.** Effect of botanical extracts on the chili weevil (*Anthonomus eugenii* Cano) preliminary results in El Salvador.*Agronomía Mesoamericana*, **8**, 99-107.
- Paniagua-Zambrana N.Y., Bussmann R.W., Romero C.,2020.** *Ricinus communis* L. *Euphorbiaceae* in Ethnobotany of the Andes.Springer International Publishing.New York , P :1569-1575.
- Pang X.J., Zhang S.B.,Chen H.L .,Zhao W.T., Yang, D.F., Xian P.J., Xu L.L., Tao, Yan D.,Fu**

- H.Y., Yang X.L.,2018.**Emericelactones A–D: Four novel polyketides produced by *Emericella* sp. XL 029, a fungus associated the leaves of *Panax notoginseng*. *Tetrahedron Letters.*,**59**:4566-4570. doi : 10.1016/j.tetlet.2018.11.032
- Papinutti L., 2010.**Effects of nutrients, pH and water potential on exopolysaccharides production by a fungal strain belonging to *Ganoderma lucidum* complex. *Bioresource Technology.*,**101**:1941-1946. doi: 10.1016/j.biortech.2009.09.076
- Parish J.A., McCann M.A., Watson R.H., Piava N.N., Hoveland C.S., Parks A.H., Upchurch B. L., Hill N. S., Bouton J. H., 2003.**Use of nonergot alkaloid-producing endophytes for alleviating tall fescue toxicosis in stocker cattle. *Journal of Animal Science.*,**81**:2856-2868. doi: 10.2527/2003.81112856x.
- Park Y.H., Kim Y., Mishra R.C., Bae H., 2017.** Fungal endophytes inhabiting mountain-cultivated ginseng (*Panax ginseng* Meyer): Diversity and biocontrol activity against ginseng pathogens. *Scientific Reports.*, **7**: 1-10.
- Pascale A., Vinale F., Manganiello G., Nigro M., Lanzuise S., Ruocco M., Marra R., Lombardi N., Woo S.L., Lorito M., 2017.** *Trichoderma* and its secondary metabolites improve yield and quality of grapes,*Crop Protection* .,92 : 176- 181.doi :10.1016/j.cropro.2016.11.010.
- Pasquier A., Gerbinot B., 1945.** Utilisation du melia pour la protection des cultures contre les ailés de la sauterelle pèlerine. *Bulletin Semestriel Officiel Agronomique., El Harrach-Alger*, 2(2): 17-23.
- Patil R.H., Patil M. P., Maheshwari V. L.,2016.** Bioactive Secondary Metabolites From Endophytic Fungi: A Review of Biotechnological Production and Their Potential Applications *.Studies in Natural Products Chemistry.*,**49**:189-205.doi :10.1016/B978-0- 444-63601-0.00005-3
- Perret J.P., 2007.** L’huile de Ricin Est Elle Le Meilleur Lubrifiant Pour Nos Moteurs ?[(CH₃(CH₂)₅CH(OH) CH₂CH=CH(CH₂)₇COO) 3(OC) 3H₅].*Journal de l’environnement.*,**56** : 2-5.
- Pérez L.D.S., Florido J.E.B., Navarro, S.R., Mayagoitia, J.F.C., López, M.A.R., 2014.**Enzymes of Entomopathogenic Fungi, Advances and Insights. *Advances in Enzyme Research.*, **2** : 65-76.
- Pinheiro H.A., Silva J.V., Endres L., Ferreira V.M., Camara C .D. A., Cabral F. F ., Oliveira J. F., Carvalho L. W.T .D., Santos J.M.D., Filho B. G. D.S., 2008.**Leaf gas exchange, chloroplastic pigments and dry matter accumulation in castor bean (*Ricinus communis* L) seedlings subjected to salt stress conditions.*Industrial Crops and Products* ., **27**: 385-392.doi :10.1016/j.indcrop.2007.10.003
- Piyasena K.G.N.P., Wickramarachchi W.A.R.T.,Kumar N.S,Jayasinghe L. , Y Fujimoto Y .,2015.**Two phytotoxic azaphilone derivatives from *Chaetomium globosum*, a fungal endophyte isolated from *Amaranthus viridis* leaves. *Mycology.*,**6** :158-160. doi:

10.1080/21501203.2015.1089332

- Podova M., Dobias J., Nemeč P., 1977.**Inhibitory effect of fungal metabolites on the development of *Drosophila melanogaster*. *Biologia (Bratislava)*,**32**:657-662.
- Polvèche, V., 1996.** La culture du ricin en Europe, Ingénieries, EAT ,6, pp :49-58
- Prakash P., Vijayasarithi D., Selvam K., Karthi S., Manivasagaperumal R.,2020.** Pharmacore mapping based on docking, ADME/toxicity, virtual screening on 3,5- dimethyl-1,3,4-hexanetriol and dodecanoic acid derivatives for anticancer inhibitors, *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*.,39(12):4490- 4500.doi.org/10.1080/07391102.2020.1778533.
- Popov G.B., Launois- Luong M.H., Vander Weel J.J., 1990.** Les oothèques des criquets du Sahel. 7. Edition Collection Acridologie Opérationnelle, édition CIRAD- PRIFAS, Montpellier, 153 p.
- Popov G.B., Duranton J.F., Gigault J., 1991.**Etude écologique des biotopes du criquet pèlerin *Schistocerca gregaria* (Forskål,1775) (Orthoptera-Cyrtacanthacridinae) en Afrique du Nord Occidentale. Ed. C.I.R.A.D./P.R.I.F.A.S, Montpellier, 743 p.
- Popov G.B., 1996.** Quelques effets de la sécheresse sahélienne sur la dynamique des populations acridiennes. *Sécheresse*.,**7(2)** : 91-97.
- Popov G.B., 1997.** Atlas of Desert Locust breeding habitats. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- Porrás-Alfaro A., Herrera J., Sinsabaugh RL., Odenbach KJ., Lowrey T., Natvig DO.,2008.** Novel root fungal consortium associated with a dominant desert grass. *Applied and Environmental Microbiology*., 74(9) : 2805–2813.
- Porrás Alfaro A., Bayman P., 2011.** Hidden fungi, emergent properties: endophytes and microbiomes. *Annual Review of Phytopathology*.,**49**:291-315.doi: 10.1146/annurev- phyto-080508-081831
- Potter A.D., Stokes T.J., Redmond T.C., Schardl L.C., Panaccione G.D.,2008.** Contribution of ergot alkaloids to suppression of a grass-feeding caterpillar assessed with gene knockout endophytes in perennial ryegrass. *Entomologia Experimentalis et Applicata*.,**126** :138-147.doi :10.1111/j.1570-7458.2007.00650.x
- Prabhu N., Borkar S., Garg S., 2019.** Phosphate solubilization by microorganisms: Overview, mechanisms, applications and advances. *International Journal of Advanced Research in Biological Sciences* ., 161-176.doi: 10.1016/b978-0-12-817497-5.00011-2
- Prat R., Michèle M., Vonarx V., 2005.** Les Fruits : Le Ricin : une capsule déhiscente. *Biologie et multimédia* : 15-17.
- Prathyusha, P., Rajitha Sri A.B., Ashokvardhan, T., Satya P.K.,2015.** Antimicrobial and Siderophore Activity of the Endophytic Fungus *Acremonium sclerotigenum* Inhabiting Terminalia

- bellerica Roxb. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, **30** : 84–87.
- Prior C., Greathead D.J., 1989.** Biological control of locusts: the potential of the exploitation of pathogens. *FAO plant protection bulletin.*, **37(3)** : 37-48. doi:10.4039/entm129171265-1
- Rachadi T., 1991.** Précis de lutte anti-acridienne : la pulvérisation des pesticides. Edition CIRAD-PRIFAS, Montpellier, 312 p.
- Radhamani T., Ushakumari R., Amudha R., Anjani K .,2012.** Response to water stress in castor (*Ricinus communis* L.) genotypes under *in vitro* conditions. *Journal of Cereals and Oil seeds.*,**3(4)**: 56-58. doi :10.5897/JCO12.016.
- Rahman S. F. S.A., Singh E., Pieterse C.M. J., Schenk P.M.,2018.** Emerging microbial biocontrol strategies for plant pathogens, *Plant Science* .,**267**:102-111.
- Raizada U., 1976.**A preliminary report on the fungi infesting thrips (Thysanoptera:*Thripidae*).*Entomon.*,**1**: 155-158.
- Ramos, L. M. A., Pérez, G. S., Rodríguez, H. C., Guevara, F. P., Zavala, S. M. A.2010.**Activity of *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) against *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *African Journal of Biotechnology.*, **9**: 1359- 1365.doi: 10.5897/ajb10.1621
- Rampadarath S., Puchooa D., Ranghoo-Sanmukhiya V.M., 2014.** A comparison of polyphenolic content, antioxidant activity and insecticidal properties of *Jatropha* species and wild *Ricinus communis* L. found in Mauritius.*Asian Pacific Journal of Tropical Medicine.*, **7** : 384-390.doi :10.1016/S1995-7645(14)60263-7
- Rasolomandimby J., 1996.** La sécheresse de 1992 au sud de Madagascar et ses conséquences sur l'évolution acridienne. *Sécheresse.*, **7(2)** : 155-156.
- Ratnaweera P. B, Jayasundara J.M. N.M., Herath H.H.M.S.D., Williams D.E., Rajapaksha S.U., Nishantha K.M.D.W.P., Silva E.D.R.D., Andersen J.,2019.** Antifeedant, contact toxicity and oviposition deterrent effects of phyllostine acetate and phyllostine isolated from the endophytic fungus *Diaporthemiriciae* against *Plutella xylostella* larvae. *Pest Management Science.*, **76**: 1541-1548.doi :10.1002/ps.5673
- Ratul N., Sharma G. D., Madhumita B., 2012.** Efficiency of tricalcium Phosphate solubilization by two different endophytic *Penicillium* sp. isolated from tea (*Camellia sinensis* L.). *European Journal of Experimental Biology.*, **2 (4)**: 1354-1358.
- Rebollo O., Del olmo E., Ruiz G., Lopez-Perez J. L., Gimenez A., San Feliciano A.,2007.** Leishmanicidal and trypanocidal activities of 2-aminocyclohexanol and 1,2- cyclohexanediamine derivatives.*Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* .,**18** :184-187. doi: 10.1016/j.bmcl.2007.10.102

- Redman R.S., Sheehan K.B., Stout R.G., Rodriguez R.J., Henson J.M.,2002.** Thermotolerance conferred to plant host and fungal endophyte during mutualistic symbiosis. *Science.*, **298**: 1581.doi: 10.1126/science.1072191.
- Reddy M. S., Kumar S., Kabita K., Reddy M. S., 2002.** Biosolubilization of poorly soluble rock phosphate By *Aspergillus tubingensis* and *Aspergillus niger*. *Bioresource Technology.*, **84**: 187-189.
- Reinhold-Hurek B., Hurek T., 2011.** Living inside plants:bacterial endophytes.*Current Opinion in Plant Biology.*,**14**:435-443.
- Richaud S.,Delaugue J., 2015.** Étude des insectes bio-indicateurs peuplant un agrosystème biologique : Papillons de jour et orthoptères des parcelles cultivées et abords sur la commune de Correns (83). Conservatoires d'espaces naturels, Provence-Alpes - Côte d'Azur .
- Rodriguez R.J., White Jr J.F, Arnold A.E., Redman R.S., 2009.** Fungal endophytes: diversity and functional roles. *New Phytologist.*,**182**: 314-330. doi :10.1111/j.1469- 8137.2009. 02773.x.
- Romoser W.S., 1998.** The science of entomology. 4eme edition, Mc Graw Hill companies, USA, 604p.
- Ronen E.,2007.** Micro-elements in agriculture micro-elements in agriculture the importance of micro-elements. *Practical Hydroponics & Greenhouses .*, **39** :40-48
- Rousset, P., Marion, C., Coelho, F.C., Silva, O., Bélot, J.L., Berthaud, A., Clement, D., Fallot A., Girard, P., Prades, A., Silvie, P., Vaitilingom, G., Roscoe, R., Energie, I., Bedrossian, C. A., 2008.**Guide technique pour une utilisation énergétique des huiles végétales, p :79-85.
- Rowan D.D., Dymock J.J., Brimble M.A., 1990.**Effect of fungal metabolite peramine and analogs on feeding and development of argentine stem weevil (*Listronotus bonariensis*). *Journal of Chemical Ecology.*,**16**:1683-1695.doi.org/10.1007/BF01014100
- Rowan D.D.1993.**Lolitrems, peramine and paxilline: Mycotoxins of the ryegrass/endophyte interaction. *Agriculture, Ecosystems and Environment.*,**44**:103-122.doi :10.1016/0167-8809(93)90041-M.
- Rowan D.D., Latch G.C.M.,1994.** Utilization of endophyte-infected perennial ryegrasses for increased insect resistance. In: Bacon C.W., White J.F Jr(eds). *Biotechnology of Endophytic Fungi of Grasses*. Boca Raton: CRC Press. pp:169-183.
- Rudgers J.A., Koslow J.M., Clay K., 2004.**Endophytic fungi alter relationships between diversity and ecosystem properties. *Ecology Letters.*,**7**: 42-51.doi :10.1046/j.1461-0248.2003. 00543.x.
- Ruiz-Lozano J.M.,Azcon R.,Palma J.M.,1996.**Superoxide dismutase activity in arbuscular mycorrhizal *Lactuca sativa* plants subjected to drought stress.*New Phytologist.*,**13**:327-333.doi :10.1111/j.1469-8137.1996.tb04637.x.

- Rumbos C.I., Kiewnick S., 2006.** Effect of plant species on persistence of *Paecilomyces lilacinus* strain 251 in soil and on root colonization by the fungus. *Plant Soil* ., **283**:25-31. doi: 10.1007/s11104-005-6804-1
- Rybalchenko V.M., Gopkalo E.L.,1980.** Mycoses of blood sucking mosquito larvae in Kiev Polesy Ukrainian-USSR. *Mikrobiologicheskii Zhurnal (Kiev)*., **42**: 446-452.
- Sahani K., Thakur D., Hemalatha K.P.J.,2019.** Phytochemical analysis and antioxidant activity of endophytic fungi *Curvularia aerea* MTCC 12847 isolated from *Tribulus terrestris* L. leaf. *Applied & Industrial Microbiology General Microbiology*:1- 20. doi :10.21203/rs.2.16923/v1
- Saikkonen K., Faeth S.H., Helander M., Sullivan T.J., 1998.** Fungal endophytes: A continuum of interactions with host plants. *Annual Review of Ecology evolution and Systematics*., **29**:319-343. doi :10.1146/annurev.ecolsys.29.1.319
- Saikkonen K., Saari S., Helander M., 2010.** Defensive mutualism between plants and endophytic fungi? *Fungal Diversity*., **41**:101-113. doi :10.1007/s13225-010-0023-7
- Sala A., Spalding K., Ashton K., Board R., Butler H., Dawson T Harris D. A., Hughes C. S., Jenkins C. A., Jenkinson M.D., Palmer D.S., Smith B.R., Thornton C.A., Baker M.J.,2020.** Rapid Analysis of Disease State in Liquid Human Serum combining Infrared Spectroscopy and “Digital Drying”. *Journal of Biophotonics*., **13(9)**. doi :10.1002/jbio.202000118.
- Sandhya S., Talukdar J., Bhaishya D.,2016.** Chemical and Biological Properties of Lauric Acid: A Review. *International Journal of Advanced Research* ., **4(7)**: 1123-1128. doi :10.21474/IJAR01/952.
- Saravana K. P., Al-Dhabi N.A., Duraipandiyan V., Balachandran C., Praveen K.P., Ignacimuthu S., 2014.** In vitro antimicrobial, antioxidant and cytotoxic properties of *Streptomyces lavendulae* strain SCA5. *BMC Microbiol* ., **14**: 291 doi :10.1186/s12866- 014-0291-6
- Salihu Bolaji Z., Gana A.K., Apuyor B.O.2014.** Castor Oil Plant (*Ricinus communis* L.): Botany, Ecology and Uses. *International Journal of Science and Research*., **3 (5)**:1333-1341.
- Saltarelli R., Ceccaroli P., Iotti M., Zambonelli A., Buffalini M., Casadei L., Vallorani L ., Stocchi V.,2009.** Biochemical characterisation and antioxidant activity of mycelium of *Ganoderma lucidum* from Central Italy. *Food Chemistry*., **116**: 143-151. doi: 10.1016/j.foodchem.2009.02.023.
- Sandhu S.S., Kumar S., Aharwal R.P., 2014.** Isolation and identification of endophytic fungi from *Ricinus communis* linn. and their antibacterial activity. *International journal of research in pharmacy and chemistry*. **4(3)** :611-618. doi: 10.6088/ijes.6111
- Sangbaramou R., Camara I., Xin-zheng H., Shen J., Tan S., Shi W,2018.** Behavioral thermoregulation in *Locusta migratoria manilensis* (Orthoptera: Acrididae) in response to the

- entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Plos One.*, **13(11)**: 1-19. doi: 10.1371/journal.pone.0206816
- Seidl V. ,2008.** Chitinases of filamentous fungi: a large group of diverse proteins with multiple physiological functions. *Fungal Biology Reviews.*,**22**: 36-42.
- Senthilkumar N., Murugesan S., Suresh Babu D., Rajeshkannan C.,2014.** GC-MS analysis of the extract of endophytic fungus, *Phomopsis* sp. isolated from tropical tree species of India, *Tectona grandis* L. *International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology.*,**3(3)**:10176-10179
- Servusová B., Paterova P., Mandikova J., Kubiček V., Kučera R., Kuneš J., Doležal M., Zitko J.,2014.** Alkylamino derivatives of pyrazinamide: Synthesis and antimycobacterial evaluation. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters.*, **24**: 450-453. doi :10.1016/j.bmcl.2013.12.054
- Soderlund ,D.M.,2012.**Molecular mechanisms of pyrethroid insecticide neurotoxicity: Recent advances. *Archives of Toxicology* ,**86**:165-181. doi: 10.1007/s00204-011-0726-x.
- Shabana Y.M., Ragab M.E., 1997.***Alternaria infectoria*, a promising biological control agent for the fig wax scale,*Ceroplastes rusci* (Homoptera: *Coccidae*) in Egypt.*Biocontrol Science and Technology.*,**7**: 553-564.doi.org/10.1080/09583159730613
- Shamim G., Ranjan S.K .,Pandey D. M.,Ramani R.,2014.**Biochemistry and biosynthesis of insect pigments. *European Journal of Entomology.*, **111(2)**: 149-164. doi: 10.14411/eje.2014.021
- Shamsa F., Monsef H., Ghamooshi R., Verdian-rizi M., 2008.** Spectrophotometric determination of total alkaloids in some Iranian medicinal plants. *Thai Journal of Pharmaceutical Sciences.*, **32**: 17-20.doi :10.37855/jah. 2010.v12i01.15
- Sharaf S., Higazy A., Hebeish A., 2013.** Propolis induced antibacterial activity and other technical properties of cotton textiles. *International Journal of Biological Macromolecules.*, **59**:408-416. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2013.04.030
- Sharma H.C., Agarwal R.A.,1983.** Role of some chemical components and leaf hairs in varietal resistance in cotton to jassid, *Amrasca biguttula biguttula* Ishida. . *Journal of the Entomological Research Society.*,**7**:145-149.
- Sharma H.C., Sujana G., Rao D.M.,2009.** Morphological and chemical components of resistance to pod borer, *Helicoverpa armigera* in wild relatives of pigeon pea. *Arthropod- Plant Interactions.*, **3**: 151-161.doi: 10.1007/s11829-009-9068-5
- Sharma S.B., Sayyed R.Z., Trivedi M.H., Gobi T.A., 2013.** Phosphate solubilizing microbes: Sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. *Springer Plus*, **2**: 587. doi:10.1186/2193-1801-2-587
- Sharma V., Chitranshi N., Agarwal A.K., 2014.** Significance and Biological Importance of

Pyrimidine in the Microbial World. *International Journal of Medicinal Chemistry*, **14(7)**: 1265-1272. doi: 10.1155/2014/202784.

-**Sharma R., Magotra A., Manhas R.S., Chaubey A., 2017.** Antagonistic potential of a psychrotrophic fungus: *Trichoderma velutinum* ACR-P1, *Biological Control*, **115** :12-17. doi :10.1016/j.biocontrol.2017.08.024.

-**Shuping D. S .S ., Eloff J. N., 2017.** the use of plants to protect plants and food against fungal pathogens: a review. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines* ., **(14) 4**:120-127.

-**Sim J.H., Khoo C.H., Lee L.H., Cheah Y.K., 2010.** Molecular diversity of fungal endophytes isolated from *Garcinia mangostana* and *Garcinia parvifolia*. *Journal of Microbiology and Biotechnology*. **20**: 651-658.

-**Singh B., Thakur A ., Kaur S., Chadha B.S., Kaur A., 2012.** Acetylcholinesterase Inhibitory Potential and Insecticidal Activity of an Endophytic *Alternaria* sp. from *Ricinus communis*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*., **168**:991- 1002. doi :10.1007/s12010-012-9835-0

-**Singh B., Bhagat J., Chadha B.S., Kaur A., 2014.** Cholinesterase inhibitory potential of different *Alternaria* spp. and their phylogenetic relationships. *Biologia*., **69(1)**:10-14. doi :10.2478/s11756-013-0294-z.

-**Skerget M., Kotnik P., Hadolin M., Hras A., Simonic M., Knez Z., 2005.** Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chemistry*., **89**: 191-198.

-**Smith J. E., 1971.** The Production of Conidiophores and Conidia by Newly Germinated Conidia of *Aspergillus niger* (Microcycle Conidiation) . *Journal of General Microbiology*., **69(2)**: (185–197. doi :10.1099/00221287-69-2-185.

-**Sogra F.B., Raj M.B., 2013.** Total Phenolics from an Endophytic Fungus *Penicillium* sp Isolated from *Nothapodytes foetida* and its Optimization. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research* ., **5(4)**: 321-327

-**Stone J.K., Polishook J.D., White J.F. 2004.** Endophytic fungi. In Mueller G. M., Bills G. F. et Foster M. S. (eds.) *Biodiversity of Fungi: inventory and monitoring methods*. Elsevier Academic Press. pp: 241-269.

-**Shentu X., Zhan X., Ma Z., Yu X., Zhang C., 2014.** Antifungal activity of metabolites of the endophytic fungus *Trichoderma brevicompactum* from garlic. *Brazilian Journal of Microbiology* ., **45** (1) : 248-254. doi :10.1590/S1517-83822014005000036

-**Shifriss O., 1966.** Synthesis of a new system of sex reversals in *Ricinus communis* L.

Mimeographed manuscript in the Department of Horticulture and Forestry, Rutgers-The State University, New Brunswick, N.J, p: 187-189

-Sieber T.N., 2002.Fungal root endophytes. In Waisel Y., Eshel A. et Kafkafi U. (eds.) *Plant Roots: the hidden half*, Marcel Dekkert Inc, london ,pp: 887-917.

-Sieber T., 2007. Endophytic fungi in forest trees: are they mutualists?. *Fungal biology reviews.*, **21**:75-89. doi :10.1016/j.fbr.2007.05.004

-Siegel M.R, Latch G.C.M, Bush L.P., Fannin F.F., Rowan D.D, Tapper B.A., Bacon C.W., Johnson M.C. 1990.Fungal endophyte-infected grasses: Alkaloid accumulation and aphid response. *Journal of Chemical Ecology.*, **16**:3301-3315. doi :10.1007/BF00982100.

-Silva G.H., Teles H.L., Zanardi L.M., Young M.C.M., Eberlin M.N., Hadad R., Ludwig H. P. , Neto C .M.C., Gamboa I.C., Bolzani V. D. S. , Araujo A. R., 2006.Cadinane sesquiterpenoids of *Phomopsis cassiae*, an endophytic fungus associated with *Cassia spectabilis* (Leguminosae). *Phytochemistry* ., **67**:1964- 1969. doi: 10.1016/j.phytochem.2006.06.004

-Silva G.H., De Oliveira C.M., Teles H.L., Pauletti P.M., Castro-Gamboa I., Silva D.H.S., Silva G. H., Oliveira C.M. D., Teles H. L., Pauletti P.M., Gamboa I. C., Bolzani D.H.S., Silva V. S., Young M.C.M., Costa-Neto C.M., Pfenning L.H., Berlinck R.G.S., Araujo A. R., 2010. Sesquiterpenes from *Xylaria* sp., an endophytic fungus associated with *Piper aduncum* (Piperaceae). *Phytochemistry Letters.*, **3**:164-167
.doi: 10.1016/j.phytol.2010.07.001

-Simmons E.G., 2007. *Alternaria: An Identification Manual* (fully illustrated and with catalogue raisonné 1796-2007). Utrecht, The Netherlands: CBS Fungal Biodiversity Centre, p: 500–502.

-Singh S., Mathur N., 2010. In vitro studies of antagonistic fungi against the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*. *Biocontrol Science and Technology.*, **20**:275-282. doi :10.1080/09583150903484318

-Singh L.P., Gill S.S., Tuteja N., 2011.Unraveling the role of fungal symbionts in plant abiotic stress tolerance. *Plant Signaling & Behaviour.*, **6**:175-191. doi: 10.4161/psb.6.2.14146.

Singh B., Thakur A., Kaur S., Chadha B.S., Kaur A., 2012. Acetylcholinesterase Inhibitory Potential and Insecticidal Activity of an Endophytic *Alternaria* sp. from *Ricinus communis*. *Applied Biochemistry and Biotechnology* ., **168**:991-1002. doi: 10.1007/s12010-012-9835-0.

-Singh B., Kaur A., 2015. Antidiabetic potential of a peptide isolated from an endophytic *Aspergillus awamori*. *Journal of Applied Microbiology.*, **120**:301-311. doi: 10.1111/jam.12998.

-Singh B., Kaur T., Kaur S., Manhas R.K., Kaur A. 2015.An alpha-glucosidase inhibitor from an endophytic *Cladosporium* sp. with potential as a biocontrol agent. *Applied Biochemistry and Biotechnology.*, **175**: 2020-2034. doi: 10.1007/s12010-014- 1325-0.

- Singh B., Sharma P., Kumar A., Chadha P., Kaur R., Kaur A.,2016. Antioxidant and in vivo genoprotective effects of phenolic compounds identified from an endophytic *Cladosporium velox* and their relationship with its host plant *Tinospora cordifolia*. *Journal of Ethnopharmacology* .,194:450-456.doi :10.1016/j.jep.2016.10.018
- Singh G., Gollapalli R., Blinder A., Patel M.,2018. Identification of leachable impurities in an ophthalmic drug product originating from a polymer additive Irganox 1010 using mass spectroscopy. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* .,152:197-203.doi: 10.1016/j.jpba.2018.01.053
- Siriwach R., Kinoshita H., Kitani S., Igarashi Y., Pansuksan K., Panbangred W., Nihira T.,2014. Bipolamides A and B, triene amides isolated from the endophytic fungus *Bipolaris* sp. MU34. *Journal of Antibiotics* .,67: 167-170.doi :10.1038/ja.2013.103
- Sivakumar R., Jebanesan A., Govindarajan M., Rajasekar P.,2011. Larvicidal and repellent activity of tetradecanoic acid against *Aedes aegypti* (Linn.) and *Culex quinquefasciatus* (Say.) (Diptera:Culicidae).*Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* .,706-710.doi: 10.1016/s1995-7645(11)60178-8
- Skursky L., Burleson D., Waller G., 1969. Interconversion of ricinine and N- demethylricinine in senescent and green castor plant leaves. *Journal of Biological Chemistry*., 244(12): 3238-3242.doi :10.1016/S0021-9258(18)93119-4
- Stepniewska Z., Kuzniar A.,2013. Endophytic microorganismse-promising applications in bioremediation of greenhouse gases. *Applied Microbiology and Biotechnology*., 97: 9589-9596.doi: 10.1007/s00253-013-5235-9
- Strauss., M.1979. The nitroaromatic group in drug design.Pharmacology(for nonpharmacologists).*Industrial & Engineering Chemistry Product Research and Development*., 18: 158-166.doi:10.1021/i360071a002.
- Strobel G. A, Dirske E., Sears J., Markworth C.,2001. Volatile antimicrobials from *Muscodor albus*,a novel endophytic fungus. *Microbiology* .,147:2943-2950.doi: 10.1099/00221287-147-11-2943.
- Strobel GA.,2003. Endophytes as sources of bioactive products. *Microbes and Infection*., 5: 535-544.doi: 10.1016/s1286-4579(03)00073-x
- Strobel G., Daisy B., Castillo U., Harper J., 2004.Natural Products from Endophytic Microorganism *Journal of Natural Products*.,67 : 257-268. doi: 10.1021/np030397v.

