



Université de Carthage

Faculté des Sciences de Bizerte

N° d'ordre : Sciences Biologiques

Thèse de doctorat

Année universitaire 2021-2022



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Titre de la thèse

Toxicité des pesticides et des hydrocarbures sur les
bivalves marins : impacts de l'exposition aux
nanoparticules métalliques

Thèse de doctorat en cotutelle de l'Université de
Carthage et de l'Université Haute Alsace

Préparée à la **Faculté des Sciences de Bizerte/Institut de Science
des Matériaux de Mulhouse**

Ecoles doctorales : Sciences, Vie et matières/ED182

Spécialité du doctorat : Sciences Biologiques

Thèse présentée et soutenue à la Faculté des Sciences de Bizerte

Le 31- Mai - 2022 par **Imen BOUZIDI**

Composition du Jury :

Présidente : Mme Asma SAKKA HLAILI Prof., FSB

Rapporteur : Mr. Boris LAKARD Prof., Université Bourgogne
Franche-Comté

Rapporteur : Mr. Imed MESSAOUDI Prof., Université de Monastir

Examineur : Mme Sonia HAMAID MC., ISSMT

Examineur : Mr. Christophe SERRA Prof., Université
de Strasbourg

Directeur de thèse : Mr. Hamouda BEYREM Prof., FSB

Co-directrice de thèse : Mme Karine MOUGIN MC., Institut de
Sciences des Matériaux, Université de Haute Alsace

Invité : Mr. Badreddine SELLAMI MA., INSTM



Titre : Toxicité des pesticides et des hydrocarbures sur les bivalves marins : impacts de l'exposition aux nanoparticules métalliques

Mots clés : Nanoparticules, Hydrocarbures aromatiques polycycliques, pesticides, Co-exposition, photodégradation, Biosurveillance

Résumé : L'objectif de cette thèse est d'étudier les effets de l'exposition individuelle ou en combinaison de certaines nanoparticules (NPs), de certains hydrocarbures polycycliques et pesticide sur les bivalves par le biais d'une approche multi-marqueurs (chimique, physiologique et biochimique). Pour atteindre cet objectif, le modèle biologique choisis est la moule *Mytilus galloprovincialis*.

Dans une première partie et afin d'estimer le comportement et les effets de cinq formes de nanoparticules (ZnO, Au-ZnO, Cu-ZnO, TiO₂ et Au-TiO₂) sur la moule, des analyses chimiques, physiologiques et biochimiques ont été réalisées. Par la suite la toxicité potentielle de trois hydrocarbures aromatiques polycycliques (le benzantracène, le fluoranthène et le benzo(a)pyrène) a été évaluée par une batterie de biomarqueurs. Dans une troisième partie l'impact écotoxicologique de deux pesticides, le diuron et le triclosan est étudié au niveau des organes de la moule.

Dans une quatrième partie, l'impact de la co-exposition aux mélanges binaires (NPs-HAPs et NPs-pesticides) sur la réponse physiologique et biochimique a été évalué. Dans ces différentes parties, la réponse physiologique correspond à l'évaluation de la capacité de filtration et de respiration de la moule et la réponse biochimique est étudiée à travers quelques biomarqueurs tels que la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT), le malondialdéhyde (MDA) et l'acétylcholinestérase (AChE).

Dans une dernière partie, la dégradation des HAPs par les différentes formes de NPs a été suivie.

Les principaux résultats des analyses chimiques en utilisant la microscopie électronique à transmission (MET), la diffraction des rayons X, la diffusion dynamique de la lumière et le potentiel zêta confirment la taille nanométrique des NPs considérées et révèlent leurs stabilités aux changements des paramètres environnementaux (pH et salinité). L'estimation de la toxicité des NPs, des HAPs et des pesticides au moyen des paramètres physiologiques ont montré que l'effet dépend du produit chimique considéré et de la concentration. De plus, les paramètres de stress oxydants et de neurotoxicité ont montré que l'impact dépend du contaminant, de la concentration et de l'organe mis en jeu.

Au vu d'ensemble, l'utilisation d'une approche intégrative associant des analyses chimiques et écotoxicologiques représente un bon moyen pour comprendre le profil relationnel entre les contaminants et les organismes aquatiques qui s'écoule dans le cadre de programmes de biosurveillance des écosystèmes côtiers.

Title: Toxicity of pesticides and polycyclic aromatic hydrocarbons on marine bivalves: impacts of exposure to metallic nanoparticles

Keywords : Nanoparticles, polycyclic aromatic hydrocarbons, pesticides, Co-exposure, photodegradation, Biomonitoring

Abstract : The main goal of this thesis is to study the effects of exposure individually or in combination to certain nanoparticles (NPs), certain polycyclic aromatic hydrocarbons and pesticides on bivalves through a multi-marker approach. To achieve this objective, the biological model chosen is the mussel *Mytilus galloprovincialis*. In addition, the impact of co-exposure to binary mixtures (NPs-PAHs and NPs-pesticides) on the physiological and biochemical response was assessed.

The physiological response corresponds to the evaluation of the filtration and respiration capacity of the mussel and the biochemical response is studied through a few biomarkers such as superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), malondialdehyde (MDA) and acetylcholinesterase (AChE). In parallel, PAHs photodegradation using NPs forms was studied showing different profiles related to each contaminant.

The main results of NPs chemical analyzes using transmission electron microscopy (TEM), X-ray diffraction, dynamic light scattering and zeta potential confirm the nanometric size of the considered NPs and reveal their stability to environmental parameters changes (pH and salinity). The estimation of the toxicity of NPs, PAHs and pesticides using physiological parameters showed that the effect depends on the chemical properties of each considered compound and on the concentration. In addition, oxidative stress and neurotoxicity parameters have shown that the impact depends on the contaminant, the concentration and the organ involved.

Overall, the use of an integrative approach combining chemical and ecotoxicological analyzes represents a good way to understand the relational profile between contaminants and aquatic organisms flowing the framework of coastal ecosystem biomonitoring programs.

REMERCIEMENTS

Mes plus vifs remerciements et toute ma reconnaissance vont en premier lieu à mes responsables scientifiques, faisant toute la valeur du sujet. Je salue aussi la souplesse et l'ouverture d'esprit de mes directeurs de thèse qui ont su me laisser une large marge de liberté pour mener à bien ce travail de recherche :

A Mme **MOUGIN Karine**, Maître des conférences à Institut des Sciences des Matériaux de Mulhouse (IS2M), Université Haute Alsace et directrice de cette thèse. Merci pour votre confiance et l'autonomie que vous m'avez laissée dès le début et pendant ces quatre années de travail. Le temps que vous m'avez consacré et l'excellence de vos conseils et idées m'ont considérablement aidé et guidé dans ma réflexion lors de la conception et la planification du sujet. Je tiens surtout à remercier Mme MOUGIN pour sa disponibilité, son accessibilité et pour son investissement dans ce travail. Merci pour votre supervision et vos corrections multiples. Je n'oublie pas non plus vos constants encouragements et votre soutien en particulier dans les situations difficiles.

Je tiens à exprimer mes plus vifs remerciements au Pr. **BEYREM Hamouda**, Professeur à la Faculté des Sciences de Bizerte, Université de Carthage, qui fut pour moi un directeur de thèse attentif et disponible malgré ses nombreuses charges. Sa compétence, sa rigueur scientifique et sa clairvoyance m'ont beaucoup appris. Ils ont été et resteront des moteurs de mon travail de chercheur. Nos discussions et les points de vue échangés suite à mes recherches bibliographiques, vos conseils, vos orientations et vos précisions m'ont permis de retrouver une voie plus thématique et plus innovatrice. Merci pour votre encadrement et votre disponibilité dès que cela était nécessaire. Merci pour les conseils que vous m'avez accordés lors de mes travaux de recherche.

Je suis très reconnaissante à Monsieur **Imed MESSAOUDI**, Professeur à l'université de Monastir et à Monsieur **Boris LACKARD**, Professeur à l'université de Franche-Comté, pour avoir accepté d'être rapporteurs de mon travail de thèse. Je leur suis très

reconnaissante d'être rapporteurs de ce travail et pour leurs remarques très enrichissantes. Qu'ils trouvent ici l'expression de ma profonde gratitude.

Je remercie également Madame **Sonia HAMAID**, Maître de conférences à l'Université de Tunis El Manar et Monsieur **Christophe SERRA**, Professeur à l'Université de Strasbourg pour avoir accepté de juger ce travail. Je leur suis très reconnaissante d'avoir accepté d'être examinateurs de ce travail.

Je remercie vivement Madame **Asma SAKKA**, Professeur à la Faculté des Sciences de Bizerte, d'avoir accepté de présider mon jury de thèse et consacré une part importante de son temps à la lecture et à l'évaluation de ce travail.

Mention spéciale à Mr. **Badreddine SELLAMI**, pour son co-encadrement durant le travail de thèse. Très humblement, je voudrais te dire merci pour ton soutien pendant mes périodes de doutes et pour tes multiples encouragements répétés.

Je suis très reconnaissante au représentant de l'école doctorale de l'Université de Haute Alsace et de l'école doctorale de la Faculté des Sciences de Bizerte, Université de Carthage.

J'en profite pour exprimer aussi toute ma gratitude à Dr. Cécile JOYEUX, Dr. Anna BOULANGER, Dr. Ludovic JOSIEN, Dr. Loic VIDAL et Dr. Cyril VAULOT d'avoir m'aider dans la caractérisation et le dosage chimique.

Je ne saurais oublier de remercier mes enseignants de la faculté des Sciences de Bizerte et surtout du Laboratoire de Biosurveillance de l'Environnement pour leurs encouragements continus.

LISTE DES PUBLICATIONS RELATIVES A LA THÈSE

Articles à comité de lecture impactés :

✚ **Imen Bouzidi**, Anis Fkiri, Badreddine Sellami, Abdel Halim Harrath, Fehmi Boufahja, Amine Mezni, Loic Vidal, Cyril Vaultot, Ludovic Josien, Hamouda Beyrem et Karine Mougine. **2021**. Does the photocatalytic activity of nanoparticles protect the marine mussel *Mytilus galloprovincialis* from polycyclic aromatic hydrocarbon toxicity? *Environmental Science and Pollution Research*. 1-14. **IF: 4.01**

✚ **Imen Bouzidi**, Badreddine sellami; Amine Mezni, Amor Hedfi, Mohammed Almalki, Octvian Pacioglu, Fehmi Boufahja, Karine Mougine et Hamouda Beyrem. **2021**. Nanoparticles influence the herbicide diuron mediated toxicity on marine mussel *Mytilus galloprovincialis*: Single and mixture exposure study. *Mater. Res. Express* 8 (2021) 085005 (**IF: 1.96**)

✚ **Imen Bouzidi**, Badreddine sellami, Hamouda Beyrem et Karine Mougine. **(En cours)**. Metallic nanoparticles as a vehicle for polycyclic aromatic hydrocarbons and pesticide bio-uptake in the Mediterranean mussels *Mytilus galloprovincialis*"

Articles à comité de lecture non impactés :

Imen Bouzidi, Badreddine Sellami, Karine Mougine et Hamouda Beyrem. 2021. *Toxicity of the herbicide diuron to the marine mussels Mytilus galloprovincialis and strategy for its removal using nanoparticles. 3rd Euroméditerranéen conference 2021. 10-13 Juin 2021. Sousse, Tunisia.*

Sommaire

INTRODUCTION GÉNÉRALE	1
CHAPITRE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	7
1. Les nanoparticules	7
1.1. Généralités	7
1.2. Propriétés et applications	8
1.3. Classifications et sources des nanoparticules	12
1.4. Transfert et devenir des nanoparticules dans l'environnement	12
1.5. Toxicité des nanoparticules	15
1.5.1. Toxicité pour l'atmosphère	16
1.5.2. Toxicité pour les organismes marins	17
1.5.3. Toxicité pour les plantes aquatiques et les algues	17
1.5.4. Toxicité des nanoparticules pour les bactéries et les microbes aquatiques	18
1.5.5. Toxicité des nanoparticules pour le sol	19
1.5.6. Toxicité des plans d'eau par les nanoparticules	19
1.5.7. Toxicité des nanoparticules et impact sur la santé humaine	19
1.6. Nanoparticules de choix	23
1.6.1. Les nanoparticules d'oxyde de zinc	23
1.6.2. Les nanoparticules de dioxyde de titane (TiO₂ NPs)	27
2. Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs)	28

2.1. Généralités	28
2.2. Propriétés des HAPs	30
2.3. Source, Transfert et devenir des HAPs dans l'environnement	31
2.4. Le risque pour la santé et les effets indésirables des HAPs pour l'homme et les animaux	34
2.5. Hydrocarbures aromatiques polycycliques de choix : le benzanthracène (Banth), le Benzo[a]pyrène (B(a)p) et le fluoranthène (FL)	37
2.5.1. Le benzanthracène	37
2.5.2. Le Benzo[a]pyrène	38
2.5.3. Le fluoranthène (FL)	39
3. Les pesticides	42
3.1. Généralités	42
3.2. Voies du transport des pesticides dans l'environnement	43
3.3. Transfert et bioaccumulation des pesticides	46
3.4. Effets des pesticides sur la santé publique	48
3.5. Les pesticides dans l'environnement aquatique	51
3.6. Pesticides du choix : le diuron et le triclosan	54
3.6.1. Le diuron	54
3.6.2. Le triclosan	57
4. Modèle biologique de choix : la moule <i>Mytilus galloprovincialis</i>	64
4.1. Généralités	64
4.2. La moule en écotoxicologie	68

4.3. Absorption, accumulation et épuration des contaminants anthropiques chez la moule	69
4.4. Les Biomarqueurs chez les moules	73
5. Terminologies	78
5.1. La biosurveillance	78
5.2. Les biomarqueurs	79
5.3. Stresseurs multiples et types d'interaction	80
CHAPITRE II: PROCEDURES EXPERIMENTALES	82
1.Contamination par les nanoparticules	82
1.1.Synthèse des nanoparticules de choix	82
1.2.Caractérisation des nanoparticules	84
1.2.1. Analyse de phase	84
1.2.2. Analyse par microscopie électronique à transmission (MET)	84
1.2.3. Taille et stabilité des nanoparticules	85
1.3.Expérience de contamination par les nanoparticules	89
2.Contamination par les hydrocarbures aromatiques polycycliques	92
3.Contamination par les pesticides : cas du diuron et du triclosan	94
4.Contamination par les mélanges	95
5.Étude écotoxicologique	99
5.1.Détermination de la capacité de filtration et de respiration chez les moules	99
5.2.Détermination des protéines totales chez les moules	101

5.3.Détermination de l'activité superoxyde dismutase (SOD)	102
5.4.Détermination de l'activité catalase (CAT)	104
5.5.Peroxydation lipidique et le malondialdéhyde (MDA)	105
5.6.Détermination de l'activité Acétylcholinéstorasique (AChE)	106
6.Suivi de la photodégradation des hydrocarbures aromatiques polycycliques et du diuron par les nanoparticules	109
7.Traitement statistique des données	110
CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION	111
<u>Partie A</u> : EFFET D'UN SEUL CONTAMINANT	111
I-Contamination par les nanoparticules	
1.Introduction	111
2.Comportement des nanoparticules dans la matrice environnementale	112
3.Effets écotoxicologiques des nanoparticules	116
3.1.Effets sur la réponse physiologique	116
3.2.Effets des nanoparticules sur la réponse des biomarqueurs du stress oxydant et de neurotoxicité des moules	120
3.2.1. Activité de la superoxyde dismutase (SOD)	120
3.2.2. Activité de la catalase (CAT)	123
3.2.3. Taux du malondialdéhyde (MDA) chez les moules traitées par les nanoparticules	125
3.2.4. Activité acétylcholinéstorasique (AChE)	127
II : Contamination par les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs)	130

1. Introduction	130
2.Effets des hydrocarbures aromatiques polycycliques sur la réponse physiologique de la moule	132
3. Effets des hydrocarbures aromatiques polycycliques sur le statut oxydative et neurotoxique de la moule	137
3.1. Effets sur l'activité superoxyde dismutase	137
3.2. Effets sur l'activité catalase	139
3.3. Effets sur le taux du malondialdéhyde	142
3.4. Effets sur l'activité acétylcholinéstiérasiq	144
III- Contamination par les pesticides	148
1. Introduction	148
2. Impacts physiologiques de l'exposition au diuron et au triclosan	150
3. Impacts de l'exposition au diuron et au triclosan sur les paramètres du stress oxydative et de neurotoxicité	154
3.1. Impacts sur l'activité de la superoxyde dismutase	155
3.2. Impacts sur l'activité catalase	157
3.3. Impacts sur le taux du malondialdéhyde	160
3.4. Impacts sur l'activité acétylcholinestérase	162
Partie B : EFFETS DE MÉLANGES DE CONTAMINANTS	167
1.Introduction	167
2.Effets du mélange des nanoparticules et des hydrocarbures aromatiques polycycliques	168

2.1.Effet du mélange sur la réponse physiologique	168
2.2. Réponse des biomarqueurs à la contamination par les mélanges des HAPs et NPs	172
2.2.1. Réponse de la superoxyde dismutase	172
2.2.2. Réponse de la catalase	175
2.2.3. Réponse du malondialdéhyde	179
2.2.4. Réponse de l'acétylcholinestérase	182
2.3.Dégradation des HAPs par les nanoparticules	185
3.Effets du mélange de nanoparticules et des pesticides	189
3.1.Effets sur la réponse physiologique	189
3.2. Effets sur la réponse biochimique	193
3.2.1. Effets sur l'activité de la superoxyde dismutase	193
3.2.2. Effets sur l'activité catalase	195
3.2.3. Effets sur le taux du malondialdéhyde	196
3.2.4. Effets sur l'activité acétylcholinestérase	199
Conclusion et perspectives	202
Références bibliographiques	206

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Échelle comparative de longueur logarithmique montrant la taille des nanomatériaux comparée aux composants biologiques et définition des tailles « nano » et « micro »	7
Figure 2: Applications, voies d'exposition, facteurs de toxicologie et changements de paradigme liés à la production et à l'utilisation des NPs.	9
Figure 3: Transport et devenir des nanomatériaux dans l'environnement	14
Figure 4: Les sources et les processus les plus importants affectant le devenir des NPs dans les systèmes aquatiques.	15
Figure 5 : Stress oxydatif induit par les NPs et suivi d'une explosion oxydative et d'une génération des ROS chez les plantes vertes	18
Figure 6: Présence des nanoparticules dans l'environnement, mode de contamination et effets possibles sur la santé humaine	21
Figure 7 : Réactions d'oxydation et de réduction impliquant le mécanisme de photodégradation en présence du photocatalyseur ZnO	24
Figure 8: Illustration du système wurtzite hexagonal du nanoparticule ZnO	25
Figure 9 : Mécanisme d'action des nanoparticules de TiO ₂ photocatalytiques activées par la lumière	28
Figure 10: Principaux sources et processus de transport des HAPs dans l'environnement (Sun <i>et al.</i> , 2021)	32
Figure 11 : Structure du benzanthracène	37
Figure 12: Structure du benzo[a]pyrène	38
Figure 13: Structure du fluoranthène	40

Figure 14: Représentation schématique des voies de transport des pesticides après application	44
Figure 15: Voies d'exposition aux pesticides et effets potentiels sur l'homme	50
Figure 16: Structure chimique de diuron	54
Figure 17: Applications de triclosan	60
Figure 18 : Structures chimiques protonées et non protonées du triclosan, qui a une constante de dissociation acide (pKa) de 8,14	61
Figure 19: Photo de la moule méditerranéenne <i>Mytilus galloprovincialis</i>	65
Figure 20: Principaux pays producteurs de <i>Mytilus galloprovincialis</i>	67
Figure 21: Représentation schématique des principales voies de transport/distribution interne des contaminants dans les moules bleues.	71
Figure 22 : Méthodes recommandées pour les effets biologiques incluses dans la composante moules du CIEM évaluation intégrée des écosystèmes.	75
Figure 23 : Schéma de montage de la synthèse en milieu polyol.	83
Figure 24: La cellule comprenant une électrode ordinaire (A) et une électrode transparente (B) appliquée sur une fenêtre optique (C).	88
Figure 25: Expérience de contamination par les nanoparticules	90
Figure 26: Expérience de contamination par les hydrocarbures aromatiques polycycliques	92
Figure 27: Expérience de contamination par le diuron et per le triclosan	94
Figure 28: Expérience de contamination des moules par les mélanges de nanoparticules avec les hydrocarbures aromatiques polycycliques	97
Figure 29 : Expérience de contamination des moules par les mélanges binaires : cas	99

des nanoparticules avec le diuron

Figure 30: Détermination de la capacité de filtration selon la méthode de Coughlan, 1969	100
Figure 31: (a) Le mécanisme catalytique pour la dismutation de l'O ₂ ⁻ par la superoxyde dismutase (SOD). (b) Structure des sous-unités de Cu, Zn-SOD du bovin	103
Figure 32 : a) Structure de la catalase et de son canal principal, b) zoom sur une partie de la molécule	104
Figure 33 : Structure chimique du malondialdéhyde (MDA)	106
Figure 34 : Structure de l'Acétylcholinestérase	107
Figure 35 : Transmission de l'acétylcholine et action d'acétylcholinestérase (AChE) sur l'acétylcholine.	108
Figure 36: Diffraction des rayons X des nanoparticules de (a) ZnO, Cu-ZnO et Au-ZnO et (b) TiO ₂ et Au-TiO ₂	113
Figure 37: Images de la microscopie électronique à transmission et spectre EDS des nanoparticules de ZnO, Cu-ZnO, Au-ZnO, TiO ₂ et Au-TiO ₂ dans l'eau distillé (a, b, c, d, e) et dans l'eau de mer (a', b', c', d', e')	115
Figure 38: Spectres de diffusion dynamique de la lumière (DLS) des nanoparticules de ZnO, de Cu-ZnO, d'Au-ZnO, de TiO ₂ et d'Au-TiO ₂ dispersées dans l'eau distillé (a) et dans l'eau de mer (b)	116
Figure 39 : Variation moyenne (n = 5) de la capacité de filtration (CF) des moules témoins et traitées durant 14 jours par 50 µg/L (1) et 100 µg/L (2) de nanoparticules de ZnO, de Cu-ZnO, d'Au-ZnO, de TiO ₂ et d'Au-TiO ₂ .	117
Figure 40 : Variation moyenne (n = 5) de la capacité de respiration (CR) des moules témoins et traitées durant 14 jours par 50 µg/L (1) et 100 µg/L (2) de nanoparticules de ZnO, de Cu-ZnO, d'Au-ZnO, de TiO ₂ et d'Au-TiO ₂ .	118

