

*République Algérienne Démocratique et Populaire*  
*وزارة التعليم العالي والبحث العلمي*  
*Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique*  
*جامعة الجبالي بونعامة خميس مليانة*  
*Université Djilali Bounaama de Khemis- Miliana*  
*كلية علوم الطبيعية و الحياة و علوم الارض*  
*Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la*  
*terre*  
*Departement des Sciences Agronomiques.*



*Mémoire de fin d'étude*  
*En vue de l'obtention du diplôme de **Master***  
***Domaine** : Sciences de la Nature et de la Vie*  
***Filière** : Sciences Agronomiques*  
***Spécialité** : Production végétale*

Effet insecticide par inhalation de l'huile essentielle des  
feuilles de *Mentha pulegium* sur l'insecte ravageur de  
blé en post-récolte « *Tribolium castaneum* » (Herbst)

*Présentées par : REHIF Khayra*

*DJAIDJI Yamina*

*Soutenu le*

*Devant le jury:*

**Présidente / Mme Djebroune A**  
**Promoteur / Mr Karahacane T**  
**Examinatrice / Mme Tirchi N**

**Année universitaire : 2019/2020**

## Résumés

L'utilisation massive et irrationnelle des pesticides en protection des denrées stockées contre les insectes nuisibles, exige des solutions de substitution, respectueuses de l'environnement et plus écologiques que celles utilisées actuellement.

Parmi ces solutions, l'utilisation de biopesticides biodégradables d'origine végétale paraît des alternatives pour diminuer les problèmes posés par ces produits chimiques.

La présente étude a pour objet d'évaluer la toxicité par inhalation sur les larves et les adultes du ravageur des denrées stockées, *Tribolium castaneum* à partir des huiles essentielles extraites des feuilles de *Mentha pulegium*.

Les résultats antérieurs sur les larves et les adultes de *Tribolium castaneum* montrent que l'huile essentielle de *Mentha pulegium* à l'aide d'un traitement par inhalation sont très efficaces. Les mortalités varient de 86% à 100% à des doses de 0.15ml/cm<sup>2</sup> et 20ml.

Les DL<sub>50</sub> et DL<sub>90</sub> enregistrées sont de l'ordre de 7.93 ul /ml et 121.8 ml

Les TL<sub>50</sub> et TL<sub>90</sub> sont 48h et 72h

**Mots clés :** Blé, Huile essentielle, Inhalation, *Mentha pulegium*, Toxicité, *Tribolium castaneum*

## Summary

The massive and indiscriminate use of pesticides in stored product protection against pests, requires alternatives, environmentally friendly and more environmentally friendly than those currently used.. Among these solutions, the use of biopesticides biodegradable plant seems an alternative to reduce the problems caused by these chemicals.

The purpose of this study is to assess the toxicity by fumigation on the pest of stored foodstuffs, *Tribolium castaneum*, of essential oils extracted from *Mentha pulegium*.

The results obtained on the larvae and adults of *Tribolium castaneum*; show the toxicity of essential oil of *Mentha pulegium* using an inhalation treatment is very effective mortality varies 86% to 100%.at dose 0.15ml/cm<sup>3</sup>-and 20ml.

The DL<sub>50</sub> and DL<sub>90</sub> register are 7.93ul/ml and 121.8 ml

The TL<sub>50</sub> and TL<sub>90</sub> register are 48h and 72h

**Key Words:** Essential oil; Inhalation; *Mentha pulegium*; Toxicity, *Tribolium castaneum*; wheat

## ملخص

الاستعمال المفرط والخطير للمبيدات المصنعة لحماية الحبوب المخزنة ضد الحشرات الضارة يتطلب إيجاد حل يحافظ على البيئة ويكون أكثر إيجابيه ومن بين هذه الحلول استعمال مبيدات سهلة التحلل ذات أصل نباتي وهذا لغرض التقليل من المشاكل التي تسببها المواد الكيميائية والهدف من دراستنا هذه هو تقييم فعالية الزيوت المستخلصة من نبات النعناع البري ضد الحشرة المخربة للقمح عن طريق الشم النتائج أثبت ان الزيوت ذات فعالية ضد اليرقات والأفراد البالغة .ان سمية الزيت النباتي للنعناع البري عن طريق الاستنشاق فعالة للغاية ويختلف معدل الوفيات من 86% الى 100%.

$$DL_{90}=121.8ml \quad IDL_{50}=7.93ul/ml$$

$$TL_{90}=72h \quad TL_{50}=48h$$

الكلمات المفتاحية: الزيوت الأساسية. السمية .*Tribolium castaneum*. الاستنشاق. *Mentha pulegium*. القمح.

# *Remerciements*

Avant tout nous remercions Dieu tout puissant, pour la volonté, la santé, et la patience qu'il nous a donné durant cette année d'étude, les moyens et le pouvoir afin d'accomplir ce modeste travail.

Au terme de ce travail nous tenons à remercier tout d'abord notre promoteur **Mr KARAHACANE Tahar** pour son encadrement, sa précieuse aide, son appui et ses conseils

Nous remercions **M<sup>lle</sup>TIRCHI Nadia** et **M<sup>lle</sup> DJEBROUNE Aicha**, d'avoir accepté d'examiner le présent mémoire

On remercie **Mlle MEKHATI Ouahiba**, ingénieure de laboratoire (Eau-Roche-Plante) qui a mis à notre disposition le matériel

Nous tenons également à présenter nos remerciements :

A tous les enseignants de Khemis Miliana particulièrement ceux du département des sciences agronomiques.

Enfin, nous remercions les amis et les étudiants de notre promotion sciences agronomiques

# *Dédicaces*

*Grace au dieu, le tous puissant qui m'a donné le courage et la volonté  
pour réaliser ce modeste travail que je dédie :*

*La lumière de mes jours, la source de mes efforts, ma vie et mon  
bonheur ; maman que j'adore*

*A mon cher père, que Dieu ait pitié de lui, mon plus haut exemple et  
mon modèle de persévérance pour aller toujours de l'avant et ne  
jamais baisser les bras. Pour son enseignement continu à m'inculquer  
les vraies valeurs de la vie et pour ses précieux conseils.*

*A mes chers frères Rachid, Mohammed et leurs enfants (kheiro, Nono,  
dido, et ma belle Maram), Noureddine et*

*Surtout Mahmoud, qui m'a apporté tout le soutien et qui était à mes  
côtés dans toutes les situations, que Dieu le protège.*

*A mes chers sœurs ; warda et son petite (mimi), Farida, Fatima et  
leurs enfants (Amina, Fatiha, Mohammed).*

*A mon binôme Yamina et leur famille, mes deuxièmes familles mes  
amis (Amina, Louiza, Fatima, Ratiba, Basma, Hanane, Sara, Nassima,  
Thaldja, Dalila, Imane, Iman, Wahiba, Hakima)*

*Khayra*

# *Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail :*

*A mes très chères parents Abdelkader et Bakhta en reconnaissance de  
leurs sacrifice, leur éducation, leur*

*Encouragement et leur effort*

*A mon marie Ahmed et mes frères et sœurs, Abdelkader et ses enfants  
Abdennour, Najet, Abdelfattah, Mourad, Nasrelddine, Mohamed,  
Ahmed et ses enfants Batoul, Imane, Omar, Aicha, Fatiha et son fils*

*Mohamed Iyad*

*A mon binôme khayra et tous mes amis*

*Un grand remerciement A mon professeur monsieur*

*Karahacane et tous les enseignants.*

**YAMINA**

## Liste des tableaux

<b>N°</b>	<b>Titre des tableaux</b>	<b>Page</b>
01	Les principaux ennemis des denrées stockées et leurs dégâts	04
02	Transformation des pourcentages de mortalité en probit (cavelier, 1976)	26

## Liste des figures

<b>N°</b>	<b>Titre des figures</b>	<b>Page</b>
Figure01	Adulte de <i>Tribolium castaneum</i> (Herbst)	07
Figure02	La menthe Pouliot « <i>Mentha pulegium</i> »	18
Figure03	Chambre d'élevage de <i>Tribolium castaneum</i>	20
Figure04	Méthode de séchage	21
Figure05	Dispositif d'extraction à l'aide d'un hydrodistillateur	22
Figure06	Evaluation de la toxicité par le test inhalation	24
Figure07	Test inhalation crée dans une boîte de pétrie	24
Figure08	Dispositif expérimental	25

## Sommaire

Liste des tableaux	
Liste des figures	
Résumés	
Introduction générale.....	01

### **Partie I : données bibliographiques**

#### **Chapitre 01 : Problèmes de stockage du blé**

1-1-Les Techniques de stockage.....	02
1-2-Problèmes de stockage du blé.....	02
1-2-1-Facteurs biotiques.....	02
1-2-1-1-Oiseaux.....	02
1-2-1-2-Acariens.....	03
1-2-1-3-Rongeurs.....	03
1-2-1-4-Microorganismes.....	03
1-2-1-5-Insectes.....	03
1-2-2-Facteurs abiotiques.....	06
1-2-2-1-Température.....	06
1-2-2-2-Humidité relative.....	06
1-2-2-3-Teneurs en oxygène et en gaz carbonique.....	06
1-2-2-4-Altération physique.....	06

#### **Chapitre 02: *Tribolium castaneum* Herbst**

2-1-Description botanique.....	07
2-2-Systématique.....	08
2-3- cycle de vie.....	08
2-3-1- Oeuf.....	08
2-3-2-Larve.....	08
2-3-3-Nymphe.....	08
2-3-4-Adulte.....	09
2-4-Dégâts et importance économique.....	09
2-5-Moyens de lute.....	09
2-5-1-Lutte preventive.....	09
2-5-1-1-Protection des locaux de stockage.....	09
2-5-1-2-Protection de la denrée.....	10
2-5-2-Lutte curative.....	10
2-5-2-1-Méthodes traditionnelles.....	10
2-5-2-2-Lutte moderne.....	11

#### **Chapitre 03: Huiles essentielles**

3-1-Définition.....	12
3-2-Localisation des huiles essentielles.....	12
3-3-Role physiologique des huiles essentielles.....	13
3-4-Composition chimique.....	13
3-4-1-Terpénoides .....	13
3-4-1-1-Monoterpènes.....	13
3-4-1-2-Sesquiterpènes.....	13
3-4-2-Composés aromatiques.....	13
3-4-3-Composés d'origine diverses.....	14
3-5-Téchnique d'extraction des huiles essentielles.....	14