- Sturz A.V., Christie B., Nowak J.,2000.** Bacterial endophytes: potential role in developing sustainable system of crop production.*Critical Reviews in Plant Sciences.*,**19**:1-30. doi :10.1080/07352680091139169
- Su J.Q., Huang B., Qiu H., Yang L.M., Zhang J.C., Yang M.H., 2011.**Alkaloid and Huperzine A-Producing Endophytic Fungi Isolated From *Huperzia serrata*. *Chinese Pharmaceutical Journal.*, **46** :1477–1481.
- Su J.Q., Yang M.H.2015.** Huperzine A Production by *Paecilomyces tenuis* YS-13, an Endophytic Fungus Isolated from *Huperzia serrata*. *Natural Products Research.*, **29**: 1035-1041.doi: 10.1080/14786419.2014.980245
- Su J., Liu H., Guo K., Chen L., Yang M., Chen Q.,2017.** Research Advances and Detection Methodologies for Microbe-Derived Acetylcholinesterase Inhibitors:A Systemic Review.*Molecules.*,**22**:1-24.doi:10.3390/molecules22010176
- Subavathy P., Thilaga R. D., 2016.**GC-MS analysis of bioactive compounds from whole body tissue methanolic extract of *cypraea arabica* (1.1758).*World Journal of Pharmaceutical Research.*,**5(3)** : 800-806.
- Sudha rani R., Placid E. D., Chandranaik B.M., Byregowda S.M., Sengupta P.P., Veeregowda B.M., Thimmareddy P.M., 2018.**Evaluation of acaricidal activity of carica papaya seeds and *Ricinus communis* leaves extract against sheep ticks. *International Journal of Agriculture Sciences.*,**10(10)**:6035-6039.
- Syeda, F.A., Rehman H.U., Choudahry M.I., Rahman A.U.,2011.** Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) analysis of petroleum ether extract (oil) and bioassays of crude extract of *Iris germanica.*, *International Journal of Genetics and Molecular Biology*, **3(7)**:95-100.
- Sztanke K., Pasternak K., Wojtowicz A.S., Truchlinska J., Jozwiak K.,2006.** Synthesis of imidazoline and imidazo[2,1-c][1,2,4]triazole aryl derivatives containing the methylthio group as possible antibacterial agents, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* .,**14**:3635-3642. doi: 10.1016/j.bmc.2006.01.019.
- Tafolla L.S., Padrón J.M., Mendoza G., Rodríguez M.L., Fernández J.J., Norte M., Trigos Á.,2019.** Antiproliferative activity of biomass extract from *Pseudomonas cedrina*. *Electronic Journal of Biotechnology.*, **40**:40-44.doi: 10.1016/j.ejbt.2019.03.010
- Tan W.C., Kuppusamy U. R., Phan C.W., Tan Y.S., Raman J., Anuar A. M., Sabaratnam V., 2015.***Ganoderma neo-japonicum* Imazeki revisited: Domestication study and antioxidant properties of its basidiocarps and mycelia.*Scientific reports.*,**5**:1- 10. .doi: 10.1038/srep12515

- Tan R.X, Zou W.X.,2001.** Endophytes: a rich source of functional metabolites. *Natural Product Reports.*,**18** :448-459.
- Taware R., Abnave P., Patil D., Rajamohananan P.R., Raja R., Soundararajan G., Kundu G.C., Kharat M.K.D., Pai K., Ahmad A., 2015.**Trichothecin from endophytic fungus *Trichothecium* sp. and its anticancer effect on murine melanoma and breast cancer cell lines. *Current Biochemical Engineering.*, **2**: 73-80.doi: 10.2174/2212711901666140804220845
- Taye R.R., Borkataki S., 2020.** Role of secondary metabolites in plant defense against insect herbivores. *International Journal of Chemical Studies* .,**8(1)**: 139-142.doi: 10.22271/chemi.2020.v8.i1b.8245
- Testud F., Grillet J.P., 2017.** Insecticides organophosphorés, carbamates, pyréthrinoïdes de synthèse et divers. *Pathologie professionnelle et de l'environnement* **2(2)**:1-24. doi : 10.1016/s1155-1925(07)44508-6
- Thomma B. P. H. J.,2013.** *Alternaria* spp.: from general saprophyte to specific parasite.*Molecular plant pathology* .,**4(4)**:225-236.Doi:10.1046/J.1364- 3703.2003.00173.X
- Tiwari P., Kumar B., Kaur M., Kaur G., Kaur H.,2011.** Phytochemical screening and Extraction: A Review. *Internationale pharmaceutica sciencia.*,**1** : 98-106.
- Toghueo K.R.M., 2019.** Bioprospecting endophytic fungi from *Fusarium* genus as sources of bioactive metabolites, *Mycology.*, **11(1)**: 1-21.doi: 10.1080/21501203.2019.1645053.
- Tomar P.C., Lakra N., Mishra S.N.,2013.** Cadaverine A lysine catabolite involved in plant growth and development.*Plant Signaling & Behavior.*, **8(10)** :e25850.doi.org/10.4161/psb.25850.
- Ting A.S.Y.,2014.** Biosourcing Endophytes as biocontrol Agents of Wilt Diseases.*Advances in Endophytic Research.*,**15**:283-296.doi:10.1007/978-81-322-1575- 2_15
- Tingle C.C.D., Rother J.A., Dewhurst C.F., Lauer S., King W.J., 2003.**Fipronil: environmental fate, ecotoxicology and human health concerns.*Reviews of Environmental Contamination and Toxicology.*,**176**:1-66.doi: 10.1007/978-1-4899-7283-5_1
- Tinzaara W., Tushemereirwe W., Nankinga C. K., Gold C. S., Kashaija I., 2006.** The potential of using botanical insecticides for the control of the banana weevil, *Cosmopolites sordidus* (Coleoptera: Curculionidae).*African Journal of Biotechnology.*, **5**:1994-1998.doi:10.5897/ajb2006.000-5093
- Trehan S.B., 1990.**Synthesis of pyrimidine and pyrazine analogues of thymidine as potential antiviral agents. State University of New York at Buffalo. *ProQuest Dissertations and Theses*: 167-167.doi :10.1177/1934578X1601100409
- Tripathi S., Kamal S., Sheramati I., Oelmuller R., Varma A.,2008.** Mycorrhizal fungi and other

root endophytes as biocontrol agents against root pathogens. *Mycorrhiza*, **3**:281- 306. doi: 10.1007/978-3-540-78826-3_14

-Turner W.B., Aldridge D.C., 1983. Fungal metabolites II. Academic Press, first edition London,1878p.

-Uchida R., 2000. Essential Nutrients for Plant Growth:Nutrient Functions and Deficiency Symptoms.In: Silva J. A.,Uchida R (eds).Plant Nutrient Management in Hawaii's Soils, Approaches for Tropical and Subtropical Agriculture. College of Tropical Agriculture and Human Resources, University of Hawaii at Manoa;pp: 31-55.

-Ullah A., Sun H., Yang X., Zhang X., 2017. Drought coping strategies in cotton: increased crop per drop. *Plant Biotechnology Journal*,**15**: 271- 284.doi: 10.1111/pbi.12688

-Ullah A., Nisar M., Ali H., Hazrat A., Hayat K., Keerio A.A., Ihsan M., Laiq M., Ullah S., Fahad S., Khan A., Khan A.H., Akbar A., Yang X., 2019.Drought tolerance improvement in plants: an endophytic bacterial approach, *Applied Microbiology and Biotechnology*,**103**: 7385-7397.doi: 10.1007/s00253-019-10045-4

-Unterseher M.,Gazis R.,Chaverri P.,Guarniz C.F.G.,Tenorio D.H.Z.,2013.Endophytic fungi from Peruvian highland and lowland habitats form distinctive and hostplant-specific assemblages.*Biodiversity and Conservation*,**22**:999- 1016.doi: 10.1007/s10531-013-0464-x

-Upadhyay M., Shrivastava B., Jain A., Kidwai M., Kumar S., Gomes J., Goswami D.G., Panda A. K., Kuhad R. C. 2014.Production of ganoderic acid by *Ganoderma lucidum* RCKB-2010 and its therapeutic potential. *Annals of Microbiology*, **64**:839-846. doi :10.1007/s13213-013-0723-9.

-Upsani S.M., Koltkar H.M., Mendki P.S., Maheshwari V.L.2003.Partial characterization and insecticidal properties of *Ricinus communis* L. foliage flavonoids. *Pest Management Science*, **59**: 1349-1998.doi: 10.1002/ps.767.

-Uvarov B.P., 1923. Quelques problèmes de la biologie des sauterelles.*Annales des Epiphyties*, **9** : 84-108.

-Uvarov B.P., 1936. The oriental migratory locust (*Locusta migratoria manilensis*, Meyen 1835). *Bulletin of Entomological Research* **27** : 91-104.doi :10.1017/S0007485300058144

-Vadassery J, Ritter C, Venus Y, Camehl I, Varma A, Shahollari B, Novák O, Strnad M, Ludwig-Müller J, Oelmüller R.2018. The role of auxins and cytokinins in the mutualistic interaction between *Arabidopsis* and *Piriformospora indica*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*.**21(10)**:1371-1383.doi: 10.1094/MPMI-21-10-1371. PMID: 18785832.

-Vaughn S.F., Spencer G.F., Shasha B.S.,1993. Volatile compounds from raspberry and strawberry fruit inhibit postharvest decay fungi. *Journal of Food Science* **58**: 793- 796.doi :10.1111/j.1365-

2621.1993.tb09360.x

-Vega F.E., Goettel M.S. Blackwell M., Chandler D., Jackson M.A., Keller S., Koike M., Maniania N.K., Monzon A., Ownley B.H., Pell J.K., Rangel D.E.N., Roy H.E.,2009. Fungal entomopathogens: new insights on their ecology, *Fungal Ecology*,**2** :149-159.

- Veiga F.F, de Castro-Hoshino L.V., Sato F., Bombassaro A., Vicente V.A., Mendes V., Baesso M.L., Negri M., Svidzinski T.I.,2018. *Fusarium oxysporum* is an onychomycosis etiopathogenic agent. *Future Microbiology*,**13**:1745-1756. doi:10.2217/fmb-2018-0245.

-Visen P., Shukla B., Patnaik G., Tripathi S., Kulshreshtha D., Srimal R., Dhawan B.,1992. Hepatoprotective activity of *Ricinus communis* leaves. *International Journal of Pharmacognosy*,**30**: 241-250.doi.org/10.3109/13880209209054007

-Waller F., Achatz B., Baltruschat H., Fodor J., Becker K., Fischer M., Heier T., Huckelhoven R., Neumann C., Wettstein D.V., Franken P., Kogel K.H., 2005.The endophytic fungus *Piriformospora indica* reprograms barley to salt-stress tolerance, disease resistance, and higher yield. *Proceedings of the National Academy of Sciences*,**20**:13386–13391.doi: 10.1073/pnas.0504423102

-Wan H.M., 2006. Biofuels Republic Brazil, la rapide expansion de l'industrie des biocarburants au Brésil fait peser de sérieuses menaces pour la survie de certaines populations et pour la planète, p : 19- 21.

-Wang F.W., Jiao R.H., Cheng A.B., Tan S.H., Song Y.C 2007.Antimicrobial potentials of endophytic fungi residing in *Quercus variabilis* and brefeldin A obtained from *Cladosporium* sp. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*,**23**:79-83. doi :10.1007/s11274-006-9195-4

-Wang Y., Dai C.C.,2011. Endophytes: a potential resource for biosynthesis, biotransformation, and biodegradation. *Annals of Microbiology*,**61**:207-215.doi : 10.1007/s13213-010-0120-6

-Wang Y., Zeng Q.G., Zhang Z.B., Yan R.M., Wang L.Y., Zhu D.,2011 a. Isolation and Characterization of Endophytic Huperzine A-producing Fungi from *Huperzia serrata*. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*,**38**: 1267- 1278.doi: 10.1007/s10295-010-0905-4

-Wang Y., Zeng Q., Zhang Z., Yan R., Wang L., Du Z.,2011b. Isolation of Endophytic Fungi from *Huperzia serrata* and Their Acetylcholinesterase Inhibitory Activity. *China journal of Chinese materia medica*,**36**:734-740.

-Wang Z.F., Zhang W., Xiao L., Zhou Y.M., Du F.Y.,2018. Characterization and bioactive potentials of secondary metabolites from *Fusarium chlamydosporum*, *Natural Product Research*,**34(6)**: 889-892.doi: 10.1080/14786419.2018.1508142

-Waqas M., Khan A.L., Kamran M., Hamayun M., Kang S.M., Kim Y.H., Lee I.J.,2012. Endophytic fungi produce gibberellins and indoleacetic acid and promotes host- plant growth during stress. *Molecules*,**17**:10754- 10773.doi: 10.3390/molecules170910754

- War A.R., Paulraj M.G., Ahmad T., Buhroo A.A., Hussain B., Ignacimuthu S., Sharma H.C.,2012. Mechanisms of Plant Defense against Insect Herbivores.*Plant Signaling & Behavior* 7(10):1306-1320. doi: 10.4161/psb.21663.
- Ware G. W. 1994. The pesticide book, 4th edition. Thompson Publications, Fresno, California ,386p.
- Waterhouse A.,1999. Folin-Ciocalteu, Micro Method for Total Phenol in Wine, *Food Analytical Chemistry*, 299:152-78
- Wei L.S., Wee W., Siong J.Y.F., Syamsumir D.F.,2011. Characterization of anticancer, antimicrobial, antioxidant properties and chemical compositions of *Peperomia pellucida* leaf extract. *Acta Medica Iranica*., 49(10): 670–674
- Weiss E.A.,2000. Oilseed crops. 2nd ed. Blackwell Science, Oxford ,384 p.
- Welling M., Zimmermann G., 1997. *Sorosporrella sp.*, a fungal pathogen of the migratory locust, *Locusta migratoria capito*, in Madagascar. In: Krall S., Peveling R., Ba Diallo D (eds).New Strategies in Locust Control ,Birkhäuser Verlag, Basel, p: 243-245.
- Weng Q., Zhang X., Chen W., Hu Q.,2019. Secondary Metabolites and the Risks of *Isaria fumosorosea* and *Isaria farinose*. *Molecules*, 2019, 24 (1) : 1-17.
- West C.P., 1994.Physiology and drought tolerance of Endophyte-infected grasses. In: Bacon C.W.J., White J.F (eds).Biotechnology of endophytic fungi of grasses. CRC Press, Boca Raton, p: 87-98 .
- William A.V.M.L., George, J.R., Shifriss O., 1967.Interspersed Sexuality In *Ricinus*.*Genetics*., 57: 347-356.doi: 10.1093/genetics/57.2.347
- Wolock-Madej C., Clay K., 1991.Avian seed preference and weight loss experiment: The role of fungal-infected fescue seeds. *Oecologia*.,88:296-302. doi:10.2307/4219790.
- Wu H., Yang H., You X., Li Y., 2012. Isolation and Characterization of Saponin- Producing Fungal Endophytes from *Aralia elata* in Northeast China. *International Journal of Molecular Sciences*.,13: 16255-16266.doi: 10.3390/ijms131216255.
- Wysiecki M. L., Arturi, M., Torrusio, S., Cigliano M. M.,2011. Influence of weather variables and plant communities on grasshopper density in the Southern Pampas, Argentina. *Journal of Insect Science*, 11 :1-14. doi:10.1673/031.011.10901
- Xiao X., Luo S., Zeng G., Wei W., Wan Y., Chen L., Cuo H., Cao Z., Yang L., Chen J., Xi Q.,2010. Biosorption of cadmium by endophytic fungus (EF) *Microsphaeropsis* sp. LSE10 isolated from cadmium hyperaccumulator *Solanum nigrum* L. *Bioresource Technology* ,101: 1668-1674.doi:10.1016/j.biortech.2009.09.083
- Xu P., Ding Z.Y., Qian Z., Zhao C.X., Zhang K.C. ,2008. Improved production of mycelial

- biomass and ganoderic acid by submerged culture of *Ganoderma lucidum* SB97 using complex media. *Enzyme and Microbial Technology*, **42**: 325- 331.doi: 10.1016/j.enzmictec.2007.10.016
- Xue H., Xu Q., Lu C., Shen Y.,2014.** Isotryptoquivaline F, a new quinazolinone derivative with anti TNF- α activity from *Aspergillus* sp. CM9a.*Drug Discovery Therapeutics*., **8**: 208-211.doi: 10.5582/ddt.2014.01039.
- Yadav M., Yadav A., Yadav J.,2014.** In vitro antioxidant activity and total phenolic content of endophytic fungi isolated from *Eugenia jambolana* Lam. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* ., **7**: 256-261.doi: 10.1016/S1995-7645(14)60242-X.
- Yadav R., Singh A. V, Joshi S., Kumar M., 2015.**Antifungal and enzyme activity of endophytic fungi isolated from *Ocimum sanctum* and *Aloe vera*., *African Journal of Microbiology Research* ., **9(29)**: 1783-1788. doi :10.5897/AJMR2015.7451
- Yan C., Liu W., Li J .,Deng Y.,Chen S.,Liu H .,2018.**Bioactive terpenoids from *Santalum album* derived endophytic fungus *Fusarium* sp. YD-2.*RSC Advances* ., **8**:14823- 14828. doi: 10.1039/C8RA02430H.
- Yang, C.,Heinsohn P.A.,2007.** *Sampling and analysis of indoor microorganisms*,Wiley, 273 p.
- Yang Z.D., Song Z.W., Ren J., Yang M.J., Li S., 2011.** Improved Thin-layer Chromatography Bioautographic Assay for the Detection of Acetylcholinesterase Inhibitors in Plants. *Phytochemical Analysis*., **22**:509-515.doi :10.1002/pca.1310.
- Yang F.Z., Li L., Yang B., 2012.** *Alternaria* toxin-induced resistance against rose aphids and olfactory response of aphids to toxin-induced volatiles of rose plants.*Biomedecine & Biotechnology* ., **13(2)**:126-135. doi: 10.1631/jzus.B1100087.
- Yang H.X.,Ai H.L.,Feng T., Wang W.X ., Wu B., Zheng Y.S., Sun H., He J., Li Z.H. , Liu J.K., 2018a.**Trichothecrotocins A– C, antiphytopathogenic agents from potato endophytic fungus *Trichothecium crotocinigenum*. *Organic Letters* ., **20**:8069- 8072.doi :10.1021/acs.orglett.8b03735.
- Yang X.f., Wang N.N., Kang Y.F., Ma Y.M., 2018b.**A new furan derivative from an endophytic *Aspergillus tubingensis* of *Decaisnea insignis* (Griff.) Hook.f. & Thomson. *Natural Product Research*., **33**:2777- 2783.doi :10.1080/14786419.2018.1501687.
- Yang M., Wang Y., Liu Q., Liu Z., Jiang F., Wang H., Guo X., Zhang J., Kang L., 2019.**A β - carotene-binding protein carrying a red pigment regulates body-color transition between green and black in locusts. *e Life* ., **8**:1-20
- Yao Y.R., Tian X.L., Shen B.M., Mao Z.C., Chen G.H., Xie B.Y., 2015.** Transformation of the endophytic fungus *Acremonium implicatum* with GFP and evaluation of its biocontrol effect against *Meloidogyne incognita*.*World Journal of Microbiology and Biotechnology*., **31**:549-556.

doi.org/10.1007/s11274-014-1781-2

-Yehye W.A., Rahman N. A., Ariffin A., Abd Hamid S. B., Alhadi A.A., Kadir F.A., Yaeghoobi M., 2015. Understanding the chemistry behind the antioxidant activities of butylated hydroxytoluene (BHT): A review. *European Journal of Medicinal Chemistry.*, **101** : 295-312 .doi: 10.1016/j.ejmech.2015.06.026.

-You Y.H., Kwak TW., Kang SM., Lee MC., Kim JG.,2015 *Aspergillus clavatus* Y2H0002 as a New Endophytic Fungal Strain Producing Gibberellins Isolated from *Nymphoides peltata* in Fresh Water. *Mycobiology.*,**43(1)**:87-91.doi: 10.5941/MYCO.2015.43.1.87.

-Yu X, Liu YX, Li Y, Wang Q.,2016. Design, Synthesis, Acaricidal/Insecticidal Activity, and Structure-Activity Relationship (SAR) Studies of Novel Oxazolines Containing Sulfone/ Sulfoxide Groups Based on the Sulfonylurea Receptor Protein Binding Site. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.*,**64(15)**:3034- 3040. doi: 10.1021/acs.jafc.6b00645.

-Yu J., Wu Y., He Z., Li M., Zhu K., Gao B., 2018. Diversity and antifungal activity of endophytic fungi associated with *Camellia oleifera*. *Mycobiology.*, **46**: 85–91.

-Zabalgogezcoa I.,2008. Fungal endophytes and their interaction with plant pathogens.

Spanish Journal of Agricultural Research.,**6**:138-146.doi :10.5424/sjar/200806S1-382

-Yuan XL, Wang XF, Xu K, Wei L, Dan C, Zhang P.,2020. Characterization of a New Insecticidal Anthraquinone Derivative from an Endophyte of *Acremonium vitellinum* against *Helicoverpa armigera*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.*,**68(41)**:11480- 11487. doi: 10.1021/acs.jafc.0c05680

-Zaidat S.A.E., Mouhouche F., Babaali D., Abdessemed N., Cara M.D.M Hammache M.,2020. Nematicidal activity of aqueous and organic extracts of local plants against *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White) Chitwood in Algeria under laboratory and greenhouse conditions. *Egyptian Journal of Biological Pest Control .*, **30**:1-8. doi.org/10.1186/s41938-020-00242-z.

Zarai Z., Ben Chobba I., Ben Mansour R., Bekir A., Gharsallah N., Kadri A.,2012. Essential oil of the leaves of *Ricinus communis* L.: *In vitro* cytotoxicity and antimicrobial properties. *Lipids in Health and Disease .*,**11**: 102.doi.org/10.1186/1476-511X-11-102

-Zhang W. X., Tang Y. J., Zhong J. J.,2010. Impact of oxygen level in gaseous phase on gene transcription and ganoderic acid biosynthesis in liquid static cultures of *Ganoderma lucidum* *Bioprocess and Biosystems Engineering .*,**33**:683-690. doi: 10.1007/s00449-009-0379-9.

-Zhang Y., Han T., Ming Q., Wu L., Rahman K., Qin L., 2012.Alkaloids Produced by Endophytic Fungi: A Review.*Natural product communications* **7(7)**:963-968. doi: 10.1177/1934578x1200700742.

- Zhang L ., Lecoq M.,2021.***Nosema locustae* (Protozoa, Microsporidia), a Biological Agent for Locust and Grasshopper Control .*Agronomy* .,11:711.doi:10.3390/agronomy11040711.
- Zhao X.M., Wang Z.Q., Shu S.H., Wang W.J., Xu H.J., Ahn Y.J., Wang M., Hu X., 2013.** Ethanol and Methanol can Improve Huperzine A Production from Endophytic *Colletotrichum gloeosporioides* ES026. *Plos one* .,8 (4):1-9. doi :10.1371/journal.pone.0061777.g007.
- Zhao S.S., Zhang Y.Y., Yan W., Cao L.L., Xiao Y., Ye Y.H., 2017.** *Chaetomium globosum* CDW7, a potential biological control strain and its antifungal metabolites. *FEMS Microbiology Letters*.,364 (3): 1-6.doi: 10.1093/femsle/fnw287
- Zhao F., Wang P., Lucardi R.D., Su Z., Li S.,2020.**Natural Sources and Bioactivities of 2,4-Di-Tert-Butylphenol and Its Analogs.*Toxins*., 12 (35):1-26.doi: 10.3390/toxins12010035
- Zheng Y.K., Qiao X.G., Miao C.P., Liu K., Chen Y.W., Xu L.H., Zhao L.X., 2016.** Diversity, distribution and biotechnological potential of endophytic fungi. *Annals of Microbiology*.,66: 529-542.
- Zhong J.J., Xiao J.H. ,2009.** Secondary Metabolites from Higher Fungi: Discovery, Bioactivity and Bioproduction. In: Zhong, J.J., Bai F.W. et Zhang W.(Eds.). *Biotechnology in China*. Springer, Berlin, pp: 79-150.
- Zhou X.W., Su K.Q., Zhang Y.M., 2012.** Applied modern biotechnology for cultivation of *Ganoderma* and development of their products. *Applied Microbiology and Biotechnology*., 93: 941-963.doi :10.1007/s00253-011-3780-7
- Zhu D., Wang J., Zeng Q., Zhang Z., Yan R., 2010.**A Novel Endophytic Huperzine A-Producing Fungus, *Shiraia* sp. Slf14, Isolated from *Huperzia serrata*. *Journal of Applied Microbiology*.,109: 1469-1478. doi: 10.1111/j.1365-2672.2010.04777.x
- Zitko J., Paterova P., Kubiček V., Mandikova J., Trejnar F., Kuneš J., Doležal M.,2013.** Synthesis and antimycobacterial evaluation of pyrazinamide derivatives with benzylamino substitution. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 23: 476–479.doi: 10.1016/j.bmcl.2012.11.052
- Zimmerman G., Zelazny B., Klespigs R. Welling M., 1994.** Biological control of African locusts by entomopathogenic micro-organisms. In: Skrall. H. W(eds).*new trends in locust control*, Eschborn, Germany, p : 127-138.
- Zolotarevsky B.N.,1934.** Aire grégarigène et facteurs de transformation de la phase solitaire des Acridiens migrants dans la phase grégaire.Proceedings of the Third International Locust Conference,London, p : 62-66.

Sites consultés :

(Cirad, 2024). Les criquets ravageurs. <https://locust.cirad.fr/> Consulté le 31/01/2024



L'emploi de l'extrait du champignon endophyte *Aspergillus niger* isolé à partir des feuilles du ricin commun *Ricinus communis* L. (Euphorbiaceae, Malpighiales) comme agent de lutte biologique contre le criquet migrateur *Locusta migratoria* L. (Oedipodinae, Acrididae).

Laib Djamel Eddine^{1, 2*}, Benzehra Abdelmadjid², Rahmani Youcef³, Boulaouad Belkacem Aimene², Akkal Salah⁴

¹Département d'agronomie, Université de 20 aout 1955, Skikda, 21000.

²Institut national agronomique, Département de zoologie agricole et forestière. El-Harrach Alger, 16000, Algérie

³Laboratoire de génie des procédés, Université de Ouargla, Centre de recherche et d'analyses physico-chimiques Crapc, Ouargla, 30000, Algérie

⁴Unité Valorisation des ressources naturelles, molécules bioactives et analyses biologiques, Département de Chimie, Université de Mentouri Constantine 1, Constantine, 25000, Algérie

Courriel de l'auteur : djamel.skikda@gmail.com

Submitted on 3rd December 2021. Published online at www.m.elewa.org/journals/ on 28th February 2022
<https://doi.org/10.35759/JABs.170.5>

RÉSUMÉ

Objectifs : Évaluer l'activité insecticide de l'extrait du champignon endophyte *Aspergillus niger*.

Méthodologie et Résultats : Pour évaluer l'activité insecticide, dix concentrations (de 0,2 à 2 g/ L) de l'extrait fongique ont été appliqués par contact et par ingestion contre *Locusta migratoria* L. Pour connaître la nature des métabolites secondaires responsables de l'activité insecticide des analyses chimiques, infrarouge à réflexion totale atténuée par transformée de Fourier de l'extrait fongique et un GC-MS-MS des hyphes du champignon et de l'extrait fongique ont été effectués. Un test d'inhibition d'Acétyl cholinestérase par l'extrait fongique a été effectué afin de connaître le mode d'action ou l'effet d'extrait sur le système nerveux des insectes traités. La concentration la plus efficace contre les insectes est de 2 g/L, avec un taux de mortalité maximum de 86,95% et 100% pour les traitements par contact et ingestion, respectivement. L'analyse chimique de l'extrait fongique a révélé la présence de polyphénols, d'alcaloïdes, de terpénoïdes et de saponines comme métabolites responsables de ces activités. L'analyse FTIR-ATR de l'extrait fongique a révélé la présence de groupes alcool, nitro, imine, alcyne et hydroxyle. L'analyse GC-MS des hyphes et de l'extrait fongique a révélé la présence des volatiles insecticides Hexahydro-1H-cyclopenta [c] isoxazole-4, 5,6-triol, 2, 3, 4,4a, 5, 6, 7,8-octahydro-1H -naphtalène-1,8a-diol et acide propanoïque 2-éthyl-3-hydroxyhexyle. A 4 µg/mL l'extrait fongique est doté d'une activité inhibitrice d'Acétylcholinestérase maximale de 73,91 %.

Conclusions et application des résultats : l'extrait du champignon endophyte d'*Aspergillus niger* constitue une bonne source de métabolites secondaires volatiles et non-volatiles à activité insecticide et peut être utilisé comme insecticide de contact ou ingestion contre *L. migratoria*.

Mots clés : Activité insecticide, champignons endophytes, *Locusta migratoria*, *Aspergillus niger*, GC-MS-MS, FTIR-ATR.

ABSTRACT

Objectives: Evaluate the insecticidal activity of the extract obtained from the endophytic fungus, *Aspergillus niger*.