Figure 41: Variation moyenne (n = 5) de l'activité superoxyde dismutase (SOD) au niveau de la glande digestive et les branchies des moules témoins et traitées durant 14 jours par 50 µg/L (1) et 100 µg/L (2) de nanoparticules de ZnO, de Cu-ZnO, d'Au-ZnO, de TiO₂ et d'Au-TiO₂. **121**

Figure 42: Variation moyenne (n = 5) de l'activité catalase (CAT) au niveau de la glande digestive et les branchies des moules témoins et traitées durant 14 jours par 50 µg/L (1) et 100 µg/L (2) de nanoparticules de ZnO, de Cu-ZnO, d'Au-ZnO, de TiO₂ et d'Au-TiO₂. **123**

Figure 43: Variation moyenne (n = 5) du taux de malondialdéhyde (MDA) au niveau de la glande digestive et les branchies des moules témoins et traitées durant 14 jours par 50 µg/L (1) et 100 µg/L (2) de nanoparticules de ZnO, de Cu-ZnO, d'Au-ZnO, de TiO₂ et d'Au-TiO₂. **127**

Figure 44: Variation moyenne (n = 5) de l'activité acétylcholinestérase (AChE) au niveau de la glande digestive et les branchies des moules témoins et traitées durant 14 jours par 50 µg/L (1) et 100 µg/L (2) de nanoparticules de ZnO, de Cu-ZnO, d'Au-ZnO, de TiO₂ et d'Au-TiO₂. **128**

Figure 45 : Variation moyenne de la capacité de filtration chez les moules témoins (control) et traitées durant 14 jours par le DMSO, le Benzanthracène (Banth1 = 50 µg/L et Banth2 = 100 µg/L), le Fluoranthène (FL1 = 50 µg/L et FL2 = 100 µg/L) et le Benzo(a)pyrène (B(a)p1 = 50 µg/L et B(a)p2 = 100 µg/L). **133**

Figure 46 : Variation moyenne de la capacité de respiration chez les moules témoins (control) et traitées durant 14 jours par le DMSO, le Benzanthracène (Banth1 = 50 µg/L et Banth2 = 100 µg/L), le Fluoranthène (FL1 = 50 µg/L et FL2 = 100 µg/L) et le Benzo(a)pyrène (B(a)p1 = 50 µg/L et B(a)p2 = 100 µg/L). **136**

Figure 47 : Variation moyenne de l'activité superoxyde dismutase au niveau de la glande digestive et les branchies des moules témoins (control) et traitées durant 14 jours par le DMSO, le Benzanthracène, le Fluoranthène et le Benzo(a)pyrène. **138**

- Figure 48** : Variation moyenne de l'activité catalase au niveau de la glande digestive et les branchies des moules témoins (control) et traitées durant 14 jours par le DMSO, le Benzanthracène, le Fluoranthène et le Benzo(a)pyrène. **140**
- Figure 49**: Variation moyenne du taux de malondialdéhyde (MDA) au niveau de la glande digestive et les branchies des moules témoins (control) et traitées durant 14 jours par le DMSO, le Benzanthracène, le Fluoranthène et le Benzo(a)pyrène. **143**
- Figure 50** : Variation moyenne de l'activité acétylcholinestérase (AChE) au niveau de la glande digestive et les branchies des moules témoins (control) et traitées durant 14 jours par le DMSO, le Benzanthracène, le Fluoranthène et le Benzo(a)pyrène. **145**
- Figure 51** : Variation moyenne de la capacité de filtration chez les moules témoins (Control) et traitées durant 14 jours par le DMSO, le diuron (Di1 = 50 µg/L et Di2 = 100 µg/L), le Triclosan (TCS1 = 50 µg/L et TCS2 = 100 µg/L). **151**
- Figure 52** : Variation moyenne de la capacité de respiration chez les moules témoins (control) et traitées durant 14 jours par le DMSO, le diuron (Di1 = 50 µg/L et Di2 = 100 µg/L), le Triclosan (TCS1 = 50 µg/L et TCS2 = 100 µg/L). **152**
- Figure 53**: Variation moyenne de l'activité superoxyde dismutase (SOD) au niveau des branchies et de la glande digestive des moules témoins (control) et traitées durant 14 jours par le DMSO, le diuron (Di1 = 50 µg/L et Di2 = 100 µg/L), le Triclosan (TCS1 = 50 µg/L et TCS2 = 100 µg/L). **156**
- Figure 54**: Variation moyenne de l'activité catalase (CAT) au niveau des branchies et de la glande digestive des moules témoins (control) et traitées durant 14 jours par le DMSO, le diuron (Di1 = 50 µg/L et Di2 = 100 µg/L), le Triclosan (TCS1 = 50 µg/L et TCS2 = 100 µg/L). **158**
- Figure 55**: Variation moyenne du taux de malondialdéhyde (MDA) au niveau des branchies et de la glande digestive des moules témoins (control) et traitées durant 14 jours par le DMSO, le diuron (Di1 = 50 µg/L et Di2 = 100 µg/L), le Triclosan (TCS1 = 50 µg/L et TCS2 = 100 µg/L). **161**

Figure 56 : Variation moyenne de l'activité acétylcholinestérase (AChE) au niveau des branchies et de la glande digestive des moules témoins (control) et traitées durant 14 jours par le DMSO, le diuron (Di1 = 50 µg/L et Di2 = 100 µg/L), le Triclosan (TCS1 = 50 µg/L et TCS2 = 100 µg/L).	164
Figure 57 : Effets de l'exposition aux NPs, HAPs et les mélanges binaires NPs-HAPs sur la capacité de filtration des moules.	169
Figure 58 : Effets de l'exposition aux NPs, HAPs et aux mélanges binaires NPs-HAPs sur la capacité de respiration des moules.	171
Figure 59 : Effets de l'exposition aux NPs, HAPs et aux mélanges binaires NPs-HAPs sur l'activité SOD au niveau de la glande digestive des moules.	173
Figure 60 : Effets de l'exposition aux NPs, HAPs et aux mélanges binaires NPs-HAPs sur l'activité SOD au niveau des branchies des moules.	174
Figure 61 : Effets de l'exposition aux NPs, HAPs et les mélanges binaires NPs-HAPs sur l'activité CAT au niveau de la glande digestive des moules.	176
Figure 62 : Effets de l'exposition aux NPs, HAPs et les mélanges binaires NPs-HAPs sur l'activité CAT au niveau des branchies des moules.	177
Figure 63 : Effets de l'exposition aux NPs, HAPs et aux mélanges binaires NPs-HAPs sur le taux du MDA dans la glande digestive des moules.	180
Figure 64 : Effets de l'exposition aux NPs, HAPs et aux mélanges binaires NPs-HAPs sur le taux de MDA dans les branchies des moules traitées par le mélange de NPs et HAPs.	181
Figure 65 : Moyenne de l'activité acétylcholinestérase (AChE) dans la glande digestive des moules traitées par les NPs, HAPs et le mélange de NPs et HAPs.	183
Figure 66 : Moyenne de l'activité acétylcholinestérase (AChE) dans les branchies des moules traitées par les NPs, HAPs et le mélange de NPs et HAPs.	184

Figure 67 : Ln(C0/Ct) en fonction du temps d'irradiation pour la dégradation de trois HAP, le Benzanthracène (a), le Fluoranthène (b) et le Benzo(a)pyrène (c) en présence de différentes nanoparticules	187
Figure 68 : Effets de l'exposition aux NPs, pesticides et aux mélanges binaires NPs-pesticides sur la capacité de filtration des moules.	189
Figure 69 : Effets de l'exposition aux NPs, pesticides et aux mélanges binaires NPs-pesticides sur la capacité de respiration des moules.	192
Figure 70 : Effets de l'exposition aux NPs, pesticides et aux mélanges binaires NPs-pesticides sur l'activité SOD au niveau de la glande digestive et les branchies des moules.	194
Figure 71 : Effets de l'exposition aux NPs, pesticides et aux mélanges binaires NPs-pesticides sur l'activité CAT au niveau de la glande digestive et les branchies des moules.	196
Figure 72 : Effets de l'exposition aux NPs, pesticides et aux mélanges binaires NPs-pesticides sur le taux du MDA au niveau de la glande digestive et les branchies des moules.	197
Figure 73 : Effets de l'exposition aux NPs, pesticides et aux mélanges binaires NPs-pesticides sur l'activité AChE au niveau de la glande digestive et les branchies des moules.	200

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Applications des nanoparticules	11
Tableau 2 : Structure chimique des 16 HAPs prioritaires	31
Tableau 3 : Propriétés générales du triclosan	59
Tableau 4 : Valeurs de la concentration médiane avec effets (CE50) et de la concentration létale médiane (CL50) du triclosan tirées de la littérature pour certains organismes estuariens/marins	62
Tableau 5 : Types d'interaction entre les stressseurs multiples	81
Tableau 6 : désignation des groupes d'aquariums considérés pour la contamination par les nanoparticules	91
Tableau 7 : désignation des groupes d'aquariums considérés pour la contamination par les HAPs.	93
Tableau 8 : désignation des groupes d'aquariums considérés pour la contamination par les pesticides.	95
Tableau 9 : désignation des groupes d'aquariums traités par les mélanges de contaminants	96
Tableau 10 : Désignation des groupes d'aquariums considérés pour la contamination par le mélange de nanoparticules avec le diuron et le triclosan.	98
Tableau 11 : Constantes de vitesse de pseudo-premier ordre (k_{ap}) de la dégradation des HAP obtenus sous lumière solaire simulée à l'aide de ZnO et TiO ₂ photocatalyseurs et photocatalyseurs hybrides AuTiO ₂ , Au-ZnO et Cu-ZnO K (min)	186

LISTE DES ABREVIATIONS

•O₂-	: Anion superoxyde	EELS	: spectroscopie en pertes d'énergies des électrons
•OH	: Radical Hydroxyle	EIE	: évaluation intégrée des écosystèmes
ACh	: Acétylcholine	ELS	: Diffusion de la lumière électrophorétique
AChE	: Acétylcholinestérase	FL	: Fluoranthène
ADN	: Acide désoxyribonucléique	GJIC	: Jonctions lacunaires intracellulaires
Ag	: Argent	GLU	: Glutamate
ANOVA	: Analyse des variances	GSH	: Glutathion
ANT	: Anthracène	GST	: Glutathion S-transférase
ARNm	: Acide ribonucléique messenger	H₂O₂	: Peroxyde d'hydrogène
AS	: Activité spécifique	HAPs	: Hydrocarbures aromatiques polycycliques
Au	: Or	HIS	: Histidine
Au-TiO₂ NPs	: Nanoparticules d'oxyde de titane dopées par l'Or	MDA	: Malondialdéhyde
Au-ZnO NPs	: Nanoparticules d'oxyde de zinc dopées par l'Or	MEB	: Microscopie électronique à balayage
B(a)p	: Benzo(a)pyrène	MET	: Microscopie électronique à transmission
Banth	: Benzanthracène	MON	: Matière organique naturelle
BbF	: Benzo(b)fluoranthène	NAP	: Naphtalène
BkF	: Benzo(k)fluoranthène	NPs	: Nanoparticules
BSA	: Bovine sérum albumine	PAS	: Site anionique périphérique
CAS:	: Site actif catalytique	PCB	: Polychlorobiphényles
CAT	: Catalase	POPs	: Polluants organiques persistants
CDNB	: 1-Chloro -2,4- dinitrobenzène	RH	: Rayon hydrodynamique
CF	: Capacité de filtration	ROS	: Espèces réactives à l'oxygène
CR	: Capacité de respiration	SD	: Déviation Standard
CuO	: Oxyde de cuivre	SER	: Sérine
Cu-ZnO NPs	: Nanoparticules d'oxyde de zinc dopées par le cuivre	SOD	: Superoxyde dismutase
DDT	: dichlorodiphényl trichloroéthane	STEP	: Station d'épuration des eaux usées
Di	Diuron	TCA	: Acide Trichloracétique
DLS	: Diffusion dynamique de la lumière	TCS	: Triclosan
DMSO	: Diméthylsulfoxyde	TiO₂	: Dioxyde de titane
DO	: Densité optique	TiO₂ NPs	: Nanoparticules d'oxyde de titane
DRX	: Diffraction des rayons X	TRY	: Tryptophane
DTNB	: Acide 5,5' dithio-bis2-nitrobenzoïque	ZnO	: Oxyde de zinc
EDS	: spectrométrie dispersive en énergie	ZnO NPs	: Nanoparticules d'oxyde de zinc
EDTA	: Acide éthylène diamine tétra acétique	APE	: Agence de protection de l'environnement

INTRODUCTION GENERALE

Introduction générale

L'historique de la pollution de l'environnement aquatique remonte au tout début de l'histoire de la civilisation humaine. Cependant, la pollution aquatique n'a suscité beaucoup d'attention que lorsqu'un seuil soit atteint avec des conséquences néfastes sur les organismes et les écosystèmes.

La pollution aquatique est ainsi devenue une préoccupation mondiale, mais malgré cela, la plupart des pays en développement continuent de produire d'énormes charges de pollution (Islam et Tanaka, 2004). La connaissance des sources de pollution et des impacts sur les écosystèmes est primordiale non seulement pour une meilleure compréhension des réponses des écosystèmes aux polluants, mais aussi pour formuler des mesures de prévention. De nombreuses sources de pollutions aquatiques sont actuellement bien connues et d'énormes efforts ont été consacrés à la question. Cependant, de nouveaux concepts et idées sur la pollution des milieux aquatiques nécessitent une mise à jour des connaissances.

Les polluants proviennent généralement des activités anthropiques, telles que les aménagements et la construction des infrastructures, les activités agricoles et industrielles et ainsi que de l'urbanisation. Les contaminants les plus préoccupants sont formés majoritairement de polluants organiques. La plupart des contaminants sont interdépendants et mettent en péril l'environnement et les organismes, de la même manière et à la même échelle, quelle que soit la source de contamination.

Ainsi, la plupart des zones côtières du monde a été signalée comme endommagée par la pollution, affectant les pêcheries côtières et les activités commerciales marines (Islam et Tanaka 2004).

L'existence de niveaux élevés de contaminants dans ces zones de haute bioproduktivité est alors extrêmement alarmante sur le plan écologique. En effet, les zones côtières comprennent la couche d'eau de surface (couche photique, jusqu'à 100 m) et limitent les milieux naturels (eau-atmosphère

et sédiments) ainsi que les mers fermées et les estuaires.

C'est dans les zones côtières, qui n'occupent que 10% de la superficie de l'océan mondial et moins de 3% de son volume, que les processus les plus intenses de la bio-production, y compris l'auto-reproduction des principales ressources vivantes de la mer, ont lieu. En 1994, environ 37% de la population mondiale vivait à moins de 60 km de la côte (Cohen *et al.*, 1997). Ces zones fortement impactées par les polluants (Häder *et al.*, 2020), fournissent plus de 50% de la nourriture des écosystèmes océaniques (Alexander, 1999).

Ces dernières années, les progrès dans la protection des zones côtières ont été souvent limités à quelques pays dont la plupart sont développés, et qui souffrent cependant de peu de problèmes environnementaux (Islam et Tanaka, 2004).

Pour la plupart des pays, la dégradation des zones côtières est non seulement un phénomène continue mais qui s'est intensifiée depuis quelques décennies avec l'apparition de nouvelles activités anthropiques. Par conséquent, le contrôle de la pollution au niveau de ces zones a été identifié comme un besoin urgent de gestion durable pour la conservation des ressources aquatiques. Malheureusement, le problème de la pollution, tel que décrit par Williams (1996), se caractérise par l'interdépendance, l'interaction compliquée, l'incertitude, les conflits et les contraintes, ce qui rend difficile le contrôle de ce fléau. De plus, vu que les connaissances scientifiques sur la pollution marine sont encore à développer, des lacunes identifiées constituent aussi un des problèmes majeurs de l'introduction et de l'application des stratégies de gestion efficaces.

La pollution est une conséquence inévitable des activités anthropiques industrielles, agricoles ainsi que le développement urbain (Azizi *et al.*, 2018), ayant comme conséquence l'introduction de contaminants dans le milieu naturel. Cette introduction est faite soit directement ou indirectement (Baker *et al.*, 2014), touchant l'intégrité de l'ensemble de l'écosystème (Cesar-Ribeiro *et al.*, 2017;

Anbuselvan et Sridharan, 2018; Bonsignore *et al.*, 2018; Urban-Malinga *et al.*, 2018). De nombreux types de contaminants sont introduits de cette manière, comme les nanoparticules (NPs), les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs) et les pesticides.

Les NPs, découvertes par Faraday (Faraday, 1857), sont définies comme des matériaux dans lesquels au moins une dimension mesure entre 1 et 100 nm (Palmberg *et al.*, 2009). Elles sont parfois utilisées dans la vie quotidienne depuis quelques décennies. Ainsi, les nanoparticules de silice amorphe par exemple sont utilisés dans les produits alimentaires (Marquardt *et al.*, 2017), le dioxyde de titane et les nanoparticules d'oxyde de zinc entrent dans la composition de plusieurs produits cosmétiques (Gerhardt *et al.*, 2007). Par ailleurs, les nanoparticules métalliques sont parmi les nanomatériaux anthropiques les plus importants en raison de leur large utilisation commerciale (Baker *et al.*, 2014).

Cependant, ces utilisations font que ces produits finissent par se déposer dans le milieu aquatique à des concentrations parfois élevées (Baker *et al.*, 2014). Elles peuvent alors interagir avec les organismes vivants touchant les différents niveaux d'organisation de ces milieux (Baker *et al.*, 2014 ; Roma *et al.*, 2020). De nos jours, il est bien établi que la pollution par les NPs peut être hautement toxique pour la faune marine. En effet, elle peut causer divers degrés de toxicité pour le biote marin, souvent en fonction des caractéristiques physiques et chimiques ainsi que les particularités du milieu récepteur (Roma *et al.*, 2020). Une fois à l'intérieur d'un organisme, les NPs peuvent causer la production d'espèces réactives à l'oxygène (ROS), une oxydation des protéines et des dommages à l'ADN (Baker *et al.*, 2014 ; Khan *et al.*, 2019 ; Roma *et al.*, 2020).

Les propriétés qui peuvent influencer la toxicité des NPs sont la forme, la structure de surface, la charge de surface, la solubilité, l'agrégation, la présence et/ou l'absence de fonctions pour réagir et/ou pour se lier avec d'autres produits chimiques (Roma *et al.*, 2020). Ces paramètres caractérisent la facilité avec laquelle les nanoparticules pénètrent dans les membranes cellulaires

par endocytose (voie courante d'entrée de particules de 100 nm), l'apparition d'une liaison protéine-nanoparticule, la prolifération des ROS et les effets pro-inflammatoires (Nel *et al.*, 2006; Iversen *et al.*, 2011; Khan *et al.*, 2019). Dans ce contexte, les NPs présentent des risques assez uniques. En effet, leur grand rapport surface sur volume et leur charge de surface (qui augmentent à la fois leur réactivité et mobilité) sont souvent considérées comme susceptibles de nuire aux organismes vivants (Schrand *et al.*, 2010).