3-5-1-Extraction par hydrodistillation.....	14
3-5-2-Extraction par entrainement a la vapeur d'eau.....	14
3-5-3-Hydro diffusion.....	15
3-5-4-Extraction par solvant.....	15
3-5-5-Extraction par les corps gras.....	15
3-5-6-Expréssion à froid.....	16
3-6-Domaine d'utilisation.....	16
3-6-1-Secteur parfumerie/cosmétiques.....	16
3-6-2-Secteur parfumerie technique.....	16
3-6-3-Secteur alimentation.....	16
3-6-4-Secteur medicine.....	17
3-7-Activités insecticides.....	17
3-8-Conservation de huile essentielle obtenue.....	17

### **Chapitre 04: *Mentha pulegium***

4-1-Origine et repartition géographique.....	18
4-2-Déscrition botanique .....	18
4-3-Position systématique.....	19
4-4-Toxicologie.....	19

### **Partie II: partie expérimentale**

#### **Matériels et Méthode**

2-1-Objectif.....	20
2-2-Materiels et méthode.....	20
2-2-1-Materiels animal.....	20
2-2-2-Materiels vegetal.....	21
2-3- Extraction des huiles essentielles.....	21
2-4- Calcul le rendement.....	22
2-5- Préparation des doses de traitement.....	23
2-6-Protocole experimental.....	23
2-7-Mode de traitement.....	23

#### **Résultats et Discussion**

Résultats antérieurs.....	27
Conclusion générale.....	28

References bibliographiques

Annexes

# *Introduction Générale*

## Introduction

La consommation des céréales et des légumineuses alimentaires se fait durant toute l'année. Le stockage rend possible la disponibilité quasi permanente de ces denrées sur les marchés et assure l'alimentation et les semences pour les campagnes agricoles à venir (Ngamo et Hance.,2007).Les denrées stockées peuvent être attaquées par les insectes, les champignons et les rongeurs. Les dégâts causés par ces insectes sont les plus importants (Inge de Groot, 2004 ; Ndomo et *al.*,2009). Le problème se pose de manière globale dans tous les endroits de stockage. Il est plus important dans les pays en voie de développement et dans ceux de l'Afrique en particulier à cause des conditions climatiques favorables à leur développement (Ndomo et *al.*,2009).

Les insectes du blé stocké représentent une partie très importante des ravageurs des céréales stockées. Ils peuvent causer des pertes importantes en réduisant la qualité et la quantité des produits stockés.

L'utilisation d'insecticides chimiques constitue à l'heure actuelle la technique la plus utilisée pour lutter contre les insectes nuisibles. Cependant, l'emploi intensif de ces insecticides provoque une contamination de l'environnement, de la chaîne alimentaire et une éradication des espèces de la faune auxiliaire (Soejarto et *al.*,1989). De plus l'usage très répandu de ces pesticides entraîne l'apparition de formes de résistances chez les insectes traités (Leonard et Ngamo,2004) et des préjudices sur la santé humaine.

Les recherches à l'heure actuelle s'orientent vers l'utilisation des plantes spontanées en particulier les plantes aromatiques, qui par leurs extraits végétaux, agissent comme des bio pesticides (Tapondjou et *al.*,2003 ; Kellouche, 2005)

Dans ce but, nous avons proposé de mener une étude sur l'activité insecticide des huiles essentielles des feuilles de *Mentha pulegium* de la famille des Lamiaceae sur l'insecte des denrées stockées *Tribolium castaneum* (Tenebrionidae, Coleoptera) à l'aide du traitement par inhalation, par le calcul des mortalités sur les larves et les adultes et le calcul des doses létales DL<sub>50</sub> et DL<sub>90</sub> et temps létaux TL<sub>50</sub> et TL<sub>90</sub> dans les conditions du laboratoire.

# **PARTIE I: ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE**

*Chapitre I :*  
**Problèmes de stockage  
du blé**



## Chapitre 1 : Problèmes de stockage du blé

### 1.1 Technique de stockage du blé

#### 1.1.1 Stockage dans des silos souterrains (Matmoura)

En Algérie, L'agriculteur sur les Hauts plateaux, conservait tant bien que mal, de ses champs d'orge et de blé, dans des enceintes creusées dans un argileux généralement à un endroit surélevé ou proche de la ferme. C'est ce qu'on appelle « El matmour ». La capacité de ces lieux de stockage est variable. Elle est de l'ordre de quelques mètres cubes. Est une technique archaïque peut être encore utilisée dans certains régions isolées. L'inconvénient majeur de cette méthode de stockage, c'est la trop forte humidité et les eaux d'infiltration que favorisent de développement des moisissures et les phénomènes de fermentation bactérienne (Doumandji et *al.*, 2003).

#### 1.1.2 Stockage en vrac

Dans ce cas les grains en tas sont laissés à l'air libre dans des hangars ouverts à charpente métallique. Dans ce type de stockage des contaminations sont possibles, d'autant plus que dans ce type de construction, il demeure toujours des espaces entre les murs et le toit, ainsi de libres passages aux oiseaux, rongeurs et insectes sont possibles. Par ailleurs l'influence des intempéries est encore assez forte et le développement des moisissures et des bactéries est toujours à craindre. Ce moyen de stockage indispensable face à l'insuffisance des installations spécialisées a tendance à disparaître dans l'avenir (Doumandji et *al.*, 2003).

### 1.2 Problèmes de stockage du blé

#### 1.2.1 Facteurs biotiques

##### 1.2.1.1 Oiseaux

Les oiseaux sont attirés par les céréales depuis le stade laiteux jusqu'à la maturité. Ils détachent le grain de l'épillet, laissant l'épi endommagé et les glumes et glumelles éparpillées sur le sol. L'oiseau le plus fréquemment nuisible aux semis des céréales ce sont les moineaux. Ils arrachent la jeune plantule et consomment ce qui reste de la semence (Azoui, 2015).

# Chapitre 1 : Problèmes de stockage du blé

---

## 1.2.1.2 Acariens

Les acariens de stockage, appelés aussi acariens des denrées alimentaires entreposées, ont une prédilection pour les aliments conservés dans des lieux humides. Ils se nourrissent essentiellement de moisissures (Bessot et *al.*, 2011). Ils appartiennent principalement à la famille des Acaridae et des Glycyphagidae. Ils se reproduisent selon un rythme accéléré et ils ont une fécondité élevée (Pauli et *al.*, 2013). Leur cycle de développement est très court avec seulement 10 à 12 jours entre 23 à 25°C (Berhaut et *al.*, 2003). Chez les acariens, les seuils de températures nécessaires à leur multiplication sont inférieurs à ceux des insectes. Ils se situent entre 8 et 35 °C, mais il leur faut au minimum 70% d'humidité relative (Feuillet, 2000), soit dans les grains à 17-18 % de teneur en eau (Berhaut et *al.*, 2003).

## 1.2.1.3 Rongeurs

Les rongeurs consomment le grain et endommagent les sacs, les palettes le magasin. Ils contaminent également avec leurs urines et déjections beaucoup de grains, ce qui en altère donc la qualité. Ils contaminent les céréales qui, une fois consommées par l'homme, peuvent lui occasionner des maladies (Anonyme, 2004).

## 1.2.1.4 Microorganismes

Les microorganismes et notamment les moisissures, dès que les conditions de température et d'humidité deviennent favorables, se développent en envahissant progressivement le grain. Les conditions climatiques en régions tropicales et notamment en zones humides sont très favorables à la croissance de ces microorganismes (Coraf, 2007). En zones sèches, les risques d'attaque par les moisissures sont également présents si les conditions de stockage sont mauvaises. Les moisissures altèrent l'aspect, l'odeur et le goût des grains sur lesquels elles se développent rendant ces derniers impropres à la consommation humaine ou animale (Coraf, 2007).

## 1.1.2.1.5 Insectes

Parmi les ravageurs, ce sont les insectes qui causent d'importantes pertes économiques au niveau du stockage des céréales. Deux ordres principaux comprennent la majorité des espèces inféodées au stock. Il s'agit des lépidoptères et des coléoptères. Ces derniers sont à l'origine de la plus part des dommages subis dans les réserves des denrées stockées et sont

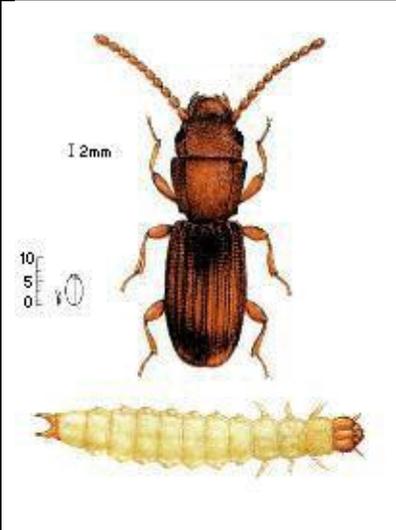
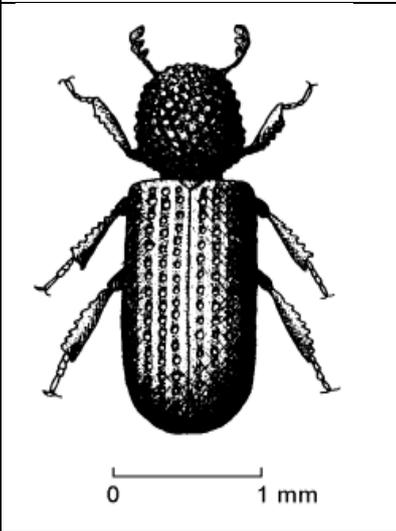
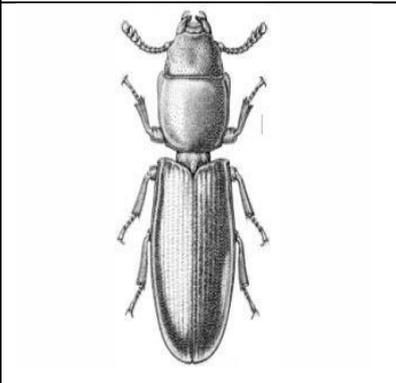
## Chapitre 1 : Problèmes de stockage du blé

susceptibles de causer des dégâts aux grains stockés, en particulier les espèces appartenant aux genres *Tribolium*, *Sitophilus*, *Trogoderma* et *Rhyzoperta* (Karahacane, 2015).