Methodology and Results: Ten concentrations of 0.2 to 2 g/L of the fungal extract were applied by contact against *Locusta migratoria* L. To find out the nature of the secondary metabolites responsible for the insecticidal activity, we carried out chemical analysis, an infrared analysis with total reflection attenuated by transform Fourier of the fungal extract, and GC-MS-MS analysis for both colony and fungal extract. To reveal the effect of the extract on the nervous system of the treated insects, we carried out an acetyl cholinesterase inhibition test. The most effective concentration against the insects was 2 g/L, with a maximum mortality rate of 86, 95% and 100% for *L. migratoria* upon contact and ingestion treatments, respectively. Chemical analysis of the fungal extract revealed the presence of polyphenols, alkaloids, terpenoids, and saponins as the metabolites responsible for these activities. The FTIR-ATR of the fungal extract revealed the presence of alcohol, nitro, imine, alkyne, and hydroxyl groups. Specifically, GC-MS analysis of both colony and fungal extract revealed the presence of the insecticidal volatiles Hexahydro-1H-cyclopenta [c] isoxazole-4,5,6-triol ,2,3,4,4a, 5,6,7,8-octahydro-1H-naphthalene-1,8a-diol and Propanoic acid 2-ethyl-3-hydroxyhexyl. Moreover, we found that at a concentration of 4 µg/mL, the fungal extract had a maximum inhibitory capacity of Ache of 73.11%.

Conclusions and application of findings: the endophytic fungus *A. niger* is a good source of volatile and non-volatile secondary metabolites with insecticidal activity against *L. migratoria*.

Keywords: Insecticidal activity, endophytic fungi, *Locusta migratoria*, *Aspergillus niger*, GC-MS-MS, FTIR-ATR.

INTRODUCTION

Plusieurs insectes sont responsables de pertes importantes de récoltes dans le monde (Rahman et al., 2018). Parmi eux, le criquet migrateur, *Locusta migratoria* (Linnaeus, 1758) (Orthoptera : Acrididae), qui est un bio agresseur à régime polyphage (Le Gall et al., 2019), à plasticité écologique et une grande extension géographique, sa phase grégaire est sous l'influence de la densité des populations conduisant à la formation d'essaims spectaculaires responsables des dégâts considérables aux cultures (Sangbaramou et al., 2018). Afin de minimiser ces dégâts, de vastes campagnes de lutte antiacridienne sont lancées chaque fois que le problème apparaît durant ces opérations des quantités considérables d'insecticides sont utilisées (Shuping et Eloff, 2017 ; Zhang et lecoq, 2021). Ces produits chimiques en question sont

nécessaires et efficaces, mais leur utilisation massive et sans contrôle a laissé apparaître un environnement pollué et une résistance des insectes, également des effets néfastes sur la santé humaine ont été constatés. Au-devant de tout cela, les instances concernées ont appliqué une réglementation environnementale stricte pour contrôler l'utilisation de ces produits (Shuping et Eloff, 2017 ; Berestetskiy et Hu, 2021). Toutefois, la recherche d'alternatives nouvelles assurant une agriculture performante saine et loin des produits chimiques avec le respect des exigences dictées par le marché et le code des consommateurs s'avère plus que nécessaire (Zhang et Lecoq, 2021). Parmi ces alternatives, les champignons endophytes qui sont des microorganismes présents dans toutes les plantes colonisant les tissus végétaux de leur plantes hôtes sans symptômes d'infection

apparentes sont considérés comme un groupe biologique prometteur pour la protection des plantes contre plusieurs insectes ravageurs et cela par le biais de la production de métabolites secondaires bioactifs à effet insecticide appartenant à divers groupes structurels (Yan et al., 2018; Toghueo, 2019; Kaur, 2020). Dans ce contexte, la présente

étude est concentrée sur l'activité insecticide de l'extrait du champignon endophyte *Aspergillus niger* isolé à partir des feuilles du ricin commun *Ricinus communis* L. (Euphorbiaceae, Malpighiales) contre le criquet migrateur *Locusta migratoria* L. (Oedipodinae, Acrididae).

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Collection du matériel biologique : Des feuilles du ricin commun *R. communis* sont collectées avec un scalpel à partir de 5 plantes saines issues d'une végétation naturelle dans la région de Beni bechir, Skikda, Algérie (Latitude 36°46'20" N et Longitude 6°57'30" E) le mois de février 2020 (puis transportées jusqu'au laboratoire). Également des adultes solitaires de *L.migratoria* ont été collectés de la même région.

Isolement du champignon endophyte *A.niger* associé au ricin commun *R.communis* : L'objectif de cette étape est d'isoler le champignon endophyte *A.niger* associé au ricin commun *Ricinus communis*. Cette étape a été réalisée 48 heures après le prélèvement du matériel végétal en utilisant le protocole décrit par Li et al. (2015) avec de légères modifications. Les échantillons ont été lavés à l'eau courante pour éliminer les particules du sol et coupés en segments de 5 x 5 mm. Les segments résultants ont été placés dans de l'éthanol à 75% pendant 1 minute, lavés trois fois avec de l'eau distillée stérile pendant 3 minutes pour éliminer l'excès d'éthanol et séchés dans des conditions aseptiques. Ensuite, les échantillons ont été transférés de manière uniforme et aseptique dans des boîtes de Pétri contenant du milieu PDA modifié l'ajout de la streptomycine (200 mg / L) pour inhiber toute croissance bactérienne, ces boîtes ont été scellées en utilisant du para film diagonal puis incubées dans une étuve à une température ambiante (25 ° C) pendant 21 jours pour assurer la croissance de champignons endophytes. Les

champignons émergents des tissus végétaux ont été directement isolés et transplantés dans un nouveau milieu PDA sans antibiotiques, puis incubés à 25 °C pendant 6 jours. Le champignon endophyte *Aspergillus niger* a été identifié par des observations microscopiques, basées sur les caractères phénotypiques tels que la couleur, l'aspect, les caractéristiques des spores et les structures de reproduction.

Fermentation submergée et production de l'extrait fongique : Cette étape a comme objectif la production de l'extrait fongique d'*A.niger* associé aux feuilles du ricin commun *R.communis* et effectuée en utilisant le protocole mentionnée par Dolatabad et al. (2017) avec de légères modifications. Des disques d'agar associés avec le mycélium d'*A.niger* ont été mis dans des flacons de 250 ml contenant 50 ml du milieu PDB et fermés hermétiquement pour éviter toute contamination. Les cultures ont été incubées pendant 21 jours à 25 °C avec agitation intermittente pendant une heure afin d'homogénéiser le milieu et la biomasse fongique. Après 21 jours et une fois atteignant une biomasse importante, les mycéliums ont été séparés du milieu par filtration à travers du papier filtre Whatman n ° 1. Le filtrat est mélangé pendant 15 minutes avec un volume égal d'acétate d'éthyle et laissé reposer pendant 10 minutes pour être séparé en deux couches organique et aqueuse non miscibles. Ensuite l'acétate d'éthyle a été éliminé en utilisant un évaporateur rotatif. L'extrait est dissout dans 1 ml de l'eau distillée et conservé à 4 ° C.

Élevage de masse des insectes : L'élevage des insectes est réalisé afin d'obtenir un nombre suffisant de criquets pour faire notre expérience (traitement des insectes) selon la méthode décrite par Ouedraogo et al.(2002) avec des légères modifications dans une cage de reproduction de 50 cm³ en bois, recouverte d'une tulle pour assurer l'aération et pour éviter la condensation de l'humidité (50-60% maximum) qui provoque les épizooties chez *Locusta migratoria*, comportant une porte coulissante pour permettre les différentes manipulations. Le fond de la cage est pourvu de poudres remplis de 2/3 de tourbe et de 1/3 de sable de rivière stérilisés et humidifiés à 10 % permettant la récupération des oothèques. L'éclairage et la chaleur 30±1 °C dans la cage sont assurés d'une façon continue pendant 12 heures / jour par une ampoule à incandescence

de 60 watts constante permettant aux insectes à se thermoréguler et trouver leur température optimale pour muer et pondre. La nourriture des insectes ce fait par des feuilles fraîches de blé.

Traitement des insectes par contact et ingestion : Des traitements par pulvérisation directe et par ingestion forcée ont été appliqués sur des ailés de *L.migratoria* mis dans des boîtes de plastique à raison de 5 insectes par boîte. Pour les deux types de traitement, on utilise 10 doses de l'extrait fongique (de 0,2 à 2 g / L) avec 5 répétitions pour chaque concentration et cinq répétitions traitées avec de l'eau distillée et considérées comme témoins. Le taux de mortalité corrigée(en pourcentage) a été calculé pour chaque traitement pendant 7 jours en employant la formule d'Abbott(1925) :

$$\text{Mortalité corrigée (\%)} = \frac{\text{Mortalité enregistrée (\%)} - \text{Mortalité témoin (\%)}}{100 - \text{Mortalité témoin (\%)}}$$

Analyse chimique d'extrait fongique : Cette étape est réalisée pour savoir la nature chimique d'extrait fongique ainsi que les classes de métabolites secondaires responsables de l'activité insecticide. La détection de principales classes de métabolites secondaires a été réalisée en utilisant les techniques représentées par (Harborne ,1998). L'extrait fongique a été dissous dans l'HCL dilué, filtrés puis traités avec l'HGI₄K₂, la formation d'un précipité de couleur jaune a indiqué la présence d'alkaloïdes. Pour la détection des flavonoïdes l'extrait fongique a été dissous traités avec quelques gouttes de NaOH, la formation d'une couleur jaune intense, devenue incolore lors de l'ajout de l'HCL dilué, indique la présence de flavonoïdes. Pour la détection des phénols, l'extrait fongique a été dissous dans 5 ml d'eau distillée ensuite quelques gouttes de FeCl₃ à 5% ont été ajoutées, une couleur verte foncée obtenue indique la présence de composés phénoliques. Pour les saponines, l'extrait

fongique est vigoureusement agité avec de l'eau distillée puis laissé au repos pendant 10 minutes, la formation d'une émulsion assez stable indique la présence de saponines. Pour la détection des terpénoïdes, l'extrait fongique a été traité avec le chloroforme et d'acide sulfurique, la formation d'une couleur marron-rouge indique la présence de terpénoïdes. Pour la détection de tanins, l'extrait fongique a été traité avec un mélange d'éthanol et de FeCl₃, une couleur noire bleuâtre qui a disparu lors de l'ajout d'un peu de H₂SO₄ dilué suivie de la formation d'un précipité brun jaunâtre a indiqué la présence de tanins.

Analyse spectroscopie d'infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) en réflexion totale atténuée (ATR) des extraits : 1mg d'extrait fongique a été analysé par spectrométrie FTIR en réflexion totale atténuée (ATR-FTIR) en utilisant un spectromètre FTIR de la série Cary-630 (Agilent Technologies, Santa Clara, Californie) avec un ATR (MIRacle™ single

reflexion ATR) configuré avec une plaque diamant (Di) IRE (PIKE Technologies, Fitchburg, Wisconsin). Les acquisitions ont été réalisées en effectuant 8 balayages entre 4 000 et 650 cm^{-1} , avec une résolution de 4 cm^{-1} . Un spectre des conditions ambiantes (background) a été automatiquement soustrait par le logiciel Resolution Pro version 5.0 (Agilent Technologies) pour chaque spectre d'échantillon. (Sala *et al.*, 2020).

Analyse des composants volatiles de l'extrait fongique : L'analyse GC-MS-MS des composants volatiles contenus dans l'extrait d'*A.nigera* été réalisée en utilisant l'appareil GCMS-QP2020 NX Shimadzu avec une colonne capillaire de silice fondue. L'emploi de l'instrument (CG-MS-MS) se fait selon les étapes décrites par Senthilkumar *et al.* (2014). L'instrument a été réglé à une température initiale de 100 °C et maintenu à cette température pendant 1 minute ensuite la température a été augmentée progressivement jusqu'à 250 °C (35°C pendant 2 minutes, 5°C/min jusqu'à 155°C, 20°C/min jusqu'à 250°C et 250°C pendant 10 minutes). La température de l'orifice d'injection a été maintenue à 250 °C et le débit d'hélium à 1 ml / min, la tension d'ionisation était à 70 eV. (1 μl de chaque échantillon / 1ml de méthanol) ont été injectés et la plage de balayage du spectre de masse a été fixée à 45-450 (m / z). L'interprétation sur GC-MS-MS à spectre de masse a été réalisée à l'aide de la base de données du National Institute Standard et Technologie (NIST) .Le nom, le poids moléculaire et la formule moléculaire des composants volatiles ont été ensuite déterminés.

Analyse des composants volatiles produits par les hyphes fongiques du champignon endophyte *A.niger* : L'analyse des composants volatiles produits par les hyphes fongiques du champignon endophyte *A.niger* se fait selon les étapes décrites par Fiers *et al.* (2013). 50 μL d'une solution de spores fongiques (2×10^7 spores/mL) est injectée dans

des vials de micro-extraction sur phase solide (SPME) en pente, de 20 mL, contenant 7 mL de PDA et hermétiquement fermés. de manière à ce que la suspension recouvre toute la surface du milieu de culture. Les vials sont ensuite placés dans une étuve à 23°C .Pour l'extraction des composants volatiles, les fibres (SPME) sont conditionnées à 270°C pendant 1 heure, puis placées sur un support à piston. Chaque Vial de micro-extraction est mis avant le prélèvement dans un bain marie à 25°C pendant 10 minutes pour concentrer les composants volatiles dans l'espace de la tête du Vial. Chaque fibre est placée ensuite à l'intérieur en transperçant le bouchon du Vial, puis libérée et exposée aux composants volatiles produites par *A.niger* accumulés pendant 20 minutes à une température de 23°C. L'instrument (GC-MS-MS) a été réglé à une température initiale de 100 °C et maintenu à cette température pendant 1 minute ensuite la température a été augmentée progressivement jusqu'à 250 °C (35°C pendant 2 minutes, 5°C/min jusqu'à 155°C, 20°C/min jusqu'à 250°C et 250°C pendant 10 minutes). La température de l'orifice d'injection a été maintenue à 250 °C et le débit d'hélium à 1,5 mL / min, la tension d'ionisation était à 70 eV. La fibre SPME est placée dans l'injecteur du GC et la plage de balayage du spectre de masse a été fixée à 45-450 (m / z). L'interprétation sur GC-MS-MS à spectre de masse a été réalisée à l'aide de la base de données du National Institute Standard et Technologie (NIST) .Le nom, le poids moléculaire et la formule moléculaire des composants volatiles ont été ensuite déterminés.

Test d'inhibition d'Acétyl cholinestérase par l'extrait fongique : Cette étape est effectuée afin de connaître le mode d'action ou l'effet d'extrait sur le système nerveux des insectes traités. L'activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase (Ache) a été testée selon le protocole décrit par Ellman *et al.* (1961). 150 μL de 100 mM du tampon sodium phosphate (Ph =8) est ajouté au 10 μL

différentes concentrations de l'extrait fongique et 20 μ L Ache, ce mélange est incubé ensuite à 25 °C pendant 15 minutes avant l'ajout de 10 μ L de DNTB (0.5mM) et 10 μ L d'acetyl choline iodide (0.71 mM). Des lectures à 412

nm à 0 et 15 minutes ont été effectuées en utilisant un lecteur de plaques et le pourcentage d'inhibition de l'enzyme Ache est déterminé par la formule suivante :

$$\text{Inhibition de l'enzyme Ache (\%)} = \frac{(E - S)}{E} \times 100$$

Où E = l'activité de l'enzyme sans extrait, S = l'activité de l'enzyme avec l'extrait.

Analyse des données statistiques : L'analyse de variance (ANOVA) et le test de Tukey (HSD) (avec un intervalle de confiance de 95%) ont été réalisés afin de comparer et classer en groupes homogènes les valeurs enregistrées du taux de mortalité corrigée et d'inhibition d'Acétyl cholinestérase. La concentration létale 50 (CL50) est calculée à partir de la droite de régression des probits = f (log dose) correspondants aux pourcentages des mortalités corrigées en fonction des logarithmes des doses de traitement. Les

données des essais de traitement (temps-mortalité) ont été soumises à l'analyse Kaplan-Meier pour obtenir des courbes de survie et des estimations du temps de survie médiane (TL 50). De même, des cartes de chaleur de la mortalité corrigée (activité insecticide) en fonction des différentes concentrations ont été réalisées. Toutes les analyses de données statistiques ont été effectuées en utilisant le logiciel XLSTAT 2019 (Addinsoft, 2019. XLSTAT Statistical Data Analysis Solution, Paris, France).

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Traitement des insectes de *L. migratoria* par contact et ingestion : Les résultats du traitement de *L. migratoria* par l'extrait du champignon endophyte *A.niger* par contact et par ingestion montrent qu'il est doté d'une activité insecticide variable selon la concentration utilisée et le temps de traitement. La concentration 2 g/L se montre la plus efficace contre ces insectes avec un taux de mortalité maximale enregistré après 7 jours de 86,95 % pour le traitement par contact et 100% pour le traitement par ingestion .Pour l'analyse

de variance (ANOVA) et le test de Tukey (HSD) (avec un intervalle de confiance de 95%) les lettres majuscules indiquent une différence significative entre l'activité insecticide de différentes concentrations de l'extrait durant différents jours (au niveau de signification de 0,05). Les lettres minuscules indiquent des différences significatives entre l'activité insecticide à différentes concentrations de l'extrait pour le même jour (au niveau de signification de 0,05) (Figures 1,2).

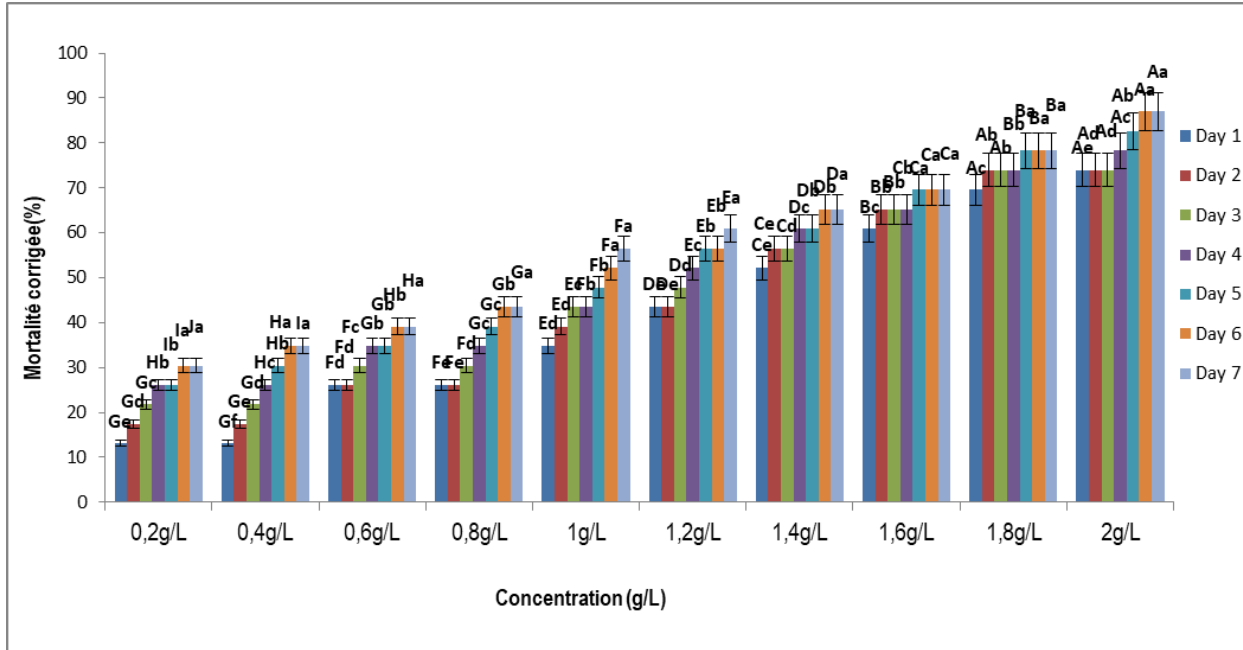


Figure 1 : Mortalité enregistrée après traitement par contact avec l'extrait d'*Aspergillus niger*.

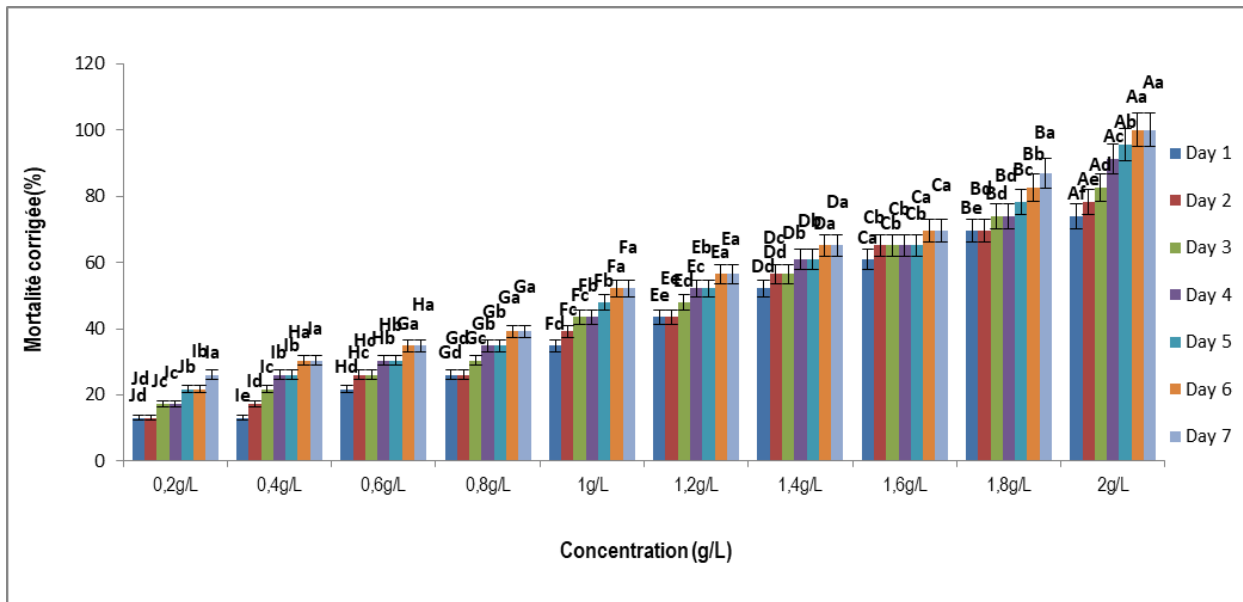


Figure 2. Mortalité enregistrée après traitement par ingestion de l'extrait d'*Aspergillus niger*.

Le changement de couleur de la carte thermique du vert vers le rouge signifie une augmentation progressive de la mortalité des

insectes. La concentration la plus efficace contre les insectes est 2 g/L pendant le 7ème jour (Figures 3,4).

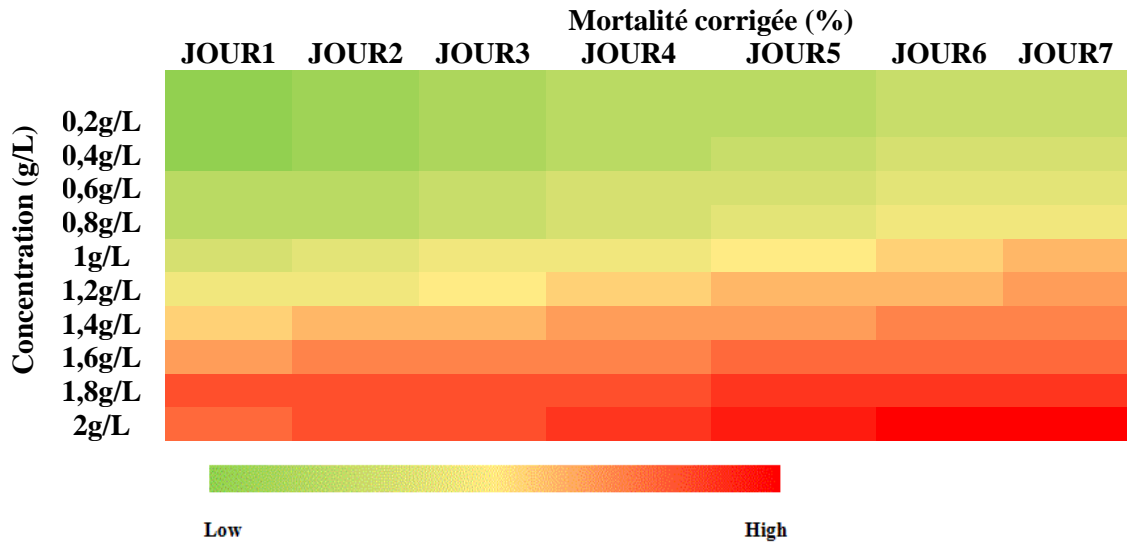


Figure 3. Carte thermique de la mortalité sous différentes concentrations de l'extrait fongique pour différentes durées d'exposition (traitement de contact de *L. migratoria*).

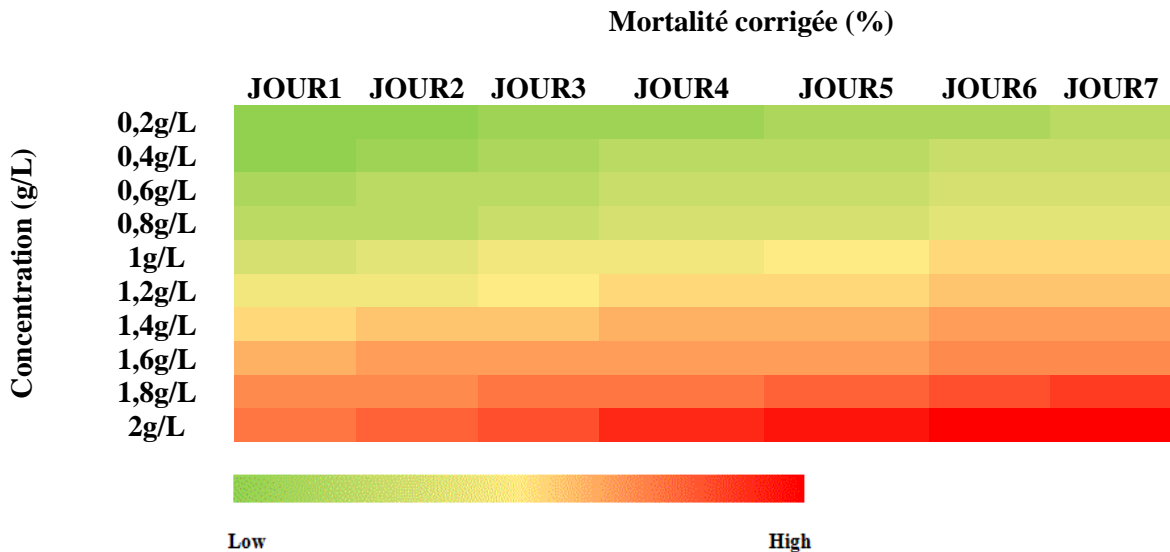


Figure 4. Carte thermique de la mortalité sous différentes concentrations de l'extrait fongique pour différentes durées d'exposition (traitement d'ingestion de *L. migratoria*).

Le traitement provoque également un changement de la pigmentation des corps des criquets vers la couleur rouge foncée après traitement par contact et une apparition d'une couleur noire de la face ventrale (position du

tube digestif) après traitement par ingestion. Une réduction de l'activité motrice, des défécations intenses et des diarrhées sont observées chez les individus traités par ingestion d'extrait fongique (Figure 5).

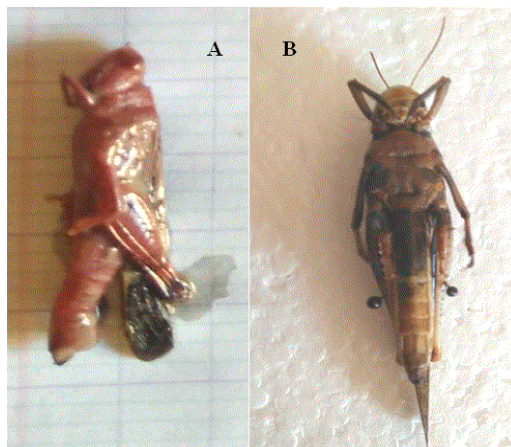


Figure 5. Résultats de traitement de *L. Migratoria* par l'extrait fongique :
A. Traitement par contact, B. Traitement par ingestion.

Les données des essais de traitement (temps-mortalité) ont été soumises à l'analyse Kaplan-Meier pour obtenir des courbes de survie et des estimations du temps de survie médiane (TL 50). L'analyse des TL50 obtenus a montré des valeurs de mortalité de 50% de la population à des temps précis selon la concentration de

l'extrait fongique allant de 4,490 à 6,187 jours pour le traitement par contact et de 4,72 à 6,187 jours pour le traitement par ingestion. Le TL50 le plus probable obtenu avec la dose 2g/L est de 4,49 jours pour le traitement par contact est de 4,72 pour le traitement par ingestion (Figures 6,7) et (Tableau .1).

Tableau 1 : Temps létale 50 pour les différents traitements de *L.migratoria*.