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs) constituent une autre catégorie de polluants largement détectées au niveau de l'écosystème aquatique (Shi *et al.*, 2016 ; Zhang *et al.*, 2020). Ce sont des polluants organiques persistants (POPs) avec au moins deux anneaux de benzène. Ils peuvent provenir de sources naturelles (incendies naturels, diagenèse géologique...) et de sources anthropiques (combustion de la biomasse et des combustibles fossiles, gaz d'échappement des véhicules, émissions industrielles...) (Simoneit, 2002; Neff *et al.*, 2005). Les HAPs représentent une préoccupation environnementale importante car ils sont persistants, semi-volatiles et bioaccumulables (Wang *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2019). On distingue 16 HAPs qui sont classés comme polluants prioritaires par l'Agence américaine de protection de l'environnement (Kannan *et al.*, 2005; Xia *et al.*, 2012).

Les HAPs pénètrent aussi dans le milieu marin par dépôt atmosphérique et via les apports fluviaux (Wang *et al.*, 2007; Lin *et al.*, 2013). A ce niveau, ils ont tendance à se lier aux sédiments en raison de leur hydrophobie (Wang *et al.*, 2016) et à accumuler dans les organismes (Shi *et al.*, 2016). La mesure dans laquelle les HAPs s'accumulent dans les organismes dépend de leur absorption, dépuration, métabolisme ainsi que des propriétés physico-chimiques des différents composés (Thorsen *et al.*, 2004). L'accumulation des HAPs affecte non seulement la santé et la productivité des organismes marins, mais constitue également un danger pour la santé de l'homme via la chaîne trophique (Bandowe *et al.*, 2014; Sun *et al.*, 2016).

La troisième catégorie de polluants concernés par nos travaux est les pesticides qui ont également beaucoup l'attention en raison de leur omniprésence au niveau du l'écosystème aquatique. Ces produits constituent un mélange de substances souvent chimique conçues pour contrôler le développement des organismes indésirables. Ces derniers sont généralement des agents pathogènes pour les plantes, les nématodes parasites, les micro-organismes et les insectes qui entrent en compétition avec l'alimentation humaine ou sont responsables de la transmission de maladies et la destruction des cultures (Kumar *et al.*, 2021).

Les pesticides constituent, comme les NPs et les HAPs, une préoccupation environnementale majeure car ils sont connus pour causer de graves menaces pour les organismes vivants et pour l'Homme. Grâce à plusieurs voies telles que les déversements, les effluents industriels, les eaux de ruissellement de surface ou à travers les sols traités aux pesticides, ces substances toxiques pénètrent dans les nappes phréatiques constituant les principales sources d'eaux pour l'Homme (Ansara-Ross *et al.*, 2012 ; Picó *et al.*, 2020). Les effets néfastes causés par l'exposition à ces substances toxiques peuvent variés en fonction de la période d'exposition, qui peut être à court ou à long terme, et du type d'exposition pouvant être mortelle ou sub létale.

Les pesticides peuvent affecter les organismes vivants directement ou indirectement (Singh *et al.*, 2013 ; Acosta-Sánchez *et al.*, 2020). En effet, l'exposition aux pesticides peut entraîner la mortalité et peut conduire à une augmentation drastique de la biomasse des organismes vivants (Kumar *et al.*, 2021).

En raison de leur ubiquité dans les milieux aquatiques, leur capacité à ventiler de grands volumes d'eau et le potentiel de bioaccumulation d'une large gamme de contaminants organiques et inorganiques, les bivalves, et en particulier les moules ont été fréquemment utilisées comme indicateurs de pollution de l'environnement (Moy et Walday, 1997; Baumard *et al.*, 1998 ; Bris et Pouliquen, 2004 ; Andral *et al.*, 2011). Ainsi, les moules sont largement utilisées dans les

programmes de surveillance des métaux et des composés organiques hautement hydrophobes, comme les HAPs, les PCB, les pesticides organochlorés et les retardateurs de flamme (Murray *et al.*, 1991; Hofelt et Shea, 1997; Booij *et al.*, 2002 ; Tomaszewski *et al.*, 2008 ; Apeti *et al.*, 2010 ; Andral *et al.*, 2011).

Le présent manuscrit tente de fournir une description des trois formes de polluants (NPs, HAPs et pesticides) et de leurs impacts sur les moules. De plus, vu que les polluants peuvent coexister ensemble dans le milieu aquatique, il semble intéressant de mettre l'accent sur les interactions possibles entre les différentes catégories de polluants considérés au niveau de cette matrice biologique.

Le premier chapitre de cette thèse constitue une synthèse bibliographique sur les données disponibles concernant les nanoparticules, les hydrocarbures aromatiques polycycliques et les pesticides ainsi que le modèle biologique de choix : la moule méditerranéenne *Mytilus galloprovincialis*.

Le second chapitre est réservé pour la présentation des méthodologies adoptées.

Dans le dernier chapitre, les principaux résultats seront présentés puis discutés.

Nous présenterons enfin nos conclusions et nos perspectives de recherche.

CHAPITRE I

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Les nanoparticules

1.1. Généralités

Actuellement, les nanotechnologies ne cessent d'accroître leurs domaines d'applications et font partie des sujets innovants ses dernières décennies. Elles représentent la science de la matière à l'échelle du milliardième de mètre (Fig. 1) et correspondent à la conception de matériaux à l'échelle nanométrique, c'est à dire de 1-100 nm (Biswas et Sarkar, 2019). Au cours des 20 dernières années, le développement de nouveaux produits renfermant des nanoparticules (NPs) est devenu une préoccupation scientifique et technologique dans le monde entier (León-Silva *et al.*, 2016).

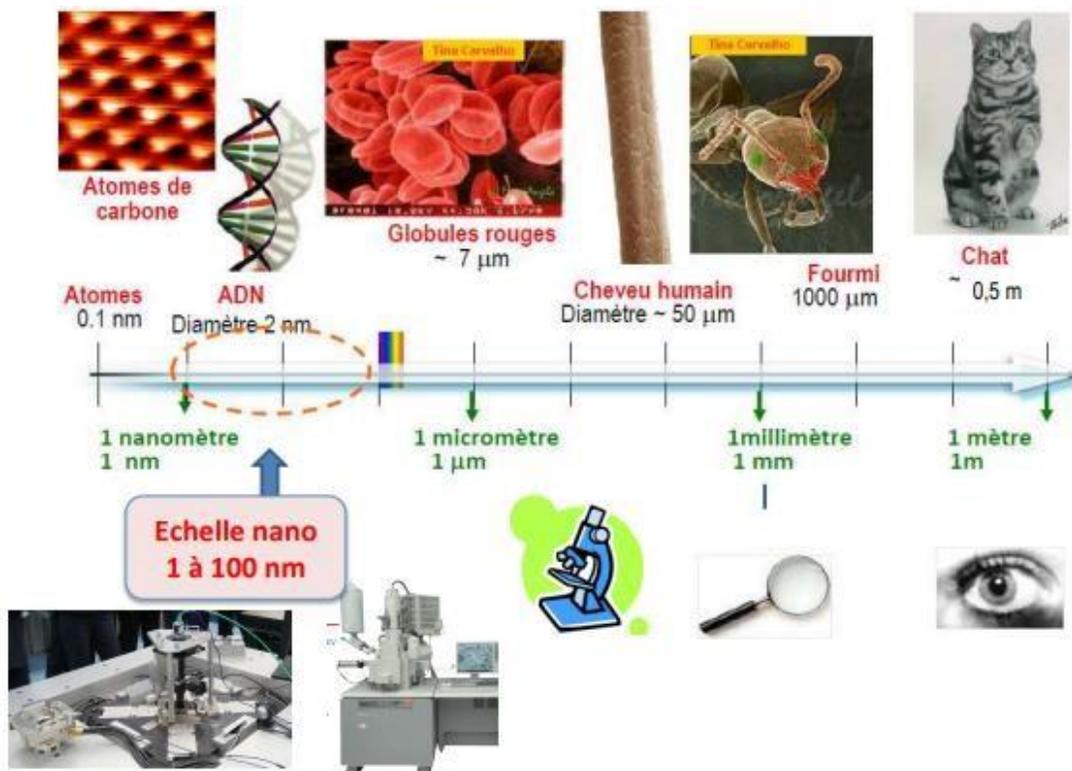


Figure 1: Échelle comparative de longueur logarithmique montrant la taille des nanomatériaux comparée aux composants biologiques et définition des tailles « nano » et « micro »

(Semih Otles, 2013)

Les nanotechnologies sont considérées comme l'une des nouvelles technologies « clé » du XXI^e siècle (Aitken *et al.*, 2006). Les nanomatériaux, qui sont constitués de blocs d'éléments simples, répondant aux nouvelles exigences actuelles (Bakand *et al.*, 2012). Par ailleurs la nanobiotechnologie est une science qui fusionne les disciplines de la biologie, de la chimie et de la physique par rapport aux méthodes chimiques ou physiques conventionnelles (Vithiya *et al.*, 2011).

1.2. Propriétés et applications

De nos jours, les nanotechnologies représentent une partie importante des sciences modernes et jouent un rôle crucial dans plusieurs domaines et notamment en biomédecine pour la fabrication de dispositifs électroniques (Moatamed *et al.*, 2019). Elles ont été utilisées pour réaliser des agents thérapeutiques dans des applications biomédicales telle que les produits anticancéreux, antidiabétiques, anti-inflammatoires, antimicrobiens et antifongiques (Supraja, 2018 ; Jayappa *et al.*, 2020), afin de fournir de nouvelles solutions de traitement dans lesquelles la petite taille des molécules peut être bénéfique pour la modulation de la fonction biologique. Les nanomatériaux couramment utilisés sont le carbone (les fullerènes, les nanotubes...), l'argent, la silice, le dioxyde de titane, et l'oxyde de zinc.

Au cours des dernières décennies, les nanomatériaux et les nanoparticules disponibles sur le marché ont enregistré une croissance exponentielle en raison de leurs propriétés biocompatibles, optiques, semi-conductrices ou piézoélectriques. Ces propriétés sont significativement présentes dans diverses nanoparticules telle que l'oxyde de zinc (ZnO), utilisé dans les biocapteurs, optoélectroniques et photovoltaïques (Lin *et al.*, 2019). En plus de leurs applications et leurs voies d'exposition, la Figure 2 illustre les propriétés les plus courantes des NPs telles que leur taille, leurs caractéristiques de surface (surface, charge de surface et revêtements), les variations de formes et les différents matériaux qui les constituent (León-Silva *et al.*, 2016).

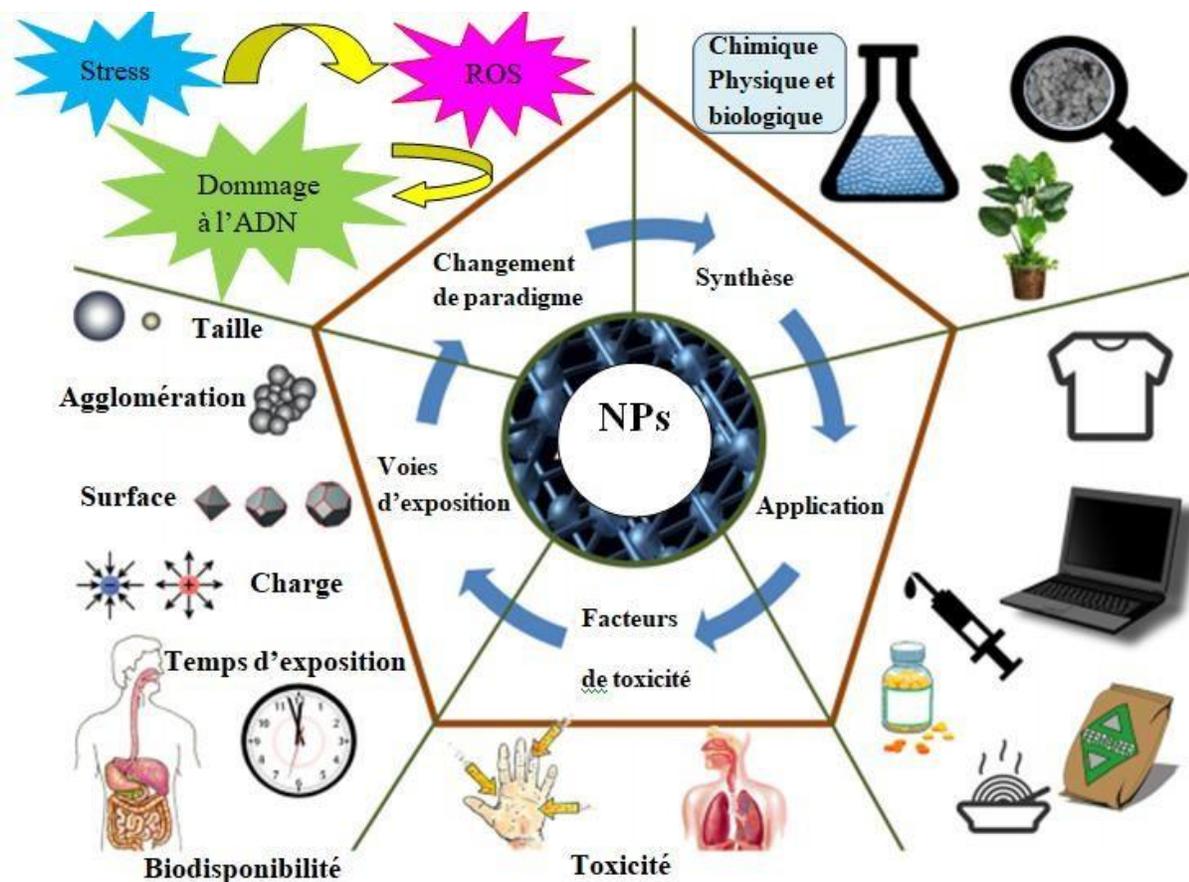


Figure 2: Applications, voies d'exposition, facteurs de toxicologie et changements de paradigme liés à la production et à l'utilisation des NPs (León-Silva *et al.*, 2016).

Les nanotechnologies sont largement utilisées dans les produits cosmétiques, tels que la crème solaire, la poudre d'écran solaire et le dentifrice (Mihrianyan *et al.*, 2012). Elles jouent un rôle important dans la détection des changements moléculaires lorsqu'ils n'apparaissent qu'en petite quantité dans les cellules (Damiati *et al.*, 2019). De plus, en raison de leurs applications potentielles dans l'agriculture, les nanotechnologies offrent des solutions nouvelles et durables à l'agriculture conventionnelle. Elles améliorent la gestion et la conservation des produits, réduisant

ainsi la charge sur les ressources agricoles telles que les pesticides et les engrais (Rehmanullah *et al.*, 2020). Elles ont été développées aussi dans tous les autres domaines de la vie (Naseer *et al.*, 2020), dans plusieurs domaines industriels y compris, l'électronique (Wang *et al.*, 2019), le textile, les emballages alimentaires, les piles à combustible, les batteries, les catalyseurs, les peintures, les fenêtres autonettoyantes, l'énergie, l'aéronautique (Medina-Pérez *et al.*, 2019) et à la tribologie (Huang *et al.*, 2015)

Les nanoparticules telles que les NPs d'oxyde de zinc et les NPs de sélénium sont très intéressantes car elles peuvent inciter le système immunitaire cellulaire ou cibler les récepteurs des cellules cancéreuses. Les recherches récentes en nanomédecine se sont accélérées, en particulier dans le domaine de la physiopathologie cutanée, plus spécifiquement pour les cancers de la peau et la cicatrisation des plaies en chirurgie dermatologique (Hashim *et al.*, 2019 ; Medina-Perez *et al.*, 2019 ; Fraceto *et al.*, 2016 ; Chen *et al.*, 2019).

Finalement, il y a eu une croissance étonnante de l'utilisation des nanoparticules sur le marché mondial en raison de leurs propriétés (Inshakova et Inshakov, 2017). Elles sont devenues un produit compulsif des matériaux intelligents d'aujourd'hui. Le tableau 1 montre l'application de différentes nanoparticules.

Tableau 1 : Applications des nanoparticules (Khan *et al.*, 2016)

Nanoparticules	Secteur	Utilisation	Produit	Référence
TiO ₂	Commerciale	Photocatalyseur	Cellules	(Klaine <i>et al.</i> , 2008)
ZnO	Cosmétique	Diffusion de la lumière UV	Crème solaire, dentifrice	(Serpone <i>et al.</i> , 2007)
Argent (Ag)	Textile	Occasionnels	Chaussettes, vêtements, chaussures	(Benn et Westerhoff, 2008)
Or (Au)	Électronique	Utilisé dans les encres conductrices		(Klaine <i>et al.</i> , 2008)
CuO	Électronique	Ingrédient essentiel	Peinture antisalissure	(Bondarenko <i>et al.</i> , 2013)
			Batteries à lithium	(Sau <i>et al.</i> , 2010)
Nanotube de carbone	Application commerciale	Composite Polymère	Lubrifiants, céramiques	(Remédios <i>et al.</i> , 2012)
		Composite structurale	Matériaux magnétiques	(Remédios <i>et al.</i> , 2012)

1.3. Classifications et sources des nanoparticules

Les nanoparticules sont généralement classées comme naturelles ou anthropiques (artificielles). Parmi les sources des nanoparticules naturelles, on note les éruptions volcaniques, les tempêtes de poussières, les incendies de forêt, le phénomène d'altération et d'érosion des sols provoqué par l'eau et le vent (Smita *et al.*, 2012). Alors que d'origine biologique, on trouve notamment les particules virales (Hogan *et al.*, 2004), les fragments de pollen (McMurry *et al.*, 2000). Parmi les sources anthropiques de nanoparticules, on cite les systèmes de combustion, les incinérateurs au charbon (Chang *et al.*, 2004), les automobiles et les véhicules à moteur diesel (Kittelson 1998), les moteurs d'avion, les cigarettes et les pneus (Vincent et Clement, 2000 ; Hildemann *et al.*, 1991). Les nanoparticules sont également fabriquées par l'homme (NPs intentionnelles / fabriquées) telles que ceux trouvant dans le carbone (nanotubes de carbone, etc.), ce sont aussi des nanoparticules inorganiques (nanoparticules métalliques comme celles d'argent, d'or, les nanoparticules de dioxyde de titane, les nanoparticules d'oxyde de zinc, etc.), ou des nanohybrides organiques formés de polymères produits et de NPs métalliques (Sajid *et al.*, 2015).

1.4. Transfert et devenir des nanoparticules dans l'environnement

Il est admis que la vie aquatique ainsi que terrestre ont évolué en présence des nanoparticules. L'accent sera mis sur le milieu aquatique car il constitue le principal point d'entrée et de dispersion des NPs dans les écosystèmes (Hartmann *et al.*, 2014). En fait, la concentration des NPs dans l'eau de surface varie du ng/L au g/L, selon le type de nanoparticules. L'Union européenne signale que les NPs de TiO₂ présentent la concentration la plus élevée dans les eaux de surface avec une valeur de 2,2 g/L, suivi des NPs d'Ag avec 1,5 ng/L (Röder *et al.*, 2018).

En effet, l'utilisation intensive des produits nano-activés provoque la libération des NPs dans l'environnement (Mitrano *et al.*, 2016) tel que dans le cas des revêtements de sol (Bi *et al.*, 2017) et des peintures de protection UV pour l'extérieur (Clar *et al.*, 2019), mais la plupart des NPs (Ag,

TiO₂ et ZnO) sont libérées dans l'environnement pendant leur phase d'utilisation.

La libération intentionnelle et non intentionnelle des NPs dans l'environnement naturel présente une menace potentielle pour les humains et les organismes (Abbas *et al.*, 2019a, Sendra *et al.*, 2019). Suite à la libération des NPs dans les systèmes aquatiques (Kumar et Al-Dabbous, 2016), ceux-ci subissent directement différents processus de transformation qui modifient leurs propriétés physico-chimiques (Abbas *et al.*, 2020b) tels que l'agglomération, l'agrégation, la désagrégation, la dégradation d'un revêtement de surface, la dissolution, la dispersion, la sédimentation, les réactions redox, la transformation en nouvelles phases (Panzarini *et al.*, 2018), l'adsorption, la sorption, l'oxydation, des réactions de réduction, la sulfuration, les réactions photochimiques et la complication avec d'autres produits chimiques (Amde *et al.*, 2017).

Les processus de biodégradation et de biomodification à médiation microbienne sont les principaux exemples des processus biologiques de transformations des NPs (Lead *et al.*, 2018). Ce sont les principaux processus qui définiront le comportement des NPs dans l'eau (Lowry *et al.*, 2012). Les transformations de ces NPs diffèrent selon la nature de chaque particule et les conditions environnementales, telles que la chimie de l'eau, la taille des particules, le pH, la force ionique ainsi que la présence de matière organique naturelle (MON). Cependant, l'interaction des NPs libérées avec la MON changera leurs propriétés de surface en formant un revêtement naturel différent qui affectera leur comportement dans l'eau (Biswas et Sarkar, 2019). Le phénomène d'agrégation résulte de l'interaction entre deux objets mobiles, alors que le dépôt est l'attachement d'une particule mobile à une phase immobile. Dans le cas de l'agglomération, les particules sont maintenues ensemble généralement par de faibles forces de van der Waals, tandis que leur agrégation résulte de fortes liaisons chimiques.