**Tableau 01** : Les principaux ennemis des denrées stockées et leurs dégâts (Aziz et *al.*, 2003)

Les Insectes	Nom d'insecte	Conditions de prolifération	Dégâts Occasionnés	Nature des Dégâts
	Charançon <i>Sitophilus</i> <i>Granairius</i>	Population Multipliée par 20 en 80 jours (30°C et grains à 14°C)	Larves	Trous dans les Grains Germe et amende Dévorés
	Silvain( <i>Oryzaephilus</i> <i>Surinamensis</i>	Population Multipliée par 50 En 28 Jours (32°C, HR 90%)	Larves	-Aggravation Des dégâts des Charançon

## Chapitre 1 : Problèmes de stockage du blé

	<p>Cryptolestes (<i>Cryptolestes Ferrugeneus</i>)</p>	<p>Population Multipliée par 60 en 28 JOURS (35-40°C , HR70-90%)</p>	<p>Adultes Et larves</p>	<p>Détruit le Germe</p>
	<p>Capucine (<i>Rhyzopertha dominica</i>)</p>	<p>Population Multipliée par 20 en 28 Jours (34°C, HR70%)</p>	<p>Adultes</p>	<p>Réduction en poudre du contenu du grain</p>
	<p>Cadelle (<i>Tenebriodes mauritanicus</i>- Tenebriodae)</p>	<p>Développe ment Multipliée par 12,5 en 28 Jours à 35°C)</p>	<p>Larves</p>	<p>Des grains Dévorés</p>

## Chapitre 1 : Problèmes de stockage du blé

	Dermeste ( <i>Trogoderma Granarium</i> )	Population Multipliée par 12,5 en 28 Jours à 35°C	Larves	Grains creusés jusqu'à videment complet
	Alcite des Céréales ( <i>Sitotroga cerealella</i> )	Population Multipliée par 25 en 28 jours à 35°C	Larves	Attaque le germe Déprédation de la marchandise avec les fils de soie gluants de son cocon

### 1.2.2 Facteurs abiotiques

#### 1.2.2.1 Température

Elle joue un rôle important dans la conservation des produits agricoles car elle conditionne la vitesse de dégradation des grains. Elle accélère en effet la vitesse des réactions chimiques et enzymatique et respiration des grains (Bhalla, 1986). Il est à noter que la température seule peut agir sur le taux de croissance des ravageurs des denrées stockées. Pour chaque espèce, il existe un optimum de développement et des degrés différents de tolérance thermique. En effet, les températures optimales, maximales et minimales varient avec les groupes spécifiques de ravageurs (De Luca, 1975 in Kouassi, 1991).

#### 1.2.2.2 Humidité relative

L'humidité est le facteur de dégradation le plus important. Il favorise la respiration du grain et accroît les phénomènes de dégradation interne. Elle entraîne la pourriture des graines à travers les moisissures et les champignons qui s'y déposent. Après une longue durée, les

## Chapitre 1 : Problèmes de stockage du blé

---

céréales se fermentent et dégagent une odeur forte (*Gwinner et al.*, 1996).les grains sont stockés à une humidité inférieure ou équivalente à 70% de l'activité de l'eau pour éviter la détérioration par les micro-organismes, notamment les moisissures (*Sharma et al.*,2014).

### 1.2.2.3 Teneur en oxygène et en gaz carbonique

En présence d'oxygène, si la température et l'humidité sont élevées, l'amidon est transformé en sucres libres au cours de la respiration du grain, ce qui produit de la vapeur d'eau, du gaz carbonique et de la chaleur. Quand l'air se trouvant entre les grains est renouvelé avec apport d'oxygène par une faible ventilation ou par tirage naturel. La production de chaleur peut devenir très importante en provoquant un échauffement jusqu'à 55-60°C (*Berhaut et al.*, 2003).

### 1.2.2.4 Altérations physique

Elles sont dues à des chocs lors des opérations de manutention répétées et brutales entraînant la cassure des grains. Lorsque la structure granulaire est détruite, les constituants entrent plus facilement en contact avec les microorganismes et les enzymes (*Boudreau et al.*, 1992).

*Chapitre II*  
*Tribolium castaneum*

## Chapitre 02: *Tribolium castaneum* Herbst

### 2.1 Description

C'est un insecte appartenant à la famille des Tenebrionidae. L'adulte mesure de 3à4mm de couleur uniformément brun rougeâtre. Il est étroit, allongé, à bord parallèles, à pronotum presque aussi large que les élytres et non rebordé antérieurement. Les trois derniers articles des antennes sont nettement plus gros que les suivants. Contrairement à *T. Confusum*, le chaperon ne dépasse pas l'œil latéralement. La larve mesure 6mm environ 8 fois plus large d'un jaune très pâle à maturité, avec latéralement quelque courtes soies jaunes. La capsule céphalique et la face dorsale sont légèrement rougeâtres (Camara, 2009).



Figure01: Adulte de *Tribolium castaneum*\_(Herbt)

## 2.2 Systématique

Règne : Animalia

Embranchement : Arthropoda

Classe : Insecta

Ordre : Coleoptera

Famille : Tenebrionidae

Genre : *Tribolium*

Espèce : *Tribolium castaneum* (Herbst)

## 2.3 Cycle de vie

Le cycle de reproduction des Coléoptères comporte quatre stades distincts, œuf, larve, puppe (nymphe) et adulte (Delobel et Tran, 1993).

### 2.3.1 Œuf

Les œufs sont de forme ovoïde, uniformes, mesurant presque 0.6 mm de longueur. Au moment de la ponte, ils sont de couleur blanche, recouvertes par une graisse visqueuse, qui lui permet de se coller aux particules de nourritures et d'autres débris (Balachowsky et Mesnil, 1936)

### 2.3.2 Larve

L'éclosion de l'œuf donne naissance à une larve néonate de couleur blanche et de petite taille. Selon Camara (2009), la larve mesure 6mm, environ 8 fois plus longue que large, d'un jaune très pâle à maturité, avec latéralement quelques courtes soies jaunes. La capsule céphalique et la face dorsale sont légèrement rougeâtres.

### 2.3.3 La nymphe

La larve en dernier stade se transforme en une nymphe qui est de couleur blanche. Les segments de son abdomen sont explantés latéralement en lames rectangulaires à bord crénelées. La nymphe est incapable de se déplacer et constitue le scull état de vie de *T.castaneum* (Balachowsky, 1936).

### 2.3.4 Adulte

L'adulte de *Tribolium castaneum* est brun rougeâtre et mesure 0.4cm de longueur (Dave et al, 2001). Il est étroit, allongé, à bord parallèles. La tête et la partie supérieure du thorax sont couvertes de minuscules ponctions. Les ailes et les élytres sont striés sur toute leur longueur, le dernier article des antennes est légèrement renflé avec des yeux de couleurs rouges. Le prothorax a généralement des bords tranchants. La partie terminale de l'abdomen porte deux épines (Christine, 2001). Les adultes se nourrissent des mêmes aliments que les larves et vivent entre 15 et 20 mois. On peut rencontrer cinq générations par an (Gueye et al., 1997).

### 2.4 Dégâts et importance économique

Les denrées qui s'infectent fréquemment sont le riz, le blé, le son et la farine de riz et de blé, maïs, orge, sorgho, millet, manioc, tapioca et farine de manioc, fruits séchés, etc. et toutes légumineuses, sous forme de farines : conviennent très mal à son développement : arachide, coprah, graines de coton, ricin, cabosses de cacao, chocolat, noix de muscade, poivré, gingembre etc. Les farines infestées par *T. castaneum* sont fortement dépréciées, en partie en raison de l'odeur qui leur est communiqué (Delobel et Tran, 1993)

### 2.5 Moyens de lutte

#### 2.5.1 Lutte préventive

Elle consiste en une hygiène rigoureuse des moyens de transport, des locaux de stockage, des installations de manutention et des machines de récolte. Il est important d'isoler les nouvelles récoltes de celles qui sont anciennes dans l'entrepôt (Kellouche, 2005).

Il est couramment admis que plus de 80 % de la lutte contre les insectes repose sur l'intervention sanitaire qui repose sur :

#### ✓ Protection des locaux de stockage

Avant la mise en stock des denrées, il est indispensable de nettoyer correctement les structures de stockage :

- Balayage correcte des locaux, brossage des murs et colmatage des fissures.
- Toutes les balayures et débris rassemblés doivent être détruits car ils pourront constituer un foyer d'infestation. Dans les magasins il faudra traiter les sacs vides et détruire les vieux sacs.

-Les locaux de stockage, les alentours des bâtiments, doivent être propres et parfaitement dégagés (Belmouzar, 2004).

-la désinsectisation de l'emballage et des locaux de stockages doivent être hermétiquement fermés ainsi que la denrée destinée au stockage.

-utiliser un emballage résistant tels que les sacs en polyéthylène doublé, coton que les insectes sont incapable de percer (Amari, 2014)

### ✓ **protection de la denrée**

Avant la mise en stock, le blé doit être correctement nettoyé. La présence de brisures et de fines constitue un élément favorable au développement des insectes.

Tout nouveau lot doit être considéré à priori comme douteux est correctement inspectée car le produit attaqué introduit même en faible quantité peut infester un magasin ou un silo.

La lutte contre les insectes sera souvent vaine si l'on ne considère pas que c'est l'ensemble des structures de stockage des denrées stockées qui doit être correctement tenu et si l'on observe pas des principes élémentaires pouvant prévenir les infestation (Philippe, 2006) .

### **2.5.2 Lutte curative**

Les traitements curatifs ont pour but d'empêcher le développement des ravageurs des céréales en cas d'infestation et avant d'arriver à des stades plus complexes irréversibles. Elles regroupent les méthodes traditionnelles et les méthodes modernes.