Concentration (g/L)	TL ₅₀ pour le traitement par contact de <i>L.migratoria</i> .(g/L) (jours)	TL ₅₀ pour le traitement par contact de <i>L.migratoria</i> .(g/L) (jours)
0,2	6,187±0,329	6,187±0,329
0,4	6,187±0,323	6,0107±0,323
0,6	5,765±0,344	5,765±0,344
0,8	5,889±0,333	5,889±0,333
1	5,489±0,372	5,498±0,372
1,2	5,435±0,365	5,352±0,361
1,4	5,036±0,368	5,036±0,368
1,6	4,914±0,377	4,914±0,377
1,8	4,799±0,363	4,799±0,363
2	4,490±0,351	4,720±0,358

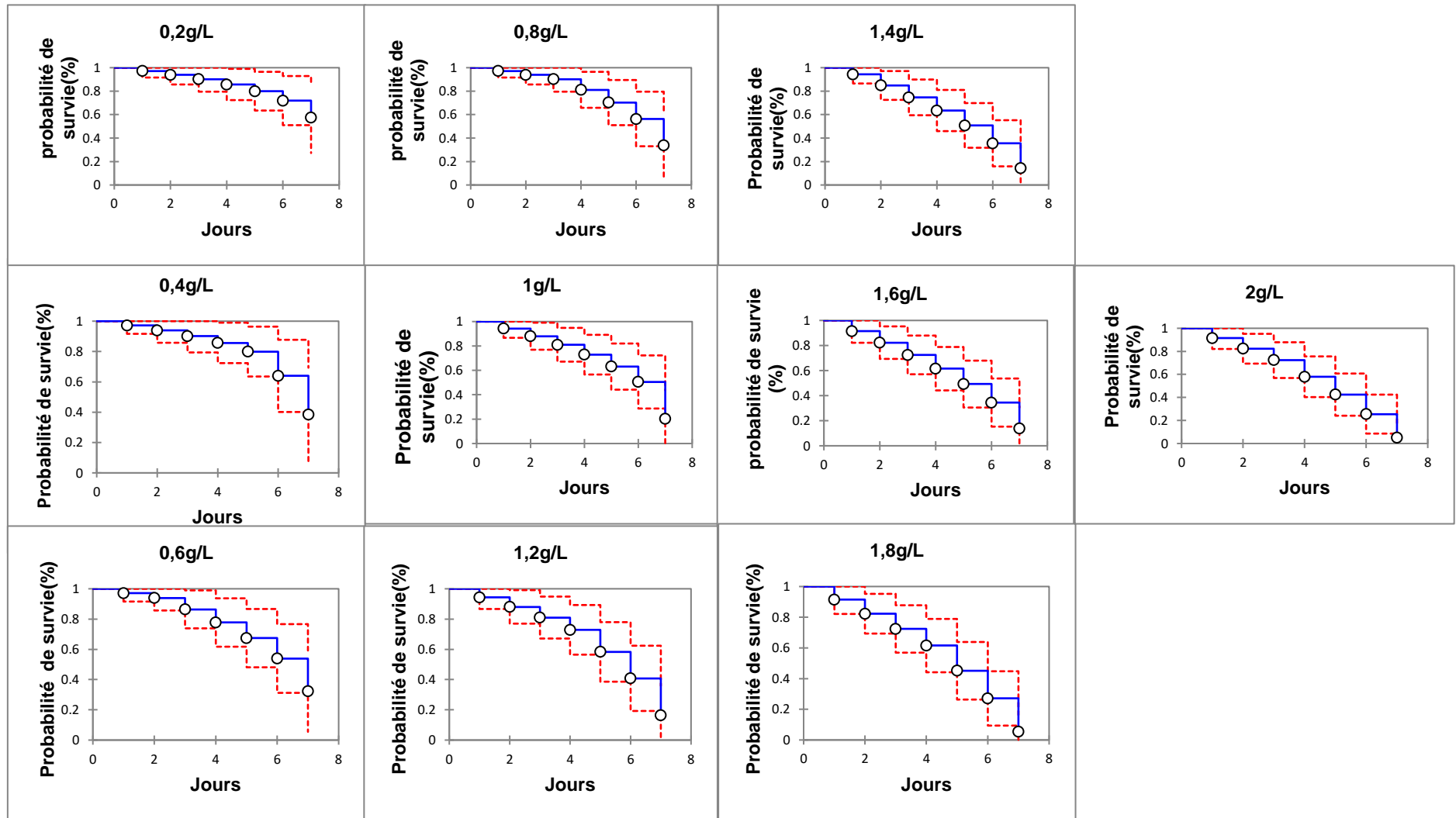


Figure 6. Courbes de survie Kaplan-Meier des adultes de *L. migratoria* exposés à différentes concentrations de l'extrait fongique (traitement par contact).

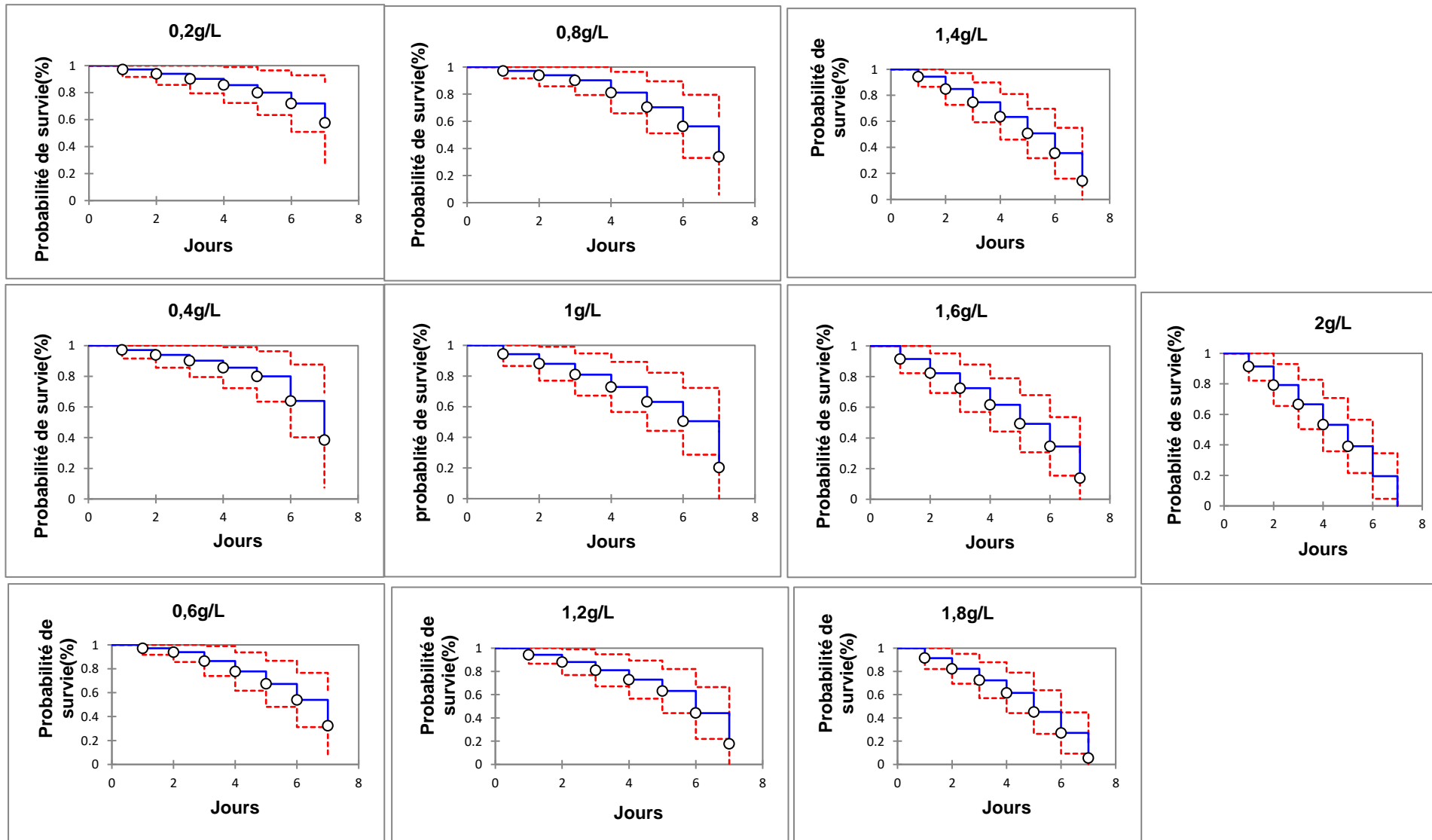


Figure 7. Courbes de survie Kaplan-Meier des adultes de *L. migratoria* exposés à différentes concentrations de l'extrait fongique (traitement par ingestion).

L'analyse des données (Tableau .2) montre que l'extrait fongique d'*A.niger* est toxique contre les insectes, avec une évolution décroissante des DL50 en fonction des temps, soit des valeurs comprises entre 0,969 à 1,27 pour le traitement par contact et entre 0,459 et 1,297 pour le traitement par ingestion. Donc pour

tuer 50% de la population de *L. migratoria* la meilleure dose à appliquer est 2g/L pour le traitement par contact et par ingestion. Ces résultats révèlent également que l'extrait fongique est plus efficace par ingestion que par contact.

Tableau 2. Concentration létale 50 en fonction du temps d'exposition de *L.migratoria* à l'extrait fongique.

Jours	LC ₅₀ pour le traitement par contact de <i>L.migratoria</i> .(g/L)	LC ₅₀ pour le traitement par ingestion de <i>L.migratoria</i> .(g/L)
1	1,270±0,03	1,297±0,01
2	1,158±0,08	1,156±0,06
3	1,703±0,04	1,049±0,03
4	0,954±0,02	0,912±0,03
5	0,822±0,07	0,841±0,08
6	0,726±0,03	0,721±0,04
7	0,969±0,03	0,459±0,06

Analyse chimique préliminaire des extraits fongiques : Les résultats du test chimique préliminaire montre que l'extrait d'*A.niger* contient des polyphénols (couleur verte), la présence d'alcaloïdes (couleur jaune),

terpenoides (couleur marron-rouge), saponines (émulsion assez stable).

Analyse spectroscopie d'infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) en réflexion totale atténuée (ATR) des extraits fongiques.

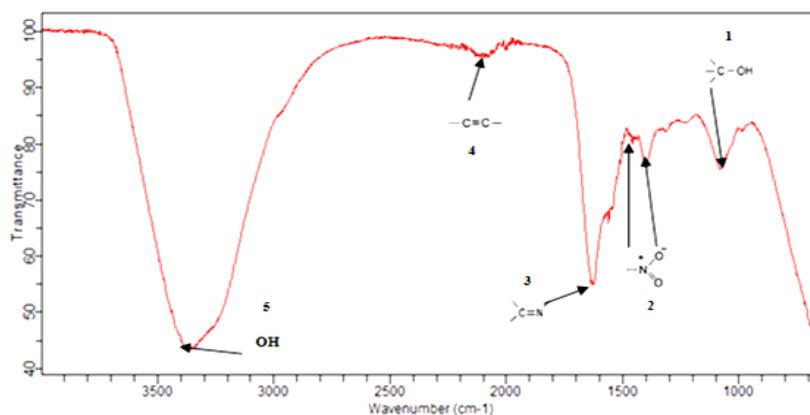


Figure 7. FTIR-ATR de l'extrait d'*Aspergillus niger*. 1. groupe alcool, 2.groupe nitro, 3.groupe imine, 4.groupe alcyne, 5.groupe hydroxyle.

L'analyse FTIR-ATR (Figure.7) de l'extrait d'*Aspergillus niger* a révélé la présence des groupes alcool (1000-1260 cm⁻¹), nitro(1250-1400 cm⁻¹), imine(1480-1690 cm⁻¹), alcyne

(2100-2300 cm⁻¹),hydroxyle (3300-3500 cm⁻¹).

Inhibition d'Acétyl cholinestérase par l'extrait fongique : Les résultats montrent que

l'extrait du champignon endophyte d'*A.niger* est doté d'une activité inhibitrice d'Acétylcholinestérase avec un taux d'inhibition maximale de 73,91 % enregistré après 15 minutes. Pour l'analyse de variance (ANOVA) et le test de Tukey (HSD) (avec un intervalle de confiance de 95%) les lettres majuscules indiquent une différence significative entre l'inhibition d'Acétyl

cholinestérase par différentes concentrations de l'extrait durant différents jours (au niveau de signification de 0,05). Les lettres minuscules indiquent des différences significatives entre l'inhibition d'Acétyl cholinestérase à différentes concentrations de l'extrait pour le même jour (au niveau de signification de 0,05) (Figure .8).

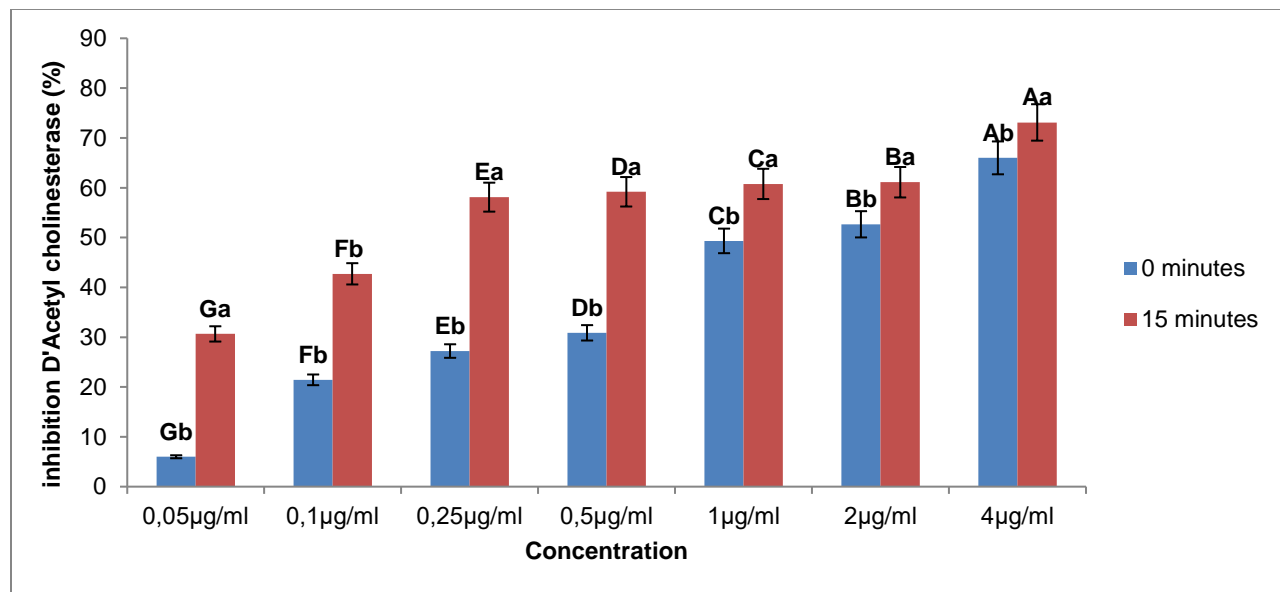
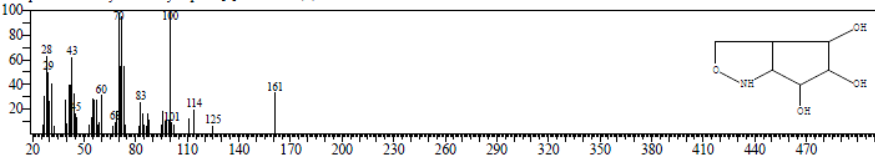
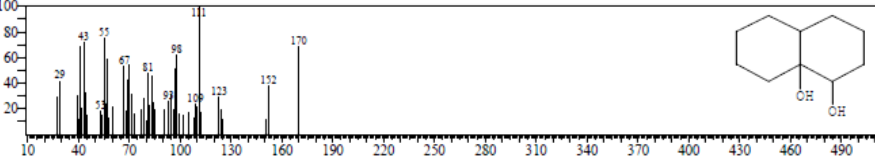
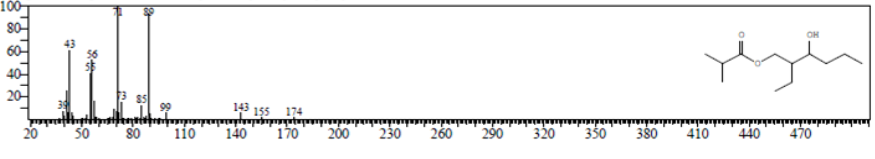


Figure 8. Inhibition d'acétylcholinestérase par l'extrait d'*Aspergillus niger*.

Analyse des composants volatiles produites par les hyphes et présents dans l'extrait fongique : L'analyse GC-MS-MS des composants volatiles produits par les hyphes fongiques et présents dans de l'extrait fongique

a révélé la présence de : Hexahydro-1H-cyclopenta [c] isoxazole-4,5,6-triol ,2,3,4,4a, 5,6,7,8-octahydro-1H -naphtalène-1,8a-diol et acide propanoïque 2-éthyl-3-hydroxyhexyle. (Tableau.3)

Tableau 3. Composants volatiles insecticides produites par les hyphes et présentes dans l'extrait fongique d'*A. niger* au même temps.

Composé volatile	Formule	Poids Moléculaire (g/Mol)	Chromatogramme Obtenu	Références
Hexahydro-1H-cyclopenta [c] isoxazole-4, 5,6-triol	C ₆ H ₁₁ NO ₄	161	<p>Hit# 3 Entry:84720 Library:W11N17MADN1.lib SI:75 Formula:C6H11NO4 CAS:73111-50-9 MolWeight:161 RetIndex:1560 CompName:Hexahydro-1H-cyclopenta[c]isoxazole-4,5,6-triol</p> 	(Chikkula et Raja ,2017).
2, 3, 4,4a, 5, 6, 7,8-octahydro-1H -naphtalène-1,8a-diol	C ₁₀ H ₁₈ O ₂	170	<p>Hit# 3 Entry:107747 Library:W11N17MADN1.lib SI:76 Formula:C10H18O2 CAS:20681-51-0 MolWeight:170 RetIndex:1440 CompName:2,3,4,4a,5,6,7,8-octahydro-1H-naphthalene-1,8a-diol</p> 	(Herbst, 2015).
Acide propanoïque 2-éthyl-3-hydroxyhexyle	C ₁₂ H ₂₄ O ₃	216	<p>Hit# 4 Entry:87216 Library:NIST17.lib SI:77 Formula:C12H24O3 CAS:74367-31-0 MolWeight:216 RetIndex:1415 CompName:Propanoic acid, 2-methyl-, 2-ethyl-3-hydroxyhexyl ester</p> 	(Krzyzowski et al., 2020)

DISCUSSION

Les champignons endophytes colonisent les tissus internes de leurs plantes hôtes sans aucun symptôme d'infection apparent conférant à l'hôte une résistance aux insectes nuisibles en produisant des métabolites secondaires bioactifs volatiles et non-volatiles (Kaur, 2020 ; El-Sayed *et al.*, 2020). Parmi les métabolites secondaires non-volatiles, de nombreux alcaloïdes semblent servir principalement pour la plante à se défendre contre une variété d'insectes herbivores par leur effet dissuasif et anti-alimentaire ou toxicité (Taye et Borkataki, 2020). Les terpénoïdes sont des métabolites secondaires avec une activité répulsive et dissuasive contre un grand nombre d'insectes ravageurs, empêchant ou diminuant le contact plante-insecte et ainsi la transmission de maladies virales (Clouse, 2011 ; Kortbeek *et al.*, 2019). Les alcaloïdes et les terpénoïdes sont aussi considérés comme des toxines neurales agissant sur le système nerveux des insectes (Su *et al.*, 2017). Les composés phénoliques sont métabolites secondaires défensifs qui exercent un effet toxique sur les insectes par ingestion (Kortbeek *et al.*, 2019). Les saponines sont connues pour leur effet insecticide, dissuasif, perturbateur de la mue, régulateur de la croissance des insectes par leur interaction avec le cholestérol, provoquant une perturbation de la synthèse des ecdystéroïdes, ils sont également des inhibiteurs de protéase et cytotoxiques pour certains insectes (Hussain *et al.*, 2019). La détection de groupe hydroxyle, alcool, imine, par FTIR -ATR confirme la présence de phénols et / ou les tanins, de saponines, d'alcaloïdes respectivement dans les extraits fongiques (Sharaf *et al.*, 2013 ; Veiga *et al.*, 2018 ; Lv *et al.*, 2021). Les groupes sulfone, nitro, les éthers d'énol et les dérivés alcynes sont considérés comme des groupes fonctionnels exceptionnels en chimie, utilisés couramment comme intermédiaires clés dans la synthèse de nombreux molécules chimiquement et

biologiquement actives à capacité insecticide (Liu *et al.*, 2015 ; Yu *et al.*, 2016 ; Nishiwaki, 2020). Parmi les métabolites secondaires insecticides Les isoxazoles qui sont des azoles à capacité insecticide, l'acide propénoïque qui provoque chez *Callosobruchus maculatus*, un effet répulsif, une diminution des pontes et après 24 heures du traitement 100 % des mortalités, le naphthalène qui est un insecticide fumigeant toxique pour les formes adultes et larvaires de nombreux lépidoptères ravageurs, il est également administré par voie orale pour tuer les vers parasites du bétail (Herbst, 2015 ; Chikkula et Raja, 2017 ; Krzyzowski *et al.*, 2020). L'acétylcholinestérase est un enzyme carboxylestérase responsable de l'hydrolyse rapide après la transmission de l'information de l'acétylcholine neurotransmetteur, si cette hydrolyse n'a pas eu lieu, l'augmentation du taux d'acétylcholine induit une activité répétitive des neurones aboutissant à une réduction de l'activité motrice et la mort de l'insecte (Cheung *et al.*, 2012 ; Su *et al.*, 2017).

En plus de réduction de l'activité motrice, des défécations intenses et des diarrhées sont observées chez les individus traités par ingestion d'extrait fongique, ces signes observés sont des signes d'intoxication des criquets dus au extrait fongique (Kemassi *et al.*, 2018). L'application de cet extrait provoque également un changement de la pigmentation des corps des criquets vers une couleur rouge après traitement par contact et l'apparition d'une couleur noire au niveau de l'abdomen (position du tube digestif) après traitement par ingestion. Le pigment responsable de la couleur rouge au niveau de la cuticule des criquets est la β -carotène et donc la couleur rouge foncée observé après traitement est dû à un excès de production de ce pigment (Yang *et al.*, 2019). Le pigment du tube digestif est une mélanine responsable de la couleur noire. La couleur noire foncée observée après traitement est donc dû à une

mélanisation très poussée provoquée par une toxicité intestinale, manque de tonus nerveux grâce aux effets néfastes des extraits sur le système nerveux centrale, une distension et des nécroses cellulaires et une réaction physiologique par les insectes pour essayer de cicatriser les blessures au niveau de l'intestin qui ne peut plus remplir son rôle d'absorption et assimilation des nutriments d'où une carence protéique et lipidique et la mort des insectes (Chauvin, 1956 ; Shamim *et al.*, 2014). En comparaison avec des études de l'activité insecticide des métabolites secondaires produites par les champignons endophytes, le composé 6,8-di-O-méthylbipolarine produit

par *Acremonium vitellinum* est doté d'une bonne activité larvicide contre les larves de troisième stade de *H. armigera* avec une valeur CL50 de 0,72 mg/mL (Yuan *et al.*, 2020). Le champignon endophyte *C. lunata* MRDS 302 a montré une excellente activité insecticide contre les larves de premier stade de *S. cretica* avec un taux de mortalité maximal de 100 % (EL-Lebody *et al.*, 2021). Ces résultats montrent que l'extrait du champignon endophyte d'*Aspergillus niger* constitue une source de métabolites secondaires volatiles et non-volatiles à activité insecticide et peut être utilisé comme insecticide de contact ou ingestion contre *L. migratoria*.

CONCLUSION ET APPLICATION DES RÉSULTATS

Le traitement de *L. migratoria* par l'extrait du champignon endophyte *A.niger* par contact et par ingestion provoque une réduction de l'activité motrice, une forte activité inhibitrice d'acétylcholinestérase, des défécations intenses, des pertes en eau inhabituelles sous forme des diarrhées, un changement de la pigmentation des corps des criquets vers une couleur rouge et l'apparition d'une couleur noire au niveau de l'abdomen et enfin des mortalités chez les individus traités. Le test chimique préliminaire montre que l'extrait fongique contient de polyphénols, d'alcaloïdes, de terpénoïdes et de saponines.

L'analyse FTIR-ATR a révélé la présence des groupes alcool, nitro, imine, alcyne, hydroxyle. L'analyse des composants volatiles a révélé la présence de volatiles insecticides Hexahydro-1H-cyclopenta [c] isoxazole-4, 5,6-triol, 2, 3, 4,4a, 5, 6, 7,8-octahydro-1H -naphtalène-1,8a-diol et acide propanoïque 2-éthyl-3-hydroxyhexyle. Ces résultats montrent que l'extrait du champignon endophyte d'*Aspergillus Niger* constitue une source de métabolites secondaires volatiles et non-volatiles à activité insecticide et peut être utilisé comme insecticide de contact ou ingestion contre *L. migratoria*.

RÉFÉRENCES

- Abbott W S, 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology* 18 :265-267. <https://doi.org/10.1093/jee/18.2.265a>.
- Berestetskiy A & Hu Q, 2021. The Chemical Ecology Approach to Reveal Fungal Metabolites for Arthropod Pest Management *Microorganisms* 9:1379. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9071379>.
- Chauvin R, 1956. Physiologie des insectes. Le comportement, les grandes fonctions, écophysiologie. Edition INRA, Paris. 917 PP.
- Cheung J, Rudolph MJ, Burshteyn F, Cassidy MS, Gary EN, Love J, Franklin M C, Height J J, 2012. Structures of Human Acetylcholinesterase in Complex with Pharmacologically Important Ligands. *Journal of Medicinal Chemistry* 55 :10282-10286.
- Chikkula K V and Raja S, 2017. Isoxazole a potent pharmacophore. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 9 (7) :13-24.