Les propriétés de surface des NPs jouent un rôle central influençant leur stabilité et mobilité quand elles sont sous forme de suspensions colloïdales, ou leur agrégation en particules plus

grosses (Meesters *et al.*, 2013). Le devenir environnemental et la biodisponibilité des NPs dépendent également de leurs interactions avec les colloïdes aquatiques. Les réactions de dissolution conduisent à la libération d'ions toxiques (Wang *et al.*, 2016). En plus, les NPs synthétiques peuvent absorber d'autres produits toxiques (comme le phénanthrène), ce qui amplifie la toxicité de ce dernier par potentialisation.

Les NPs sont rejetées dans l'atmosphère à partir de sources ponctuelles ou non ponctuelles tout au long de leur cycle de vie. Les sources ponctuelles sont des installations de type fabrication, les processus de transport, les usines de traitement des eaux usées (STEP), l'incinération des déchets et les sites d'enfouissement. Les sources non ponctuelles des NPs sont représenté par les centres de leur production (Peng *et al.*, 2017).

Après la libération des NPs dans l'atmosphère, ils subissent des altérations physiques et des transformations chimiques, qui modifient leur comportement et leur devenir dans d'autres secteurs environnementaux (Fig. 3).

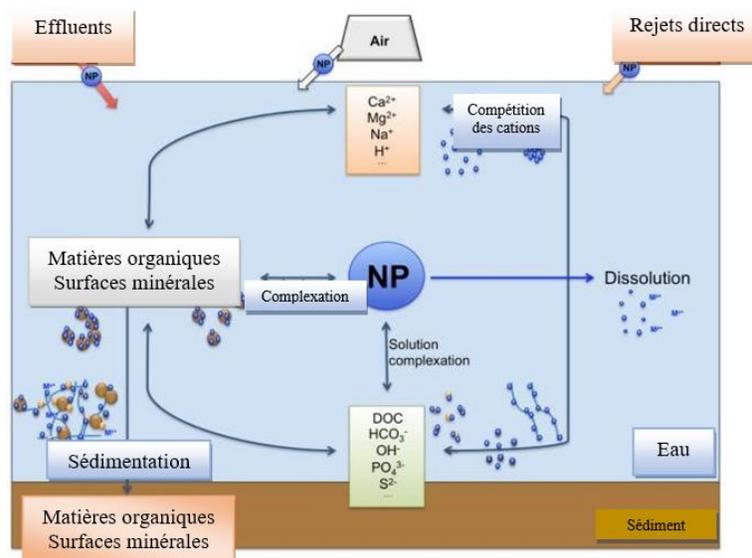


Figure 3: Transport et devenir des nanomatériaux dans l'environnement (Domingos *et al.*, 2015)

Les statistiques montrent que la production de NPs continuera à augmenter et dépassera 500 000 tonnes par an dans les 20 ans à venir; ce qui mènera sûrement à une augmentation de la libération des NPs dans les milieux environnants, soit par les dépôts chimiques, soit par la circulation atmosphérique ou par le déversement d'effluents comme pour d'autres contaminants (Barmo *et al.*, 2013). Les rejets d'eaux usées et de boues d'épuration, y compris les déchets solides, sont les voies intentionnelles d'entrée des NPs dans l'eau, le sol et les systèmes sédimentaires.

Le diagramme ci-dessous résume les sources de libération des NPs et les différents processus de leur transformation (Grillo *et al.*, 2018) (Fig. 4).

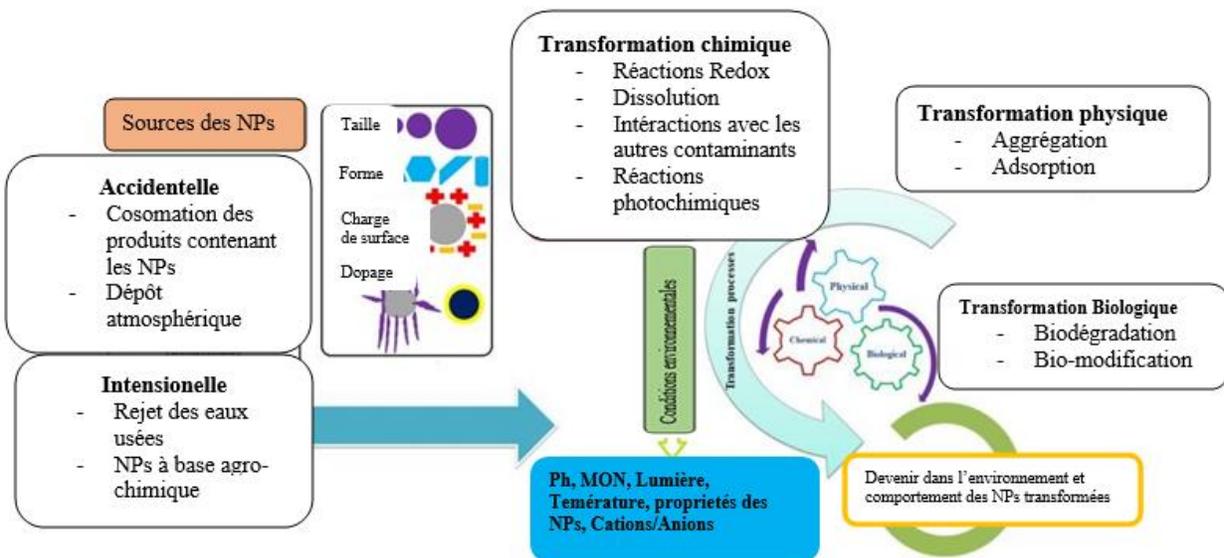


Figure 4 : Les sources et les processus les plus importants affectant le devenir des NPs dans les systèmes aquatiques (Lead *et al.*, 2018).

1.5. Toxicité des nanoparticules

De nos jours, des dizaines de NPs synthétiques émergent comme de nouveaux contaminants environnementaux et commencent leur voyage en suivant divers itinéraires pour atteindre le milieu

environnemental, souvent un plan d'eau (Bakaraki Turan *et al.*, 2019).

Le développement des nanotechnologies conduit à une prolifération rapide de nouveaux matériaux dans l'environnement, dont leurs éventuels impacts écotoxicologiques restent malheureusement inconnus pour la plupart (Biswas et Sarkar, 2019). Étant donné la variété croissante des NPs interagissant avec les diverses espèces aquatiques en régime complexe, l'étude des risques nano-écotoxicologiques est nécessaire pour mieux comprendre les mécanismes et les interactions possibles entre ces particules et les composantes des milieux aquatiques (Rai et Biswas, 2018). Puisque l'eau des lacs et des marais est souvent de nature hétérogène et soumis à des variations de pH, d'oxygène dissous, de salinité, de dureté et de force ionique ou organique, la recherche des NPs dans les milieux aquatiques devrait prendre en compte les aspects pertinents de la limnologie et de la biogéochimie. L'exposition de notre environnement à de ces NPs peut entraîner des problèmes complexes pour les systèmes biologiques, puisqu'elles peuvent modifier considérablement leur structure, leur forme et leur taille lors de phénomènes d'agrégation, de solubilisation ou d'adsorption.

Finalement, les NPs naturelles sont présentes dans l'environnement depuis des millions d'années et ont toujours été en contact avec différents organismes vivants. Cependant, les NPs artificielles, provenant de divers types de déchets de plusieurs industries telles que les textiles, le traitement du cuir, la fabrication des produits pharmaceutiques, la fabrication du papier, etc..., représentent, quant à elles, l'un des principaux polluants et génèrent des risques tant pour l'homme, que pour l'environnement et le milieu aquatique notamment (Aeenjan et Javanbakht., 2018).

1.5.1. Toxicité pour l'atmosphère

L'accumulation des nanoparticules dans l'environnement conduit à la génération de divers processus toxiques pour l'environnement comme la formation des nuages de poussière et de suie (Souza *et al.*, 2019). Ces processus se produisent à la suite de la combustion des déchets organiques

se trouvant dans la nature (Gustafsson *et al.*, 2009). Une combustion incomplète de combustibles fossiles augmente le risque d'exposition aux NPs (Hua *et al.*, 2007 ; Souza *et al.*, 2018).

1.5.2. Toxicité pour les organismes marins

La libération des nanoparticules (NPs) dans l'océan représente inévitablement une menace pour les organismes marins (Guan *et al.*, 2018). Ainsi, les palourdes, par exemple, exposées à l'eau de mer contaminée par les NPs de TiO₂ ont montré une diminution significative de leur activité AChE (Guan *et al.*, 2018) conduisant à un impact négatif sur leur système immunitaire (Della Torre *et al.*, 2015). D'une manière générale, les organismes marins, en particulier les invertébrés benthiques tels que les mollusques bivalves sont impactés. Xia *et al.* (2017) ont rapporté que les NPs sont neurotoxiques chez plusieurs bivalves marins. Ainsi, des préoccupations croissantes ont été souvent présentées en ce qui concerne les impacts écologiques et les effets physiologiques des NPs sur les organismes marins.

Au cours de ces dernières années, l'exposition de diverses espèces marines à des NPs a été à l'origine d'une série d'impacts physiologiques néfastes, notamment concernant la réduction de la fertilité des espèces. Il a également été démontré que les NPs pourraient être neurotoxiques chez les poissons (Sheng *et al.*, 2016). En revanche, l'interaction des NPs avec d'autres contaminants peut également altérer leur transport et leur réactivité (Sigmund *et al.*, 2018).

1.5.3. Toxicité pour les plantes aquatiques et les algues

Il a été constaté que l'exposition de tissus végétaux de *Spirodela polyrrhiza* à des NPs provoquait différentes conséquences indésirables, variant selon le type et la nature des nanoparticules (Zhao *et al.*, 2020). Les NPs ont souvent induit une augmentation de la concentration des espèces réactives de l'oxygène (Fig. 5). Ainsi, les NPs de zinc, par exemple sont connues pour entraîner, à des doses élevées, une toxicité dans les plantes (Molnár *et al.*, 2020). Elles sont susceptibles d'induire un stress, des dommages sur l'ADN et une génotoxicité dans les

plantes si leur taille est de l'ordre de 50 nm et leur concentration est de l'ordre de 1000 $\mu\text{g/mL}$ (Movafeghi *et al.*, 2018 ; Hosseinpour *et al.*, 2020).

Par ailleurs, l'adsorption des nanoparticules de TiO_2 à la surface des algues induit une augmentation de leurs poids, et de ce fait, une diminution de leur capacité flottante. Par conséquent, le fait qu'une plus petite surface de la plante soit exposée à la lumière du soleil entraînerait une baisse progressive du taux de photosynthèse. Les NPs de TiO_2 se sont révélées ainsi toxiques pour les algues vertes (Navarro *et al.*, 2008) alors que les NPs de ZnO ont montré une toxicité chez une espèce d'algues présente dans l'eau douce *Euglena gracilis* (Brayner *et al.*, 2010).

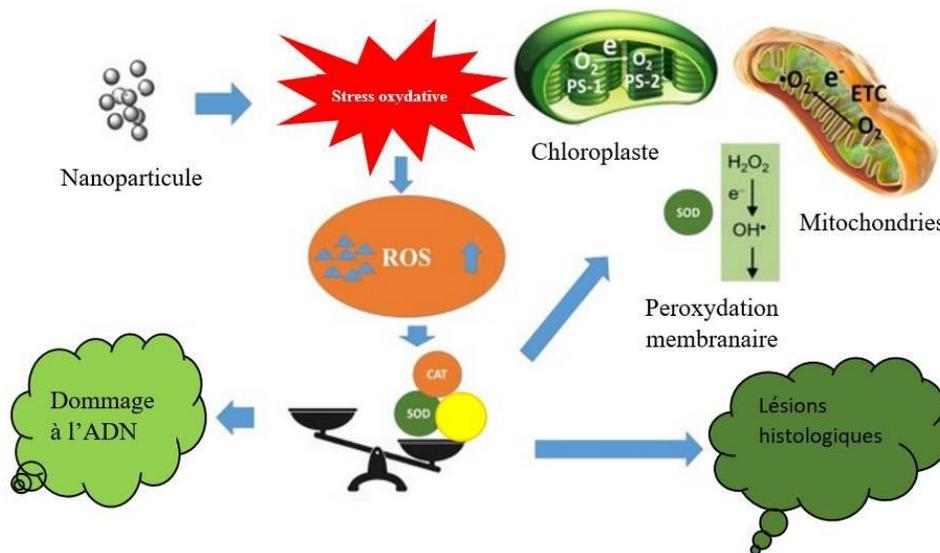


Figure 5 : Stress oxydatif induit par les NPs et suivi d'une explosion oxydative et d'une génération des ROS chez les plantes vertes (Ranjan *et al.*, 2021)

1.5.4. Toxicité des nanoparticules pour les bactéries et les microbes aquatiques

Les bactéries sont généralement moins affectées par la toxicité des NPs par comparaison à d'autres organismes vivants en milieu aquatique, en raison de leur capacité à surmonter les conditions de stress et à développer leurs propres systèmes de défense (Freixa *et al.*, 2018). Il a été constaté que les bactéries à Gram négatif sont encore moins sensibles que les bactéries à Gram positif (Freixa *et al.*, 2018).

1.5.5. Toxicité des nanoparticules pour le sol

Le « puits ultime » de chaque composant dans l'environnement est le sol, les NPs ne font pas l'exception ont montré un impact sur la biodiversité des sols (Rajput *et al.*, 2018b). Ainsi, ces particules minuscules finissent leur voyage dans le sol où elles deviennent dormantes pour un certain temps. Il est bien connu que le sol est un réservoir naturel pour une grande variété de microflores, en offrant des environnements propices à la croissance et à la survie des indicateurs biologiques. Cependant, la période de dormance sur le long terme des NPs peut provoquer de graves problèmes et contribuer à réduire la fertilité des sols provoquant ainsi un déséquilibre dans l'écosystème entier (Dinesh *et al.*, 2012).

1.5.6. Contamination des plans d'eau par les nanoparticules

Les déchets domestiques et industriels rejetés dans les plans d'eau peuvent contenir des nanoparticules sous forme agrégée ou colloïdale. Les rejets contiennent généralement des matières organiques (polysaccharides et des microbes) et des matières inorganiques (oxydes de métaux lourds) qui rendent les plans d'eau impropres à l'utilisation. En fait, il a été suggéré que l'argent ionique, par exemple, se révèle hautement toxique et perturbe l'activité enzymatique, ce qui engendre un dysfonctionnement de l'osmorégulation chez les poissons, et conduit à la mort de certaines espèces (Tang et Wang., 2004). Les NPs peuvent également s'accumuler à la surface des océans, présentant alors une voie de risque d'exposition aux aérosols pour les oiseaux et les mammifères marins, ainsi qu'aux organismes vivants en surface, en raison de leur nature hydrophobe (Kennedy *et al.*, 2004).

1.5.7. Toxicité des nanoparticules et impact sur la santé humaine

Avec le développement rapide des nanotechnologies, les nanomatériaux de plus en plus utilisés dans la vie quotidienne, apportant de nombreux avantages aux êtres humains (Wang *et al.*, 2019) mais induisent en contre partie des effets néfastes sur la santé humaine et l'environnement

(Noël *et al.*, 2020). Ainsi, l'inhalation des NPs atmosphériques, par exemple, a causé 60 000 décès par an d'après l'Agence américaine de protection de l'environnement ces dernières années (Oberdorster *et al.*, 2004). Ce phénomène peut entraîner une génération directe d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) ayant le potentiel d'attaquer l'ADN, les protéines et les membranes cellulaires (Ema *et al.*, 2017). Ainsi, une étude a indiqué, par exemple, que les nanoparticules de TiO₂ induisent des ROS qui entraînent un dysfonctionnement des protéines, une dégradation de l'ADN et des dommages oxydatifs dans le cerveau de la souris (Deshmukh, 2019). De plus, des données montrent une affinité des NPs avec les métaux de transition et les polluants chimiques organiques, qui augmentent le niveau de toxicité (Cheng *et al.*, 2004). Une seconde étude a montré que les nanoparticules d'argent, couramment utilisés pour leurs propriétés antimicrobiennes, induisent une inhibition de la croissance des micro-organismes en générant des espèces réactives de l'oxygène (ROS), interagissant avec les parois cellulaires, endommageant l'ADN, et peuvent avoir des effets génotoxiques tels que l'apoptose, et l'aberration chromosomique (Adriana, 2020).

Au niveau cellulaire, les nanoparticules sont responsables du gonflement du réticulum endoplasmique et provoquent des modifications vacuolaires (Akter *et al.*, 2017). De plus, une concentration élevée de nanotubes à multiples parois s'est avérée responsable de la dégénérescence, de l'élargissement et de la raréfaction du noyau des cellules macrophages. (Jia *et al.*, 2005). Ainsi, les NPs peuvent être une menace pour la vie ; l'exposition directe ou indirecte aux NPs présente un risque grave pour la santé humaine (Fig. 6).

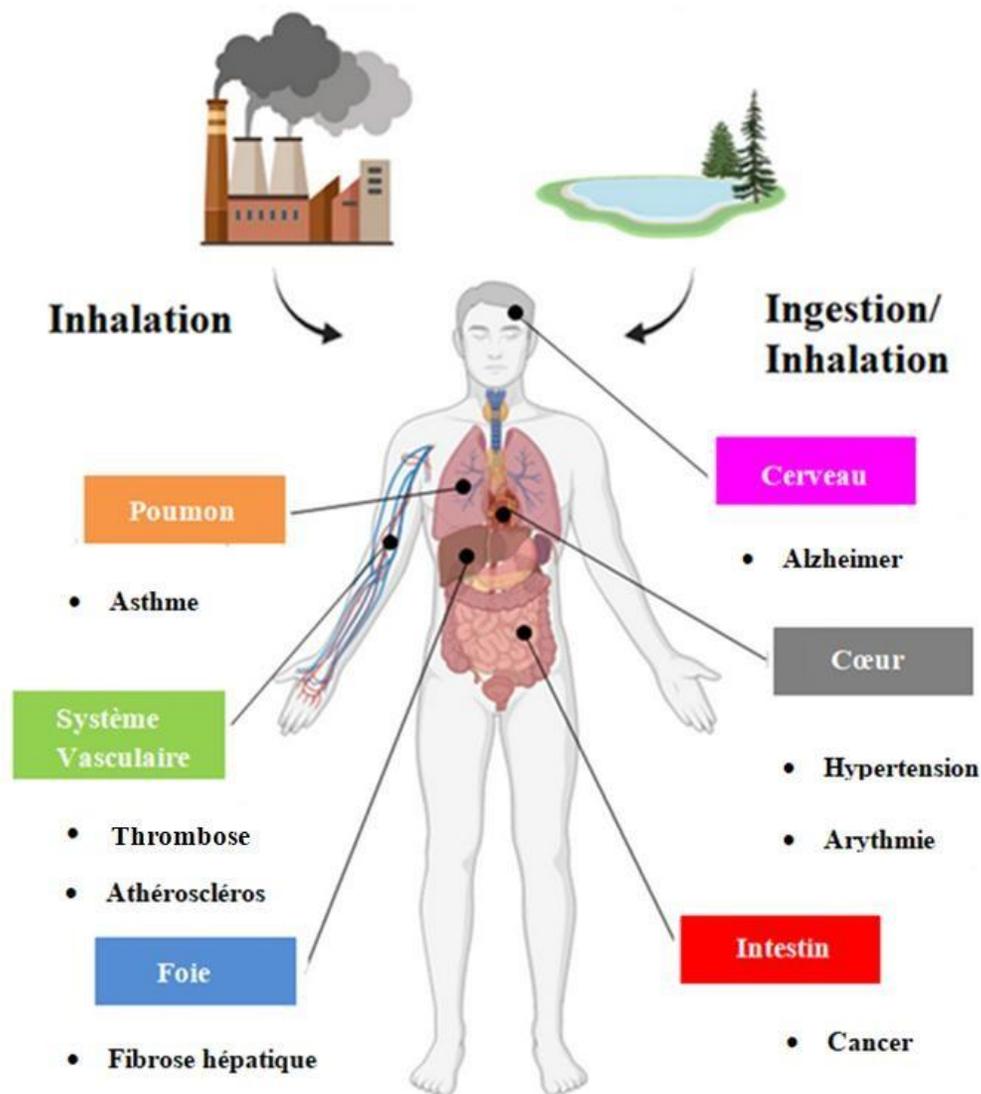


Figure 6: Présence des nanoparticules dans l'environnement, mode de contamination et effets possibles sur la santé humaine (Lu et Radisic, 2021)

En fait, l'exposition directe se produit généralement après contact avec l'eau contenant des traces de NPs telles que les effluents industriels rejetés dans les systèmes aquatiques. L'inhalation d'air contaminé, la consommation d'eau potable contaminée ou l'inhalation d'aérosols d'eau sont principales voies de contact directes par les NPs (Rajput *et al.*, 2018b). La consommation des poissons, des crustacés et des mollusques filtrants est aussi un exemple d'exposition indirecte. Les mollusques sont connus pour leur capacité à accumuler des NPs avec les particules naturelles et les

polluants associés aux sédiments (Guha *et al.*, 2020). Cependant, les effets réels associés à la présence des NPs dans l'eau font souvent défauts et sont difficiles à analyser car ces contaminants modifient leurs propriétés en milieu aquatique (Souza *et al.*, 2019).