#### **2.5.2.1 Méthodes traditionnelles**

Les paysans ont développé depuis des années des techniques souvent très élaborées et maîtrisées. Mise à part la fonction de stockage, les greniers et autres structures traditionnelles (pots, canaries) ont été conçus de façon à réduire au maximum les pertes causées par les principaux ennemis des récoltes dont les insectes (Ngamo et *al.*, 2007).

##### **2.5.2.1.1 Minéraux**

Certains minéraux comme le sable fin, la chaux et la cendre sont utilisés pour protéger le grain stocké contre les insectes. Mélangés au grain battu, les minéraux remplissent l'espace inter granulaire et empêchent le mouvement et la propagation des insectes à l'intérieur du grain stocké. Ces produits ne préviennent pas tous les dégâts mais gênent l'activité des

insectes nouvellement éclos. Les insectes ont plus de mal à trouver des partenaires et sont obligés de déposer leurs œufs sur une quantité relativement petite de graines. Ces matériaux abiment la cuticule des insectes entraînant leur mort suite à leur desséchement (De-Groot, 2004).

### **2.5.2.1.2 Insolation**

Le séchage traditionnel sur le sol permet la déshydratation des produits jusqu'à ce que leur métabolisme et celui des microorganismes associés soient fortement ralentis. Le séchage se fait avant le stockage des récoltes afin de faire fuir les insectes grâce à la chaleur et à l'incidence directe des rayons solaires (Gueye *et al.*, 2011).

### **2.5.2.2 Lutte Moderne**

#### **2.5.2.2.1 Lutte physique**

La lutte physique regroupe toutes les techniques de lutte dont le mode d'action primaire ne fait intervenir aucun processus biologique, biochimique ou toxicologique (Panneton *et al.*, 2000). Elle signifie l'élimination du ravageur ou la détérioration physique de l'environnement de manière à le rendre inhospitalier ou inaccessible pour le ravageur (Kumar, 1991). La technique de modification de l'atmosphère du milieu consiste à abaisser le taux d'oxygène de l'atmosphère inter-granulaire jusqu'à un taux létal pour les insectes (<1 % d'O<sub>2</sub>).

Des essais de désinsectisation par la chaleur des céréales ou produits dérivés (farines, semoules) ont été réalisés en Australie et en France. La technique consiste à traiter les produits en lits fluidisés à haute température (60° c à 180 °c); la température propre de produit n'atteignant pas 65°c à 70°c. en causant un choc thermique de quelques minutes, suivi d'un refroidissement rapide, entraînant une mortalité importante des insectes sans affecter les qualités technologique du produit (Fleura-Lessard, 1993).

D'après Cruz *et al.*,(1988), les basses températures ont pour effet de ralentir l'activité alimentaire de l'insecte et d'en réduire les mouvements et les déplacements.

#### **2.5.2.2.2 Lutte chimique**

La lutte chimique consiste à l'utilisation de produits chimiques appelés pesticides comme les insecticides (Ferrer, 2003). Selon la nature des ravageurs nuisibles on emploie

## *Chapitre II : Tribolium castaneum Herbst*

---

deux types de produits pour désinfecter les stocks des céréales : l'insecticide de contact et les fumigants.

*Chapitre III*  
*Huiles essentielles*

### Chapitre 03 : Huiles essentielles

#### 3.1 Définition

Il s'agit d'un mélange de composés lipophiles, volatils et souvent liquides, synthétisés et stockés dans certains tissus végétaux spécialisés. Extraites de la plante grâce à des procédés physiques tels que l'hydro distillation, l'entraînement à la vapeur ou par pression très élevée à froid dans le cas des agrumes, les huiles essentielles sont responsables de l'odeur caractéristique de la plante. Les produits obtenus par extraction avec d'autres procédés ne sont pas repris dans la définition d'huile essentielle donnée par la norme de l'Association française de Normalisation (AFNOR, 2000).

Contrairement à ce que le terme pourrait laisser penser, les huiles essentielles ne contiennent pas de corps gras comme les huiles végétales obtenues avec des pressoirs (huile de tournesol, de maïs, d'amande douce, etc.).

Il s'agit de la sécrétion naturelle élaborée par le végétal et contenue dans les cellules de la plante (Anton et Lobstein, 2005). Le terme « huile » s'explique par la propriété que présentent ces composés de se solubiliser dans les graisses et par leur caractère hydrophobe.

Le terme « essentielle » fait référence au parfum, à l'odeur plus ou moins forte dégagée par la plante.

#### 3.2 Localisation des huiles essentielles dans la plante

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs. Elles sont retrouvées dans les structures glandulaires et les cellules sécrétrices). Ensuite elles sont stockées dans des cellules dites cellules à huiles essentielles des Lauraceae, dans des poches sécrétrices des Lamiaceae, dans des poches sécrétrices des Myrtacées et dans des canaux sécrétrices des Asteraceae.

Elle peuvent être stockées dans des divers organes végétaux, dans les fleurs (bergamotier, rose,...), les feuilles (citronnelle, eucalyptus,...), les racines (vétiver), les rhizomes (*curcuma*, *gingembre*,...), les fruits (anis, badiane,...), le bois (bois de rose, santal,...), ou graines (muscade,...) (Oussala, 2006). Si tous les organes d'une même espèce peuvent renfermer une huile essentielle, la composition de cette dernière peut varier selon sa localisation (Belkou, 2005).

### 3.3 Rôle physiologique des huiles essentielles

Les plantes aromatiques produisent des huiles essentielles en tant que métabolites secondaires, mais leur rôle exact dans les processus de la vie de la plante reste inconnu (Rai et *al.*, 2003). Certains auteurs pensent que la plante utilise l'huile pour repousser ou attirer les insectes, ou pour favoriser la pollinisation. D'autres la considèrent comme source énergétique facilitant certaines réactions chimiques, conservant l'humidité des plantes dans les climats désertiques (Belaiche, 1979). Certaines huiles essentielles servent à la défense des plantes contre les herbivores, insectes et micro-organismes (Capo et *al.*, 1990).

### 3.4 Composition chimique

Ceux sont des mélanges complexes de composants appartenant principalement à deux groupes, caractérisés par des origines biogénétiques apparentes dont les terpénoïdes et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane (Bruneton, 1993)

#### 3.4.1 Terpénoïdes

Les terpénoïdes retrouvés dans les huiles essentielles sont les terpènes les plus volatiles, c'est-à-dire ceux dont la masse moléculaire n'est pas trop élevée : mono et sesquiterpènes. (Bruneton, 1993).

##### 3.4.1.1 Monoterpènes

Ceux sont des composés légers habituels des huiles essentielles. Ils peuvent être acycliques (terpinène, cymène) ou bicycliques (camphène, sapinène). Ils constituent parfois plus de 90% des huiles essentielles (chez les *Citrus*, térébenthines) (Bruneton, 2008)

##### 3.4.1.2 Sesquiterpènes

Les sesquiterpènes sont de structures très diverses: Les carbures, les alcools et les cétones sont les plus fréquemment (Bruneton, 1993).

#### 3.4.2 Composés aromatiques

Les composés aromatiques sont moins fréquents dans les huiles essentielles. Très souvent, il s'agit d'allyle et de propénylphénol. Ce sont généralement responsables des caractères organoleptiques des huiles essentielles.

### 3.4.3 Composés d'origines diverses

Selon le mode de récupération utilisé, les huiles essentielles peuvent renfermer divers composés aliphatiques, généralement de faible masse moléculaire, entraînés lors de l'hydrodistillation, carbures (linéaires et ramifiés, saturés ou non), acides ( $C_3$  à  $C_{10}$ ), alcools, aldéhydes esters acycliques et lactones.

Dans les concentrations, il n'est pas rare de trouver des produits de masse moléculaire plus importante non entraînés à la vapeur d'eau : homologues des phénylpropanes et diterpènes coumarines (Bruneton, 1993).

### 3.5 Techniques d'extraction des huiles essentielles

La quantité des huiles essentielles contenues dans les plantes est toujours faible, parfois très faible. Il faut parfois plusieurs tonnes de plantes pour obtenir un litre d'huile essentielle. Ce qui explique leur coût élevé. Cependant, les huiles essentielles sont généralement diluées avant d'être utilisées à cause de leur toxicité à trop fortes concentrations (Couic-Marinier et Lobstien, 2013). Les différentes méthodes principales pour l'extraction des huiles essentielles sont présentées ci-dessous.

#### 3.5.1 Extraction par hydro distillation

Le principe d'hydro distillation est celui de la distillation des mélanges binaires non miscibles. Elle consiste à immerger la biomasse végétale dans un alambic rempli d'eau, que l'on porte ensuite à ébullition. La vapeur d'eau et l'essence libérée par le matériel végétal forment un mélange non miscible. Les composants d'un tel mélange se comportent comme si chacun était tout seul à la température du mélange. C'est-à-dire que la pression partielle de la vapeur d'un composant est égale à la pression de vapeur de corps pur.

Cette méthode est simple dans son principe qui ne nécessite pas un appareillage coûteux. Cependant, à cause de l'eau, de l'acidité de la température du milieu, il peut se produire des réactions d'hydrolyse, de réarrangement de racémisation, d'oxydation d'isomérisation, etc. qui peuvent très sensiblement conduire à une dénaturation (Bruneton, 1993)

#### 3.5.2 Extraction par entraînement à la vapeur d'eau

À la différence de l'hydro distillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter. Le but de cette méthode est d'entraîner avec la vapeur détruite la structure des cellules végétales. Elle libère les molécules contenues et entraîne les plus

volatiles en les séparant du substrat cellulosique. La vapeur, chargée de l'essence de la matière première distillée, se condense dans le serpentín de l'ombilic avant d'être récupérée dans un essencier (vase de décantation pour les huiles essentielles). Les parties insolubles dans l'eau de condensation sont décantées pour donner l'huile essentielle surnageant.

### 3.5.3 Hydro diffusion

D'après (Acquaronne et *al.*, 1998), le terme hydro diffusion est attribué au type de transport contrôlé par la polarité des différents composants aromatiques dépendant d'avantage de leur solubilités dans l'eau que de leur point d'ébullition. Si l'hydrodiffusion constituait l'étape limitant de l'hydro distillation, alors l'ordre de sortie des composés serait dicté par leurs polarités et non par leurs volatilités.