- Clouse S D, 2011.Brassinosteroid signal transduction: From receptor kinase activation to transcriptional networks regulating plant development. *The Plant Cell*23 (4) :1219-1230.
- Dolatabad H K, Nikkhah M J, Shier W T, 2017.Evaluation of antifungal, phosphate solubilisation, and siderophore and chitinase release activities of endophytic fungi from *Pistacia vera* *Mycology Progress*16(8) :777-790.
- EL Lebody K A, Mali S S, EL-Metwally F E, Moustafa H Z, Abd-Elaziz M A A ,2021. Isolation and pathogenicity of endophytic fungi associated with some maize hybrids against certain Lepidoptera pests. *Egyptian Journal of Agricultural Research*99 (1):49-60. Doi 10.21608/ejar.2021.58352.1073
- Ellman G L, Courtney K D, Andres V&Featherston R M,1961.A new and rapid colorimetric determination of acetyl cholinesterase activity. *Biochemical pharmacology*7 :88-95.
- El-Sayed AS A, Moustafa A H, El-Sheikh A A, Rady A M, Fathy N A M, Hussein H A, Enan G,Yassin M A,2020.Efficient biocontrol of *Spodoptera littoralis* by *Aspergillus nidulans*, an endophyte of *Lantana camara*. *International journal of pest management*:1-8.<https://doi.org/10.1080/09670874.2020.1771472>.
- Fiers M, Lognay G, Fauconnier M.L,Jijakli H,2013.Volatile Compound-Mediated Interactions between Barley and Pathogenic Fungi in the Soil, *PLoS ONE* 8(6):e66805
- Harborne J B, 1998. Phytochemical Methods A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis. 3rdedition.Springer Netherlands, Netherlands, 302 PP
- Herbst M C, 2015. Fact Sheet on Naphthalene.*IARC Monograph* 82:1-6.
- Hussain M, Debnath B ,Qasim M,Bamisile B.S , Hameed M S , Wang L , Qiu D,2019. Role of Saponins in Plant Defense against Specialist Herbivores.*Molecules* 24 :2067 doi: 10.3390/molecules24112067.
- Kaur T, 2020. Fungal Endophyte-Host Plant Interactions: Role in Sustainable Agriculture Fungal. *Sustainable Crop Production*: 1-10. Doi: <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.92367>.
- Kemassi A, Boual Z, Hadjseyd A, Bouziane N, Herouini A, Mensouri K, Bouras N, Ould el hadj-Kelil A,Ould el hadj M D,2018.Effets biotoxiques des extraits de *cleome arabica* l. (capparidaceae) sur le criquet pelrin *schistocerca gregaria* (forskål, 1775) (orthoptera, acrididae). *Algerian journal of arid environment*8 (2):79-98
- Kortbeek R W J, Van der Gragt M, Bleeker PM, 2019.Endogenous plant metabolites against insects. *European Journal of Plant Pathology*154 :67-90.
- Krzyzowski M, Francikowski J, Baran B, Babczynska A,2020. The short-chain fatty acids as potential protective agents against *Callosobruchus maculatus* infestation. *Journal of Stored Products Research*86:1-6. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2020.101570>.
- Le Gall M, Overson R, Cease A, 2019.A Global Review on Locusts (Orthoptera: Acrididae) and Their Interactions With Livestock Grazing Practices, *Frontiers in Ecology and Evolution* 7:263.doi: 10.3389/fevo.2019.00263.
- Li X, Guo Z, Deng Z, Yang J, Zou K, 2015.A New α -Pyrone Derivative from Endophytic Fungus *Pestalotiopsis microspora*. *Records of Natural Products* 9 : 503-508.
- Liu A, Yu W, Liu M, Bai J, Liu W, Liu X, Pei H, Hu L, Huang MI, Wang X

- ,2015.Synthesis and Insecticidal Activity of Novel Nitropyridyl-Based Dichloropropene Ethers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 63:7469-7475.doi: 10.1021/acs.jafc.5b02279.
- Lv M, Ma Q, Zhang S, Xu H, 2021. Agrochemical properties evaluation of some imines alkaloids of matrine/oxymatrine. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 48 :128246. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2021.12.8246>.
- Nishiwaki N, 2020.A Walk through Recent Nitro Chemistry Advances. *Molecules* 25: 3680.doi:10.3390/molecules25163680.
- Ouedraogo R M, Kamp A, Goettel M S, Brodeur J, Bidochka M J, 2002. Attenuation of fungal infection in thermoregulating *Locusta migratoria* is accompanied by changes in hemolymph proteins. *Journal of Invertebrate Pathology* 81 :19-24. doi: 10.1016/s0022-2011(02)00117-9.
- Rahman S F S A, Singh E, Pieterse C M J ,Schenk P M,2018.Emerging microbial biocontrol strategies for plant pathogens, *Plant Science*267:102-111.
- Sala A, Spalding K, Ashton K, Board R, Butler H, Dawson T,Harris D A, Hughes C S, Jenkins C A, Jenkinson M D ,Palmer D S,Smith B R,Thornton C A ,Baker M.J,2020. Rapid Analysis of Disease State in Liquid Human Serum combining Infrared Spectroscopy and "Digital Drying". *Journal of Biophotonics* 13(9):e202000118. <https://doi.org/10.1002/jbio.202000118>.
- Sangbaramou R,Camara I,Xin-zheng H,Shen J,Tan S & Shi W,2018.Behavioral thermoregulation in *Locusta migratoria manilensis* (Orthoptera: Acrididae) in response to the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Plos One*13 (11): 1-19. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206816>.
- Senthilkumar N, Murugesan S, Suresh Babu D,Rajeshkannan C,2014.GC-MS analysis of the extract of endophytic fungus, *Phomopsis* sp. isolated from tropical tree species of India, *Tectona grandis* L.*International Journal of Innovation* 3(3):10176-10179.
- Shamim G,Ranjan S K,Pandey D M ,Ramani R,2014.Biochemistry and biosynthesis of insect pigments.*European Journal of Entomology*11(2):149-164.
- Sharaf S, Higazy A, Hebeish A, 2013. Propolis induced antibacterial activity and other technical properties of cotton textiles. *International Journal of Biological Macromolecules*59 :408-416.
- Shuping D S S and Eloff J N, 2017.The use of plants to protect plants and food against fungal pathogens: a review. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines* (14) 4:120-127.
- Su J, Liu H, Guo K, Chen L, Yang M, Chen Q, 2017. Research Advances and Detection Methodologies for Microbe-Derived Acetylcholinesterase Inhibitors: A Systemic Review. *Molecules*22:1-24.
- Taye R R and Borkataki S, 2020. Role of secondary metabolites in plant defense against insect herbivores. *International Journal of Chemical Studies*8 (1) :139-142.
- Toghueo K R M, 2019. Bioprospecting endophytic fungi from *Fusarium* genus as sources of bioactive metabolites *Mycology*, 11(1), 1-21.doi : 10.1080/21501203.2019.1645053.
- Veiga F F, De Castro H L V ,Sato F ,Bombassaro A ,Vicente V A,Mendes V,Baesso M L, Negri M,Svidzinski T I,2018.*Fusarium oxysporum* is an onychomycosis etiopathogenic agent.

- Future Microbiology* 13:1745-1756.
<https://doi.org/10.2217/fmb-2018-0245>.
- Yan C, Liu W, Li J, Deng Y, Chen S, Liu H, 2018. Bioactive terpenoids from *Santalum album* derived endophytic fungus *Fusarium* sp. YD-2. *RSC Advances* 8:14823-14828.
<https://doi.org/10.1039/C8RA02430H>
- Yang M, Wang Y, Liu Q, Liu Z, Jiang F, Wang H, Guo X, Zhang J, Kang L, 2019. A β -carotene-binding protein carrying a red pigment regulates body-color transition between green and black in locusts. *eLife* 8:e41362. doi: 10.7554/eLife.41362.
- Yu X, Liu Y X, Li Y, Wang Q, 2016. Design, Synthesis, Acaricidal/Insecticidal Activity, and Structure-Activity Relationship (SAR) Studies of Novel Oxazolines Containing Sulfone/Sulfoxide Groups Based on the Sulfonylurea Receptor Protein Binding Site. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 64(15):3034-3040. doi: 10.1021/acs.jafc.6b00645.
- Yuan X L, Wang X F, Xu K, Wei L, Dan C, Zhang P, 2020. Characterization of a New Insecticidal Anthraquinone Derivative from an Endophyte of *Acremonium vitellinum* against *Helicoverpa armigera*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 68(41):11480-11487.
<https://dx.doi.org/10.1021/acs.jafc.0c05680>
- Zhang L and Lecoq M, 2021. *Nosema locustae* (Protozoa, Microsporidia), a Biological Agent for Locust and Grasshopper Control. *Agronomy* 11:711. <https://doi.org/10.3390/agronomy1104071>.

Acta Scientifica Naturalis

Former Annual of Konstantin Preslavsky University of Shumen: Chemistry, Physics, Biology, Geography
 Journal homepage: asn.shu.bg

**The anti-acetylcholinesterase, insecticidal and antifungal activities of the entophytic fungus
Trichoderma sp. isolated from *Ricinus communis* L. against *Locusta migratoria* L. and *Botrytis cinerea*
 Pers.: Fr.**

Djamel Eddine Laib^{1,2*}, Abdelmadjid Benzara², Salah Akkal³, Chawki Bensouici⁴

¹ *Department of Natural and Life Sciences, Earth and Universe Sciences, University of Mohamed Elbachir
 Elibrahimi, Bourdj Bouariridj, 34000, Algeria*

² *National Agronomic Institute, Department of Agriculture and Forestry Zoology. El-Harrach Algiers, 16000,
 Algeria*

³ *Valorization of Natural Resources, Bioactive Molecules and Biological Analysis Unit, Department of
 Chemistry, University of Mentouri Constantine 1, Constantine, 25000, Algeria*

⁴ *Biotechnology Research Center, Ali Mendjli, Constantine, 25000, Algeria*

Abstract: *This study was conducted to evaluate anti-acetylcholinesterase and insecticidal and antifungal activities of the endophytic fungus *Trichoderma* sp, isolated from *Ricinus communis* L. leaves, against *Locusta migratoria* L. and *Botrytis cinerea* Pers.: Fr.. To evaluate the insecticidal and antifungal activities, different concentrations of the fungal extract were applied against *L. migratoria* (0.2, 0.3, 0.4 g/l) and against *B. cinerea* (1, 2, 3 g/l). It was found that the mortality of the targeted insects was positively proportional to fungal extract concentration and time after exposure (24, 48, 72 hours). The concentration 0.4 g/l appeared to be the most effective after 72 hours with mortality rate of 56.52%. Regarding antifungal activity, the concentration 3 g/l was the most effective against *B. cinerea* after 7 days, with an inhibition rate of 92.06% (excellent antifungal activity). Moreover, it was found that at 4 ug/ml the fungal extract had a maximum inhibitory capacity of Ache of 80% for acetylcholinesterase. Preliminary phytochemical analyses revealed the presence of alkaloids, flavonoids, phenols and saponins. In addition the colony of this endophytic fungus produced chitinases and proteases, which explained its important antifungal and insecticidal activities.*

Keywords: insecticidal activity, antifungal activity, endophytic fungi, *Trichoderma sp*, *Locusta migratoria*, *Botrytis cinerea*

Introduction

Numerous insects and phytopathogenic agents are responsible for significant crop losses worldwide [1]. Among them the migratory locust, *Locusta migratoria* (Linnaeus, 1758) (Orthoptera: Acrididae), which is a pestilential insect with a polyphagous habit [2], exhibits extensive ecological plasticity and a large geographic range. Its gregarious phase is influenced by population density [3] which leads to the formation of spectacular swarms that cause considerable damage to crops [4, 5]. *Botrytis cinerea* (Pers, 1794) is an airborne plant pathogen with a necrotrophic lifestyle, attacking over 200 crop hosts worldwide [6]. It causes a disease known as “grey mould” which is responsible for economic losses that are difficult to calculate because of its wide range of hosts [7]. The control methods for *L. migratoria* and *B. cinerea* are dominated by chemical methods involving the application of considerable amounts of chemical pesticides [7, 8]. These chemicals are effective, but their extensive application has created problems such as resistance, environmental pollution, and adverse effects on human health [9]. Therefore, finding effective alternatives for crop protection against pests and pathogens is now more than a necessity [10]. Among the alternatives, endophytic fungi are considered to be one of the most promising biological groups for plant protection against a large number of insects and pathogens [11, 12]. Endophytes are microorganisms that reside in plant tissues without causing any apparent symptoms. They are an important source of bioactive compounds and are considered a promising tool in agronomy [13].

Trichoderma species are recognized as mycoparasites and are widely used in agriculture as bio fungicides and bioremediation agents [14]. Their biological activities are caused by various secondary metabolites [15].

Thus, the aim of this study was evaluating the insecticidal, antifungal, and anti-acetylcholinesterase activities of the endophytic fungus *Trichoderma sp*, isolated from the leaves of the castor, *Ricinus communis* L. against *L. migratoria* and *B. cinerea*.

Material and Methods

Biological material

R. communis leaves were collected with a scalpel from five healthy plants in the Beni Bechir region, Skikda, Algeria in March 2019. *L. migratoria* is a potential pest of many crops in Algeria and this insect was collected in August 2019 from the same region as was *R. communis*. *B. cinerea* was isolated from infected strawberries.

Methods

1. Insects breeding

The objective of the first step was to obtain a large number of *L. migratoria* with which to conduct our experiment (Locust treatment and mortality rate calculation). Locusts were bred in the laboratory according to a previously described method [16], with slight modifications. Wooden cages of 50 cm³ covered with tulle to ensure aeration and avoid condensation of moisture (50-60% maximum), were used, they were equipped with a sliding door to allow different manipulations and a heating system maintained a constant temperature of approximately 30±1°C, which allowed the insects to thermoregulation and attain their optimal temperature for molting and egg laying. A photoperiod with 12 hours of continuous light per day was provided with a 60-watt incandescent bulb.

2. Isolation, purification and identification of endophytic *Trichoderma* sp.

The isolation of the endophytic fungi was performed 48 hours after the collection of *R. communis* leaves according to a previously described protocol [17], with a slight modifications. The samples were carefully washed under running water to remove soil particles and cut into 5 x 5 mm segments with a flame-sterilized razor blade. The resulting segments were placed in 75% ethanol for 1 minute, washed three times with sterile distilled water for a few minutes each to remove excess ethanol, and dried on sterile filter paper under aseptic conditions. Next the samples were uniformly and aseptically transferred into Petri dishes containing modified PDA medium with streptomycin (200 mg/l) to inhibit bacterial growth. These Petri dishes were sealed using diagonal parafilm and incubated at room temperature (25-30°C) for 21 days to ensure the growth of endophytic fungi. The emerging fungi from the ends of segments (plant tissue) were immediately isolated and transplanted into a new PDA medium without antibiotics. Next, the fungal strains were incubated at 25 °C for 3 to 6 days. Microscopic observations were made using an optical microscope.

3. Submerged fermentation and production of the fungal extract.

The next step was conducted according to a previous method [18], with slight modifications. Agar discs with associated mycelium of the fungal endophyte, *Trichoderma* sp, were placed in 250 ml flasks containing 50 ml of PDB medium and closed to prevent contamination. The cultures were incubated for 21 days at 25±2°C and shaken back and forth each hour on mechanical shaker. After 21 days, mycelia were separated from the medium by filtration through Whatman No. 1 filter paper. The filtrate was mixed for 15 minutes with an equal volume of ethyl acetate and allowed to stand for 10 minutes in order to separate it into the two immiscible organic and aqueous layers. Then the ethyl acetate was evaporated using a rotary evaporator. Each 1 mg of the fungal extract was dissolved in 1 ml of distilled water and stored at 4°C for later use.

4. Test of chitinolytic and proteolytic activities of the endophytic fungi *Trichoderma sp.*

The chitinolytic and proteolytic activity of the endophytic fungus *Trichoderma sp.* was determined according to a previous method [19]. The culture medium revealing the proteolytic activity was essentially composed of: 3 g NaCl, 3 g K₂HPO₄, 3 g MgSO₄·7H₂O, 10 g Agar, 5 g casein, and 1 l distilled water. The culture medium revealing the chitinolytic activity was essentially composed of: 3 g NaCl, 3 g K₂HPO₄, 3 g MgSO₄·7H₂O, 10 g agar, 5 g colloidal chitin, and 1 l distilled water.

Fragments (5x5 mm) of the endophytic fungus *Trichoderma sp.* were inoculated in the center of Petri dishes which is previously containing the solid medium revealing the chitinolytic and/or proteolytic activity. The resulting strains were incubated in an oven at 25°C. After 24 to 48 hours of inoculation the presence of a translucent halo indicated the presence of chitinolytic and/or proteolytic activities.

5. Preliminary phytochemical analyses of the fungal extract.

Detection of the major classic of metabolites was conducted using previously described techniques described [20]. Extracts were dissolved individually in dilute Hydrochloric acid and filtered then treated with Mayer's reagent (potassium mercuric iodide). The formation of a yellow colored precipitate indicated the presence of alkaloids. For the detection of flavonoids the extract was treated with few drops of sodium hydroxide solution. The formation of intense yellow color, which became colorless upon the addition of dilute acid, indicated the presence of flavonoids. For the detection of phenols the fungal extract was dissolved in 5 ml of distilled water and a few drops of 5% ferric chloride solution were added. A dark green color indicated the presence of phenolic compounds. For the saponins the fungal extract was vigorously shaken with distilled water and was then allowed to stand for 10 minutes, formation of a fairly stable emulsion indicated the presence of saponins. For detection of tannins, the crude fungal extract was treated with an alcoholic FeCl₃ reagent, and a bluish black color that disappeared upon the addition of a little dilute H₂SO₄ followed by the formation of a yellowish brown precipitate indicated the presence of tannins.

6. Acetylcholinesterase inhibitory activity of the fungal extract.

Acetylcholinesterase (Ache) inhibitory activity was detected according to a previously described method [21]. The protocol was as follows: 150 µl of 100 mM sodium phosphate buffer (Ph=8) was added to 10 µl of different concentrations of the dissolved extract (in methanol) and 20 µl of Ache. This mixture was incubated at 25°C for 15 minutes and 10 µl of DNTB (0.5 mM) and 10 µl of acetyl choline iodide (0.71 mM) was added to it. Readings at 412 nm at 0 and 15 minutes were performed using a plate reader. The percentage of inhibition of the Ache enzyme was calculated by the following formula:

$$\text{Inhibition of the enzyme Ache (\%)} = \frac{E - S}{E} \times 100$$

where E = the activity of the enzyme without extract, S = the activity of the enzyme with the extract.

7. Insecticidal activity of the endophytic fungal extract.

An assay was conducted by directly spraying of adult insects inside a plastic boxes (five insects per box) with three concentrations of the fungal extract were applied (0.1 g/l, 0.2 g/l, and 0.3 g/l). There were five repetitions for each concentration and five repetitions treated with distilled water were considered controls. The mortality rate (in percentage) was calculated for each treatment after 24 h, 48 h and 72 h.

8. Antifungal activity of the endophytic fungal extract.

Three concentrations (1 g/l, 2 g/l, and 3 g/l) of the fungal extract were mixed with the medium culture (agar-agar) and then inoculated with 5 x 5 mm segments of *B. cinerea*. The strains were incubated at 25°C for 7 days. Based on previous protocol [22] the antifungal activity was calculated by using the following formula:

$$P. I. C. G = \frac{(D_t - D_e)}{D_t} \times 100$$

where P.I.C.G (%) = percentage of inhibition of colony growth;

D_t = Average diameter of the colony unexposed to the extract (control);

D_e = Average diameter of the colony exposed to the extract.

The antifungal activity of the fungal extract was evaluated according to the percentage of the inhibition of the colony growth: from 30% to 40% - low activity; from 50% to 60% - moderate activity; from 60% to 70% - good activity; > 70% - excellent activity.

Statistical data analysis.

An analysis of variance (ANOVA) and Tukey's (HSD) test (with a confidence interval of 95%) were performed in order to compare recorded corrected mortality, Ache inhibition, and antifungal activity means, and rank these results into homogeneous groups. All statistical data analyzes were performed using the XLSTAT 2019 software (Addinsoft, 2019. XLSTAT Statistical Data Analysis Solution, Paris, France).

Results and Discussion

Evaluation of the insecticidal activity of the fungal extract.

From the results (Figures 1 and 2) it was determined that the fungal extract had a variable insecticidal activity against *L. migratoria*. The effect of the extract changed according to the concentration and time after exposure. The concentration 0.4 g/l was the most effective concentration against the insects after 72 hours with a mortality rate of 56.52%. For the Analysis of variance (Anova) and the Tukey (HSD) test (with a 95% confidence interval). The capital letters A, B, C, and D indicates a significant difference among insecticidal activity of different concentrations of the extract on different days (at 0.05 significance level). The lowercase letters a, b, c, and d indicates a significant differences among insecticidal activity at different concentrations of extract at the same day (at 0.05 significance level).

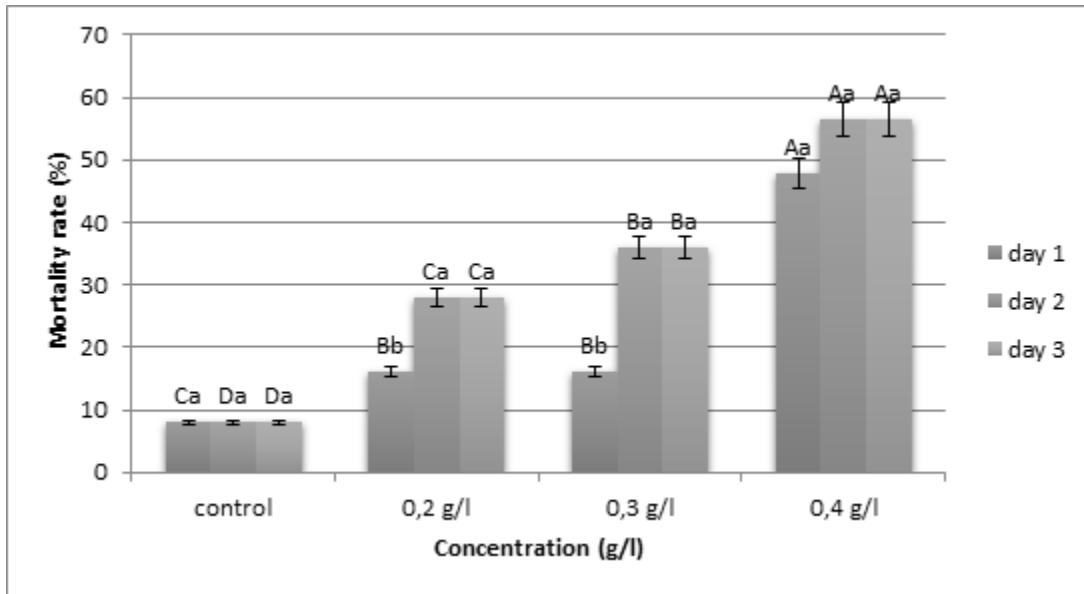


Figure 1. Mortality rate (%) of insects according to different concentrations of the fungal extract



Figure 2. *L. migratoria* 72 h after the application of the fungal extract

Evaluation of the antifungal activity of the fungal extract against *B. cinerea*.

It was determined that the fungal extract had a variable antifungal activity against *B. cinerea* (Figures 3 and 4). The effect of the extract changed according to the concentration and time after exposure. The concentration 3g/l was the most effective concentration against *B. cinerea* after 7 days with a maximum inhibition rate of 92.06% (excellent activity antifungal). For the Analysis of variance (Anova) and the Tukey

(HSD) test (with a 95% confidence interval). The capital letters A, B, C, and D indicates a significant difference among antifungal activity at the same concentration of extract on different days (at the 0.05 significance level). The lowercase letters a, b, c, and d indicates a significant difference among antifungal activity on the same day (at 0.05 significance level).

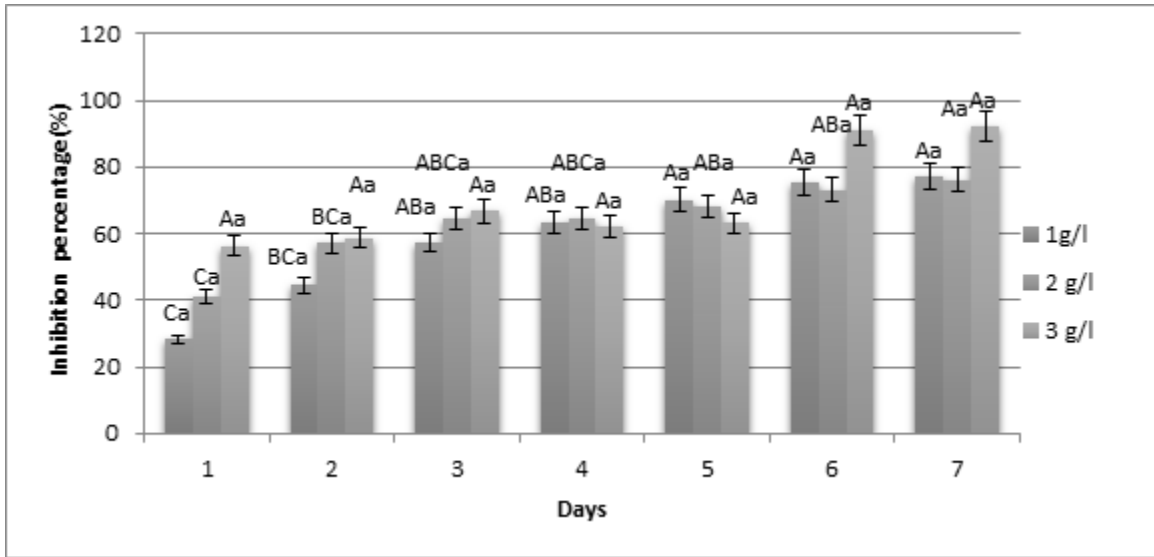


Figure 3. Inhibition percentage of *B. cinerea* colony growth by different concentrations of the fungal extract

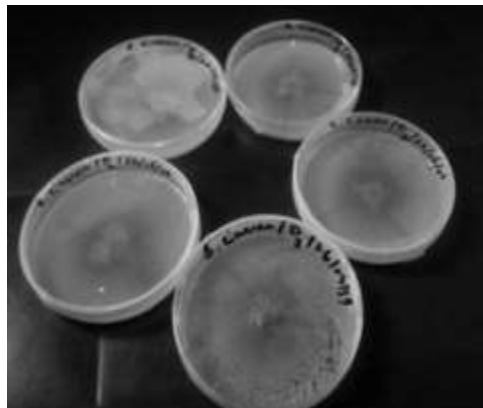


Figure 4. Inhibition of *B. cinerea* colony growth based on the concentration (3g/l) of the fungal extract

Anti-cholinesterase activity of the fungal extract.

It was found that the fungal extract had a variable Ache inhibitory activity (Figure 5) a maximum Ache inhibition rate of 80% was recorded for the concentration of 4 μ g/ml of the fungal extract. The capital letters A, B, C, and D indicates a significant difference among Ache inhibitory activity at different concentrations of extract at the 0.05 significance level. The lowercase letters a, b, c, and d indicates a

significant difference among ache inhibitory values at the same concentration of extract (at the 0.05 significance level).

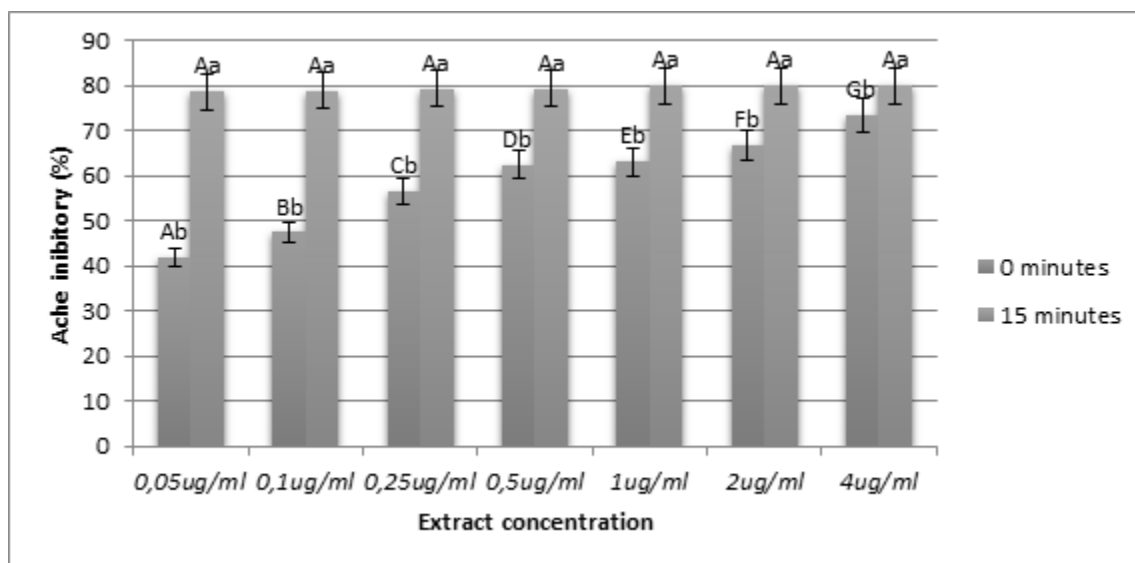


Figure 5. Acetylcholinesterase inhibition based on different concentrations of the fungal extract

Preliminary test of chitinolytic and proteolytic activities of the endophytic fungi *Trichoderma sp.*

It was determined that the endophytic fungus *Trichoderma sp.* had chitinolytic and proteolytic activities as evidenced by a translucent halo that formed around the fungal colony (Figure 6).

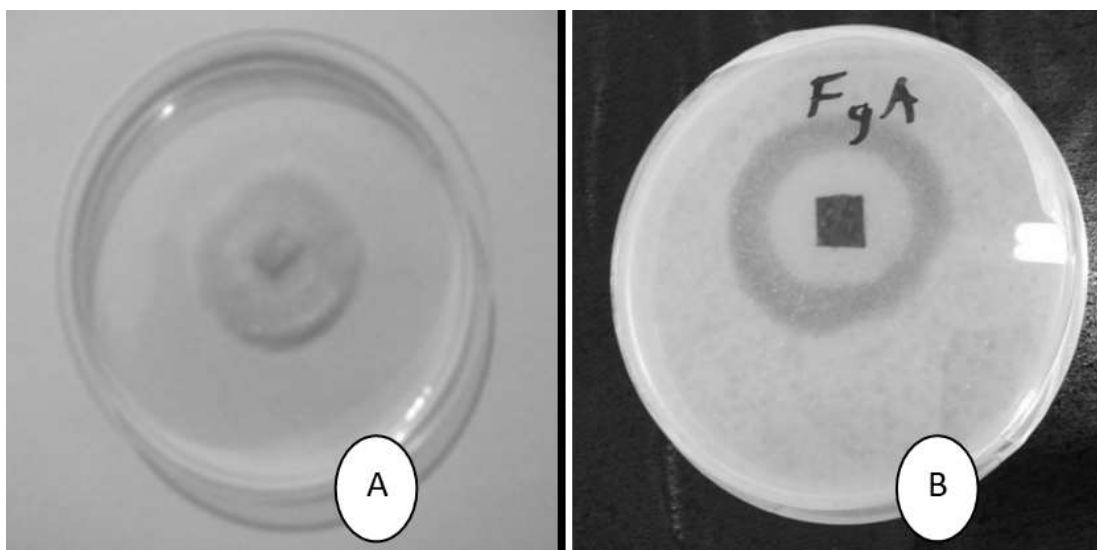


Figure 6. A translucent halo surrounding the fungal colony: A. Fungal colony in chitinolytic activity medium, B. Fungal colony in proteolytic activity medium

Preliminary phytochemical analyses of endophytic *Trichoderma* sp. extract.

Preliminary phytochemical analyses revealed the presence of alkaloids, flavonoids, phenols and saponins.