En ce qui concerne le comportement des NPs dans l'organisme, il est largement admis qu'elles montrent une accumulation de haut niveau dans le foie et la rate conduisant à des dommages supplémentaires (Hassanen *et al.*, 2020). Ainsi, des nanobâtônnetts d'or (AuNR) ont été injectés par voie sous-cutanée à des souris. La majeure partie des nanomatériaux est restée dans le site d'injection. Cependant, les ions Au libérés dans le système ont produit des dommages oxydatifs tissulaires (Schmid *et al.*, 2017). Lopez-Chaves *et al.*, (2018) ont exposé des rats Wistar à des AuNP de 10, 30 ou 60 nm pour suivre leur emplacement et leur distribution dans les sous-cellules et les tissus. Ils ont détecté des traces d'AuNPs dans le foie, l'intestin, l'urine, les fèces, les reins et la rate. De plus, la microscopie électronique à transmission (MET) a révélé des particules dans les cellules du côlon et dans des échantillons de foie. Leur taille a joué un rôle majeur dans la biodistribution et les voies d'excrétion. Les plus petites NPs induisaient des effets délétères plus importants, comme a été confirmé par des dommages sur l'ADN. Tout ceci est possible parce que les AuNPs, ultra-petites, présentent de meilleurs temps de circulation avec une biodistribution et une biodisponibilité différente par rapport aux AuNPs plus grandes (Schmid *et al.*, 2017). En outre, il a été démontré que les AuNPs ultra-petites pouvaient posséder des propriétés cytotoxiques lorsque les ligands de sa stabilisation permettent un accès direct à la surface de l'au soit par l'activité catalytique de la surface, soit par une association directe avec des molécules biologiques (Schmid *et al.*, 2017). En effet, des différences significatives ont été observées dans certaines enzymes hépatiques après injection intrapéritonéale d'AuNP à des rats (Abdelhalim et Moussa., 2013). Les AuNPs avaient produit une légère néphrotoxicité et hépatotoxicité (Das *et al.*, 2012). En revanche, les AuNPs servant de biomarqueur, de biocapteur et de transporteurs de médicaments,

induisaient une réelle épatoxicité, une cytotoxicité et une toxicité au niveau de la rate et des poumons (Lin *et al.*, 2016). En plus, l'apoptose et l'inflammation du tissu hépatique ont été observées chez la souris après administration intraveineuse d'AuNPs (Cho *et al.*, 2009).

1.6. Nanoparticules de choix

50 % des polluants présents dans l'eau sont de nature organique (Srinivasan, *et al.*, 2019). Diverses techniques ont été décrites pour le traitement de ces polluants organiques dans les eaux usées et l'air. Parmi ces techniques, la photocatalyse des nanoparticules métalliques s'est révélée être efficace (Arif *et al.*, 2019). Les nanomatériaux ont en effet des propriétés optiques, chimiques et physiques qui dépendent principalement de leur taille et de leur forme. Les nanoparticules d'oxyde de titane (TiO₂) et les nanoparticules de dioxyde de zinc (ZnO), ont en particulier, utilisées comme photocatalyseur dans la dégradation de polluants (Moradnia *et al.*, 2021).

1.6.1. Les nanoparticules d'oxyde de zinc

Les nanoparticules d'oxyde de zinc (ZnO NPs) sont considérées parmi les NPs métalliques les plus couramment utilisées. En effet, ces NPs ont été testées comme photocatalyseurs très efficaces, semi-conducteurs (Saravanan *et al.*, 2017). De plus, les NPs de ZnO, qui peuvent être recyclées (Alamdari *et al.*, 2020), présentent des propriétés physiques spécifiques telles qu'une forte énergie de liaison d'excitation (60 meV), une réactivité élevée, une large bande interdite (3,37 eV) (Jayachandran *et al.*, 2021), une grande surface spécifique, une photosensibilité, une nature non toxique et une stabilité chimique (Tatagar *et al.*, 2021 ; Jamdagni *et al.*, 2018). Toutes ces propriétés sont bénéfiques à diverses applications allant de la médecine, aux soins personnels, à l'agriculture (Santhoshkumar *et al.*, 2017), aux traitements des eaux usées et en optoélectronique (Bharat *et al.*, 2019 ; Murali et Sohn, 2018) et dans le domaine de la photocatalyse (Li *et al.*, 2020). Les NPs de ZnO peuvent être obtenues mécaniquement ou chimiquement (Kontopoulou *et al.*, 2016).

L'introduction de ZnO NPs dans le béton a permis de minimiser les problèmes environnementaux liés à la qualité des matériaux de construction, et de réduire les quantités des déchets et des émissions de gaz à effet de serre. Leur utilisation a permis aussi la réduction des coûts de production et de maintenance (Kamal *et al.*, 2020).

Les NPs de ZnO sont des semi-conducteurs avec une structure hexagonale stable et présentent une excellente activité photocatalytique (Fig. 7).

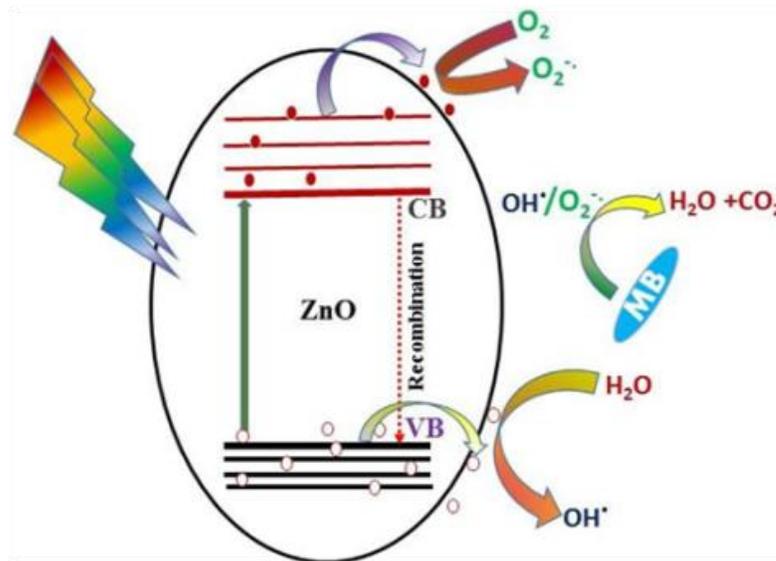


Figure 7 : Réactions d'oxydation et de réduction impliquant le mécanisme de photodégradation en présence du photocatalyseur ZnO (Prasad *et al.*, 2016)

Le ZnO existe sous trois formes différentes : la sphalérite cubique, la wurtzite hexagonale (Fig. 8) et le sel de roche cubique, rarement observé. La wurtzite polymorphe hexagonale est la forme la plus stable à température ambiante (Prasad et Karthikeyan, 2017). Les propriétés fascinantes du ZnO rendent ces matériaux intéressants et ayant diverses applications tel que dans le domaine photovoltaïque (Sruthi *et al.*, 2018 ; Reimer *et al.*, 2014), allant des photo-détecteurs, des transistors à émission de champ, des applications de récupération d'énergie (Mishra *et al.*, 2015), des capteurs de gaz (Cretu *et al.*, 2016), des transducteurs piézoélectriques (Faraji *et al.*,

2016) à des photocatalyseurs écologiques (Wen *et al.*, 2015). Le dopage par un autre élément peut encore améliorer les propriétés optiques de ces nanoparticules semi-conductrices (Suwanboon *et al.*, 2013).

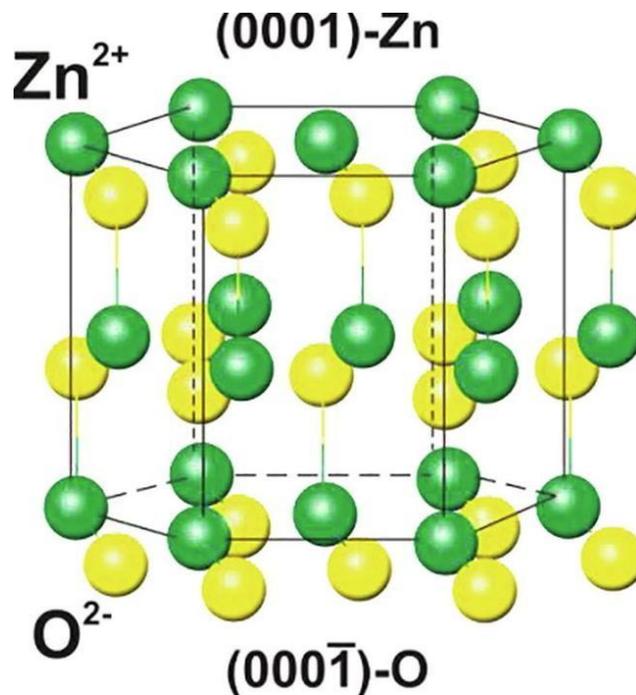


Figure 8: Illustration du système wurtzite hexagonal de nanoparticule ZnO

(Sarkar et Sarkar, 2021)

En effet, le dopage avec d'autres composés tels que les éléments de terres rares (RE) ou les métaux comme le cuivre (Cu) les métaux nobles comme l'or (Au), est une stratégie bien connue pour contrôler les propriétés des NPs de ZnO (Kegel *et al.*, 2018). Le dopage des NPs de ZnO permet d'optimiser leurs efficacités et le spectre de luminescence pour des applications telles que les écrans et les capteurs utilisant une conversion UV-visible (Li *et al.*, 2018). En outre, ce processus modifie la bande interdite optique et génère des défauts ponctuels dans le réseau de ZnO (Poornaprakash *et al.*, 2018). Le dopage par l'Au, par exemple, a permis d'améliorer l'activité photocatalytique (Hernández-Carrillo *et al.*, 2020), le contrôle de la température (Poornaprakash *et al.*, 2018), les non-linéarités optiques (Vinoditha *et al.*, 2019) et la détection de l'humidité (Yu *et al.*, 2019). En

effet, l'or (Au) est un élément métallique inerte qui présente des propriétés intéressantes en tant que catalyseur hétérogène (Ouares *et al.*, 2018). Du coup, l'effet de dopage à l'Au dans les NPs de ZnO sur leurs propriétés structurales, diélectriques, optiques, magnétiques et biologiques a été illustré (Anwar *et al.*, 2021) ; le ZnO dopé par l'Au présente aussi une excellente sélectivité en détection, en particulier pour réaliser des biocapteurs. Il peut également être utile pour la récupération d'énergie et les dispositifs optoélectroniques (Lu *et al.*, 2016) et les catalyseurs de type AuZnO présentent également des performances prometteuses.

Le cuivre (Cu) ayant des propriétés physiques et chimiques similaires aux propriétés du zinc, a été également choisi comme ion dopant (Prasad et Karthikeyan, 2017). En effet, ce métal possède des propriétés plasmoniques intéressantes et il est plus économique que d'autres métaux (Javid *et al.*, 2016). Par ailleurs, le ZnO dopé au Cu a été largement étudié, à la fois sur le plan fondamental qu'expérimental (Indrajith Naik *et al.*, 2021). En effet le ZnO est non toxique et peut donner une luminescence intensive (Klingshirn *et al.*, 2007), tandis que son dopage avec le Cu lui confère des propriétés ferromagnétiques (Ferhat *et al.*, 2009). D'autre part, le Cu a une structure de coque électronique similaire à celle du Zn (Bahsi et Oral, 2007), et peut influencer la bande interdite du ZnO (Ahn *et al.*, 2007). En modifiant la morphologie par le dopage, on peut facilement adapter leurs propriétés optiques et magnétiques, ainsi le ZnO dopé au Cu a été considéré comme un candidat privilégié pour l'élaboration de biomarqueurs (Dobson *et al.*, 2006 ; Klingshirn *et al.*, 2007), et comme réactif de contraste en imagerie par résonance magnétique pour le diagnostic (Lee *et al.*, 2006). Le cuivre (Cu) est, de ce fait, un élément essentiel parmi les composants métalliques du dopage car c'est un activateur de luminescence qui peut altérer la luminescence des cristaux de ZnO (Ferhat *et al.*, 2009 ; Thang et Pacchioni, 2019). Par ailleurs, la génération de cristallites de Cu, de petite taille et ayant une stabilité élevée est d'une importance cruciale. À cet égard, l'hybridation du catalyseur Cu dans du ZnO représente donc une stratégie prometteuse (Zhong *et*

al., 2020).

1.6.2. Les nanoparticules de dioxyde de titane (TiO₂ NPs)

Le dioxyde de titane (TiO₂) est l'un des matériaux semi-conducteurs les plus utiles dans les technologies optiques. Il peut être cristallisé sous trois phases allant de l'anatase (tétraгонаle), au rutile (cubique) et à la brookite (orthorhombique). Le rutile est la phase la plus courante, la plus stable, avec une absorption UV élevée et une toxicité inférieure à celles de l'anatase (Fang *et al.*, 2012 ; Nabi *et al.*, 2019). Les deux autres formes sont les phases semi-stables du TiO₂ (Jasbi et Dorrnian, 2017). L'oxyde de titane (TiO₂) est un matériau bien connu et bien étudié, notamment en raison de la stabilité de sa structure chimique, de sa biocompatibilité, de ses propriétés physiques, optiques et électriques, de son faible coût et de sa disponibilité (Thompson *et al.*, 2018). En particulier, ses propriétés photocatalytiques sont utilisées dans un large éventail d'applications dans l'environnement, par exemple pour éliminer les polluants de l'eau et de l'air (Zhu *et al.*, 2018) notamment dans la dégradation des pesticides et des produits à base d'hydrogène (Seger et Kamat, 2009). Mais, il est également utilisé dans d'autres domaines tels que les cellules solaires, les capteurs de gaz (Liu *et al.*, 2018), les écrans solaires (Lu *et al.*, 2018), la construction, les peintures et en médecine comme matériaux antibactériens (Zhang *et al.*, 2018 ; Amanulla et Sundaram., 2019 ; Rosi et Kalyanasundaram, 2018). Il possède également des propriétés physico-chimiques hydrophobes (Kashale *et al.*, 2016). Au cours des dernières décennies, la photodégradation des polluants organiques à l'aide des nanoparticules à base de TiO₂ (Fig. 9) a attiré une attention croissante (Soleimani *et al.*, 2016).

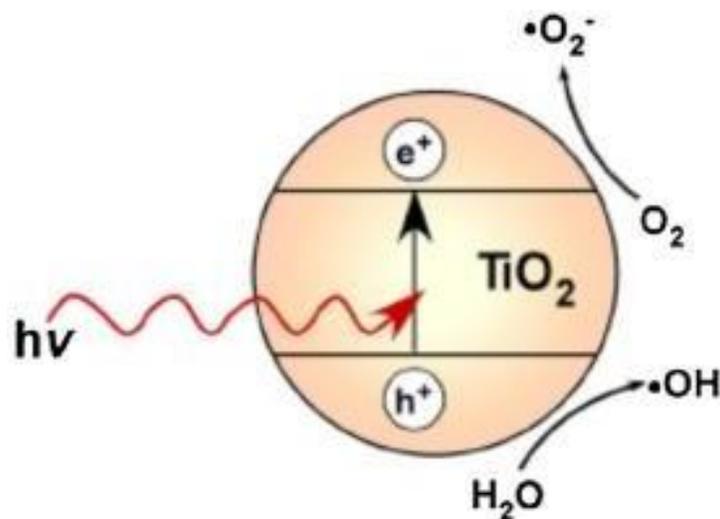


Figure 9 : Mécanisme d'action des nanoparticules de TiO_2 photocatalytiques activées par la lumière (Ogunsona *et al.*, 2019)

Le TiO_2 est l'un des matériaux idéals pour la photodégradation en raison de sa stabilité chimique et de son efficacité. Par conséquent, le dopage des NPs de TiO_2 par des métaux nobles tel que l' Au, a permis d'améliorer leurs propriétés optiques (Kravets *et al.*, 2018), leur efficacité quantique et leur gamme d'absorption de la lumière visible (Ratchford *et al.*, 2017).

2. Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs)

2.1. Généralités

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs) sont des polluants organiques persistants (POPs) omniprésents dans les milieux marins côtiers (Deelaman *et al.*, 2020), en particulier dans les zones les plus densément peuplées et urbanisées (Balcioğlu, 2017). Ces composés constituent une classe de produits chimiques organiques complexes qui contiennent au moins deux cycles benzéniques. Ils sont fusionnés entre les atomes de carbone et d'hydrogène. Ils peuvent être classés en deux groupes principaux : les HAPs de faible poids moléculaire (LMW ; deux à trois anneaux

benzéniques) et les HAPs de haut poids moléculaire (HMW ; quatre à six anneaux) (Rocha et Palma, 2018).

Les HAPs contiennent plus de 200 produits chimiques qui contaminent l'environnement (Zhang *et al.*, 2016). Ils peuvent être générés à partir de diverses sources telles que des processus naturels comme par exemple, pendant la maturation du pétrole brut et des processus similaires et sont appelés pétrogéniques (Ali, 2019), ainsi que par les feux de forêt et de prairie dits pyrogènes (Bao *et al.*, 2019). La plupart des sources anthropiques trouvent leurs origines dans des processus pyrogènes tels que la combustion du pétrole, du gaz, du charbon et de la biomasse (Abdel-Shafy *et al.*, 2016). Les HAPs sont très mobiles dans l'environnement en raison de leurs propriétés physico-chimiques, ce qui leur permet de subir un transport sur de longues distances provoquant une pollution mondiale (Dat et Chang, 2017). Cependant, ils sont largement présents dans les matrices biotiques et abiotiques du monde entier.

Dans les études environnementales, les HAPs sont considérés comme des polluants prioritaires car ils agissent comme perturbateurs endocriniens, génotoxiques, cancérigènes et mutagènes (Balcioğlu, 2016). Ce sont des polluants dangereux qui suscitent de grandes préoccupations environnementales. La plupart des HAPs rejetés dans l'environnement s'accumulent dans la couche arable (Zeng *et al.*, 2021). Certains HAPs présentent aussi des risques potentiels pour la santé humaine (Davie-Martin *et al.*, 2017). En effet, l'agence de protection de l'environnement (USEPA) a défini 16 HAPs comme polluants prioritaires. De plus, de nombreux experts de plusieurs organisations, dont l'Occupational Safety and Health Administration (OSHA) et le National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH), ont défini des limites d'exposition aux HAPs (Lübeck *et al.*, 2016). Depuis la dernière décennie, de nombreux pays ont étudié les HAPs de manière approfondie (Bao *et al.*, 2019).

2.2. Propriétés des HAPs

Les HAPs constituent un groupe de composés organiques lipophiles avec une structure cyclique comprenant deux ou plusieurs cycles benzéniques. Ce sont des composés organiques semi-volatils avec une faible pression de vapeur saturante et une faible solubilité dans l'eau. D'après Keith et Telliard, (1979) et Yan *et al.* (2004), 16 HAPs ont été classés comme polluants prioritaires dans l'environnement (Tableau 1). De plus, les HAPs sont difficiles à éliminer et en particulier dans les environnements aquatiques car ils ont tendance à s'adsorber pendant de longues périodes sur les matières particulaires. Ils appartiennent à la classe des polluants organiques persistants constitués d'au moins de deux cycles aromatiques fusionnés, neutres, apolaires, peu volatils, de faible solubilité dans l'eau, ont un point de fusion et d'ébullition élevé et une faible pression de vapeur (Zhu *et al.*, 2009 ; Behera *et al.*, 2018). En revanche, ces substances sont stables (hydrolyse négligeable) mais leur biodégradabilité varie fortement selon les conditions du milieu. Étant hydrophobes et liposolubles, la plupart des HAPs ont tendance à s'adsorber sur les matrices solides et notamment sur les matières organiques.

Les HAPs de faible poids moléculaire (deux ou trois cycles) sont plus facilement dégradables que ceux ayant des poids moléculaires plus élevés (quatre cycles ou plus) en raison de la volatilité et de la solubilité relativement plus élevées. Cependant, les HAPs de haut poids moléculaire ont la propriété de rester fortement fixés aux sédiments, devenant ainsi résistants à la dégradation microbienne, et de par leur nature incombustible, ils sont maintenus dans l'environnement pendant de longues périodes. Sachant que ce sont des polluants très préoccupants en raison de leurs effets toxiques non seulement envers les organismes aquatiques, mais aussi chez les animaux d'ordre supérieur et les humains par bioaccumulation (Dobaradaran *et al.*, 2020), conduisant à la mutagénicité, la cancérogénicité, la génotoxicité ainsi qu'ayant des propriétés potentielles de perturbation endocrinienne, ils sont responsables de l'initiation des tumeurs (Behera *et al.*, 2018).

Les caractéristiques physico-chimiques des 16 HAPs toxiques pour l'environnement sont présentées le tableau suivant.

Tableau 2 : Structure chimique des 16 HAPs prioritaires (Yan *et al.*, 2004).