### 3.5.4 Extraction par solvants

La méthode de cette extraction est basée sur le fait que les essences aromatiques sont solubles dans la plupart des solvants organiques. L'extraction se fait dans des extracteurs de construction variée, en continu, semi-continu ou discontinu. Le procédé consiste à épuiser le matériel végétal par un solvant à bas point d'ébullition qui par la suite, sera éliminé par distillation sous pression réduite. L'évaporation du solvant donne un mélange odorant de consistance pâteuse dont l'huile est extraite par l'alcool. L'extraction par les solvants est très couteuse à cause du prix de l'équipement et de la grande consommation des solvants, un autre désavantage de cette extraction par les solvants est leur manque de sélectivité, de ce fait de nombreuses substances lipophiles (huiles fixes, phospholipides, caroténoïdes, cires, coumarines, etc.) peuvent se retrouver dans le mélange pâteux et imposer une purification ultérieure (Shellie *et al.*, 2004).

### 3.5.5 Extraction par les corps gras

La méthode d'extraction par les corps gras est utilisée en Fleurance dans le traitement des parties fragiles de plantes telles que les fleurs, qui sont très sensibles à l'action de la température. Elle met en profit la liposolubilité des composants odorants des végétaux dans les corps gras. Le principe consiste à mettre les fleurs en contact d'un corps gras pour le saturer en essence végétale. Le produit obtenu est une pommade florale qui est ensuite épuisée par un solvant qu'on élimine sous pression réduite. Dans cette technique, on peut distinguer l'enfleurage où la saturation se fait par diffusion à la température ambiante des arômes vers le

corps gras et digestion qui se pratique à chaud, par immersion des organes et dans le corps gras (Lawrence, 1995).

### 3.5.6 Expression à froid

L'expression à froid est utilisée pour obtenir les essences et est réservée aux *Citrus* (coton, mandarine, orange...). Ce procédé consiste à briser mécaniquement les zestes frais d'agrumes en soumettant la substance végétale à une forte pression à l'aide d'une presse hydraulique. Cette méthode est simple et limite l'oxydation à minimum.

### 3.6 Domaine d'utilisation

Selon Grysole (2004), les plantes aromatiques donnent les huiles essentielles, une essence destinée à l'utilisation industrielle. Ces huiles essentielles ne sont pas forcément des produits finaux dans la mesure où, une fois produits. Elles peuvent servir d'intrants à la fabrication de plusieurs produits. Elles sont destinées en effet à quatre grands secteurs industriels.

#### 3.6.1 Secteur parfumerie et cosmétiques

L'utilisation des huiles essentielles comme base dans la fabrication de parfums constitue une pratique courante depuis des siècles dans la plupart des civilisations. L'Europe et les États-Unis ont développé des industries importantes qui démarquent par leur haut niveau d'exportations dans ce domaine.

#### 3.6.2 Secteur parfumerie technique

La parfumerie technique (qui comprend les produits d'entretien ménagers domestiques ou industriels) légalement recourt aux huiles essentielles pour l'image de propriété à laquelle elles sont associées, mais aussi parfois pour leurs propriétés antiseptiques. Dans ce secteur, l'industrie consomme de grandes quantités d'huiles, au meilleur prix possible.

#### 3.6.3 Secteur alimentation

L'industrie alimentaire utilise les huiles essentielles pour rehausser le goût des aliments, pour parfumer et colorer. Le secteur des boissons gazeuses s'avère un gros consommateur d'huiles essentielles. Dans ce secteur, les volumes d'huiles essentielles peuvent être très importants.

### 3.6.4 Secteur médecine

Dans le domaine de la santé, il faut distinguer le secteur pharmaceutique de celui des médecins. Dans ce dernier secteur, les vertus thérapeutiques des huiles sont reconnues et utilisées depuis des siècles dans beaucoup de pays. En effet, ce marché a donné naissance à une industrie des produits naturels comme les produits homéopathiques. Les produits naturels avec effets thérapeutiques ont attiré l'attention des divers groupes pharmaceutiques.

### 3.7 Activité insecticides

L'effet insecticide des huiles essentielles par contact, ingestion et par fumigation a été bien démontré contre les déprédateurs des denrées entreposées, de nombreux travaux ont porté sur l'amélioration des formes d'utilisation des plantes qui permettent de renforcer et de rentabiliser leur activité insecticide (Isman, 2000). L'objectif est d'améliorer les techniques traditionnelles basées sur l'utilisation des ressources végétales renouvelables pour une meilleure gestion des déprédateurs dans les stocks de niébé. Autre résultats indiquent que les huiles essentielles extraites de plantes odorantes ont une activité Insecticide indéniable vis-à-vis de *Callosobruchus maculatus*). Ces huiles essentielles agissent par diffusion. C'est ce qui leur permet d'atteindre toutes les Interstices dans la masse de graines stockées. Elles peuvent donc être utilisées en fumigation et leur emploi est facile. Selon Koumaglou (1992), la technologie de leur extraction est simple et accessible à tous les niveaux.

### 3.8 Conservation de l'huile essentielle obtenue

Les huiles essentielles doivent être conservées correctement pour leur qualité. Avec brun ou de l'aluminium vitrifié .Une essence bien distillée se conserve trois ans au moins (Benbouli, 2005).

***Chapitre IV:***  
***Mentha pulegium***

### Chapitre 04: *Mentha pulegium*

#### 4.1 Origine et répartition géographique

Au départ, elle était d'origine méditerranéenne. Aujourd'hui, elle est répandue aussi en Europe de l'Ouest, du Sud et centrale, aux canaries et à l'ouest de l'Asie, ainsi qu'en Amérique. *M. pulegium* est connue sous le nom de « menthe pouliot ». Le nom de « pouliot » vient du latin *pulegium*, qui dérive de *pulex* : la puce ; la plante ayant la propriété d'éloigner les puces. Elle est fréquente dans les milieux humides. Elle pousse sur des sols sablonneux et acides. Mais elle est très sensible au gel (Anton, 2005). Elle est parfois cultivée comme plante condimentaire pour ses feuilles très aromatiques malgré son utilisation ancestrale pour aromatiser les sauces, les desserts et les boissons. Son intérêt économique demeure limité.

- Principaux pays producteurs: Les Etats Unis, le Maroc et l'Espagne.
- Principaux pays exportateurs: Les parties aériennes sont peu commercialisées alors que l'huile essentielle est exportée par les Etats Unis (Boukenna et Bouzidi, 2007).

#### 4.2 Description botanique

*Mentha pulegium* est une espèce qui appartient à la famille des Lamiaceae ou Labiatae. Elle est vivace, pubescente, couchée, parfois dressée de petite taille à moyenne (10 à 30 cm de haut, 45 de large) radicante, généralement poilue, à tiges florifères dressées, fortement aromatique à odeur piquante avec des petites feuilles étroites elliptiques à ovales, à peine dentées, à pétiole court, souvent poilu au revers avec des bractées foliacées. Elle possède des fleurs lilas, de 4,5 à 6 mm de long qui apparaissent en été, de juillet à fin septembre, parfois rose et d'autres fois blanches échelonnées le long de la tige. Ses corolles ont 4 lobes presque égaux et 4 étamines saillantes, en verticilles denses, très espacés mais pas de capitule terminal. Elle possède des verticilles à l'aisselle des feuilles supérieures et moyennes avec un calice velu, nettement cannelé, poilu dans la gorge, Les 2 dents inférieures sont plus étroites. La floraison s'effectue durant les mois de juillet jusqu'à octobre.



Figure 02 : La menthe Pouliot «*Mentha pulegium*»

#### 4.3 Position systématique :

Règne : Plantae.

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre: Lamiales.

Famille: Lamiaceae.

Genre: *Mentha*.

Nom scientifique : *Mentha pulegium*L.1753.

Non commun en arabe : Fliou.

#### 4.4 Toxicologie

La consommation de la menthe douce à des fins culinaires ou comme boisson aromatique ne présente aucun risque de Toxicité aigüe ni chronique. Son potentiel de sensibilisation est très faible (Anton, 2005).

***Partie II :***  
***Partie expérimentale***

# *Matériels et méthode*

Dans ce chapitre nous avons abordé le matériel et les méthodes montrant la conduite de l'élevage des adultes et des larves de *Tribolium castaneum* (Herbst), à la préparation des huiles essentielles, le choix des doses et la méthode de traitement par inhalation sur les insectes.

### 2.1 Objectif

L'objectif de Notre travail est de déterminer l'activité insecticide par le traitement d'inhalation de l'huile essentielle extraite des feuilles de *Mentha pulegium* sur les adultes et les larves de *Tribolium castaneum*, par l'observation des mortalités moyennes, la détermination de la DL<sub>50</sub> et DL<sub>90</sub> et la TL<sub>50</sub> et TL<sub>90</sub>, au niveau de laboratoire de l'université Djilali Bounaama de Khemis Miliana sous des Conditions contrôlées de température et d'humidité.