Discussion

Endophytic microorganisms are those that occur internally in plant organs, especially in leaves, branches and stems, while apparently not harming the hosts [23]. The capability of colonizing internal host tissues has made endophytes a valuable tool to improve crop performance in agriculture [24]. Fungal endophytes provide protection against herbivorous insects [25, 26] and phytopathogenic fungi [27] by producing numerous insecticidal, insect repellent, and antifungal secondary metabolites during their active growth phase which are either similar to, or have a higher activity than those of their respective hosts [28, 29]. They have been reported to have numerous applications in agro-chemistry [30]. Among these insecticidal and antifungal secondary metabolites the chitinases [31], proteases [19] and acetylcholinesterase inhibiting molecules such as alkaloids and flavonoids [32], which are considered responsible for the insecticidal and the antifungal activities against *L. migratoria* and *B. cinerea*. Many fungal species secrete proteases when they are grown in a medium containing casein as a source of nitrogen [19]. Chitinases can be induced in the presence of colloidal chitin as source of carbon in the medium [33] and possess a hydrolytic activity against chitin, which is decomposed by the hydrolysis of the β -1,4-glycosidic bonds between the N-acetylglucosamine molecules [34] into low molecular weight molecules such as chitotetraose, chitotriose and chitobiose [35]. The halo corresponds to the zone of degradation of colloidal chitin by the chitinases secreted by these fungi [36]. The results of casein degradation by fungal strains indicate that they have proteolytic activity [19, 37]. *Trichoderma* spp. are well-known producers of degradative enzymes such as chitinases and proteases [38]. Chitinases and proteases are virulence factors that play an important role during insect infection [39] and a resistance mechanism provided by endophytic fungi to their host plants against phytopathogenic fungi [40]. Their production is a common feature of most entomopathogenic fungi [41] including *Trichoderma* spp. [36]. These fungi act by different mechanisms including wounding the peritrophic membrane of the insect's gut, which results in the inhibition of food intake and consequently leading to death [35]. Alternatively they break down the cuticle of insects [31] as well as inhibit phytopathogenic fungi by destroying their cell wall integrity [42]. The fungi produced a wide range of secondary metabolites that can contribute positively in an agricultural context against several pests [43]. Among them the acetylcholinesterase inhibitory molecules could be applied in agriculture to control insects and other arthropod pests [44], by acting against their nervous systems [45] and increasing their acetylcholine level which induces a repetitive activity of the neurons leading to the death of the insect [46]. In comparison with our study, a 70% mortality rate of *Helicoverpa armigera* Hub. larvae was recorded after a topical application of *Trichoderma*

harzianum Pers. culture filtrate (chitinase concentration of 2000 U ml/l) [35]. The endophytic fungus *Alternaria* sp. Cas 1 (JX177676) isolated from *R. communis* had a maximum acetylcholinesterase inhibitory activity rate of 78% [44]. Some studies have shown that different strains of *Trichoderma* spp. have a significant antifungal activity against *B. cinerea* [47]. Trichodermin (**137**) was obtained from the endophytic fungus *T. brevicompactum* 0248 isolated from *Allium sativum* L. which had a potent inhibitory activity against *Rhizoctonia solani* (EC50 of 0.25 mg/ml) and against *B. cinerea* (EC50 of 2.02 mg/ml) [48]. The endophytic fungus *T. koningiopsis* YIM PH30002 harbored in *P. notoginseng* Bur. was the source of koningin O (**131**), koningin Q (**132**) and 7-O-methylkoninginin D (**133**), and koningiopisin C (**134**). These compounds exhibited different antifungal activities against *F. oxysporum* woll and *P. cucumerina* [50]. Two compounds dichlorodiaportinolide (**135**) and dichlorodiaportin (**136**) obtained from the endophytic fungus *Trichoderma* sp. 09 isolated from the root of *M. bontioides* Sie & Zuc. showed different antifungal activities with MIC values ranging from 6.25 to 150 mg/ml against *C. musae* Arx and *R. solani* Kuh [50]. *T. koningiopsis* YIM PH30002 produced two koninginins R and S (**138–139**) which showed certain antifungal activities against *F. flocciferum* Cor. and *F. oxysporum* Sch. [51]. Ethyl acetate extracts of *Trichoderma* spp. isolates exhibited antimicrobial activity against *Vibrio* sp. Pac, *S. marcescens* Biz, *M. smegmatis* Trevi and *B. cereus* [52]. The harzianic acid (HA) and 6-pentyl-a-pyrone (6PP) showed an antifungal activity against the powdery mildew agent *U. necator* Schw [53]. *T. velutinum* ACR-P1 had a good antifungal activity against *F. oxysporum* Sch., *V. dahliae* Kleb, *A. alternata* Keis and *C. capsici* But & Bus [54].

Conclusion

In this study, we were able to highlight the antifungal; insecticidal and anti-acetylcholinesterase activities of the endophytic fungus *Trichoderma* sp. isolated from *R. communis* against *B. cinerea* and *L. migratoria*.

Three concentrations of the fungal extract (0.2, 0.3, and 0.4 g/l) were applied to test the insecticidal activity against *L. migratoria*, and it was found that the mortality of the targeted insects was positively proportional with concentration and time (24, 48, and 72hours). The concentration of 0.4 g/l was the most effective against these insects after 72 hours with a mortality rate of 56.52%.

Three other concentrations of the fungal extract (1, 2, and 3 g/l) were applied to test the antifungal activity against *B. cinerea*. The concentration of 3 g/l was the most effective against *B. cinerea* after 7 days with an inhibition rate of 92.06% (excellent antifungal activity). Moreover it was found that the endophytic fungus *Trichoderma* sp. extract had variable Ache inhibitory activity. The concentration 4 ug/ml was the most endowed with a maximum inhibition of Ache of 80%.

Preliminary phytochemical analyses revealed the presence of alkaloids, flavonoids, phenols and saponins and it was found that the colony of these endophytic fungi is a producer of chitinases and proteases which explains the action of its antifungal and insecticidal activities. These results demonstrate that the endophytic fungi *Trichoderma sp.* extract can be applied as a contact bioinsecticide and biofungicide against *L. migratoria* and *B. cinerea*.

References

- [1].Rahman, S.F.S.A; Singh, E; Pieterse, C.M.J; Schenk, P.M, Emerging microbial biocontrol strategies for plant pathogens, *Plant Science*, **2018**, 267, 102-111.
- [2].Popov, G.B.; Launois-Luong, M.H.; Van der veel, J.J, Les oothèques des criquets du Sahel. Ed. Cirad/Prifas, ‘Collection Acridologie Opérationnelle 7ème édition, Montpellier, **1990**, p. 153.
- [3].Lecoq M, Les criquets du sahel. Ed. Cirad/Prifas, ‘Collection Acridologie Opérationnelle 1ère édition, Montpellier, **1988**, p. 125.
- [4].Latchininsky, A.V, Locusts and remote sensing: a review. *Journal of Applied Remote Sensing*, **2013**, 7, 075-099.
- [5].Sangbaramou, R.; Camara, I.; Xin-zheng, H.; Shen, J.; Tan, S.; Shi, W, Behavioral thermoregulation in *Locusta migratoria manilensis* (Orthoptera: Acrididae) in response to the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Plos One*, **2018**, 13 (11), 1-19.
- [6].Williamson B.; Tudzynski B.; Tudzynski P.; Van kan A. A. L, *Botrytis cinerea*: the cause of grey mould disease. *Molecular plant pathology*, **2007**, 8 (5), 561-580.
- [7].Bolivar-Anillo, H.J; Garrido, C.; Collado, I.G, Endophytic microorganisms for biocontrol of the phytopathogenic fungus *Botrytis cinerea*, *Phytochemistry Reviews*, **2019**, 1-20.
- [8].Zhang, L.; Hunter, D, Management of locusts and grasshoppers in China. *Journal of Orthoptera Research*, **2017**, 26, 155.
- [9].Ali, A.; Ahmad, F.; Biondi, A.; Wang, Y.; Desneux, N, Potential for using *Datura alba* leaf extracts against two major stored grain pests, the khapra beetle *Trogoderma granarium* and the rice weevil *Sitophilus oryzae*, *Journal of Pest Science*, **2012**, 85, 359-366.
- [10].Pavela, R, Possibilities of botanical insecticide exploitation in plant protection, *Pest Technology*, **2007**, 1, 47-52.
- [11].Vega, F.E.; Goettel, M.S.; Blackwell, M.; Chandler, D.; Jackson, M.A.; Keller, S.; Koike, M.; Maniania, N.K.; Monzon, A.; Ownley, B.H.; Pell, J.K.; Rangel, D.E.N.; Roy, H.E, Fungal entomopathogens: new insights on their ecology, *Fungal Ecology*, **2009**, 2, 149-159.
- [12].Yan, D.H.; Song, X.; Li, H.; Luo, T.; Dou, G.; Strobel, G, Antifungal Activities of Volatile Secondary Metabolites of Four *Diaporthe* Strains Isolated from *Catharanthus roseus*. *Journal of Fungi*, **2018**, 4, 65.

- [13]. Aly, A.H.; Debbab, A.; Proksch, P, Fungal endophytes: unique plant inhabitants with great promises. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **2011**, *90* (6), 1829–1845.
- [14]. Ghorbanpour, M.; Omidvari, M.; Abbaszadeh-Dahaji, P.; Omidvar, R.; Kariman, K, Mechanisms underlying the protective effects of beneficial fungi against plant diseases. *Biological Control*, **2018**, *117*, 147-157.
- [15]. Harwoko, H.; Daletos, G.; Stuhldreier, F.; Lee, J, Wesselborg, S, Feldbrügge, M.; Müller, W.E.G; Kalscheuer, R; Ancheeva, E; Proksch, P, Dithiodiketopiperazine derivatives from endophytic fungi *Trichoderma harzianum* and *Epicoccum nigrum*. *Natural product research*, **2019**, *18*, 1-9.
- [16]. Ouedraogo, R.M.; Kamp, A.; Goettel, M.S.; Brodeur, J.; Bidochka, M.J, Attenuation of fungal infection in thermoregulating *Locusta migratoria* is accompanied by changes in hemolymph proteins. *Journal of Invertebrate Pathology*, **2002**, *81*, 19-24.
- [17]. Li, Y.L.; Xin, X.M.; Chang, Z.Y.; Shi, R.J.; Miao Z.M.; Ding J.; Hao G.P., The endophytic fungi of *Salvia miltiorrhiza* BGE. f. alba are a potential source of natural antioxidants. *Bot. Studies*, **2015**, *56*(1), 5.
- [18]. Dolatabad, H.K.; Nikkhah, M.J.; Shier, W.T, Evaluation of antifungal, phosphate solubilisation, and siderophore and chitinase release activities of endophytic fungi from *Pistacia vera*. *Mycology Progress*, **2017**, *16*(8), 777-790.
- [19]. Lopez-Illorca, L.V.; Carbonell, T.; Vidal, S.G., Degradation of insect cuticle by *Paecilomyces farinosus* proteases. *Mycological Progress*, **2002**, *1*(3), 249-256.
- [20]. Harborne, J.B., Phytochemical Methods. Chapman Hall, London, **1998**, 60-66.
- [21]. Ellman, G.L.; Courtney, K.D.; Andres, V.; Featherston, R.M., A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, **1961**, *7*, 88-95.
- [22]. Abdellatif, S.; Abdelrahman, S.M.; Deraz S.F., Promising antifungal effect of some folkloric medicinal plants collected from el-hammam habitat, Egypt against dangerous pathogenic and toxicogenic fungi. *ARPJN Journal of Agricultural and Biological Science*, **2011**, *6* (9), 26-32.
- [23]. Porras Alfaro, A., Bayman, P., Hidden fungi, emergent proprieties: endophytes and microbiomes. *Annual Review of Phytopathology*, **2011**, *49*, 291-315.
- [24]. Zhang, Z.B.; Zeng, Q.G.; Yan, R.M.; Wang, Y.; Zou, Z.R.; Zhu, D., Endophytic fungus *Cladosporium cladosporioides* LF70 from *Huperzia serrata* produces Huperzine A. *World Journal of Microbiology Biotechnology*, **2011**, *27*, 479-486.
- [25]. Breen, J.P, Enhanced resistance to fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) in *Acremonium* endophyteinfected turfgrasses. *Journal of Economic Entomology*, **1993**, *86*, 621-629.
- [26]. Clement, S. L.; Elberson, L. R.; Bosque-Perez, N. A.; Schotzko, D. J., Detrimental and neutral effects of wild barley – *Neotyphodium* fungal endophyte associations on insect survival. *Entomologia Experimentalis et*

Applicata, **2005**, *114*, 119-125.

[27].Reinhold-Hurek, B., Hurek T., Living inside plants:bacterial endophytes. *Current Opinion in Plant Biology*, **2011**, *14*, 435-44.

[28].Strobel, G.A., Endophytes as source of bioactive products. *Microbes Infection*, **2003**, *5*, 535-544.

[29].Mantzoukas, S.; Lagogiannis, I., Endophytic Colonization of Pepper (*Capsicum annum*) Controls Aphids (*Myzus persicae* Sulzer). *Applied Sciences*, **2019**, *9*, 2239, 1-12.

[30].Nisa, H.; Kamili, AN.; Nawchoo, I.A.; Shafi, S.; Shameem, N.; Bandh S.A, Fungal endophytes as prolific source of phytochemicals and other bioactive natural products: a review. *Microb.Pathogen.*, **2015**, *82*, 50-59.

[31].Pérez, L.D.S.; Florido, J.E.B.; Navarro, S.R.; Mayagoitia, J.F.C.; López, M.A.R., Enzymes of Entomopathogenic Fungi, Advances and Insights. *Advances in Enzyme Research*, **2014**, *2*, 65-76.

[32].Tiwari, P.; Kumar, B.; Kaur, M.; Kaur, G.; Kaur, H., Phytochemical screening and Extraction: A Review. *Internationale pharmaceutica scientia*, **2011**,*1*, 98-106.

[33].Coutiño, L.R.; Marquez, J.E.; Peter, M.G.; Shirai, K., The effect of pH on the production of chitinolytic enzymes of *Verticillium fungicola* in submerged cultures. *Bioresource Technology*, **2010**, *101*, 9236-9240.

[34].Kitamura, E.; Kamei, Y., Molecular cloning, sequencing and expression of the gene encoding a novel chitinase A from marine bacterium, *Pseudomonas sp.* PE2, and its domain structure. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **2003**, *61*, 140-149.

[35].Binod, P.; Sukumaran, R.K.; Shirke, S.V.; Rajput, J.C.; Pandey, A., Evaluation of fungal culture filtrate containing chitinase as a biocontrol agent against *Helicoverpa armigera*. *Journal of Applied Microbiology*, **2007**, *103*, 1845-1852.

[36].Agrawal, T.; Kotasthane, A.S., Chitinolytic assay of indigenous *Trichoderma* isolates collected from different geographical locations of Chhattisgarh in Central India. *Springer Plus*, **2012**, *1*, 73.

[37].Sapna Bai, N.; Remadevi, O.K.; Sasidharan, T.O.; Balachander, M.; Dharmarajan, P., cuticle degrading enzyme production by some isolates of the entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae* (Metsch.). *Journal of Biosciences*, **2012**, *20*, 25-32.

[38].Di Pietro, A.; Lorito, M.; Hayes, C.K.; Broadway, R.M.; Harman, G.E., Endochitinases from *Gliocladium virens*: isolation, characterization and synergistic antifungal activity in combination with gliotoxin. *Phytopathology*, **1993**, *83*, 308-313.

[39].Seidl, V., Chitinases of filamentous fungi: a large group of diverse proteins with multiple physiological functions. *Fungal Biology Reviews*, **2008**, *22*, 36-42.

[40].Tan, R.X; Zou, W.X., Endophytes: a rich source of functional metabolites. *Natural Product Reports*, **2001**, *18*, 448-459.

- [41].Yang, J.; Tian, B.; Liang, L.; Zhang, K.Q., Extracellular enzymes and the pathogenesis of nematophagous fungi. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **2007**, *75*(1), 21-31.
- [42].Howell, C.R, Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. *Plant Disease*, **2003**, *87*, 4-10.
- [43].Johnson, R.D.; Akagi Y.; Fleetwood, D.J; Gardiner, D.M.; Kodama, M.; Young, C.; Voisey, C.R., Fungal Toxins of Agricultural Importance. In: Kempken, F. (Ed). *Agricultural Applications*. **2013**, 75-99.
- [44].Singh, B.; Thakur, A.; Kaur, S.; Chadha, B.S.; Kaur, A., Acetylcholinesterase Inhibitory Potential and Insecticidal Activity of an Endophytic *Alternaria* sp. from *Ricinus communis*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, **2012**, *168*, 991-1002.
- [45].Singh, B.; Bhagat, J.; Chadha, B.S.; Kaur, A., Cholinesterase inhibitory potential of different *Alternaria* spp. and their phylogenetic relationships. *Biologia*, **2014**, *69*(1), 10-14.
- [46].Champ P., Mode d'action et utilisation des organophosphorés. Mode d'action et utilisation des insecticides: Insectes, insecticides, santé. Paris, **1985**, 207-223.
- [47].Demirci, E.; Dane, E.; Eken, C., *In vitro* antagonistic activity of fungi isolated from sclerotia on potato tubers against *Rhizoctonia solani*. *Turkish Journal of Biology*, **2011**, *35*, 457-462.
- [48].Shentu, X.; Zhan, X.; Ma, Z.; Yu, X.; Zhang, C., Antifungal activity of metabolites of the endophytic fungus *Trichoderma brevicompactum* from garlic. *Brazilian Journal of Microbiology*, **2014**, *45*, 248-254.
- [49].Liu, K.; Yang, Y.; Miao, C.P.; Zheng, Y.K.; Chen, J.L.; Chen, Y.W.; Xu, L.H.; Guang, H.L.; Ding, Z.T.; Zhao, L.X., Koningiopsisins A-H, polyketides with synergistic antifungal activities from the endophytic fungus *Trichoderma koningiopsis*. *Planta Medica*, **2016**, *82*, 371-376.
- [50].Li, W.; Xu, J.; Li, F.; Xu, L.; Li, C., A New antifungal isocoumarin from the endophytic fungus *Trichoderma* sp. 09 of *Myoporium bontioides* A. Gray. *Pharmacognocny Magazine*, **2016**, *12*, 259-261.
- [51].Hu, M.; Li, Q.L.; Yang, Y.B.; Liu, K.; Miao, C.P.; Zhao, L.X.; Ding, Z.T., Koninginins R-S from the endophytic fungus *Trichoderma koningiopsis*. *Natural Products Research*, **2017**, *31*, 835-839.
- [52].Karaoglu, S.A.; Bozdeveci, A.; Pehlivan, N., Characterization of Local *Trichoderma* spp. as Potential Bio-Control Agents, Screening of *in vitro* Antagonistic Activities and Fungicide Tolerance. *Hacettepe Journal of Biology & Chemistry*, **2018**, *46* (2), 247-261.
- [53].Pascale, A.; Vinale, F.; Manganiello, G.; Nigro, M.; Lanzuise, S.; Ruocco, M.; Marra, R.; Lombardi, N.; Woo, S.L.; Lorito, M., *Trichoderma* and its secondary metabolites improve yield and quality of grapes. *Crop Protection*, **2017**, *92*, 176-181.
- [54].Sharma, R.; Magotra, A.; Manhasa, R.S.; Chaubey, A., Antagonistic potential of a psychrotrophic fungus: *Trichoderma velutinum* ACR-P1, *Biological Control*, **2017**, *115*, 12-17.



The endophytic fungus, *Alternaria tenuissima* isolated from the leaves of common castor bean *Ricinus communis* L. as biocontrol tool against *Locusta migratoria* L

Laib Djamel Eddine^{1,2*}, Benzara Abdelmadjid², Boulaouad belkacem Aimene³, Akkal Salah⁴

¹ Department of Agronomy, University of 20 august 1955, Skikda, Algeria

² Department of Agriculture and Forestry Zoology, National Agronomic Institute, El-Harrach Algiers, Algeria

³ University of Bordj Bou Arreridj, El Anceur, Algeria

⁴ Department of Chemistry, Valorization of Natural Resources, Bioactive Molecules and Biological Analysis Unit, University of Mentouri Constantine 1, Constantine, Algeria

Abstract

The present study aimed to investigate the insecticidal activity of the endophytic fungus, *A. tenuissima*, isolated from the leaves of common castor bean *R. communis*. To evaluate the insecticidal activity, ten concentrations (0.2 to 2 g/L) of the fungal extract were applied by contact and ingestion against *L. migratoria*.

The results showed that the fungal extract had variable insecticidal activities that depended on the concentration used and time after treatment. The most effective concentration against the insects was 2 g/L, with a maximum mortality rates of 73, 91 % and 100 % for *L. migratoria* upon contact and ingestion treatments, respectively.

The LC50 values indicated that the fungal extract was toxic against the insects with LC50 values ranging from 0.56 to 1.39 for *L. migratoria* contact treatment and from 0.803 to 1.321 for *L. migratoria* ingestion treatment.

Chemical analysis of the fungal extract revealed the presence of polyphenols, alkaloids, terpenoids, saponins, and tannins as the metabolites responsible for these activities. Attenuated total reflection-Fourier transform infrared analysis of the fungal extract revealed the presence of sulfone, nitro, imine, enol ether, alkyne, and hydroxyl groups.

Specifically, GC-MS-MS analysis revealed the presence of many insecticidal volatiles for both fungal extract and colony.

Keywords: insecticidal activity, *L. migratoria*, endophytic fungi, *Alternaria tenuissima*

Introduction

Many insects are responsible for significant crop losses worldwide (Rahman *et al.*, 2018) [20]. Among them, the migratory locust, *Locusta migratoria* (Linnaeus, 1758) (Orthoptera: Acrididae), whose gregarious phase is under the influence of population density, is a bio-aggressor with a polyphagous diet (Le Gall *et al.*, 2019) [15] ample ecological plasticity, and a large geographical distribution, all of which lead to the formation of spectacular swarms responsible for considerable crop damage (Sangbaramou *et al.*, 2018). Conventional control methods against the aforementioned pest predominantly consist of the application of considerable amounts of chemical pesticides (Shuping & Eloff, 2017; Zhang & lecoq, 2021) [26, 35]. These chemicals are cost-effective and efficient, but their excessive use has created severe problems, such as resistance, environmental pollution, and adverse effects on human health (Shuping & Eloff, 2017; Berestetskiy & Hu, 2021) [26, 35]. Therefore, finding alternatives that show an acceptable degree of effectiveness, given the requirements dictated by the market and consumer preference as well as government regulations for crop protection without disregarding environmental and human health hazards while ensuring economically efficient agriculture, has become an issue of predominant importance (Zhang & Lecoq, 2021) [35]. Among such alternatives, endophytic fungi that colonize the tissues of their host plants without apparent symptoms of infection provide an attractive and promising option for plant protection against insect pests and phytopathogenic fungi due to their

production of bioactive secondary metabolites belonging to various structural groups with unusual chemical diversity and a broad spectrum of biological activities (Yan *et al.*, 2018; Toghueo, 2019; Kaur, 2020) [31, 29, 12]. Accordingly, the present study aimed to investigate the insecticidal activity of the extract obtained from the endophytic fungus, *A. tenuissima*, isolated from the leaves of common castor bean *R. communis* against *L. migratoria*.

Material and Methods

Biological material

Leaves of *R. communis* were collected with a scalpel from five healthy plants within a natural vegetation community in the region of Beni Bechir, Skikda, Algeria (36°46'20"N; 6°57'30"E) and transported to the laboratory in February 2019.

L. migratoria is a potential pest of many crops in Algeria, and these insects were collected in August 2019 from the same region as was *R. communis*.

Insects breeding

Insects were bred under laboratory conditions to maintain a sufficient number of *L. migratoria* individuals to conduct our experiments. As described by Ouedraogo *et al.* (2002) [19], *L. Migratoria* individuals were bred in a wooden breeding cage (50 cm³) covered with a tulle to ensure aeration and avoid moisture condensation (maximum 50–60% humidity), which causes epizootics in *L. migratoria*, and provided a sliding door to allow the various necessary

manipulations. The bottom of the cage consisted of nesting boxes filled with peat (~66%) and river sand (~33%); these materials were sterilized and humidified to 10% moisture content to allow the recovery of oothecae. *L. migratoria* individuals were fed fresh wheat leaves. Lighting and heat (30±1°C) in the cage were provided continuously for 12 h/day using a 60-watt incandescent bulb, which allowed the insects to thermoregulate and attain their optimal temperature for molting and laying eggs.

Submerged fermentation and production of the fungal extract.

This step was conducted following a previous method (Dolatabad *et al.*, 2017) [5] with slight modifications. Agar discs with associated mycelium of the endophytic fungus were placed in 250 ml flasks containing 50 ml of PDB medium and closed to disallow contamination. The cultures were incubated for 21 days at 25±2°C and shaken back and forth each hour on a mechanical shaker. After 21 days, the mycelia of the endophytic fungus were separated from the medium by filtration through Whatman No. 1 filter paper. The filtrate was mixed for 15 minutes with an equal volume of ethyl acetate and let to stand for 10 minutes to separate it into the two immiscible organic and aqueous layers. Then the ethyl acetate was evaporated employing a rotary evaporator. The concentrated fungal extract was subjected to freeze-drying in a lyophilizer (Virtis) till dry powder was acquired. Each 1 mg of the fungal extract was dissolved in 1 ml of methanol followed by filtration through Varian Bond Elute C18 solid-phase extraction to remove impurities.

Insecticidal activity of the fungal extract

Direct spray and forced ingestion treatments were applied to adults of *L. migratoria* at a rate of five insects per plastic box. Ten doses of fungal extracts (0. 2;0. 3;0. 4;0. 5;0. 6;0. 7;0. 8;1;1, 2;1, 4;1, 6;1, 8 and 2g/L) were employed, including five replicates per concentration and five replicates that were treated with distilled water, as controls. The mortality rate (in percentage) was calculated for each treatment after during 7 days and corrected using Abbott's formula Abbott (1925) [11].

$$\text{Corrected Mortality (\%)} = \frac{\text{Test mortality (\%)} - \text{Control mortality (\%)}}{100 - \text{Control mortality (\%)}}$$

Chemical analyses of the fungal extract

Detection of the major classic of metabolites was conducted using previously described techniques by Harborne (1998) [10]. Extract was dissolved individually in dilute HCL and filtered then treated with K₂HgI₄. The formation of a yellow colored precipitate demonstrated the presence of alkaloids. For the detection of flavonoids, the extract was treated with a few drops of NaOH solution. The formation of intense yellow color, which became colorless upon the addition of dilute HCL, demonstrated the presence of flavonoids. For the detection of phenols the fungal extract was dissolved in 5 ml of distilled H₂O and a few drops of 5% FeCl₃ solution were added. A dark green color indicated the presence of phenolic compounds. For the saponins the fungal extract was vigorously shaken with distilled H₂O and was then allowed to stand for 10 minutes, formation of a fairly stable emulsion indicated the presence of saponins. For detection of tannins, the crude fungal extract was treated with an alcoholic FeCl₃ reagent, and a bluish-black color that

disappeared upon the addition of a little dilute H₂SO₄ followed by the formation of a yellowish-brown precipitate indicated the presence of tannins.

Attenuated total reflection (ATR)-Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy analysis of the fungal extract samples.

Samples (1mg) of the fungal extract were analyzed by ATR-FTIR spectroscopy using a Cary-630 series FTIR spectrometer (Agilent Technologies, Santa Clara, California) with an ATR (MIRacle™ single reflection ATR) configured with a diamond (Di) IRE plate (PIKE Technologies, Fitchburg, Wisconsin). For data acquisition, eight scans were performed between 4000 and 650cm⁻¹, with a resolution of 4 cm⁻¹. The background spectrum was automatically subtracted using the Resolution Pro version 5.0 software (Agilent Technologies) for each sample spectrum (Sala *et al.*, 2020) [21].

Analysis of volatile components of the fungal extract

GC-MS analysis of the volatile components of the fungal extract was carried out using a Shimadzu GC-MS-QP2020 NX apparatus coupled with a fused silica capillary column. The GC-MS instrument was employed as previously illustrated by Senthilkumar *et al.* (2014) [23].

The instrument was put at an initial temperature of 110 °C and held at this temperature for 2 minutes. Next, the temperature was gradually increased to 280 °C at a rate of 5 °C/min and kept at that point for 9 min; the temperature of the injection port was kept at 250 °C and the helium carrier gas flow rate was set at 1 mL/min. Finally, the ionization voltage was set to 70 eV before 1 µL of each sample/1mL of methanol was injected, and the mass spectrum scan range was set to 45-450 (m/z). The generated GC-MS mass spectrum data were interpreted using the National Institute of Standards and Technology (NIST) database. The name, molecular weight, and molecular formula of the volatile components were determined.