Nom	Nombre de cycles	Formule chimique
Naphtalène	2	C ₁₀ H ₈
Acénaphtylène	3	C ₁₂ H ₈
Acénaphène		C ₁₂ H ₁₀
Fluorène		C ₁₃ H ₁₀
Anthracène		C ₁₄ H ₁₀
Phénanthrène		C ₁₄ H ₁₀
Fluoranthène	4	C ₁₆ H ₁₀
Pyrène		C ₁₆ H ₁₀
Benzo(a)anthracène		C ₁₈ H ₁₂
Chrysène		C ₁₈ H ₁₂
Benzo(a)pyrène	5	C ₂₀ H ₁₂
Benzo(b)fluoranthène		C ₂₀ H ₁₂
Dibenzo(ah)anthracène		C ₂₂ H ₁₄
Benzo(k)fluoranthène		C ₂₀ H ₁₂
Benzo(ghi)pérylène	6	C ₂₀ H ₁₂
Indeno(1,2,3-cd)pyrène		C ₂₂ H ₁₂

2.3. Source, Transfert et devenir des HAPs dans l'environnement

Le dernier siècle du développement industriel a conduit à une augmentation significative des concentrations des HAPs dans l'environnement. Les sources des HAPs sont très vastes et complexes. Ils proviennent de voies naturelles dues principalement à des processus de combustion tels que les incendies de forêt et de prairie (Fig. 10), la diagenèse de la matière organique, la biosynthèse de plantes et de micro-organismes, les fuites de pétrole, la décomposition végétale et l'érosion des roches sédimentaires contenant des hydrocarbures pétroliers (Shen *et al.*, 2022). Les HAPs se propagent dans le milieu marin par le biais des rejets d'eaux usées, du ruissellement de

surface, du transport maritime, des déversements de pétrole et des dépôts atmosphériques.

Les sédiments marins côtiers agissent à la fois comme un puits efficace et comme une source de HAPs. Par rapport aux procédés de combustion, la quantité des HAPs produite par biosynthèse est très faible, voire négligeable. Cependant, avec le développement des activités humaines, les sources anthropiques sont devenues la principale source de HAPs identifiée dans les sols et les sédiments. La première source est due au phénomène de pyrolyse, qui est dû principalement à la combustion incomplète du charbon, du pétrole, du bois et des composés polymères organiques (Goudarzi *et al.*, 2017). La seconde voie de production est due aux ressources pétrolières à savoir les fuites et les rejets de pétrole brut, de goudron de houille, d'asphalte, d'huile de schiste, d'encre de carbone et de diverses huiles minérales industrielles durant leur extraction, leur transport, leur production et utilisation (Arbabi *et al.*, 2015). Les autres sources artificielles proviennent des processus de cuisson des aliments, de l'incinération des déchets municipaux (Fang *et al.*, 2004) et des émissions agricoles de surface (rejet d'eaux usées, utilisation de pesticides et d'herbicides pendant l'irrigation agricole).

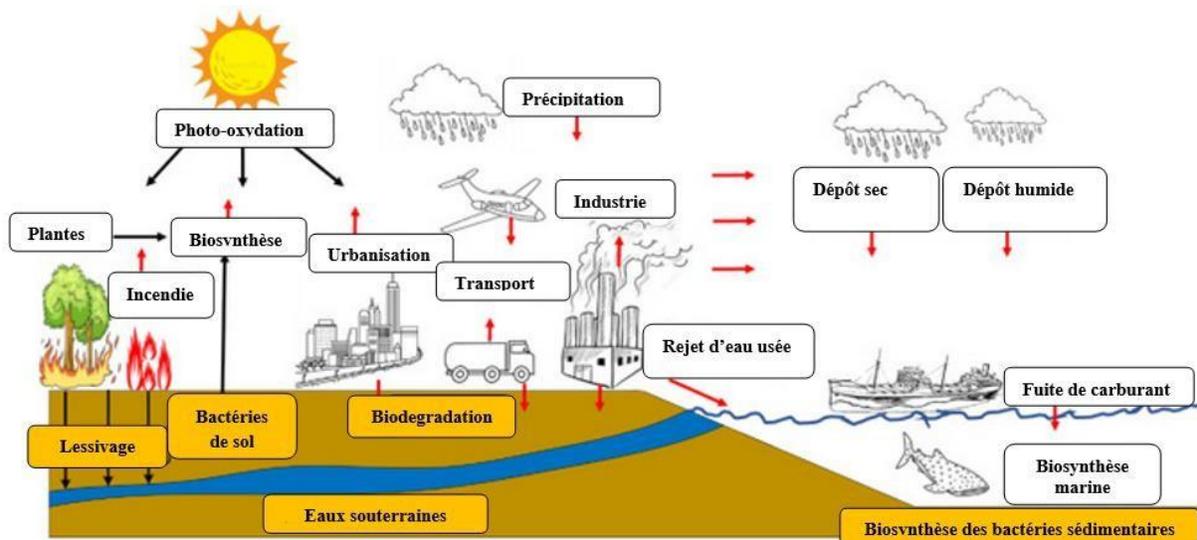


Figure 10 : Principales sources et processus de transport des HAPs dans l'environnement

(Sun *et al.*, 2021)

Les HAPs pyrogènes sont créés par oxydation incomplète lors de phénomène de combustion. S'ils sont rejetés dans l'atmosphère, ils peuvent être transportés sur de longues distances avant d'atteindre les milieux terrestres et aquatiques via le dépôt d'aérosols (Balcioglu *et al.*, 2017). En plus, dans un processus pyrogène, les HAPs se forment au cours de la pyrolyse où les substances sont brûlées à des températures élevées (> 350°C) dans les conditions anaérobies. En revanche, les HAPs provenant d'activités pyrogènes se trouvent principalement dans les zones urbaines (Abdel-Shafy et Mansour, 2016). Certaines des plus grandes sources de HAPs pyrogènes proviennent de la production de coke et de la conversion thermique du pétrole brut en hydrocarbures (Enzminger et Ahlert, 1987). Finalement, les HAPs pyrogènes se forment involontairement au cours de la combustion incomplète de carburants dans les véhicules à moteur et les bois lors des feux de forêt (Zou *et al.*, 2003).

Les HAPs pétrogènes se forment naturellement par maturation du pétrole brut sur des millions d'années lors de processus géochimiques à basse température (100 et 150°C) (Abdel-Shafy et Mansour, 2016).

La troisième sources phytogéniques (ou plus largement biogéniques) proviennent de la synthèse de ces molécules par les plantes et les organismes d'ordre inférieur tels que les bactéries et les algues (Krauss *et al.*, 2005).

Les HAPs pénètrent dans l'environnement de différentes manières, notamment par des phénomènes de fuite, volatilisation et biosynthèse. Par ailleurs, les HAPs présents dans l'environnement sont capables de migrer à travers différents récepteurs environnementaux par les cours d'eau, les précipitations et l'air (Sakshi et Haritash, 2020). Ainsi, ils atteignent l'environnement principalement par l'air résultant de processus thermiques industriels et naturels. En 2004, environ 530 000 tonnes de ces 16 HAPs prioritaires ont été émises dans l'atmosphère dans le monde (Umweltbundesamt, 2016). En 2010, l'Allemagne a émis 191,5 tonnes de benzo(a)pyrène (B(a)p),

de benzo(b)fluoranthène (BbF), et de benzo(k)fluoranthène (BkF) dans l'atmosphère (Umweltbundesamt, 2016). Ils pénètrent aussi dans les eaux de surface via différentes voies, telles que le ruissellement urbain, les dépôts atmosphériques, les effluents municipaux et industriels et les fuites de pétrole (Aryal *et al.*, 2006). Plus de 80% de l'apport des HAPs dans les eaux se fait via les dépôts atmosphériques (Umweltbundesamt, 2016).

La présence de ces éléments entraîne une eutrophisation et une inhibition importante des processus biologiques (Dokianakis *et al.*, 2006). Ainsi, ils pourraient altérer l'équilibre des organismes aquatiques et affecter les communautés microbiennes (Sawulski *et al.*, 2016). De plus, des perturbations importantes comme le blanchiment et l'altération de la croissance des coraux peuvent avoir lieu (Jafarabadi *et al.*, 2018).

2.4. Le risque pour la santé et les effets indésirables des HAPs pour l'homme et les animaux

Il a été rapporté que des expositions prolongées ou répétées à de faibles doses aux HAPs entraînent un éventail de problèmes de santé relativement graves pour l'homme. En effet, ces produits causent une altération de la fonction pulmonaire et divers types de cancer (notamment le cancer du poumon, de la peau et du tube digestif) (Diggs *et al.*, 2011). De plus, il a été démontré qu'une insuffisance hépatique et rénale et une jaunisse surviennent après une exposition chronique aux HAPs. D'ailleurs, les niveaux d'immunoglobulines étaient faibles chez les travailleurs des fours à charbon exposés de façon chronique aux HAPs et l'inhalation orale et nasale de ces molécules peut provoquer une hémolyse des érythrocytes (Chang *et al.*, 2020).

Des études ont montré que l'exposition à court terme aux HAPs peut entraîner une altération de la fonction pulmonaire chez les patients asthmatiques et peut augmenter le risque de thrombose chez les patients atteints de maladie coronarienne (Kim *et al.*, 2013). Cependant, les études sur les effets cardiovasculaires, gastro-intestinaux, hématologiques et musculo-squelettiques, due à l'inhalation

à court terme des HAPs chez l'homme sont rares. Des symptômes tels que la nausée, les vomissements, la confusion et l'irritation de la peau et des yeux sont caractéristiques après une exposition à courte durée à des concentrations élevées de HAPs (Goudarzi *et al.*, 2017).

En ce qui concerne l'environnement, les HAPs présentent une toxicité aiguë modérée à élevée pour les organismes aquatiques. Celle-ci dépend du type de HAPs et de l'organisme impliqué. En général, les HAPs sont très toxiques pour le zooplancton avec des valeurs de CL50 (concentration mortelle qui tue 50 % de la population) variable. Par exemple, pour le benzo[a]pyrène, des valeurs de CL50 de l'ordre de $5 \mu\text{g L}^{-1}$ et $58 \mu\text{g L}^{-1}$ sont enregistrées respectivement pour *Daphnia pulex* et *Eurytemora affinis*. Une toxicité similaire a été observée pour *Ceriodaphnia reticulata* (CL50 = $4,3 \mu\text{g L}^{-1}$) et *Daphnia magna* (CL50 = $4,7 \mu\text{g L}^{-1}$) (Ikenaka *et al.*, 2013). En revanche, les HAPs ont montré des effets néfastes sur les phytoplanctons, de sorte qu'ils sont extrêmement toxiques contre certains phytoplanctons, alors que d'autres espèces de phytoplanctons ont des niveaux de tolérance plus élevés. Ainsi, le benzo[a]pyrène était notamment toxique pour *Scenedesmus acutus* (CL50 = $5 \mu\text{g L}^{-1}$) et *Pseudokirchneriella subcapitata* (CL50 = $15 \mu\text{g L}^{-1}$), alors que leur toxicité s'avérait plus faible pour *Anabaena flosaquae* et *Chlamydomonas reinhardtii* (CL50 = $4000 \mu\text{g L}^{-1}$) (Schoeny *et al.*, 1988). À des concentrations subtoxiques, les HAPs peuvent entraîner une réduction importante de la croissance des espèces planctoniques, une inhibition enzymatique, une augmentation de la peroxydation lipidique, une inhibition de la photosynthèse, etc. (Othman *et al.*, 2011).

Outre les effets toxiques sur les planctons, les recherches sur la bioconcentration et la bioaccumulation des HAPs chez les espèces planctoniques prennent de l'ampleur compte tenu du rôle de ces organismes comme source de nourriture pour les poissons (Almeda *et al.*, 2013). En plus, les HAPs peuvent nuire aux animaux d'ordre supérieur, menaçant ainsi la survie de ces espèces. Elle influence la perturbation du métabolisme normal des hormones sexuelles (y compris

les gonadotrophines) chez les poissons, les oiseaux et les mammifères, même à des concentrations extrêmement faibles. Cela conduit à un dysfonctionnement des processus de reproduction par la réduction de la fertilité, l'altération du comportement sexuel, la viabilité de la progéniture et le taux d'éclosion.

La toxicologie des HAPs est importante en raison de leurs propriétés mutagènes et cancérigènes (Honda et Suzuki., 2020). Ainsi, l'exposition aux HAPs a été associée à des maladies comme le cancer et les troubles de la reproduction (Kim *et al.*, 2013). L'attention croissante sur la toxicité des HAPs à l'échelle planétaire pour les écosystèmes aquatiques est totalement justifiée (Law *et al.*, 2017). Cependant, la contamination de l'environnement se présente sous la forme d'un mélange de substances toxiques, dont certaines ont des propriétés chimiques spécifiques, des modes de toxicité et un potentiel d'interaction singuliers. En effet, les HAPs sont des polluants très préoccupants en raison de leurs effets toxiques non seulement sur les organismes, mais aussi chez les animaux et les humains d'ordre supérieur. Étant donné que les écosystèmes aquatiques sont les lieux privilégiés de la reproduction des poissons, la présence des HAPs dans ces milieux conduit à la bioaccumulation de ces produits, leurs bioamplifications à travers la chaîne alimentaire aquatique et aussi leurs bioconcentrations par transfert via la chaîne trophique aquatique (Depree et Ahrens, 2008) provoquant des effets indésirables (Meador *et al.*, 2006) comme la réduction de la croissance (Christiansen et George, 1995), des dommages à l'ADN (Caliani *et al.*, 2009) et des malformations des embryons et des larves (Carls *et al.*, 2008). Les poissons offrent un bon indicateur de la pollution des HAPs dans les plans d'eau (Nyarko et Klubi, 2011), en raison de la stabilité et de la lipophilicité élevées des HAPs (Bouloubassi *et al.*, 2001). Ainsi, ils s'accumulent dans les tissus adipeux des poissons (Van der Oost *et al.*, 1991) lorsqu'ils sont ingérés soit par la nourriture (Meador *et al.*, 2006) ou par sorption par la peau et les branchies (Gobas *et al.*, 1999). Une augmentation des activités anthropiques au cours des dernières années ainsi qu'un processus

inévitables de biotransformation et de bioamplification font que les niveaux des polluants à base des HAPs sont devenus une menace pour les écosystèmes aquatiques (Nwaichi and Ntorgbo, 2016). Globalement, plusieurs HAPs sont présents dans l'environnement mais la plupart des études restent focalisées sur les 16 HAPs prioritaires, qui sont cancérigènes pour l'homme, comme le benzo[a]pyrène, le chrysène et le benzo[a]anthracène (Andersson et Achten, 2015).

2.5. Hydrocarbures aromatiques polycycliques de choix : le benzanthracène (Banth), le Benzo[a]pyrène (B(a)p) et le fluoranthène (FL)

Au cours de la présente étude nous nous sommes intéressés à trois HAPs, considérés parmi les 16 HAPs prioritaires détectés dans les milieux aquatiques, qui sont le benzanthracène (Banth), le Benzo[a]pyrène (B(a)p) et le fluoranthène (FL).

2.5.1. Le benzanthracène

Le benzanthracène est un hydrocarbure aromatique cristallin composé de quatre cycles benzéniques fusionnés (Fig. 11), produit par une combustion incomplète de matière organique. Le benzanthracène se trouve principalement dans les gaz d'échappement à essence et à diesel, la fumée de tabac et de cigarette, le goudron de houille et le brai de goudron de houille, les émissions de combustion de charbon, les aliments grillés au charbon de bois, les acides aminés, les acides gras et les produits de pyrolyse des glucides, la fumée de bois et de suie, la créosote, l'asphalte et les huiles minérales (MAK Value Documentation, 2012).

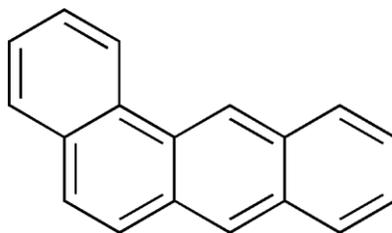


Figure 11 : Structure du benzanthracène

Cette substance est utilisée uniquement à des fins de recherche. Le benzanthracène s'est révélé génotoxique et cancérigène dans les études animales. Des tumeurs ont été induites dans le foie, la peau et les poumons de jeunes souris après ingestion, application cutanée et injection sous-cutanée et intrapéritonéale.

Le métabolisme du benzanthracène via le cytochrome P450 et l'époxyde hydrolase conduit aux dihydrodiols suivants : le trans-3,4-dihydroxy-3,4-dihydrobenzo[a]anthracène, le trans-5,6-dihydroxy-5,6-dihydrobenzo[a]anthracène, le trans-8,9-dihydroxy-8,9 dihydrobenzo[a]anthracène et le trans-10,11-dihydroxy-10,11-dihydrobenzo[a]anthracène. Le 3,4-dihydroxy-3,4-dihydrobenzo[a]anthracène résultant de l'époxyde 3,4-époxy-3,4- dihydrobenzo[a]anthracène est le cancérogène proximal qui est ensuite métabolisé en cancérogène ultime et le 3,4-dihydroxy-1,2-époxy-1,2,3,4-tétrahydrobenzo[a]anthracène (antiforme) et conduit à des adduits d'ADN (Levin *et al.*, 1978 ; MAK Value Documentation, 2012).

2.5.2. Le Benzo[a]pyrène

Le benzo[a]pyrène (B(a)p) est l'un des hydrocarbures aromatiques polycycliques cancérigènes les plus puissants et il est principalement produit à partir de la combustion incomplète de matières organiques (Lu *et al.*, 2019). Le benzo(a)pyrène est un HAPs à cinq anneaux (Fig. 12), qui a été fréquemment choisi comme HAPs représentatif pour étudier ses impacts.

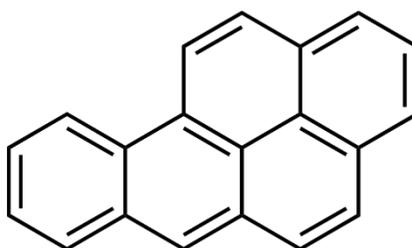


Figure 12 : Structure du benzo[a]pyrène

Le B(a)p est rapidement distribué dans les organes internes en quelques minutes (Kotin *et al.*, 1959). Il est stocké dans les organes riches en graisses tels que la moelle osseuse. Il est ensuite progressivement relargué dans la circulation sanguine (IARC, 1983). Le benzo(a)pyrène a été détecté dans le lait, le placenta et le cordon ombilical des femmes séjournant à Pékin depuis au moins 6 ans et non fumeuses (Yu *et al.*, 2011) ou encore dans le lait des mères italiennes (0,81 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ de lait) (Santonicola *et al.*, 2017). La transformation de ce produit génère des ROS, molécules très réactives et instables capables de réagir avec l'ADN pour former des adduits, mais aussi avec les lipides et les protéines environnants impliqués dans des phénomènes de nécrose ou d'apoptose (Jiang *et al.*, 2013).

La concentration de benzo(a)pyrène dans les eaux côtières a été enregistrée jusqu'à 5 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Li *et al.*, 2021). En tant qu'hydrocarbure aromatique polycyclique représentatif, le B(a)p peut induire des altérations de l'ADN (Lin *et al.*, 2019). Le benzo[a]pyrène (B(a)p) est un cancérigène humain connu et sa neurotoxicité a été largement étudiée (Gao *et al.*, 2015). Il peut contribuer au risque de dysfonctionnement du système nerveux par l'exposition utérine, principalement en modulant l'expression des gènes et en mettant en danger le développement des synapses (Qi *et al.*, 2020). Il induit des effets inhibiteurs sur le système immunitaire qui pourraient améliorer les réponses inflammatoires (Xu *et al.*, 2021). En raison de leur nature persistante et de leur lente dégradation dans l'environnement, le B(a)p est considéré parmi la liste des polluants nocifs (Kumari *et al.*, 2020). Les propriétés cancérigènes du B(a)p sont les plus étudiées (Ranjbar Jafarabadi *et al.*, 2018b).

2.5.3. Le fluoranthène (FL)

Le fluoranthène est un hydrocarbure aromatique polycyclique (HAPs) qui se présente sous forme de cristaux jaune pâle (Hazardous Substance Database, HSDB, 2005). Il a une structure à 4 cycles (tétracyclique) dans laquelle un benzène et une unité naphthalène (les deux sont hexagonales)

sont conjuguées à un cycle à cinq chaînons (pentagonal).

Le fluoranthène est présent dans un certain nombre de produits, notamment (i) en tant que constituant naturel du goudron de houille et dérivé du pétrole, qui peut être utilisé comme matériau de revêtement et dans les conduites d'eau potable et les réservoirs de stockage en fonte ductile; (ii) dans la recherche ; (iii) dans la production de colorants fluorescents; (iv) comme stabilisant dans les adhésifs à base de résine ; (v) dans les huiles isolantes électriques ; et (vi) en tant que composé parent de médicaments pharmaceutiques. Le fluoranthène se trouve dans l'air urbain pollué, eau, gaz d'échappement des moteurs diesel et à essence, fumée de cigarette et autres produits incomplets combustion de matière organique (Grimmer et Pott, 1983). C'est un des HAPs alimentaires les plus répandus ; un apport alimentaire de 1 à 2 $\mu\text{g}/\text{jour}$ a été estimé dans une étude (de Vos *et al.*, 1990). La formule empirique du fluoranthène est $\text{C}_{16}\text{H}_{10}$, et sa structure est présentée dans la figure 13.