### 2.2 Matériels et méthode

#### 2.2.1 Matériel animal

Pour obtenir les individus en adultes et en larves de *Tribolium castaneum* nécessaires à notre expérimentation, nous avons réalisé l'élevage en masse au niveau de laboratoire de recherche « Eau-Roche-Plante » de l'université Djilali Bounaama de Khemis Miliana dans une armoire aménagée comme chambre d'élevage à une température 27°C plus ou moins 2°C (Fig.03)

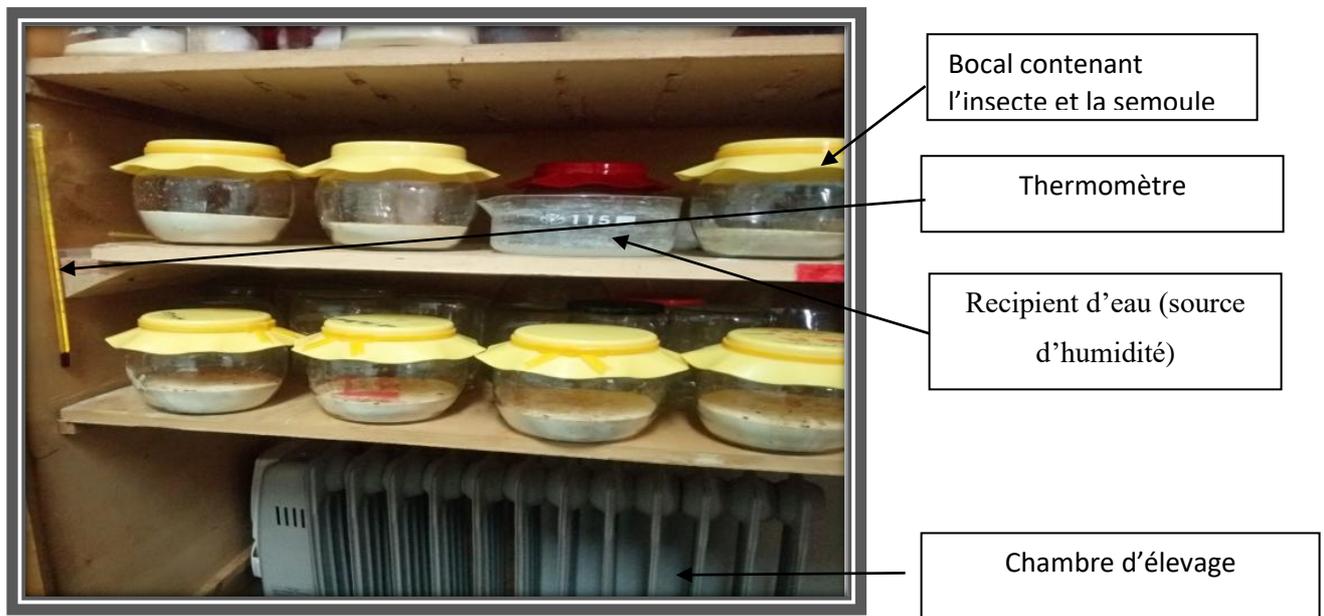


Figure 03 : Chambre d'élevage de *T. castaneum* (photo originale)

### 2.2.2 Matériel végétal

Les feuilles et les tiges de *Mentha pulegium* utilisées pour l'extraction des huiles essentielles ont été récoltées le mois de janvier de l'année 2020 (Fig. 04). Elles ont été séchées à l'ombre pendant 7 jours. Les feuilles séchées sont ensuite broyées puis conservées dans des sacs en carton jusqu'à leur utilisation.



Figure 04 : Méthode de séchage (Photo originale)

### 2.3 Extraction des huiles essentielles

La méthode d'extraction des huiles essentielles utilisée au cours de notre expérimentation est l'hydro distillation à l'aide de l'appareil de Clevenger (Fig.06). L'opération a duré pendant 3 heures et demie selon le protocole suivant :

Mettre 50 grammes de feuilles séchées de *Mentha pulegium* dans un ballon en verre d'un litre, rempli l'eau distillée environ la moitié de sa capacité. Le tout est porté à ébullition pendant 3 heures au maximum à l'aide d'un chauffe ballon réglé (Fig.05) L'eau s'évapore entraînant avec elles les constituants de l'huile essentielle qui passe dans un condensateur. L'huile essentielle est conditionnée dans des tubes (Ependorf) hermétiquement clos et couverts avec du papier aluminium pour éviter la dégradation

de l'huile essentielle. Les tubes remplis sont conservés à une température de 4°C jusqu'à leur utilisation.



Figure 05 :Dispositif d'extraction à laide d'un hydrodistillateur du type (Clevenger)  
(photo originale)

#### 4.4 Calcul du rendement en huiles essentielles

Le rendement en huiles essentielles de la plante étudiée est calculé à partir de la masse de l'huile obtenue ( $m_1$ ) et de celle de la matière sèche ( $m_2$ ). Les rendements en huiles essentielles extraites à partir des feuilles de la plante sont calculés en tenant compte du taux de matière sèche de la plante (Kaid-Slimane, 2005) selon la relation :

$$R(\%) = [m_1/m_2] \times 100$$

Où:

R : rendement en huiles essentielles en %

M1: masse en grammes d'huile essentielle

M2: masse en grammes de la matière végétale sèche

### 4.5 Préparation des doses de traitement

La préparation doit être faite sur la base de quelques essais préliminaires. Quelques doses aléatoires sont utilisées puis ajustées jusqu'à avoir trouvé les meilleures doses qui donnent une bonne droite de régression de la forme  $y = ax + b$ . Elles sont aléatoires et de l'ordre de quelques microlitres (5 ou 10 ml de raison) au début qui doivent être corrigées au fur et à mesure.

### 4.6 Protocole expérimental

Le dispositif expérimental est constitué par 3 blocs constitués par un témoin et trois répétitions pour chacun des plantes. Chaque boîte de pétrie comporte des individus homogènes de *Tribolium castaneum* au nombre de 10. Ce dispositif est installé dans les mêmes conditions que celui de l'élevage de masse. Les traitements sont faits dans des boîtes de pétrie de dimensions bien connues en volume.

### 4.7 Mode de traitement

Le mode de traitement utilisé est par inhalation avec les huiles essentielles de la plante sur les populations de *Tribolium castaneum*. Chaque huile essentielle est testée par la suite en utilisant de nouvelles doses choisies après les tests préliminaires. Les volumes des huiles ont été mesurés à l'aide d'une micropipette d'une gamme de (100ml). Le test d'insecticide a été réalisé sur dix individus adultes enfermés dans une boîte de pétrie de volume inférieur à 0,098 litre bien fermées à l'aide de parafilm afin d'éviter que les huiles essentielles s'échappent. Les doses des huiles essentielles déposées à l'aide d'une micropipette dans un papier filtre, sont mis dans un bouchon de 3 cm de diamètre imprégné en papier aluminium et couvert par un morceau de toile (chèche). La toile est maintenue par un élastique évitant tout contact direct de l'insecte avec l'huile essentielle. Ainsi les bouchons préparés sont mis dans des boîtes de pétrie (volume intérieur 0,098 litre) jouant le rôle de chambre d'inhalation, en présence des insectes au nombre de dix individus par boîte. Pour chaque dose testée, on a réalisé trois répétitions. Les boîtes, bien fermées avec du para film, sont remis et rangées dans une armoire où la température et d'humidité sont contrôlées selon les mêmes conditions d'élevage en masse. Les témoins, sont traités qu'avec de l'eau

## Materiels et méthode

---

distillée stérile. Le comptage des insectes de morts se fait à des temps précis choisis selon l'efficacité insecticide des huiles essentielles, généralement ils peuvent varier de quelques heures jusqu'à des jours d'observation. Les individus notés morts sont enregistrés dans un tableau pour chaque répétition et chaque dose tout le long des temps d'observation.

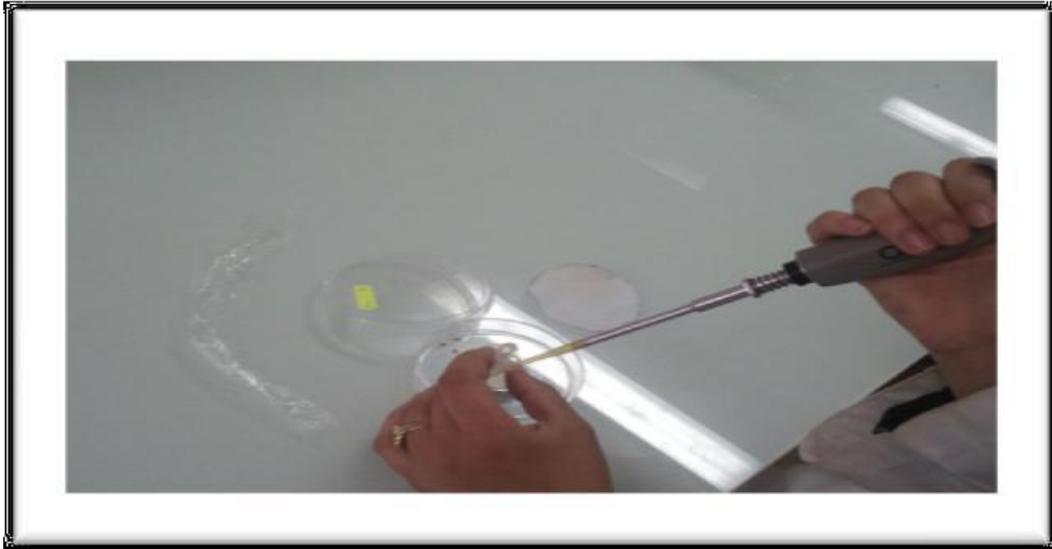


Figure 06 : Evaluation de la toxicité par le test d'inhalation



Figure 07 : Test inhalation crée dans une boîte de pétrie



Figure 08: Dispositif experimental

### **Calcul des DL<sub>50</sub> et DL<sub>90</sub> et TL<sub>50</sub> et TL<sub>90</sub> chez *Tribolium castaneum***

Avant de procéder au calcul de la DL<sub>50</sub> et DL<sub>90</sub>, la mortalité observée est corrigée par rapport avec celles des témoins, selon la formule d'Abbot (1925)

$$M_c = (M_2 - M_1) / (100 - M_1).$$

M<sub>1</sub>: pourcentage de mortalité dans le témoin.

M<sub>2</sub>: pourcentage de mortalité dans les blocs traités

M<sub>c</sub>: pourcentage de mortalité corrigée.

Pour estimer la DL<sub>50</sub> et la DL<sub>90</sub> (temps au bout duquel il y a mortalité de 50% ou 90 % d'une population, on se sert de la transformation des pourcentages de mortalités moyennes corrigées en probit (Cavelier, 1976) et de la transformation en logarithme décimal des doses et du temps (Cavelier, 1976).

## Materiels et méthode

---

Les transformations nous permettent par l'intermédiaire de logiciels d'établir les droites de régression de type :

$$Y=ax +b$$

Y :probit de mortalité corrigée X : logarithme des doses ou du temps.

A partir des équations trouvées, les DL<sub>50</sub> et DL<sub>90</sub>et les létaux TL<sub>50</sub>et TL<sub>90</sub>sont déterminées.