Analysis of volatile components of the fungal colony

The analysis of the volatile components produced by the fungal hyphae of the endophytic fungus *A. tenuissima* was carried out using a previously described technique by Fiers *et al.* (2013) [9]. 50µL of a fungal spores solution (2X10⁷ spores / mL) was placed in 20 mL sloped solid -phase micro-extraction (SPME) vials containing 7 mL of PDA medium, closed to disallow contamination and incubated in an oven at 23 °C. Each micro-extraction vial was placed before collection in a 25 °C water bath for 10 minutes to concentrate the volatile compounds in the headspace of the vial, Then SPME fibers were set inside the micro-extraction vials for 20 minutes to extract the volatile compounds produced by the fungal hyphes. The instrument (GC-MS-MS) was put to an initial temperature of 100 °C and held at this temperature for 1 minute, then the temperature was gradually increased to 250 °C (35 °C for 2 minutes, 5 °C / min up to 155 °C, 20 °C / min up to 250 °C and 250 °C for 10 minutes). The temperature of the injection port was kept at 250 °C and the helium flow rate at 1.5 mL / min, the ionization voltage was at 70 eV. Finally SPME fibers were put in the injection port of the GC-MS instrument and the mass spectrum scan range was set to 45-450 (m/z). The generated GC-MS mass spectrum data were interpreted using the National Institute of Standards and Technology

(NIST) database. The name, molecular weight, and molecular formula of the volatile components were determined.

Statistical data analysis

An analysis of variance (ANOVA) and Tukey’s (HSD) test (with a confidence interval of 95%) were performed to compare corrected mortality means and ranks these results into homogeneous groups. The corrected mortality was subjected to probit analysis to obtain the (LC50) values, which were estimated using a binomial model with a complementary log-log link function. The data from the time-mortality (survival) bioassays were subjected to a non-parametric survival analysis using Kaplan-Meier estimators to obtain the median survival time (LT 50). Similarly, the statistical heat maps of recorded mortality (insecticidal activity) under different concentrations were carried out. All statistical data analyzes were carried out using the XLSTAT

2019 software (Addinsoft, 2019. XLSTAT Statistical Data Analysis Solution, Paris, France).

Results and Discussion

Results

Insecticidal activity of the fungal extract

The fungal extract showed an insecticidal activity that varied with the concentration used and the time after treatment. Thus, the most effective concentration against the insects was 2 g/L, The maximum mortality rates were 73, 91 % and 100 % after 7 days of treatment for *L. migratoria* upon contact and ingestion treatments, respectively figures (1, 2). The capital letters indicate a significant difference among insecticidal activity of different concentrations of the extract on different days (at 0.05 significance level). The lowercase letters indicate significant differences among insecticidal activity at different concentrations of the extract on the same day (at 0.05 significance level).

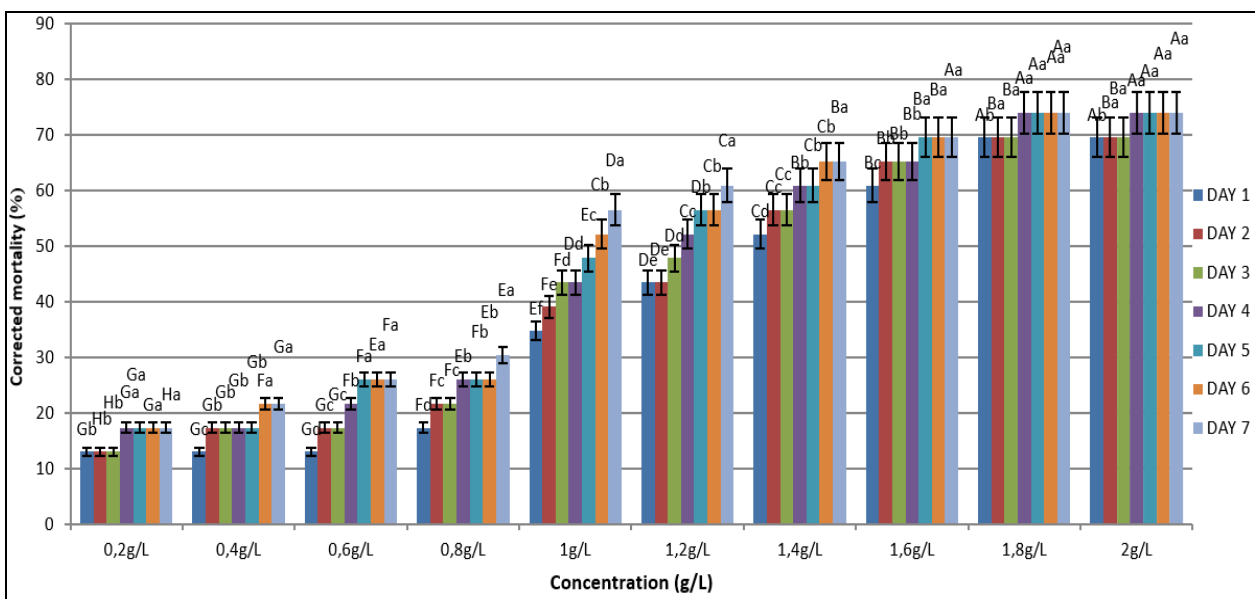


Fig 1: Corrected mortality recorded after contact treatment of *L. migratoria* with *Alternaria tenuissima* extract.

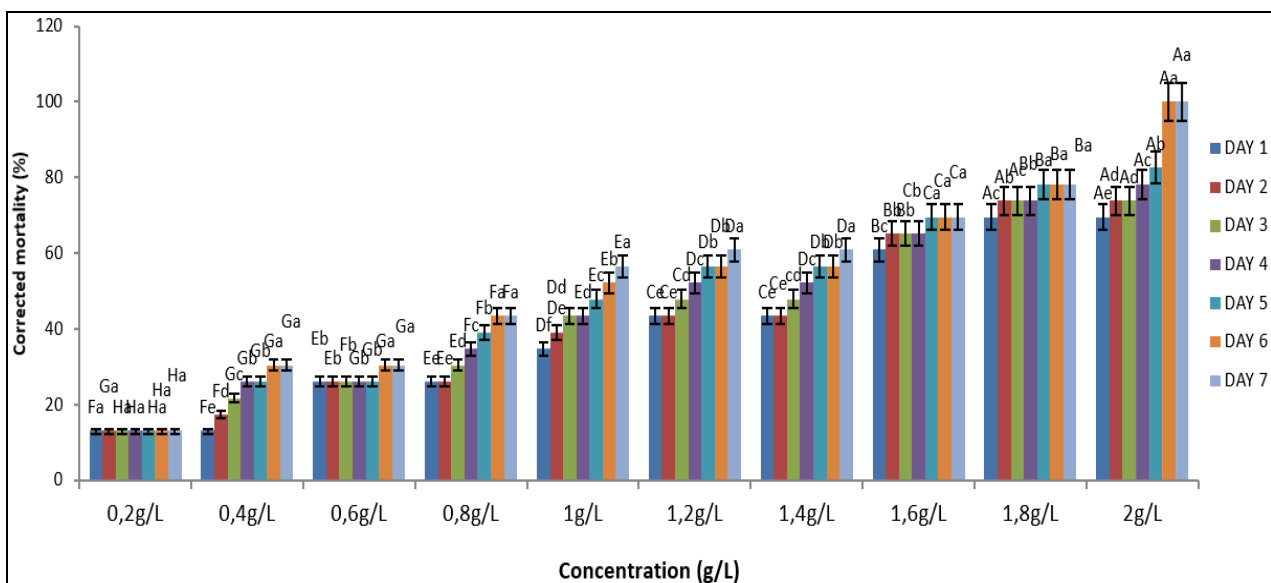


Fig 2: Corrected mortality recorded after ingestion treatment of *L. migratoria* with *Alternaria tenuissima* extract.

The gradual transition of the heat map from green to red correlates with an increase in the mortality of insects from

low to high. The most effective concentration against the insects was 2 g/L. figures (3, 4).

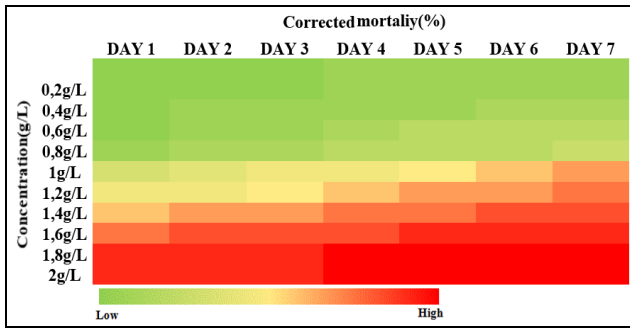


Fig 3: Statistical heat map of insecticidal activity under different concentrations of the fungal extract for various exposure duration (contact treatment).

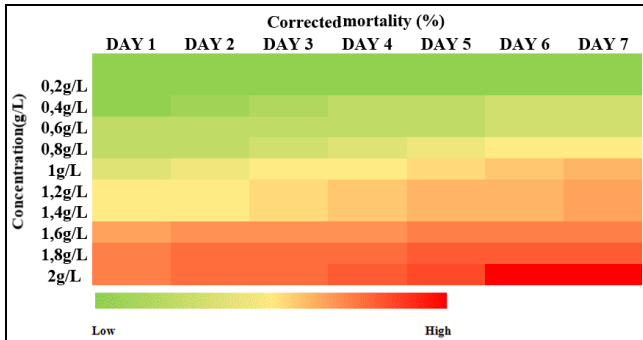


Fig 4: Statistical heat map of insecticidal activity under different concentrations of the fungal extract for various exposure duration (ingestion treatment).

In addition to the mortalities recorded in *L. migratoria* after the application of the fungal extract, a reduction in motor activity, intense defecation, and unusual water loss in the form of diarrhea were observed in the treated locusts. The application of these extracts also caused a change in the pigmentation of the locust bodies to a red color after the contact treatment and the appearance of black color in the abdomen upon the ingestion treatment (figure. 5)



Fig 5: Effect of extract obtained from the endophytic fungus *Alternaria tenuissima*. A. Contact treatment against *L. migratoria*. B. Ingestion treatment against *L. migratoria*.

The LC50 values indicated that the fungal extract was toxic against the insects with LC50 values ranging from 0, 56 to 1, 39 for *L. migratoria* contact treatment and from 0, 803 to 1, 321 for *L. migratoria* ingestion treatment (Table. 1).

Table 1: Lethal concentration 50 of the fungal extract under different exposure times of *L. migratoria*

Day	LC ₅₀ Contact treatment of <i>L.migratoria</i> . (g/L)	LC ₅₀ Ingestion treatment of <i>L.migratoria</i> . (g/L)
1	1,39±0,03	1,321±0,03
2	1,27±0,08	1,202±0,08
3	1,23±0,04	1,174±0,04
4	1,10±0,02	1,047±0,02
5	1,04±0,07	0,9±0,05
6	0,99±0,03	0,812±0,09
7	0,562±0,03	0,803±0,06

The mean survival times (LT50) were ranging from 4, 914 to 6, 187 days for *L. migratoria* contact treatment and from 6, 187 to 6, 818 days for *L. migratoria* ingestion treatment (Table. 2)

Table 2: Lethal time 50 of *L. migratoria* treatments.

Concentration (g/L)	LT ₅₀ Contact treatment of <i>L.migratoria</i> . (days)	LT ₅₀ ingestion treatment(g/L) of <i>L.migratoria</i> (days)
0,2	6,187±0,329	6,818±0,329
0,4	6,187±0,329	6,187±0,329
0,6	6,187±0,329	5,889±0,333
0,8	6,187±0,329	5,889±0,333
1	5,352±0,361	5,435±0,365
1,2	5,036±0,368	5,352±0,361
1,4	4,914±0,377	4,799±0,363
1,6	4,914±0,377	4,799±0,363
1,8	4,914±0,377	4,720±0,358
2	4,914±0,377	4,678±0,350

Chemical analysis of the fungal extract

Chemical analysis of the fungal extract revealed the presence of polyphenols, alkaloids, terpenoids, saponins, and tannins.

ATR-FTIR spectroscopy-based analyses of the extract

The results of FTIR-ATR analysis of the *A. tenuissima* extract revealed the presence of sulfone (1100-1150 cm⁻¹), nitro (1250-1400 cm⁻¹), imine (1480-1690 cm⁻¹), enol ether (1600-1660 cm⁻¹), alkyne (2100–2300 cm⁻¹), and hydroxyl (3300–3500 cm⁻¹) groups (Figure. 6).

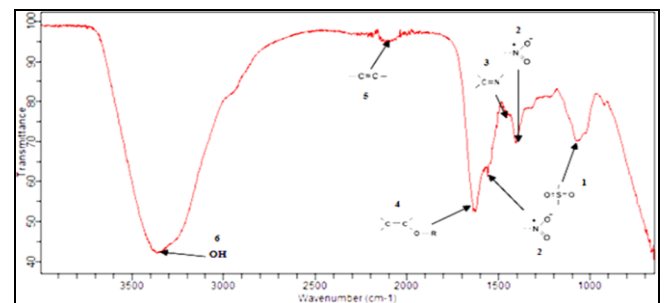
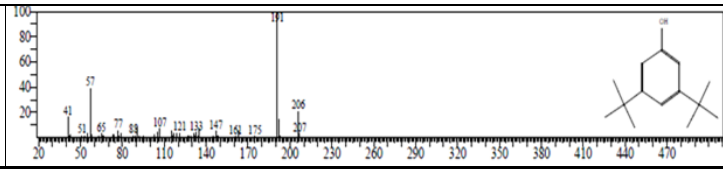
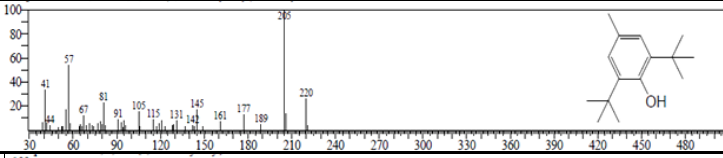
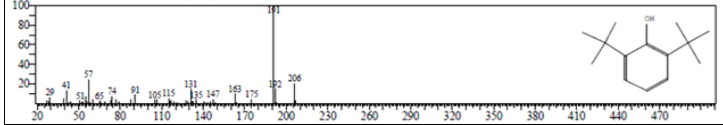


Fig 6: FTIR-ATR analysis of the extract obtained from the endophytic fungus *Alternaria tenuissima*. 1. sulfone group, 2. Nitro group, 3. Imine group, 4. enol ether group, 5. Alkyne group, 6 hydroxyl group.

Analysis of volatile components found in fungal extract and produced by fungal hyphae of *A. tenuissima*.

GC-MS-MS analysis results indicated the presence of different volatile secondary metabolites with insecticidal activities (Table. 3).

Table 3: Volatile secondary metabolites of *A. tenuissima* extract with insecticidal activities.

Volatil compound	Formula	Molecular weight (g/Mol)	Obtained Chromatogram	Activity	References
Phénol, 3,5-bis (1,1-diméthyléthyl) -	C ₁₄ H ₂₂ O	206		Insecticidal	(Zhao <i>et al.</i> , 2020) ^[36]
Phénol, 2,6-bis (1,1-diméthyléthyl) - 4-méthyl-	C ₁₅ H ₂₄ O	220			
2,6-Di-tert-butyl-4-méthyl-phénol	C ₁₅ H ₂₄ O	220			

Discussion

Endophytic fungi occupied the internal tissues of their host plants without any apparent symptoms of infection (Kaur, 2020). They confer host resistance against insect pests by producing specific bioactive volatile and non-volatile secondary metabolites (El-Sayed *et al.*, 2020)^[7].

Among non-volatile secondary metabolites, many alkaloids are toxic and appear to serve primarily as a component of the plant defense mechanism against various herbivorous insects through their deterrent and anti-food or toxicity effects (Taye & Borkataki, 2020)^[28].

Phenolic compounds are defensive compounds that exert a toxic effect on insects upon ingestion (Kortbeek *et al.*, 2019)^[19].

Saponins are known insecticides, deterrents, molt disruptors, and regulators of insect growth. Their mechanism of action involves interaction with cholesterol, which disrupts the ecdysteroid synthesis. Additionally, they act as protease inhibitors and are reportedly cytotoxic to some insects (Hussain *et al.*, 2019)^[11].

Tannins are toxins that affect insect growth and development by acting as food deterrents against many insect pests (Taye & Borkataki, 2020)^[28].

And terpenoids which are involved in inhibiting insect steroid-receptor activity, which allows the cell to sense the presence of hormones and generally show insect-repellent activity, preventing or reducing plant-insect contact as well as the transmission of viral diseases and reportedly involved in plant defense responses as toxins and deterrents against numerous insect pests (Kortbeek *et al.*, 2019; Clouse, 2011)^[14, 4].

Detection of hydroxyl groups by FTIR-ATR has confirmed the presence of phenols and tannins in fungal extracts (Sharaf *et al.*, 2013)^[25].

Imines and their derivatives have long been acknowledged as key intermediates in the synthesis of nitrogenous heterocyclic compounds, especially in the field of alkaloid synthesis (Lv *et al.*, 2021)^[17].

Therefore, the detection of these compounds by FTIR-ATR confirmed the presence of alkaloids in the fungal extract. Similarly, the detection of alcohol groups by FTIR-ATR confirmed the presence of saponins in the fungal extract, as reported previously by (Veiga *et al.*, 2018)^[30].

Sulfones are organosulfur compounds that have been previously investigated due to their importance as synthetic

intermediates for the production of a wide range of chemically and biologically active molecules with insecticidal properties (Yu *et al.*, 2016)^[33].

Many alkyne derivatives are key intermediates in the synthesis of numerous insecticides, Among them neurotoxic pyrethroids act at low doses on the central nervous system of insects by blocking their sodium channels and causing a lack of nervous tone and ultimately the death of the insects (Soderlund, 2012)^[27].

The nitro group is considered an exceptional functional group in chemistry, and it is commonly used in the production of agricultural chemicals such as fungicides, insecticides (Nishiwaki, 2020)^[18].

Enol ethers are also intermediates in the synthesis of many insecticidal products (Liu *et al.*, 2015)^[16].

In addition to the mortalities recorded in *L. migratoria* after the application of the fungal extract, a reduction in motor activity, intense defecation, and unusual water loss in the form of diarrhea were observed in the treated locusts. These observed signs of intoxication are certainly attributable to the fungal extract treatment (Kemassi *et al.*, 2018)^[13].

The application of these extracts also caused a change in the pigmentation of the locust bodies to a red color after the contact treatment and the appearance of a black color in the abdomen (location of the digestive tract) upon the ingestion treatment. The pigment responsible for the red color in the cuticle of locusts is β -carotene; thus, the red color observed after treatment is due to excess production of this pigment (Yang *et al.*, 2019)^[32]. The black pigmentation of the digestive tract is due to the presence of specific melanin (Chauvin, 1956)^[3].

However, the dark black color of the abdomen observed after treatment is due to excess melanization caused by intestinal toxicity, lack of nervous tone due to the harmful effects of the fungal extract on the central nervous system, distension, and cellular necrosis, and a physiological reaction of the insects whereby they attempt to heal the wounds in the intestine, which can no longer fulfill its role of absorption and assimilation of the nutrients, causing protein and lipid deficiency and ultimately the death of the insects (Shamim *et al.*, 2014)^[24].

In comparison with studies on the insecticidal activity of secondary metabolites produced by endophytic fungi. The compound 6, 8-di-O-methylbipolarin produced by *Acremonium vitellinum* exhibited a good larvicidal activity

against the third instar larvae of *H. armigera* with an LC50 value of 0.72 mg/mL (Yuan *et al.*, 2020)^[34].

The endophytic fungi *C. lunata* MRDS 302 showed excellent insecticidal activity against *S. cretica* first instar larvae with a maximum mortality rate of 100 % (EL-Lebody *et al.*, 2021)^[8].

Among the volatile substances with insecticidal activity, 2, 4-di-tert-butylphenol analogs are highly important (Zhao *et al.*, 2020)^[36].

These results show that the endophytic fungus *A. tenuissima* is an excellent source of volatile and non-volatile secondary metabolites with insecticidal activity against *L. migratoria*.

Conclusion

The present study aimed to investigate the insecticidal activity of the endophytic fungus, *Alternaria tenuissima*, isolated from the leaves of common castor bean *Ricinus communis*. To evaluate the insecticidal activity, ten concentrations of the fungal extract were applied by contact and ingestion against *Locusta migratoria*.

The results showed that the fungal extract had variable insecticidal activities that depended on the concentration used and time after treatment. Chemical analysis of the fungal extract revealed the presence of polyphenols that exert a toxic effect on insects upon ingestion, alkaloids with deterrent and anti-food or toxicity effects, terpenoids with well known insecticidal activity, saponins as insecticides, deterrents, molt disruptors, and regulators of insect growth, and tannins that affect insect growth and development by acting as food deterrents against many insect pests. Attenuated total reflection-Fourier transform infrared analysis of the fungal extract revealed the presence of many groups commonly used in the production of insecticides. Specifically, GC-MS analysis revealed the presence of volatile substances with insecticidal activities. These results show that the fungal extract of *A. tenuissima* is an excellent source of volatile and non-volatile secondary metabolites with insecticidal activity.

References

- Abbott WS. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*,1925;18:265-267. <https://doi.org/10.1093/jee/18.2.265a>.
- Berestetskiy A, Hu Q. The Chemical Ecology Approach to Reveal Fungal Metabolites for Arthropod Pest Management. *Microorganisms*,2021;9:1379. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9071379>.
- Chauvin R. *Physiologie des insectes. Le comportement, les grandes fonctions, écophysiologie.* Paris, Fr:Edition INRA, 1956.
- Clouse SD. Brassinosteroid signal transduction:From receptor kinase activation to transcriptional networks regulating plant development *The Plant Cell*,2011;23(4):1219-1230. doi: 10.1105/tpc.111.084475.
- Dolatabad HK, Nikkhal MJ, Shier WT. Evaluation of antifungal, phosphate solubilisation, and siderophore and chitinase release activities of endophytic fungi from *Pistacia vera*. *Mycology Progress*,2017;16(8):777-790. <https://doi.org/10.1007/s11557-017-1315-z>
- EL Lebody KA, Maali SS, EL-Metwally FE, Moustafa HZ, Abd-Elaziz MAA. Isolation and pathogenicity of endophytic fungi associated with some maize hybrids against certain Lepidoptera pests. *Egyptian Journal of Agricultural Research*,2021;99(1):49-60. Doi:10.21608/ejar.2021.58352.1073
- El-Sayed ASA, Moustafa AH, El-Sheikh AA, Rady AM, Fathy NAM, Hussein *et al.* Efficient biocontrol of *Spodoptera littoralis* by *Aspergillus nidulans*, an endophyte of *Lantana camara*. *International journal of pest management*, 2020, 1-8. <https://doi.org/10.1080/09670874.2020.1771472>.
- EL Lebody KA, Maali SS, EL-Metwally FE, Moustafa HZ, Abd-Elaziz MAA. Isolation and pathogenicity of endophytic fungi associated with some maize hybrids against certain Lepidoptera pests. *Egyptian Journal of Agricultural Research*,2021;99(1):49-60. Doi:10.21608/ejar.2021.58352.1073
- Fiers M, Lognay G, Fauconnier ML, Jijakli H. Volatile Compound-Mediated Interactions between Barley and Pathogenic Fungi in the Soil, *PLoS ONE*,2013;8(6):e66805.
- Harborne JB. *Phytochemical Methods A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis.* 3th ed, Netherlands: Springer Netherlands, 1998.
- Hussain M, Debnath B, Qasim M, Bamisile BS, Hameed MS, Wang L *et al.* Role of Saponins in Plant Defense Against Specialist Herbivores, *Molecules*,2019;24:2067 doi:10.3390/molecules24112067.
- Kaur T. Fungal Endophyte-Host Plant Interactions: Role in Sustainable Agriculture Fungal. *Sustainable Crop Production*, 2020, 1-10. doi: <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.92367>.
- Kemassi A, Boual Z, Hadjseyd A, Bouziane Nawal, Herouini Amel, Mensouri K *et al.* Effets biotoxiques des extraits de *cleome arabica* l. (capparidaceae) sur le criquet pelrin *schistocerca gregaria* (forskål, 1775) (orthoptera, acrididae). *Algerian journal of arid environment*,2018;8(2):79-98.
- Kortbeek RWJ, Van der Gragt M, Bleeker PM. Endogenous plant metabolites against insects. *European Journal of Plant Pathology*,2019;154:67-90. <https://doi.org/10.1007/s10658-018-1540-6>.
- Le Gall M, Overson R, Cease A. A Global Review on Locusts (Orthoptera: Acrididae) and Their Interactions With Livestock Grazing Practices. *Frontiers in Ecology and Evolution*2019;7:263. doi:10.3389/fevo.2019.00263.
- Liu A, Yu W, Liu M, Bai J, Liu W, Liu X *et al.* Synthesis and Insecticidal Activity of Novel Nitropyridyl-Based Dichloropropene Ethers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*,2015;63:7469-7475. doi:10.1021/acs.jafc.5b02279.
- Lv M, Ma Q, Zhang S, Xu H. Agrochemical properties evaluation of some imines alkaloids of matrine/oxymatrine. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*,2021;48:128246. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2021.128246>.
- Nishiwaki N. A Walk through Recent Nitro Chemistry Advances. *Molecules*,2020;25:3680. doi:10.3390/molecules25163680.
- Ouedraogo RM, Kamp A, Goettel MS, Brodeur J, Bidochka MJ. Attenuation of fungal infection in thermoregulating *Locusta migratoria* is accompanied by changes in hemolymph proteins. *Journal of Invertebrate Pathology*,2002;81:19-24. doi:10.1016/

- s0022-2011(02)00117-9.
20. Rahman SFSA, Singh E, Pieterse CMJ, Schenk PM. Emerging microbial biocontrol strategies for plant pathogens. *Plant Science*,2018;267:102-111. doi:10.1016/j.plantsci.2017.11.012.
 21. Sala A, Spalding K, Ashton K, Board R, Butler H, Dawson T Harris DA *et al.* Rapid Analysis of Disease State in Liquid Human Serum combining Infrared Spectroscopy and “Digital Drying”. *Journal of Biophotonics*,2020;13(9):e202000118. <https://doi.org/10.1002/jbio.202000118>.
 22. Sangbaramou R, Camara I, Xin-zheng H, Shen J, Tan S, Shi W. Behavioral thermoregulation in *Locusta migratoria manilensis* (Orthoptera: Acrididae) in response to the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Plos One*,2020;13(11):1-19. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206816>
 23. Senthilkumar N, Murugesan S, Suresh Babu D, Rajeshkannan C. GC-MS analysis of the extract of endophytic fungus, *Phomopsis* sp. isolated from tropical tree species of India, *Tectona grandis* L. *International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology*,2014;3(3):10176-10179.
 24. Shamim G, Ranjan SK, Pandey DM, Ramani R. Biochemistry and biosynthesis of insect pigments. *European Journal of Entomology*,2014;111(2):149-164. doi:10.14411/eje.2014.021.
 25. Sharaf S, Higazy A, Hebeish A. Propolis induced antibacterial activity and other technical properties of cotton textiles. *International Journal of Biological Macromolecules*,2013;59:408-416. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.04.030>.
 26. Shuping DSS, Eloff JN. The use of plants to protect plants and food against fungal pathogens: a review. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*,2017;4(14):120-127.
 27. Soderlund DM. Molecular mechanisms of pyrethroid insecticide neurotoxicity: Recent advances. *Archives of Toxicology*,2012;86:165-181. doi:10.1007/s00204-011-0726-x.
 28. Taye RR, Borkataki S. Role of secondary metabolites in plant defense against insect herbivores. *International Journal of Chemical Studies*,2020;8(1):139-142. doi:10.22271/chemi.2020.v8.ilb.8245
 29. Toghueo KRM. Bioprospecting endophytic fungi from *Fusarium* genus as sources of bioactive metabolites *Mycology*,2019;11(1):1-21. doi:10.1080/21501203.2019.1645053.
 30. Veiga FF, De Castro HLV, Sato F, Bombassaro A, Vicente VA, Mendes V *et al.* *Fusarium oxysporum* is an onychomycosis etiopathogenic agent. *Future Microbiology*,2018;13:1745-1756. <https://doi.org/10.2217/fmb-2018-0245>.
 31. Yan C, Liu W, Li J, Deng Y, Chen S, Liu H. Bioactive terpenoids from *Santalum album* derived endophytic fungus *Fusarium* sp. YD-2. *RSC Advances*,2018;8:14823-14828. <https://doi.org/10.1039/C8RA02430H>.
 32. Yang M, Wang Y, Liu Q, Liu Z, Jiang F, Wang H *et al.* A β -carotene-binding protein carrying a red pigment regulates body-color transition between green and black in locusts. *eLife*,2019;8:e41362. doi:10.7554/eLife.41362.
 33. Yu X, Liu YX, Li Y, Wang Q. Design, Synthesis, Acaricidal/Insecticidal Activity, and Structure-Activity Relationship (SAR) Studies of Novel Oxazolines Containing Sulfone/ Sulfoxide Groups Based on the Sulfonylurea Receptor Protein Binding Site. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*,2016;64(15):3034-3040. doi:10.1021/acs.jafc.6b00645.
 34. Yuan XL, Wang XF, Xu K, Wei L, Dan C, Zhang P. Characterization of a New Insecticidal Anthraquinone Derivative from an Endophyte of *Acremonium vitellinum* against *Helicoverpa armigera*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*,2020;68(41):11480-11487. <https://dx.doi.org/10.1021/acs.jafc.0c05680>
 35. Zhang L, Lecoq M. *Nosema locustae* (Protozoa, Microsporidia), a Biological Agent for Locust and Grasshopper Control. *Agronomy*,2021;11:711. <https://doi.org/10.3390/agronomy11040711>.
 36. Zhao F, Wang P, Lucardi RD, Su Z, Li S. Natural Sources and Bioactivities of 2, 4-Di-Tert-Butylphenol and Its Analogs. *Toxins* (Basel),2020;12(1):35. doi:10.3390/toxins12010035.