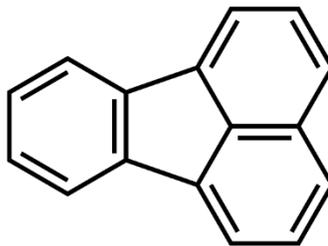


Figure 13: structure du fluoranthène

Les métabolites du fluoranthène sont le fluoranthène 2,3-diol, le trans-2,3-dihydroxy-1,10*b*-époxy-1,2,3,10*b* tétrahydro fluoranthène (2,3D fluoranthène), le 3-hydroxy fluoranthène, et 8-hydroxy fluoranthène. Les microsomes intestinaux et hépatiques des rongeurs ont produit une proportion plus élevée de 2,3D fluoranthène que les microsomes humains (Walker *et al.*, 2006).

Les mécanismes ou modes d'action possibles du fluoranthène en tant que cancérigène ou

cocarcinogène sont brièvement décrites dans les trois études suivantes : Staal *et al.*, (2007), Weis *et al.*, (1998), et Shimada *et al.*, (2002). En effet, Staal *et al.* (2007) ont étudié les effets de 06 HAPs (y compris le fluoranthène) sur l'expression du gène dans des tranches de foie coupées avec précision de rats Wistar à l'aide de la technologie des puces à ADN. Les résultats ont indiqué que les HAPs induisent généralement une réponse spécifique au composé et que la discrimination des composés cancérigènes et des composés non cancérigènes est en partie réalisable avec voie de réponse au stress oxydatif. Le fluoranthène induit l'expression de 77 gènes dont ceux impliqués dans la bêta-oxydation des acides gras mitochondriaux et la formation des adduits à l'ADN.

Weis *et al.* (1998) ont analysé les effets de 12 HAPs sur les jonctions lacunaires intracellulaires (GJIC) dans des cellules épithéliales de foie de rat WB-F344. Cette recherche indique que les événements épigénétiques jouent un rôle dans la promotion des tumeurs, et que la régulation négative de GJIC contribue à la croissance cellulaire incontrôlée qui conduit au développement de la tumeur. Les résultats ont indiqué que le fluoranthène a inhibé la GJIC plus que les HAPs linéaires.

Shimada *et al.* (2002) ont évalué les effets de 14 HAPs (dont le fluoranthène) sur l'induction des ARNm des CYP1A1 et 1B1. Les effets ont été évalués chez des Souris knock-out pour le récepteur arylhydrocarboné C57BL/6J, AhR (-/-), par rapport au type sauvage, AhR (+/+). Les auteurs ont conclu que « les activités microsomales hépatiques de la 7-éthoxyrésorufine et les O-déséthylations de la 7-éthoxycoumarine et l'activation mutagène du (\pm) -trans-7,8- dihydroxy7,8-dihydro-B[a]P en produits endommageant l'ADN ont pu être corrélées avec les taux de CYP1A1 et les ARNm 1B1 dans le foie. Les auteurs ont déclaré que leurs résultats suggèrent que le pouvoir cancérigène des HAPs peut être lié à leur potentiel d'induction des CYP1A1 et 1B1. L'induction au fluoranthène de ces isozymes P450 était très faible ou inexistante.

3. Les pesticides

3.1. Généralités

Les pesticides sont des produits utilisés pour protéger les cultures contre les ravageurs nuisibles. Ils constituent un outil important pour maintenir et améliorer le niveau de vie de la population mondiale. Une moyenne de 2 millions de tonnes de pesticides est utilisée chaque année dans le monde pour lutter contre les mauvaises herbes et les insectes (De *et al.*, 2014). La classification conventionnelle des pesticides basée sur les espèces cibles comprend les herbicides, les insecticides, les rodenticides, les fongicides, etc. (Sharma *et al.*, 2019). Les herbicides et les insecticides sont le type de pesticide le plus couramment utilisé, dominant 47,5% et ce dernier représente 29,5% de la consommation totale des pesticides (De *et al.*, 2014). Les principaux pays consommateurs des pesticides sont la Chine, les États-Unis, l'Argentine, l'Inde, le Japon, Canada, le Brésil, la France, l'Italie et Thaïlande (Sharma *et al.*, 2019). La révolution de la lutte antiparasitaire a commencé dans les années 1970 avec le développement des pesticides à base de métaux lourds toxiques tels que le cuivre, le plomb, le mercure et l'arsenic. Ceci vient suite à la découverte du dichlorodiphényl trichloroéthane (DDT) pendant la Seconde Guerre mondiale (De *et al.*, 2014). L'utilisation du DDT a énormément augmenté en raison de son efficacité contre presque toutes les espèces ravageuses à faible dose. En raison de la grande utilisation, l'impact négatif sur l'environnement et l'humanité était devenu évident dès que le DDT est devenu populaire. Après que le DDT a été interdit pour usage agricole et domestique, une grande variété de pesticides a été produite, tels que les organophosphorés et les pyréthroïdes qui sont encore toxiques pour l'environnement (Mahmood *et al.*, 2016). L'utilisation continue et excessive d'une large gamme de pesticides finit par nuire aux espèces non-cibles et provoque l'apparition de résidus de pesticides dans de nombreux sites inattendus (Ortiz-Hernández *et al.*, 2013). Sous pression chimique constante, les pesticides avaient conduit au développement de souches résistantes dans laquelle les

parasites et les insectes sont immunisés contre le pesticide (Mahmood *et al.*, 2016). L'application de pesticides a donné lieu à une série d'avantages, y compris l'augmentation de la qualité et la quantité de nourriture et réduit les maladies transmises par les insectes, mais a soulevé des problèmes sur les effets néfastes potentiels sur l'environnement, y compris les ressources en eau. Les impacts environnementaux sont principalement dus aux caractéristiques persistantes et omniprésentes des divers pesticides qui ont touché la biodiversité (Sharma *et al.*, 2019). La dissolution des pesticides dépend de la nature du composé, des techniques d'application des pesticides et des conditions climatiques. Les pesticides qui ne se dégradent pas facilement s'accumuleront dans les sols ou mobilisés d'un site à l'autre sous forme de produits dégradés, avec une toxicité inconnue pour la santé humaine (Sharma *et al.*, 2019).

La présence des pesticides dans l'environnement dérive du ruissellement traversant les terrains agricoles et des eaux usées industrielles. Bien que le sol serve de compartiment de stockage des pesticides en raison de la forte affinité aux produits agrochimiques avec le sol, les eaux de surface, les estuaires et les lacs, ainsi que les eaux souterraines sont susceptibles de contamination par les pesticides en raison de l'étroite interconnexion du sol avec les plans d'eau. Les faibles concentrations de pesticides accumulés dans l'eau peut être amplifiée tout au long de la chaîne alimentaire et pénètrent dans les organismes aquatiques qui le rend dangereux pour la santé humaine (Sharma *et al.*, 2019).

3.2. Voies du transport des pesticides dans l'environnement

Les pesticides ne s'accumulent pas seulement dans les cultures, mais ils peuvent être transporté par l'air, le sol et l'eau sur de longues distances, contribuant à la pollution des autres écosystèmes (Toumi *et al.*, 2016; Qu *et al.*, 2019) (Fig. 14). Les principales sources de pollution de l'air par les produits agrochimiques sont les procédés de pulvérisation terrestre ou aérienne. Les pesticides semi-volatils, qui sont principalement adsorbés sur les particules d'aérosols atmosphériques, ont

des demi-vies en phase particulaire de plusieurs jours à un mois et sont capables de rester stables dans l'atmosphère (Socorro *et al.*, 2016). Les pesticides en suspension dans l'air peuvent migrer sur des distances considérables : les produits chimiques stables gazeux peuvent être transportés partout dans le monde (Woodrow *et al.*, 2019).

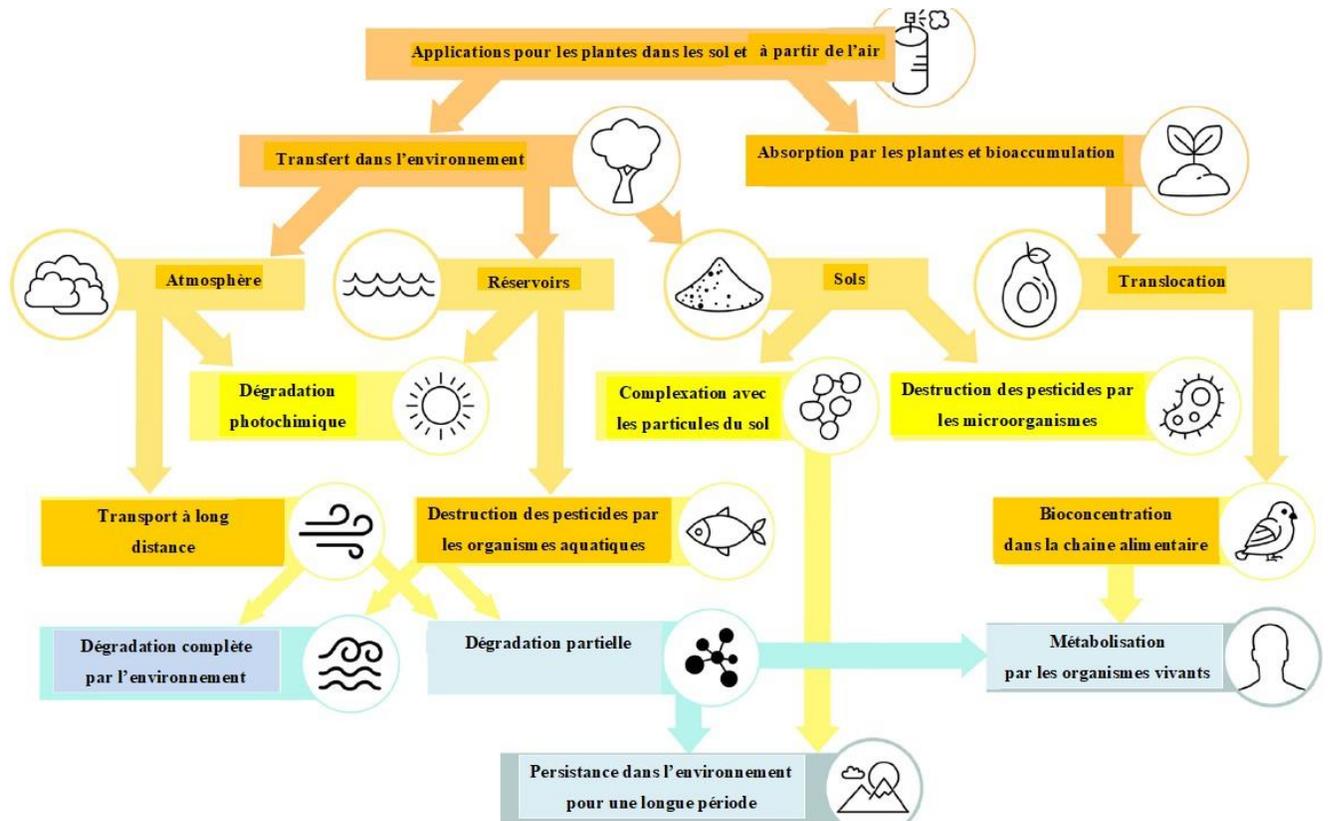


Figure 14 : Représentation schématique des voies de transport des pesticides après application au sol ou pour traiter les cultures, les pesticides sont capables de migrer dans divers environnements et, finalement, de s'accumuler dans la chaîne alimentaire ou de persister sous forme de produits de dégradation (Kalyabina *et al.*, 2021).

Les pesticides sont capables de persister dans la phase gazeuse indépendamment de l'intensité d'utilisation. Dans des études menées en divers points de la planète, certains herbicides et

insecticides ont été détectés à haute fréquence (Liu *et al.*, 2018 ; Fuhrmann *et al.*, 2020). L'oxydation et les réactions photochimiques peuvent transformer les résidus de pesticides en suspension dans l'air en produits plus toxiques que ceux d'origine (Woodrow *et al.*, 2019).

Le mouvement des pesticides vers les régions éloignées est probablement facilité par les facteurs climatiques (Muir *et al.*, 2004). Une source importante des pesticides dans l'air est la volatilisation à partir des eaux de surface (Liu *et al.*, 2018). Les températures ambiantes élevées peuvent accélérer la volatilisation des pesticides pendant les saisons chaudes. Les précipitations atmosphériques peuvent à leur tour transporter des pesticides vers les plans d'eau. En plus, le débit d'eau élimine progressivement les produits agrochimiques du sol vers divers environnements aquatiques, où ils peuvent affecter les organismes aquatiques (Jürgens *et al.*, 2016). Les processus chimiques et les micro-organismes transforment les pesticides en produits qui peuvent être transportés vers les eaux de surface (Iwafune, 2018). Les pesticides dissous sont largement présents dans les plans d'eau.

La contamination du sol se produit principalement lorsque les pesticides sont appliqués directement sur le sol pour protéger les cultures. Lorsqu'ils sont appliqués sur les cultures, les pesticides peuvent être transportés vers le bas avec le flux d'eau et s'adsorber et se décomposer lors de leur passage dans le sol. La vitesse de passage à travers le sol est déterminée par les propriétés du pesticide et les conditions environnementales (Katagi, 2015). Le degré de lessivage des pesticides dans les eaux souterraines peut être considérablement (Huang *et al.*, 2019). Les sols, à leur tour, peuvent être une source secondaire de polluants en raison des échanges air-sol (Pokhrel *et al.*, 2018). Étant donné que les pesticides diffèrent considérablement dans leurs propriétés physico-chimiques. Les processus de leur dégradation ou l'accumulation dans l'environnement sera également différent.

Dans les milieux naturels, certaines bactéries, champignons et microalgues sont capables de

dégrader complètement les pesticides, sans provoquer des effets secondaires. Cependant certains pesticides sont fortement adsorbés sur la matière organique du sol et ne sont pas soumis à la dégradation microbienne, mais ils sont dégradés par la lumière dans les systèmes aquatiques (Willkommen *et al.*, 2019).

3.3. Transfert et bioaccumulation des pesticides

Les effets des pesticides sont associés à leur capacité à participer aux processus biologiques. Les résidus des effets de ces produits sont transférés séquentiellement du sol aux humains où ils peuvent être transformés et accumulés. Les pesticides sont soit éliminés du corps humain sans lui causer des dommages ou ils s'accumulent, produisant des effets cliniques à long terme. Ces effets dépendent du type de pesticides et de ses interactions avec le corps au niveau moléculaire et celui de l'organisme. L'absorption et la translocation des composés toxiques du sol aux organismes vivants sont déterminées par les propriétés physico-chimiques des pesticides (Pullagurala *et al.*, 2018) telles que la mobilité des pesticides dans le sol, la solubilité et les facteurs abiotiques. Il est nécessaire de prendre en compte la solubilité des pesticides, car ce paramètre est d'une grande importance pour le transfert des polluants. La présence de matière organique dissoute et particulaire et la lipophilie des composés peuvent aussi altérer significativement la biodisponibilité et la toxicité de ces produits. Par conséquent, des prédicteurs largement connus de la fraction biodisponible utilisent les valeurs de $\log K_{OC}$, $\log K_{OW}$, $\log K_{OA}$ pour décrire le comportement des pesticides. Les pesticides avec un $\log K_{OW}$ inférieur à 3 ont une faible lipophilie, et leur biodisponibilité est faiblement influencée par l'impact des particules (Knauer *et al.*, 2017). Les pesticides avec une liposolubilité intermédiaire (valeurs du $\log K_{OW}$ allant de 3 à 5) et un coefficient de partage octanol-air élevé (valeurs du $\log K_{OA}$ allant de 7 à 11) sont susceptibles d'avoir des paramètres optimaux pour la bioaccumulation dans les chaînes alimentaires marines et terrestres (Balmer *et al.*, 2019).

Au fur et à mesure que les pesticides remontent la chaîne alimentaire, une bioamplification se produit. Des concentrations insignifiantes de pesticides entrent dans la chaîne alimentaire à un niveau trophique bas, mais elles augmentent cumulativement à des niveaux trophiques plus élevés (Lushchak *et al.*, 2018). Un scénario réaliste des effets néfastes des polluants sur les organismes devrait être fondé sur des données précises sur leur biodisponibilité, leur toxicocinétique, absorption, distribution, métabolisme et excrétion par l'organisme. La bioaccumulation par l'organisme est le résultat de l'accumulation de pesticides que l'organisme a reçu de différentes sources et qui se sont accumulés dans différents organes.

Les pesticides sont généralement distribués dans l'organisme en se liant aux protéines et aux lipides dans les différents organes (Clark, 2018). La force de liaison est déterminée par la lipophilie des molécules. Ainsi, les données sur la solubilité dans l'eau des produits toxiques fournissent une idée pour estimer leur bioaccumulation, biodégradation, hydrolyse et adsorption (Winkler, 2005). La lipophilie des pesticides augmente à la fois leur efficacité dans la lutte antiparasitaire et leur bioaccumulation ultérieure (Ali *et al.*, 2016). L'hydrophobie et la structure chimique du produit de départ jouent un rôle important (Iwafune, 2018). Le transfert des pesticides affecte tous les systèmes du corps humain, entraînant souvent une bioaccumulation de composés toxiques dans différents organes (Fig. 14). Les pesticides peuvent être éliminés de l'organisme par plusieurs voies, notamment urinaire, biliaire et respiratoire. Les pesticides sont rapidement métabolisés après avoir pénétré dans l'organisme et sont principalement excrétés dans l'urine sous forme de métabolites polaires. Cela permet au corps de se débarrasser des composés dangereux, mais dans certains cas, la biotransformation aboutit à des produits qui peuvent être bioaccumulables (Balmer *et al.*, 2019). Les substances chimiques sont efficacement éliminées par l'organisme par les glandes sécrétoires. Les résidus des pesticides organochlorés étaient plus souvent détectés dans les échantillons de sueur que dans le sérum sanguin (Genuis *et al.*, 2016). Cependant, la cause la

plus préoccupante est que les pesticides peuvent être transférés dans le lait maternel, puis dans le bébé (Fig. 14).

La biodisponibilité des pesticides et, par conséquent, le risque, peuvent être augmentés par l'administration d'antibiotiques. L'interaction entre les antibiotiques et les pesticides est médiée par la communauté microbienne intestinale : le microbiote intestinal altéré par les antibiotiques affecte l'absorption intestinale des toxines, diminuant l'expression des gènes des enzymes métaboliques (Zhan *et al.*, 2018). D'autres facteurs tels que les maladies du tractus gastro-intestinal, les comportements alimentaires et les habitudes malsaines altèrent également le microbiote, le rendant plus sensible aux effets des pesticides. Par exemple, l'effet des organophosphorés sur le microbiome intestinal a entraîné des dommages neurotoxiques (Roman *et al.*, 2019). Les effets conjoints de plusieurs pesticides peuvent altérer la toxicocinétique de chaque produit, modifiant ainsi la toxicité prévue (Hernandez *et al.*, 2013). De plus, la présence d'un pesticide peut affecter le taux d'absorption et le métabolisme d'un autre pesticide (Cedergreen, 2014).

3.4. Effets des pesticides sur la santé publique

Les pesticides peuvent affecter l'homme à la fois directement et indirectement, par diverses voies (Fig. 15). La nourriture, cependant, est la principale source de substances toxiques. Les légumes et les fruits cultivés sur des sols agricoles contaminés accumulent des pesticides dans leurs parties comestibles et non comestibles à des concentrations suffisamment élevées pour provoquer des problèmes chez les animaux et les humains (Mostafalou et Abdollahi, 2013). Les pesticides pénètrent dans le corps humain par la peau, la bouche, les yeux et le système respiratoire (Kim *et al.*, 2017). Les maladies associées aux pesticides comprennent les maux de tête, les maladies d'estomac, les vomissements, les éruptions cutanées, les troubles respiratoires, l'irritation des yeux, les éternuements, les convulsions et le coma (Raschke *et al.*, 1997).