**Tableau n° 2** : Transformation des pourcentages de mortalité en probit (Cavelier, 1976)

%	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0		2.67	2.95	3.12	3.25	3.36	3.45	3.52	3.59	3.66
10	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
20	4.16	4.19	4.23	4.26	4.29	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
30	4.8	4.5	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
40	4.75	4.77	4.8	4.82	4.85	4.87	4.9	4.92	4.95	40
50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.1	5.13	5.15	5.18	5.20	50
60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.1	5.13	5.15	5.18	5.20	60
70	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	70
80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	80
90	6.28	6.43	6.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	90
	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	
99	7.33	7.37	7.41	7.46	7.51	7.58	7.75	7.75	7.88	99



# Résultats et *Discussion*

Comme il était impossible de réaliser l'expérimentation en raison des problèmes du COVID 19, nous nous sommes contentés seulement des résultats antérieurs. Ces derniers sont présentés successivement dans le paragraphe résultats antérieures qui suit.

### Résultats antérieures

1- **Selon Hanane et al., (2018)**, l'action des huiles essentielles extraites à partir des feuilles de *Mentha pulegium* à l'aide du traitement par fumigation sur les adultes de *T. Castaneum* au Maroc, les mortalités ont été réduites et sont fonction des doses appliquées et des temps d'exposition de l'insecte. Elles sont de 100% de la mortalité moyenne à la dose de 20 ml des huiles essentielles pures après 48 h de traitement.

2- **D'après Pavela et al., (2014)**, l'action des huiles essentielles de *Mentha pulegium* extraites à partir des feuilles à l'aide du traitement par inhalation sur les larves de *Culex pipiens* (Diptera) a donné des mortalités importantes avec des  $DL_{50}$  de 64 mg/l et 86mg/l en  $DL_{90}$

3- **Selon Abessi et al., (2018)**, l'action des huiles essentielles extraite à l'hydro distillation des feuilles de *Mentha pulegium* en Tunisie a donné des :

$CL_{50} = 33.740 \mu l$

$CL_{90} = 159.06 \mu l$

4- **Selon Barbouch et al., (2015)**, l'action des huiles essentielles de *Mentha pulegium* à l'aide du traitement par fumigation sur les adultes de *Tribolium castaneum* en Tunisie a donné des mortalités de 100% à une dose de  $0.15 \text{ml/cm}^3$  après 6 heures de traitement. Les concentrations létales sont  $CL_{50} = 121.8 \mu l$  et  $CL_{90} = 178.46 \mu l$ .

5- **Selon Moloud et al., (2013)**, l'action des huiles essentielles de *Mentha pulegium* à l'aide de traitement par inhalation sur *Tribolium Castaneum*, a donné une  $CL_{50}$  de  $165.5 \mu l/l$ .

6- **Selon Ncibi et al., (2015)** l'action des huiles essentielles de *Mentha pulegium* à l'aide du traitement par fumigation sur les adultes de *Tribolium castaneum* ont donné des mortalités de 100% en dose  $0,15 \text{ml/cm}^2$  avec une  $CL_{50}$  de  $49.84 \mu l/l$

7- **Selon Arezzo et al., (2019)**, l'action des huiles essentielles de *Mentha pulegium* à l'aide du traitement par inhalation sur *Tribolium castaneum* ont donné des mortalités de 86.03% après 72h de traitement et une  $CL_{50}$  de  $7,93 \mu l/ml$ .

# *Conclusion Générale*

### Conclusion générale

Nous concluons à travers cette étude et selon les travaux antérieures que :

Le rendement de menthe *pulegium* varie d'une espèce à une autre appartenant au même genre et même pour une même espèce selon la géographie de la plante.

Les mortalités des larves et des adultes de *T. Castaneum* provoquées par les huiles essentielles extraites des feuilles de *M. pulegium* varient en fonction des doses de traitement et du temps d'exposition. Elles varient aussi chez les autres traitements de contact, d'ingestion et de fumigation

Nous concluons aussi que les huiles essentielles de *M. pulegium* ont a effet insecticide même sur d'autres insectes ravageurs du blé stocké tels que *Tribolium confusum*, *Sitophilus granarius*, *Trogoderma granarium* et *Rhyzoperta dominica*.

Les huiles essentielles de *M. pulegium* sont très toxiques chez les adultes que chez les larves

Les doses létales DL<sub>50</sub> et DL<sub>90</sub> trouvées dans les études antérieures à l'aide du traitement par inhalation sont très intéressantes. Elles sont de l'ordre de 7.93 ul/ml pour la DL<sub>50</sub> et 121.8 ml pour la DL<sub>90</sub>.

En ce qui concerne les Temps létaux, peu d'études ont été faites. Nous mentionnons, des temps de 48h pour les TL<sub>50</sub> et 72 h pour les TL<sub>90</sub>.

En perspective, nous souhaitons terminer le mémoire par une étude expérimentale où tous les points seront étudiés, l'élevage en masse des larves et des adultes dans de bonnes conditions de température et d'humidité, l'extraction et analyse chimique des huiles essentielles, le traitement à l'aide des huiles essentielles, notation des Mortalités moyennes, calcul des DL<sub>50</sub> et DL<sub>90</sub> et calcul des temps létaux TL<sub>50</sub> et TL<sub>90</sub>.

*Références  
bibliographiques*

## References bibliographiques

**Abessi M., Bachrouche0., Mediouni ben djemàa J., Haouelhamdi S and AbderrabbaM., 2018-** Comparative insecticidal activity of *Mentha pulegium*L.and *Thymus capitatus* Hoff.et link. Essential Oil against the red flour Beetle: *Tribolium Castaneum* (herbst)(Coleoptera, Tenebrionidae). Journal of Chemical and pharmaceutical Research, 10(10):32-39.

**Acquaronne L., CorticchiatoM ., Ramzohi J., Raoul J L.1998.** - Growing of *Monarda fistulosa* in France and getting of essential oils by hydrodiffusion .trivista Italian app., 761-765.

**Afnor, 2000-** Recueil de normes : les huiles essentielles. Tome1. Echantillonnage et méthodes d'analyse. Afnor, paris, 440p.

**Amari N., 2014-** Etude du choix de ponte de la bruche du niébé *callosobruchus masculatus* en présence de différentes variétés d'haricot et pois chiche, et influence de quelque huiles essentielles(cèdre, ciste, Eucalyptus) sur activité biologique de l'insecte. Mémoire de magistère : pp23, 25

**Anton R et Annelise L 2005-** Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments, et huiles essentielles, Lavoisier, édition. Tec&Doc.

**Anton et Lobstien A., 2005-** Plantes aromatiques. Epices, aromates, condiments et huiles essentielles. Tec&Doc., Paris, 522p.

**Anonyme., 2004-** Module de formation sur les techniques de stockage et de conservation des céréales. Ed. Afriku everte., Ouagadougou., Burkina Faso., 2p.

**Arezoo H; Orouj V., Negahban Mehrkhou F 2019-** Efficacy of *Mentha pulegium* essential oil nanorormulation on mortality and physiology of *Tribolium castaneum* (Col: Tenebrionidae) protection plante., Vol 8(4) 501-520

**Aziez M., Hammadouche O., Mallem S. et Tacherifet S., 2003** - Le guide pratique pour l'agréeur céréales et légumineuses alimentaires. C. N. M. Z, Algérie, 55p.

## References Bibliographiques

---

**Azoui,H ; 2015** - Etude du comportement d'une collection de blés cultivés en Algérie vis-à-vis de quelques stress biotiques. Thèse de magister en science agronomiques .université el hadj lakhdar.,Batna .Algérie., 10p

**Balachowsky A et Mensil L., 1936** - Les insectes nuisibles aux plantes cultivées, leurs mœurs, leur destruction. Ed. Busson., T.II., Paris., 1921p

**Barbouch N ,Hamidi S and Mehamed A., - 2015-** Activité Insecticide de plusieurs huiles essentielles tunisiennes contre deux principaux ravageurs des céréales stockées *Rhyzoperta dominica* (fabricus,1792)et *Tribolium castaneum* (H1997).,vol66 .,Article05(7331 B).

**Belaiche P., 1979.**Traité de phytothérapie et d'Aromathérapie. Tome I. Ed.Maloine S.A. Paris.

**Belkou h, Beyoudf et Taleb-BahmedZ., - 2005.** Approche de la composition biochimique de la menthe vert (*Menthaspicata* L) dans la région de ouargla, mémoire D.E.S., univ.Ouargla. P2-61.

**Belmouaz A., 2004-**Contrôle phytosanitaire et surveillance des denrées stockées. Agréage et protection phytosanitaire. Ed. O.A.I.C (Office algérien interprofessionnel des céréales), P18-34.

**Benbouli ., 2005 :**"valorisation des extraits des plantes aromatiques et médicinales de : *Mentha rotundifolia* et *thymus vulgarise* », (Mémoire de magistère).154p

**Berhaut P., Le Bras A., Niquet N., 2003-** Stockage et conservation des grains à la ferme. Ed. ARVALIS- Institut du végétale. Paris, France., pp97-98.

**Bessot J.C., Metz-Favre C., Blay F et Pauli G., 2011-**Acariens de stockage et Acariens pyroglyphides : ressemblances, différences et conséquences pratique. Revue Française d'allergologie 51 :pp607-621.

**Bhalla A.S., 1986-**Le stockage du grain .Ed .Bur. Inter, Trav., Genève., 24-25p.

**Bonnier G., 1990-**La grande flore du France en couleurs. Ed. Blin., Paris., pp : 214-215

**Boudreau A et Ménard G., 1992-** Le Blé : éléments fondamentaux et transformation. Ed. Les Presses de l'université Laval., Canada., 439p.