Acta Scientifica Naturalis

Former Annual of Konstantin Preslavsky University of Shumen: Chemistry, Physics, Biology, Geography
 Journal homepage: asn.shu.bg

The insecticidal activity of the endophytic fungus *Isaria fumosorosea* Wize isolated from the leaves of the *Ricinus communis* L. against *Locusta migratoria* L. and *Acanthoscelides obtectus* Say

Djamel Eddine Laib^{1,2*}, Abdelmadjid Benzara², Salah Akkal³

¹ *Department of Natural and Life Sciences, Earth and Universe Sciences, University of Mohamed Elbachir Elibrahimi, Bourdj Bouariridj, 34000, Algeria*

² *National Agronomic Institute, Department of Agriculture and Forestry Zoology. El-Harrach Algiers, 16000, Algeria*

³ *Valorization of Natural Resources, Bioactive Molecules and Biological Analysis Unit, Department of Chemistry, University of Mentouri Constantine 1, Constantine, 25000, Algeria*

Abstract: *This study was conducted to evaluate the insecticidal activity of the endophytic fungus *Isaria fumosorosea* Wize isolated from *Ricinus communis* L. against *Locusta migratoria* L. and *Acanthoscelides obtectus* Say. To evaluate the insecticidal activity, a mixture of fungal extract and spore suspensions (1×10^7 , 1×10^6 and 1×10^5 spores/ml of dissolved extract) were applied against the insects. It was found that *I. fumosorosea* had a good insecticidal activity, positively proportional to concentration and time after exposure (24, 48, 72 hours). A maximum mortality rate of 80% for *A. obtectus* and 70% for *L. migratoria* at 1×10^7 spores/ml of dissolved extract was recorded. Preliminary phytochemical analyses of the fungal extract revealed the presence of alkaloids, flavonoids and phenols. Additionally, a fungal development on the insects bodies has also been noticed; that is undoubtedly explained the recorded insecticidal activity.*

Keywords: *insecticidal activity, endophytic fungi, *Ricinus communis* L., *Isaria fumosorosea* Wize, *Locusta migratoria* L., *Acanthoscelides obtectus* Say*

Introduction

Numerous insects are responsible for significant crop losses worldwide [1]. Among them the migratory locust *Locusta migratoria* (Linnaeus, 1758) (Orthoptera: Acrididae) which is a pestilential insect with a polyphagous habit [2], exhibits extensive ecological plasticity and a large geographic range. Its gregarious phase is influenced by population density [3] which leads to the formation of spectacular swarms that cause considerable damage to crops [4, 5]. *Acanthoscelides obtectus* (Say, 1831) (Coleoptera: Chrysomelidae) is a potentially ubiquitous cosmopolitan insect which infest its main host plant *Phaseolus vulgaris* L. in both field and storage lots [6].

The control methods of *L. migratoria* and *A. obtectus* are dominated by chemical methods involving the application of considerable amounts of chemical pesticides [7, 8]. These chemicals are effective, but their extensive application has created problems, such as pesticides resistance, environmental pollution and adverse effects on human health [9]. Therefore, finding effective alternatives for crop protection against pests is now a necessity [10]. Among the alternatives, endophytic fungi are considered to be one of the most promising biological groups for plant protection against a large number of insects [11, 12]. Endophytes are microorganisms that reside in plant tissues without causing any apparent symptoms. They are an important source of bioactive compounds and also have many promising agricultural applications [13].

Actually, *I. fumosorosea* is considered as low risk alternative to chemical insecticides [14]. Thus the aim of this study was evaluating the insecticidal activity of the endophytic fungus *I. fumosorosea* isolated from the leaves of *Ricinus communis* L. against *L. migratoria* and *A. obtectus*.

Material and Methods

Biological material

R. communis leaves were collected with a scalpel from five healthy plants in the Beni Bechir region, Skikda, Algeria in March 2019. *L. migratoria* and *A. obtectus* are potential pests of many crops in Algeria, and these insects were collected in August 2019 from the same region as was *R. communis*.

Methods

1. Insects breeding

The objective of the first step was to obtain a large number of *L. migratoria* and *A. obtectus* with which to conduct our experiment (Locust and bruchids treatment and mortality rate calculation). Locusts were bred in the laboratory according to a previously described method [15], with slight modifications. Wooden cages of 50 cm³ covered with tulle to ensure aeration and avoid condensation of moisture (50-60% maximum), were used, they were equipped with a sliding door to allow different manipulations and a heating system maintained a constant temperature of approximately 30±1°C, which allowed the insects to thermo

regulate and attain their optimal temperature for molting and egg laying. A photoperiod with 12 hours of continuous light per day was provided with a 60-watt incandescent bulb.

The breeding of *A. obtectus* was performed in the laboratory according to the method described by [16] in glass jars containing 500 g of beans (never treated with insecticides) and kept in an oven at 25°C, and relative humidity of 65%.

2. Isolation, purification and identification of endophytic fungus *I. fumosorosea*

The isolation of the endophytic fungi was performed 48 hours after the collection of *R. communis* leaves according to a previously described protocol [17], with a slight modifications. The samples were carefully washed under running water to remove soil particles and cut into 5 x 5 mm segments with a flame-sterilized razor blade. The resulting segments were placed in 75% ethanol for 1 minute, washed three times with sterile distilled water for a few minutes each to remove excess ethanol, and dried on sterile filter paper under aseptic conditions. Next the samples were uniformly and aseptically transferred into Petri dishes containing modified PDA medium with streptomycin (200 mg/l) to inhibit bacterial growth. These Petri dishes were sealed using diagonal parafilm and incubated at room temperature (25-30°C) for 21 days to ensure the growth of endophytic fungi. The emerging fungi from the ends of segments (plant tissue) were immediately isolated and transplanted into a new PDA medium without antibiotics. Next, the fungal strains were incubated at 25°C for 3 to 6 days. Microscopic observations were made using an optical microscope.

3. Submerged fermentation and production of fungal extract

The next was conducted according to the method of Dolatabad et al. [18], with major modifications (medium modification). Agar discs associated with mycelium of *I. fumosorosea* were placed in 250 ml flasks containing 50 ml of the following medium: 4 g potato extract, 20 g dextrose, 2 g colloidal chitin, 7.5 g casein, 4 g K₂HPO₄, 1.5 g MgSO₄·7H₂O, 1.5 g KCl, 0.01 g FeSO₄·7H₂O, 1 l distilled water. The cultures were incubated for 21 days at 25±2°C and shaken back and forth each hour on mechanical shaker. After 21 days the mycelia were separated from the medium by filtration through Whatman No. 1 filter paper. The filtrate was mixed for 15 minutes with an equal volume of ethyl acetate and allowed to stand for 10 minutes in order to separate it into the two immiscible organic and aqueous layers. Then the ethyl acetate was evaporated using a rotary evaporator. Each 1mg of the fungal extract was dissolved in 1 ml of distilled water and stored at 4°C for later use.

4. Preparation of spore suspensions.

Agar discs associated with a mycelium of *I. fumosorosea* were placed in the center of Petri dishes which is previously contained the MY 20 agar medium. The cultures were incubated for 21 days at 30-34°C to ensure the production of mature spores. 6-8 ml of distilled water was pipetted to a well-sporulating plate, and then the growth was scraped off with a sterile loop to release spores. The resulting solution were collected

from the top of the plate using a pipette then transferred into a sterile conical tubes which will be vigorously shaken in a vortex mixer for 1-2 minutes. The resulting liquid was filtered by vacuum through fiberglass wool to remove mycelia fragments then centrifuged at 1800 rpm for 10 minutes in a Sorvall H1000B rotor. The supernatant were carefully poured out (leave about 5 ml or last few drops in) then we add to it 1 ml of distilled water. The mixture were transferred to a screw-top vial containing 0.5 ml of 80% (w/v) glycerol to achieve a final concentration of 20% glycerol then stored in the freezer at -20°C . The spore suspensions (1×10^7 , 1×10^6 , and 1×10^5 spore/ml) were prepared by a haemocytometer [19].

5. Preliminary phytochemical analyses of the fungal extract.

Detection of the major classic of metabolites was conducted using previously described techniques described [20]. Extracts were dissolved individually in dilute Hydrochloric acid and filtered then treated with Mayer's reagent (potassium mercuric iodide). The formation of a yellow colored precipitate indicated the presence of alkaloids. For the detection of flavonoids the extract was treated with few drops of sodium hydroxide solution. The formation of intense yellow color, which became colorless upon the addition of dilute acid, indicated the presence of flavonoids. For the detection of phenols the fungal extract was dissolved in 5 ml of distilled water and a few drops of 5% ferric chloride solution were added. A dark green color indicated the presence of phenolic compounds. For the saponins the fungal extract was vigorously shaken with distilled water and was then allowed to stand for 10 minutes, formation of a fairly stable emulsion indicated the presence of saponins. For detection of tannins, the crude fungal extract was treated with an alcoholic FeCl_3 reagent, and a bluish black color that disappeared upon the addition of a little dilute H_2SO_4 followed by the formation of a yellowish brown precipitate indicated the presence of tannins.

6. Insecticidal activity of the endophytic fungus *I. fumosorosea*.

An assay was carried out by directly spraying of adult insects inside a plastic boxes for *L. migratoria* and Petri dishes for *A. obtectus* (five insects per box or Petri dish) with three different spore suspensions (1×10^7 , 1×10^6 , and 1×10^5 spores/ml of dissolved extract (1 mg/ml of H_2O), there were five repetitions for each concentration and five repetitions treated with distilled water were considered controls. The mortality rate (%) was determined for each treatment after 24 h, 48 h, and 72 h.

Statistical data analysis.

An analysis of variance (ANOVA) and Tukey's (HSD) test (with a confidence interval of 95%) were performed to compare recorded mortality means and rank these results into homogeneous groups, respectively.

All statistical analyzes were performed using the XLSTAT 2019 software (Addinsoft, 2019. XLSTAT Statistical Data Analysis Solution, Paris, France).

Results and Discussion

Preliminary phytochemical analyses of endophytic *I. fumosorosea* extract.

Preliminary phytochemical analyses of the endophytic fungi extract revealed the presence of alkaloids and phenols.

Evaluation of the insecticidal activity of the endophytic fungus *I. fumosorosea*.

From the results (Figures 1, 2 and 3) it was determined that *I. fumosorosea* strain had a good, insecticidal activity positively proportional to concentration and time after exposure (24, 48, 72 hours) with a maximum mortality rate of 80% for *A. obtectus* and 70% for *L. migratoria* at 1×10^7 spores/ml of dissolved extract.

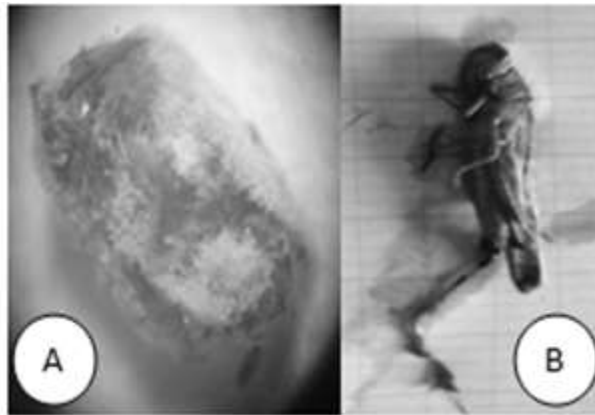


Figure 1. Dead insects after the application of the fungal extract and spore suspensions: a. *A. obtectus*, b. *L. migratoria*

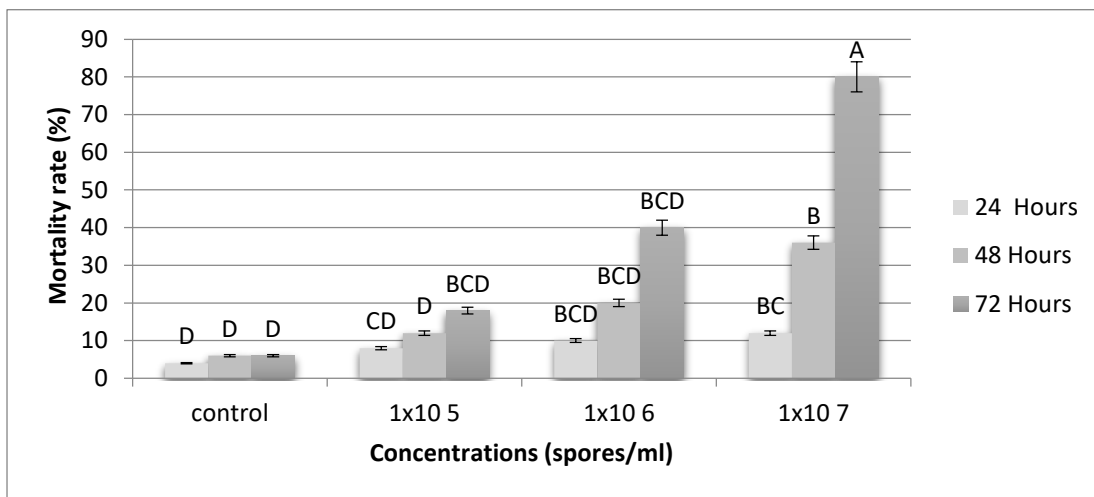


Figure 2. Mortality rate (in percentage) of *A. obtectus* according to different concentrations

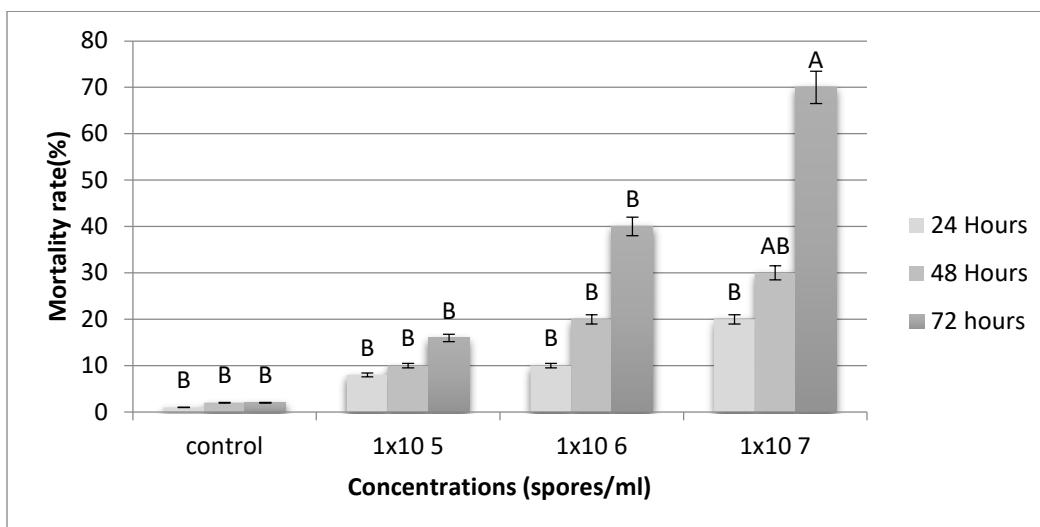


Figure 3. Mortality rate (in percentage) of *L. migratoria* according to different concentrations

For the Both; variance analysis (ANOVA) and the Tukey’s (HSD) test (with a 95% confidence interval), the capital letters A, B, C, D indicates a significant difference between insecticidal activity of different concentrations during different days (at 0.05 significance level).

Discussion

Endophytic microorganisms are those that occur internally in plant organs, especially leaves, branches and stems, while apparently not harming the hosts [21]. The capability of colonizing internal host tissues has made endophytes a valuable tool to improve crop performance [22]. Fungal endophytes providing protection against herbivorous insects [23, 24] by producing after their active growth phase a numerous insecticidal secondary metabolites which are either similar to, or higher activity than those of their respective hosts [25, 26]. They have been reported to have numerous applications in agro chemistry [27]. Fungal entomopathogens are important ecological regulatory factors for managing insect populations [11]. Entomopathogenic endophytic fungi infect and kill their insect hosts by the production of secondary metabolites (mycotoxins), which conquered insect immunity or/and breaking down insect cuticle [28].

Our results revealed that the *R. communis* endophytic fungus *I. fumosorosea*; had a good insecticidal activity positively proportional with concentration and time after exposure (24, 48, 72 hours), with a maximum mortality rate of 80% for *A. obtectus* and 70 % for *L. migratoria* at 1×10^7 spores / ml of dissolved extract. Preliminary phytochemical analyses of the fungal extract revealed the presence of alkaloids, flavonoids, phenols and the development of the fungi on the insects bodies have been noticed which explain the recorded insecticidal activity.

In comparison with other studies *Isaria spp.* are environmentally friendly [29] important entomopathogenic fungal species with a worldwide distribution and multiple host insects [30]. They were reported as insecticidal against *Sitophilus oryzae* [31], *Nasutitermes corniger* [32], *Haematobia irritans* [33], *Tetranychus urticae* [34], *Planococcus ficus* [35], *Eurygaster integriceps*, *Eurygaster austriaca* [36], *Agrilus planipennis* [37], *Aelia rostrata* [38], *Pissodes punctatus* [39], *Hepialus sp.* [40], and as producers of insecticidal secondary metabolites such as beauvericin, beauverolides, terpenes (trichocaranes, fumosorinone, farinosones, militarinones), lactone compounds (cepharosporolides), acids (dipicolinic acid and oxalic acid), and cycloaspeptides [30].

Conclusion

In this study, we were able to highlight the insecticidal activity of endophytic fungus *I. fumosorosea* from *R. communis* against *L. migratoria* and *A. obtectus*. A mixture of fungal extract and spore suspensions (1×10^7 , 1×10^6 , and 1×10^5 spores/ml of dissolved extract) were applied against the insects. The results shows that *I. fumosorosea* had a good insecticidal activity, positively proportional to concentration and time after exposure (24, 48, 72 hours) with a maximum mortality rate of 80% for *A. obtectus* and 70% for *L. migratoria* at 1×10^7 spores/ml of dissolved extract. Preliminary phytochemical analyses of the endophytic fungi extract revealed the presence of alkaloids, flavonoids, phenols and we have noticed a development of the fungus on the insect's bodies. These findings demonstrate that this endophytic fungus can be used as a contact bioinsecticide against *L. migratoria* and *A. obtectus*.

References

- [1].Rahman, S.F.S.A.; Singh, E.; Pieterse, C.M.J.; Schenk, P.M., Emerging microbial biocontrol strategies for plant pathogens, *Plant Science*, **2018**, 267, 102-111.
- [2].Popov, G.B.; Launois-Luong, M.H.; Van der Veel, J.J., Les oothèques des criquets du Sahel. Ed. Cirad/Prifas, 'Collection Acridologie Opérationnelle, 7ème édition, Montpellier, **1990**, p. 153.
- [3].Lecoq, M., les criquets du sahel. Ed. Cirad/Prifas, 'Collection Acridologie Opérationnelle, 1ere édition, Montpellier, 1988, p. 125.
- [4].Latchininsky, A.V., Locusts and remote sensing: a review. *Journal of Applied Remote Sensing*, **2013**, 7, 075-099.
- [5].Sangbaramou, R.; Camara, I.; Xin-zheng, H.; Shen, J.; Tan, S.; Shi, W., Behavioral thermoregulation in *Locusta migratoria manilensis* (Orthoptera: Acrididae) in response to the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*, *Plos One*, **2018**, 13 (11), 1-19.

- [6].Regnault-Roger C.; Hamraoui, A., Lutte contre les insectes phytophages par les plantes aromatiques et leurs molécules allélochimiques, *Ed Acta Bot. Gallica*, **1997**, 401-412.
- [7].Bolívar-Anillo, H.J.; Garrido, C.; Collado, I.G., Endophytic microorganisms for biocontrol of the phytopathogenic fungus *Botrytis cinerea*, *Phytochemistry Reviews*, **2019**, 1-20
- [8].Zhang, L.; Hunter, D., Management of locusts and grasshoppers in China, *Journal of Orthoptera Research*, **2017**, 26, 155.
- [9].Ali, A.; Ahmad, F.; Biondi, A.; Wang, Y.; Desneux, N., Potential for using *Datura alba* leaf extracts against two major stored grain pests, the khapra beetle *Trogoderma granarium* and the rice weevil *Sitophilus oryzae*. *Journal of Pest Science*, **2012**, 85, 359-366.
- [10].Pavela, R., Possibilities of botanical insecticide exploitation in plant protection. *Pest Technology*, **2007**, 1, 47-52.
- [11].Vega, F.E.; Goettel, M.S.; Blackwell, M.; Chandler, D.; Jackson, M.A.; Keller, S.; Koike, M.; Maniania, N.K.; Monzon, A.; Ownley, B.H.; Pell, J.K.; Rangel, D.E.N.; Roy, H.E., Fungal entomopathogens: new insights on their ecology, *Fungal Ecology*, **2009**, 2, 149-159.
- [12].Yan, D.H.; Song, X.; Li, H.; Luo, T.; Dou, G.; Strobel, G., Antifungal Activities of Volatile Secondary Metabolites of Four *Diaporthe* Strains Isolated from *Catharanthus roseus*. *Journal of Fungi*, **2018**, 4, 65.
- [13].Aly, A.H.; Debbab, A.; Proksch, P., Fungal endophytes: unique plant inhabitants with great promises. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **2011**, 90 (6), 1829-1845.
- [14].Usanmaz-Bozhuyuk, A.; Kordali, S.; Kesdek, M.; Simsek, D.; Altinok, M.A.; Altinok, H.H.; Komaki, A., Mortality effects of six different entomopathogenic fungi strains on rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). *Fresenius Environmental Bulletin*. **2018**, 27, 4373-4380.
- [15].Ouedraogo, R.M.; Kamp, A.; Goettel, M.S.; Brodeur, J.; Bidochka, M.J., Attenuation of fungal infection in thermoregulating *Locusta migratoria* is accompanied by changes in hemolymph proteins. *Journal of Invertebrate Pathology*, **2002**, 81, 19-24.
- [16].Papachristos, D.P.; Stamopoulos, D.C., Repellent, toxic and reproduction inhibitory effects of essential oil vapours on *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research*. 2002, 38, 117-128.
- [17].Li, Y.L.; Xin, X.M.; Chang, Z.Y.; Shi, R.J.; Miao Z.M.; Ding, J.; Hao, G.P, The endophytic fungi of *Salvia miltiorrhiza* BGE. f. alba are a potential source of natural antioxidants. *Botanical Studies*, **2015**, 56 (1), 5.
- [18].Dolatabad, H.K.; Nikkhah M.J.; Shier, W.T., Evaluation of antifungal, phosphate solubilisation, and siderophore and chitinase release activities of endophytic fungi from *Pistacia vera*. *Mycology Progress*, **2017**, 16 (8), 777-790.

- [19]. Jensen, A B.; Aronstein, K.; Flores, J.M.; Vojvodic, S.; Palacio, M.A.; Spivak, M., Standard methods for fungal brood disease research. *Journal of Apicultural Research*, **2013**, 52(4), 1-39.
- [20]. Harborne, J.B., *Phytochemical Methods*. Chapman Hall, London, **1998**, pp. 60–66.
- [21]. Porras Alfaro, A., Bayman, P., Hidden fungi, emergent proprieties: endophytes and microbiomes. *Annual Review of Phytopathology*, **2011**, 49, 291-315.
- [22]. Zhang, Z.B.; Zeng, Q.G.; Yan, R.M.; Wang, Y.; Zou, Z.R.; Zhu, D., Endophytic fungus *Cladosporium cladosporioides* LF70 from *Huperzia serrata* produces Huperzine A. *World Journal of Microbiology Biotechnology*, **2011**, 27, 479-486.
- [23]. Breen, J.P., Enhanced resistance to fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) in *Acremonium* endophyte-infected turfgrasses. *Journal of Economic Entomology*, **1993**, 86, 621-629.
- [24]. Clement, S.L.; Elberson, L.R.; Bosque-Perez, N.A.; Schotzko, D.J., Detrimental and neutral effects of wild barley – *Neotyphodium* fungal endophyte associations on insect survival. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **2005**, 114, 119-125.
- [25]. Strobel, G.A., Endophytes as source of bioactive products. *Microbes Infection*, **2003**, 5, 535-544.
- [26]. Mantzoukas, S.; Lagogiannis, I., Endophytic Colonization of Pepper (*Capsicum annum*) Controls Aphids (*Myzus persicae* Sulzer). *Applied Sciences*, **2019**, 9(11), 1-12.
- [27]. Nisa, H.; Kamili A.N.; Nawchoo, I.A.; Shafi, S.; Shameem, N.; Bandh, S.A., Fungal endophytes as prolific source of phytochemicals and other bioactive natural products: a review. *Microbial Pathogenesis*, **2015**, 82, 50-59.
- [28]. Butt, T.M.; Coates, C.J.; Dubovskiy, I.M.; Ratcliffe, N.A., Entomopathogenic fungi: New insights into host-pathogen interactions. *Advances in Genetics*, **2016**, 94, 307-364.
- [29]. Gao, T.; Wang, Z.; Huang, Y.; Keyhani, N.O.; Huang, Z., Lack of resistance development in *Bemisia tabaci* to *Isaria fumosorosea* after multiple generations of selection. *Scientific Reports*, **2017**, 7, 1-8.
- [30]. Weng Q.; Zhang X.; Chen, W.; Hu, Q., Secondary Metabolites and the Risks of *Isaria fumosorosea* and *Isaria farinose*. *Molecules*, **2019**, 24 (1), 1-17.
- [31]. Lopes, R.D.; De Lima, G.; Correia, M.T.D.; Da Costa, A.F.; Lima, E.A.D.A.; Lima, V.L.D. The potential of *Isaria spp.* as a bioinsecticide for the biological control of *nasutitermes corniger*. *Biocontrol Science and Technology*. **2017**, 27, 1038–1048.
- [32]. Mochi, D.A.; Monteiro, A.C.; Machado, A.C.; Yoshida, L., Entomopathogenic fungal activity against pupae and adult *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae). *Veterinary Parasitology*. **2010**, 168, 105-110.
- [33]. Mustu, M.; Demirci, F.; Koksall, M.; Serbes, C.; Armagan, B., Mortality effects of *Isaria farinosa* and *Purpureocillium lilacinum* (Sordariomycetes: Hypocreales) on the two spotted spider mite *Tetranychus*

urticae (Acari: *Tetranychidae*) and its predator *Neoseiulus californicus* (Acari: *Phytoseiidae*) under controlled conditions. *Entomologia Generalis*. **2016**, 35, 243-252.

[34].Mustu, M.; Demirci, F.; Kaydan, M.B.; Ulgenturk, S., Laboratory assay of the effectiveness of the entomopathogenic fungus *Isaria farinosa* (Holmsk.) fries (Sordariomycetes: *Hypocreales*) against the vine mealybug *Planococcus ficus* (Signoret) (Hemiptera: *Pseudococcidae*), even under the use of fungicides. *International Journal of Pest Management*. **2015**, 61, 264-271.

[35].Mustu, M.; Demirci, F.; Kocak, E., Mortality of *Isaria farinosa* and *Beauveria bassiana* on sunn pests *Eurygaster integriceps* and *Eurygaster austriaca*. *Phytoparasitica*. **2014**, 42, 93-97.

[36].Johny, S.; Kyei-Poku, G.; Gauthier, D.; van Frankenhuyzen, K., Isolation and characterisation of *Isaria farinosa* and *Purpureocillium lilacinum* associated with emerald ash borer, *Agilus planipennis* in Canada. *Biocontrol Science and Technology*. **2012**, 22, 723-732.

[37].Mustu, M.; Demirci, F.; Kocak, E., Mortality effects of *Isaria farinosa* (Holm.) and *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Sordariomycetes: *Hypocreales*) on *Aelia rostrata* Boh. (Hemiptera: *Pentatomidae*). *Turkish Journal of Entomology*. **2011**, 35, 559-568.

[38].Yang, S.; Zhuang, H.; Li, Y.; Kuang, R., Insecticidal efficacy of *Isaria farinosa* in different life stages of *Pissodes punctatus* (Coleoptera: *Curculionidae*). *Journal of Pest Sciences*. **2009**, 82, 321-325.

[39].Liu, F.; Wu, X.L.; Liu, Y.; Chen, D.X.; Zhang, D.L.; Yang, D.J., Progress on molecular biology of *Isaria farinosa*, pathogen of host of *Ophiocordyceps sinensis* during the artificial culture. *China J. Chin. Mater. Med.* **2016**, 41, 403-409.

[40].Liu, F.; Xiang, M.; Guo, Y.; Wu, X.; Lu, G.; Yang, Y.; Liu, X.; Chen, S.; Zhang, G.; Shi, W., Culture conditions and nutrition requirements for the mycelial growth of *Isaria farinosa* (Hypocreales: *Cordycipitaceae*) and the altitude effect on its growth and metabolome. *Scientific Reports*. **2018**, 8, 15623.