## References Bibliographiques

---

**Boukenna M et Bouzidi M 2007** – Extraction et analyse de l'huile essentielle de *Mentha viridis* L (menthe verte) et de la menthe pouliot (*Mentha pulegium*). Thèse d'Ingénieur en Agronomie UMMTO

**Bruneton J., 1993-** Pharmacognosie, phytochimie, plants médicinales. Paris, Lavoisier:585, 586, 587,588.

**Brunton J., 1999 -** Pharmacognosie, Phytochimie, plantes médicinales. Ed .Tech . &doc, Lavoisier., Paris

**Bruneton J., 1993-**Pharmacognosie, photochimie, plantes médicinales. Paris., Lavoisier, 623p

**Bruneton J., 2008-** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3 édition, Tec et Doc., Lavoisier., Paris.

**Camara A., 2009-** Lutte contre *Sitophilus oryzae* L (coleoptera : Curculionidae) et *Tribolium castaneum* Herbst (coleoptera : Tenebrionidae) dans les stocks de riz par la technique d'étuvage traditionnelle pratiquée en Basse Guinée et l'utilisation des huiles essentielles végétales. Thèse. Doct., Université de Québec., Montréal., 154p.

**Capo M., Courilleau V., Valette C., 1990-**Chimie des couleurs et des odeurs. Culture et techniques, 204 p.

**Christine B., 2001-**Contrôle de la qualité des céréales et protéagineux, guide pratique. 2<sup>ème</sup> Edition, 124-154.

**Coraf ., 2007-** Programmes de productivité agricole en Afrique de l'ouest. Plan de Gestion des pestes et pesticides. Rapport E1553., v 2. Dakar, p5-6.

**-Couic-Marinier F. et Lobstein A., 2013** : Les huiles essentielles gagnent du terrain à l'officine. Actualités Pharmaceutiques.

**Cruz J. F, Tronde F., Griffon D. et Haber J. P., 1988-** Conservation des grains en région chaudes « techniques rurale en Afrique ». 2<sup>ème</sup> Ed, Ministère de la coopération et du développement, Paris France, 545p.

**Dave A., Colin J., Demianyk P.G., Fields D.S., Jayas J.T.M., William E.M., Blaine T., Noel D.G.W., 2001-** Protection des céréales, des oléagineux et des légumineuses à grain

## References Bibliographiques

---

entreposés à la ferme contre les insectes, les acariens et les moisissures. (éd.rev.)(Manitoba) Canada.59p.

**De Groot I., 2004-** Protection des céréales et des légumineuses stockées. Ed. Fonda. Agromisa., Pays bas., 74p.

**Delobel A et Tran M (1993)-** Les coléoptères des denrées alimentaires entreposées dans les régions chaudes, ORSTOMICTA, Paris : p 425

**Doumandji A, DoumandjiMitiche B, Doumandji S.A. 2003** – technologie de transformation des blés et problème dans aux insectes au stock, Ed. Office de publication universitaire, Alger, 66p.

**Feillet P., 2000-** Le grain de blé composition et utilisation. Ed. INRA, Paris, 308p.

**Ferrer A., 2003-** Pesticide poisoning. An Sist. Sanit. Navar., 26(1): 155-171.

**Flarence M., 2012-** utilisations thérapeutiques des huiles essentielles : Etude de cas en maison de retraite

**Fleurat-Lessard F., 1993-**Détection des insectes dans les stocks de céréales entreposées et méthodes de lutte non chimique. Colloque Biebourgogne-CGAB « céréales en AB » Dijon., pp.4-6.

**GrysolJ., 2004-** La commercialisation des huiles essentielles. Manuel pratique des huiles essentielles : de la plante à la commercialisation. 139-141.

**Gueye, A. Diome, T. Thiaw, CH. Sembene, M. Appl, J. 1997** -Evolution des paramètres biodémographiques des populations de *Tribolium castaneum* H. (Coleoptera, Tenebrionidae) inféodé à l'mil (*Pennisetum glaucum*Leek) et le maïs (*Zeamays* L.) Journal of Applied Biosciences

**Gueye M., Seck D., Ba S., Hell K., Sembène M., Wathelet J-P ET Lognay G., 2011-** Insecticidal activity of *Bosciasenegalensis* (Pers.) Lam ex Poir.On *Caryedon serratus* (Ol.) pest of stored groundnuts. African. Journal of Agricultural. Research. 30(6): 6348-6353.

**Gwinner J., Harnisach R., Muck O., 1996-** manuel sur la manutention et la conservation des graines après récolte, Ed. Eschborn, 368p.

**Isman M .B., 2000** - Plant essential oils for pest and disease management. Crop.Production., N° 19.pp 603-608

## References Bibliographiques

---

**Karahacane T., 2015-** Activité insecticide des extraits des quelques plantes cultivées et spontanées sur les insectes du blé en post récolte. Thèse. Doct. Production des végétaux- Zoologie, option : Entomologie Appliquée. Ecol. Nat. Sup. Agr., 139p.

**Kellouche A., 2005-** Etude du bruche du pois chiche *Callosobruchus maculatus*. F (Coleoptera : Bruchidae) ; Biologie physiologie, reproduction en lutte. Thèse de doctorat d'état en science naturelles. Spécialité entomologie. , U.M.M.T.O., 154p.

**Kouassi B., 1991 –** Influence de quelque facteurs extérieurs sur le cycle de développement et suivie de *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera- Curculionidae). Thèse. Doctorat en biologie animale. Fac. Scie et Tech. Univ. Nati. Cote d'Ivoire., 105p.

**Koumaglou B.1992 -** Le stockage des produits agricoles et tropicaux. 4emeED. Fonction A gromisa, wageningen.pp-18.

**Kumar R., 1991-**La lutte contre les Insectes Ravageurs. Karthala et CTA : Paris., 10-311.

**Lawrence, 1995 J.F., Newton J.R.A.F.1995.** Families and subfamilies of Coleoptera (with selected genera, notes references and data on family group names). In: biology, phylogeny, and Classification of Coleoptera. (J.Pakaluk&.S.A. Slipinskieds.)Pap.,Cel :779-1006.

**Leonard S. et Ngamo T -** Conseil phytosanitaire interafricain. Bulletin d'information phytosanitaire. Ed. F.A.O Rome N: 44-58p.

**Lougraimzi H., El iraqi S , Bouaichi A , Gouit S , Achbani H ,and Fadli M. 2018-** Insecticidal effect of essential oil and powder of *Mentha pulegium* L .leaves against *Sitophilus oryzae* (Linnaeus,1763) and *Tribolium castaneum* (Herbst, 1797) (Coleoptera : Curculionidae, Tenebrionidae), the main pest of stored wheat in Maroco.

Polish journal of entromology 87(3). Vol: 263-278.

**Moloud E.,Vojoudi S and parsaeayan E., 2013-**Fumigant toxicity of essential oils of *Mentha pulegium* L on adults of *Callosobruchus maculatus*, *Tribolium castaneum*, *Lasioderma serricone* and *Sitophilus oryzae* in laboratory conditions.2013-Technical journal of engineering and applied sciences 732-735.

**Ncibi S., Barbouche N., Haouel-Hamdi S et Ammar M.-** Activité insecticide de plusieurs huiles essentielles tunisiennes contre deux ravageurs des céréales stockées *Rhyzoperta dominica* (Fabricius, 1792) et *Tribolium castaneum* (Herbest1797)., vol 66.,Visites : 966.

## References Bibliographiques

---

**Ndomo A. F., Tapondjou A.L., Tendonkeng F., M., 2009** - .Evaluation des propriétés insecticides des feuilles de *Callistemon viminalis* (Myrtaceae) contre les adultes d'*Acanthoscelides obtectus* (Say) (coleoptera ; Bruchidae).Tropicultura. J., 27(3) :137-143.

**Ngamo L.S.T., Hance Th., 2007** - Diversité des ravageurs des denrées et alternatives de lutte en milieu tropical. Tropicultura. Journal., 25(4):215-220.

**Ngamo L.S.T., Ngassoum M.B., Mapongmetsem P.M., Malaisse F., Haubruge E., Lognay G et Hance T., 2007**- Current post harvest practices to avoid insect attacks on stored F.M. NANFACK et al. / Int. J. Biol. Chem.Sci. 9(3): 1630-1643, 2015 grains in Northern Cameroon. Agr.J. 2(2): 242-247.

**Oussala M., Caillet S., Saucier L., 2006** – La croix m-antimicrobial effects of selected plant essential oils on the growth of a *Pseudomonas putida* strain isolated from meat-science. 73 : 236-244.

**Pauli ,G. , Bessot , J- ., 2013.** Les acariens : biologie, écologie et actualités des allergènes moléculaires .Rev.Fr..Allergol., Huitièmes rencontres d'allergologie du Grand Sud (Narbonne-29-30 novembre 2013) 53, Supplement I ,45-58

**Panneton, B., C. Vincent et F. Fleurat-Lessard. 2000**- Bilan et perspectives pour la lutte physique en phytoprotection, INRA Editions., Paris., pp : 333-339.

**Rai M. K., Acharya D. and Wadegaonkar P., 2003**- Plant derived-antimycotics: Potentiel of Asteraceous plants, in: plant-derived antimycotics: Current Trends and Future prospects. Haworth press, N-York, London, Oxford, pp: 165-185.

**Sharma N., Bhandari A S., 2014**- Management of Pathogens of Stored cereal Grains, p87-107.

**Shellie R, Marriott P, Chaintreau A., 2004** - Quantitation of suspected allergens in fragrances: evaluation of comprehensive two-dimensional GC for quality control, flavor and fragrance. Journal. Wiley online Library, Vol, 19.,p 91-8

**Soejarto D., Farnsworth N R., 1989** - Tropical rainforests: potential sources of new drugs. Perspectives in biology and Medicine .32:244-258.

## References Bibliographiques

---

**Tapondjou L A., Aler C., Bouda H, Fontem D A., 2002** - Efficacy power and essential oil from *Chenopodium ambrosiodes* leaves as post-harvest grain protect ants against six-stored product beetles .Journal of stored products research 38, pp 395-402.

# *Annexes*

## Annex

---

%	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0		2.67	2.95	3.12	3.25	3.36	3.45	3.52	3.59	3.66
10	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
20	4.16	4.19	4.23	4.26	4.29	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
30	4.8	4.5	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
40	4.75	4.77	4.8	4.82	4.85	4.87	4.9	4.92	4.95	4.98
50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.1	5.13	5.15	5.18	5.20	5.22
60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.35	5.37	5.39	5.41	5.43	5.45
70	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.80
80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
90	6.28	6.43	6.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.20
	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
99	7.33	7.37	7.41	7.46	7.51	7.58	7.75	7.75	7.88	7.99