L'exposition directe aux pesticides peut même entraîner la mort (Dasgupta *et al.*, 2005 ; Page *et*

al., 2017). L'exposition orale aux pesticides est le facteur clé déterminant leur toxicité (Chedik *et al.*, 2017). La consommation fréquente d'aliments à base de cultures agricoles cultivées sur des sols contaminés avec des pesticides entraîne des maladies et des troubles de courte durée (aigüe) et de longue durée (chroniques) (Chiu *et al.*, 2015 ; Macharia, 2015). L'empoisonnement au pesticide est maintenant devenu un événement rare, mais les effets subcliniques à long terme restent un problème. La toxicité chronique causée par une exposition de longue durée à de faibles doses de pesticides peut devenir évidente beaucoup plus tard (Capoferri *et al.*, 2018). Les maladies chroniques comprennent le cancer, l'asthme, la dermatite, les troubles endocriniens, les dysfonctionnements de la reproduction, l'immunotoxicité, les troubles neurocomportementaux et les anomalies congénitales (Kim *et al.*, 2017). Les troubles chroniques peuvent résulter d'une perturbation de l'homéostasie cellulaire causée par l'action primaire des pesticides (troubles des enzymes, des canaux ioniques et des récepteurs ; modifications morphologiques des mitochondries) (Chen *et al.*, 2017) et de dommages à l'ADN (Alleva *et al.*, 2018). Par exemple, la relation entre les pesticides et la cancérogenèse est largement discutée dans la littérature scientifique. Une association positive entre le risque de développer des tumeurs et l'exposition aux pesticides a été trouvée pour le glyphosate (Thongprakaisang *et al.*, 2013) et plusieurs autres pesticides (Schinasi *et al.*, 2014 ; Sabarwal *et al.*, 2018).

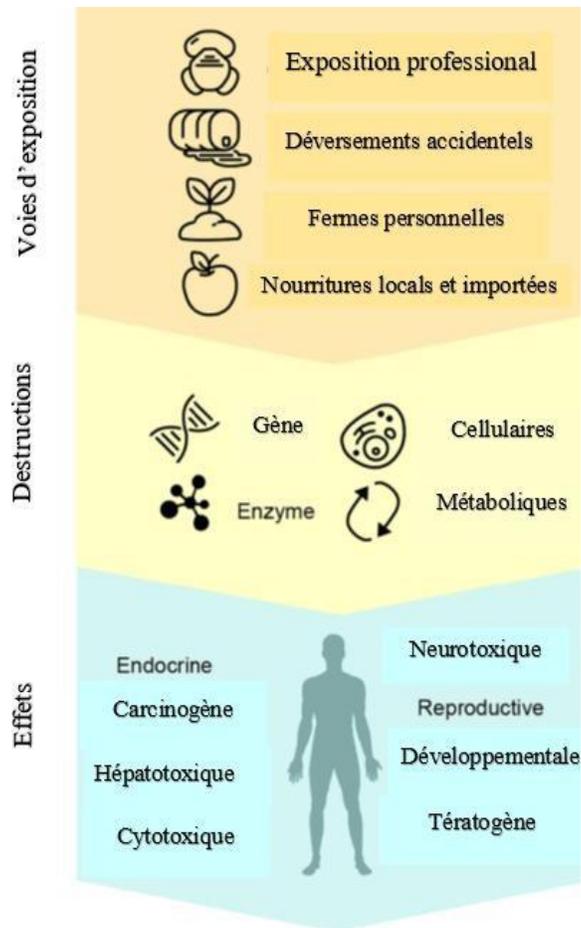


Figure 15 : Voies d'exposition aux pesticides et effets potentiels sur l'homme (Kalyabina *et al.*, 2021).

Les concentrations environnementales de néonicotinoïdes et de pyréthroïdes pourraient contribuer aux changements génétiques et moléculaires et potentiellement induire des processus cancérogènes (Caron-Beaudoin *et al.*, 2018 ; Navarrete-Meneses *et al.*, 2019). Cependant, pour certains pesticides précédemment considérés comme cancérogènes, une relation avec le risque de développer un cancer dans des études plus récentes est rarement établie (Hooker *et al.*, 2014) ou marquée comme contradictoire (Boffetta *et al.*, 2018). Parfois, en cas d'exposition prolongée aux pesticides, les effets aigus d'une exposition toxique peuvent coïncider avec des symptômes

subcliniques. Des effets aigus et chroniques ont été identifiés chez les personnes recevant des pesticides, comme les ouvriers agricoles (Gangemi *et al.*, 2016). Les effets à long terme sur la santé de l'exposition professionnelle comprennent des troubles de la reproduction et des anomalies congénitales, qui peuvent être médiés par des dommages à l'ADN. Ces données sont supportées par des études épidémiologiques récentes impliquant des agriculteurs et des travailleurs ruraux (Dhananjayan *et al.*, 2018). Dans la figure 15, nous avons résumé les principaux groupes d'effets liés aux pesticides sur l'homme. Les données de la littérature suggèrent que les effets chroniques incluent les effets hépatotoxiques, cancérigènes, cytotoxiques, tératogènes, neurotoxiques, et endocriniens. Ces effets, cependant, sont étayés par de nombreux désordres dans les réactions biochimiques du corps.

3.5. Les pesticides dans l'environnement aquatique

Parmi toutes les substances toxiques qui s'écoulent dans l'écosystème aquatique, les pesticides sont une préoccupation majeure car ils sont connus pour causer de graves menaces aux organismes biologiques. Par plusieurs voies différentes telles que le déversement, les effluents industriels, le ruissellement de surface ou à travers les sols traités aux pesticides, ces substances toxiques pénètrent dans les sources d'eau (Ansara-Ross *et al.*, 2012 ; Picó *et al.*, 2020). Les effets toxiques causés par l'exposition à ces substances toxiques peuvent être classés selon la période d'exposition, qui peut être de courte ou de longue durée, et le type d'exposition, qui peut être létale ou sublétale. La période d'exposition à court terme ne dépasse pas 96 heures, tandis que l'exposition à long terme est considérée comme supérieure à 96 heures.

Depuis les champs agricoles, les pesticides s'écoulent généralement vers les réservoirs ou les systèmes de drainage par la pluie ou par un processus d'irrigation (Best et Ruthven, 1995). Les organismes aquatiques sont exposés aux pesticides principalement par trois voies : (i) cutanée : comme les organismes aquatiques sont en contact avec l'eau donc, par les pores de la peau, les pesticides provoquent des effets nocifs, (ii) respiratoire : comme ils respirent par les branchies donc les organismes aquatiques absorbent directement les pesticides par la respiration et (iii) par voie orale : les organismes aquatiques sont généralement exposés aux pesticides en se nourrissant de proies contaminées par les pesticides ou en filtrant de l'eau contaminée.

L'écosystème aquatique se compose de divers groupes d'organismes tels que les invertébrés, les plantes, les micro-organismes, les poissons ou les amphibiens. Les pesticides peuvent affecter ces organismes directement ou indirectement; l'effet direct comprend les changements physiologiques au sein d'un organisme (Singh et Mandal, 2013 ; Acosta-Sánchez *et al.*, 2020). Par exemple, l'exposition des pesticides aux puces d'eau entraîne leur mortalité, qui peut être considérée comme l'effet direct des pesticides, et elle peut conduire à l'augmentation drastique de la biomasse des algues en raison du relâchement de la pression de pâturage considérée comme un effet indirect. À l'échelle mondiale, le glyphosate, est utilisé pour lutter contre les mauvaises herbes terrestres et aquatiques, et ces dernières années, son utilisation a considérablement augmenté et, par conséquent, il a affecté négativement les organismes non ciblés dans l'environnement aquatique (Mensah *et al.*, 2014). À l'origine, son mode si une action était conçue pour affecter les plantes (Larson, 2019) uniquement, mais ces dernières années, plusieurs rapports ont été signalés représentant l'impact négatif sur des organismes non ciblés (Preston, 2002 ; Khalid *et al.*, 2020), qui peuvent être mortels ou sublétales. Les indicateurs pour les organismes exposés au niveau physique comprennent une mesure de la survie, de la croissance, des changements morphologiques/comportementaux. La performance de reproduction peut souvent être utilisée pour l'évaluation de la réponse sublétales,

qui comprend également la maturité sexuelle, le temps nécessaire pour libérer la première couvée, le temps nécessaire pour la croissance des œufs, la fertilité et les modifications des caractéristiques de la reproduction. En plus de cela, plusieurs paramètres biochimiques peuvent également être utilisés pour déterminer la toxicité chez les animaux exposés, ce qui peut inclure une perturbation des voies métaboliques, le métabolisme des stéroïdes, la peroxydation lipidique, l'activité AChE et l'activité des enzymes du cytochrome P450 et les niveaux de glucose sanguin.

Dans le milieu aquatique, les résidus de pesticides s'accumulent et affectent les espèces aquatiques de diverses façons. Plus précisément, il a été constaté que les pesticides peuvent causer le déclin des espèces dans le milieu aquatique (Schäfer *et al.*, 2012). L'utilisation des pesticides devrait augmenter en raison du changement climatique dans l'avenir et il est considéré comme une cause importante de la perte de biodiversité dans le monde (Beketov *et al.*, 2013). L'augmentation de la température et la modification des régimes de précipitations causée par le changement climatique peut augmenter la densité de l'espèce ravageuse dans les cultures. Par conséquent, une utilisation accrue des pesticides est prévue dans la forme de quantités, concentrations, fréquences plus élevées et diverses variétés ou formes de produits seront utilisés (Delcour *et al.*, 2015). Le ruissellement, le lessivage, l'écoulement préférentiel à travers les macropores du sol, ou une combinaison de ces processus issus des zones agricoles sont considérés comme une source diffuse de contamination aquatiques par les pesticides (Loewy *et al.*, 2011).

La principale voie par laquelle les pesticides sont transportés vers le milieu aquatique est le ruissellement, mais le taux dépend des types de sols, des propriétés physico-chimiques des pesticides, le moment et le taux d'application, et la précipitation après application du pesticide (Phillips et Bodé, 2004). Les facteurs abiotiques (photodécomposition par la lumière du soleil ou hydrolyse par l'eau) peuvent conduire à la dégradation de pesticides ou adsorber sur les sédiments ou la matière organique considérant que les facteurs biotiques d'absorption, de métabolisation et

l'accumulation dans les organismes détermine le devenir des pesticides dans le milieu aquatique (Schäfer *et al.*, 2011). De plus, l'exposition par des sources alimentaires contaminées et l'absorption de l'eau à travers les parois du corps ou les surfaces respiratoires est les principales voies d'entrée des pesticides dans les organismes aquatiques.

3.6. Pesticides du choix : le diuron et le triclosan

3.6.1. Le diuron

Le diuron [3-(3,4-dichlorophényl) -1,1-diméthylurée] (Fig. 16) est un herbicide, efficace dans le contrôle d'un large éventail de mauvaises herbes et graminées dans la culture du coton, du café, de la canne à sucre et des agrumes (Giacomazzi et Cochet, 2004).

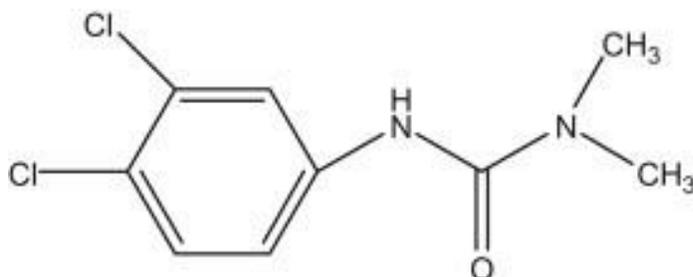


Figure 16 : structure chimique de diuron (Giacomazzi et Cochet, 2004)

Les noms commerciaux et les formulations disponibles de diuron sont : Karmex, Karmex DL, Diuron 80WP, Diuron 4L, Direx 4L, Di-on, Diurex, Duirol, Dailon, Rout, Diater, Unidron, Crisuron et Cekiuron.

Le diuron est un solide cristallin blanc, inodore, avec un point de fusion de 158-159°C et un point d'ébullition de 180-190°C. Le diuron a une solubilité dans l'eau d'environ 42 ppm (mg/L) à 25°C. A température ambiante et à pH neutre, l'hydrolyse du diuron est négligeable. Le diuron est stable à l'oxygène et à l'humidité. Le diuron a été introduit en 1954 sous la marque « Karmex » et

est principalement utilisé comme herbicide pour le désherbage général sur les terres non cultivées. Il est également utilisé comme stérilisant du sol dans les zones non agricoles (par exemple, le long des emprises ferroviaires). En 2001, l'utilisation estimée du diuron aux États-Unis était d'environ 2 à 4 millions de livres d'ingrédients actifs. Le diuron est également utilisé de manière sélective avant la levée sur les sites de cultures vivrières, notamment les arbres fruitiers, les baies, les asperges, la canne à sucre et le coton. Au Canada, la tolérance aux résidus de diuron a été établie à 1 ppm sur les fruits et légumes. La limite d'exposition professionnelle (c'est-à-dire une moyenne pondérée dans le temps sur 8 heures) pour le diuron dans l'air des lieux de travail a été établie à 10 mg/m³ par la Conférence américaine des hygiénistes industriels gouvernementaux aux États-Unis, ce qui indique qu'une ingestion professionnelle à un taux d'environ 1,4 mg/kg/jour est considérée comme sûre.

La dispersion de diuron en agriculture conduit à la pollution du milieu aquatique par le lessivage du sol (Thurman *et al.*, 2000). Le diuron est considéré par la Commission européenne comme une substance dangereuse (Malato *et al.*, 2002). Selon l'institut français de l'environnement (IFEN, 1998), le diuron est détecté dans 28 % des échantillons de rivières.

Le diuron est un inhibiteur efficace de la photosynthèse. Il bloque le site de liaison de la plastoquinone au photosystème II, empêchant ainsi le transfert d'électrons vers cet intermédiaire (Metz *et al.*, 1986). Cet herbicide a des effets toxiques sur l'homme et les écosystèmes en raison de sa résistance à la dégradation biologique et chimique (Tixier *et al.*, 2001). Il est classé comme composé cancérigène et génotoxique (Saxena *et al.*, 2004 ; Ferruccio *et al.*, 2010). La dissipation du diuron dans l'environnement est donc principalement due à des processus biotiques, le processus microbien aérobie et le métabolisme étant la principale forme de transformation du diuron. Les principales réactions impliquées sont la N-déméthylation et l'hydrolyse de la liaison amide. Dans la plupart des cas, mono- et didéméthylés (DCPMU et DCPU) et la 3,4-dichloroaniline (DCA)

apparaissent comme les principaux produits du métabolisme microbien. Ces métabolites s'accumulent dans l'environnement et certains d'entre eux sont plus toxiques que diuron (Tixier *et al.*, 2001 ; Giacomazzi et Cochet, 2004).

Le diuron est absorbé par voie gastro-intestinale et systèmes respiratoires. Chez l'homme, il est métabolisé par hydroxylation et N-désalkylation, puis excrété via l'urine (Hayes, 1982).

Le diuron semble être légèrement toxique pour les mammifères. Les juvéniles et les animaux soumis à un régime pauvre en protéines sont plus sensibles que les adultes aux effets toxiques du diuron sur la base de la DL50 (Hayes, 1982). La DL50 orale chez le rat est de 3,4 g/kg. La DL 50 cutanée est supérieure à 2 g/kg. Quelques signes de dépression du système ont été observés à niveaux d'exposition au diuron mais les principaux effets toxiques de l'ingestion chronique de diuron étaient la perte de poids et anomalies dans le sang, le foie et la rate.

Chez les organismes aquatiques, les valeurs de CL50 (48 h) pour le diuron vont de 4,3 à 42 mg/L chez les poissons et varient de 1 à 2,5 mg/L chez les invertébrés aquatiques. La CL50 (96 h) est de 3,5 mg/L pour la truite. Ainsi, le diuron est modérément toxique pour les poissons et légèrement toxique pour les invertébrés aquatiques. La toxicité de diuron a été étudiée dans de nombreux organismes tels que les vers et les escargots, les grenouilles et les poissons rouges. Pour les vers (*Lumbriculus variegatus*) et les escargots (*Physa gyrina*), la CL50 a pu être déterminée mais des effets sur le poids et la croissance ont été observés, respectivement, à 29,1 et 15,3 mg/L pour les vers et les escargots (Nebeker et Schuytema, 1998). Une étude précédente a montré une CL 50 (96 h) pour *Lymnea* spp. (Escargots) à la même concentration de diuron (15,3 mg/L) (Christian et Tate, 1983). Sur les grenouilles, le diuron a montré des effets sur la survie, la croissance et des malformations au laboratoire où les concentrations utilisées étaient plus élevées que dans des conditions *in situ* (Schuytema et Nebeker, 1998). Sur les poissons rouges, l'exposition à de très faibles concentrations (5 µg/L) telle que détectées dans l'environnement

(Okamura *et al.*, 2003), pendant 24 h, induisent une variété de altérations comportementales importantes, notamment une altération de la perception chimique (Saglio et Trijasse, 1998).

Halophila ovalis est l'une des herbes marines les plus sensibles à l'exposition au diuron. Cette herbe marine subit une photosynthèse réduite à des concentrations d'exposition neuf fois inférieures à la valeur de déclenchement actuelle de 0,9 g/L (Haynes *et al.*, 2000). Cette herbe marine est la nourriture préférée de la tortue verte et le dugong (Aragones *et al.*, 2006). Le diuron donc constitue une menace directe pour l'une des principales sources de nourriture du dugong. Les herbes de mer et les populations de dugong sont déjà en déclin en raison de la dégradation chronique de la qualité de l'eau combinée aux effets aigus des inondations massives de 2010/11 et du cyclone Yasi (Bell et Ariel, 2011 ; Brodie et Waterhouse, 2012). Le stress chronique continu pour les herbiers marins posé par l'utilisation continue de diuron (et d'autres facteurs de stress) limitera probablement le rétablissement des herbiers marins et, par conséquent empiètera davantage sur les populations de dugongs.

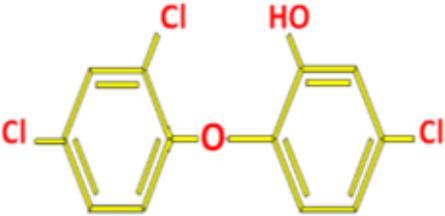
3.6.2. Le triclosan

Le triclosan (TCS) est enregistré comme l'un des pesticides les plus importants en raison de sa toxicité (EPA, 2008). La formule chimique du triclosan est respectivement $C_{12}H_7Cl_3O_2$ et le 5-chloro-2-(2,4-dichlorophénoxy) phénol.

Le triclosan est un produit synthétique à large spectre antibactérien. Il possède des propriétés antibiotiques et antimycosiques (CSC, 2001). Le triclosan bloque également la synthèse des acides gras en inhibant l'enzyme énoyl réductase. Le TCS est classé aussi comme un hydrocarbure aromatique halogéné ayant des sous-structures phénoliques, éther diphenylique et biphenyle polychloré (PCB) (Ahn *et al.*, 2008). Sa structure chimique est un éther biphenylique halogéné qui lui confère des propriétés chimiques liées à de nombreux composés toxiques tels que les PCB, les polybromodiphényléthers, le bisphenol A et les dioxines (Allmyr *et al.*, 2008).

La production annuelle mondiale de TCS en 1998 était d'environ 1 500 tonnes, dont environ 350 tonnes et plus de 450 tonnes ont été utilisées en Europe et aux États-Unis, respectivement (Bester, 2005 ; Halden et Paul, 2005). Le principal rejet de TCS dans l'environnement est dû aux produits de soins personnels contenant environ 0,1 % à 0,3 % (p/p) TCS (Singer *et al.*, 2002 ; McBain *et al.*, 2002). De tels produits sont appliqués à l'extérieur sur le corps humain, donc le TCS n'est généralement pas soumis à une altération métabolique. De plus, il est généralement rejeté dans les eaux usées domestiques, aboutissant dans les stations d'épuration locales (STEP). La faible solubilité et la forte adsorption du TCS sur les supports solides entraîne son élimination des effluents de la station d'épuration jusqu'à 99 %. (Sabaliunas *et al.*, 2003 ; Bock *et al.*, 2010). La valeur élevée du log K_{oc} de 4,76 suggère un potentiel de sorption élevé et il s'adsorbe sur les boues d'épuration décantées (Bester, 2003 ; ICON, 2001) qui peuvent être amendées aux sols agricoles (McAvoy *et al.*, 2002 ; Fuchsman *et al.*, 2010). Ainsi, les sources les plus importantes de TCS dans l'environnement sont l'utilisation de biosolides comme agro-fertilisants (Chalew et Halden, 2009). Les propriétés chimiques du TCS suggèrent son possible bioaccumulation et persistance dans l'environnement (Tab. 3)

Tableau 3 : Propriétés générales du triclosan (Dhillon *et al.*, 2015)

CAS No.	3380-34-5
Structure	
Formule moléculaire	C ₁₂ H ₇ Cl ₃ O ₂
Noms commerciaux	Irgasan DP 300, FAT 80'023, CH 3565, GP41-353, Irgacare MP (grade pharmaceutique TCS, >99% pure) et Ster-Zac
Nature	Hydrophobe
Masse moléculaire	286,54
Constante de dissociation (pKa) (20°C)	8,14
Constante de Henry (atm/mol/m ³)	1,5 x 10 ⁻⁷ (25°C)
Coefficient de partage Octanol-eau (log Kow)	4,76
Solubilité	12 mg·L ⁻¹ (25 °C)
Facteur de bioconcentration (BCF)	2,7–90 (organismes aquatiques)
Photodégradation (demi vie dans une solution aqueuse)	41 min
Biodégradation (demi vie dans un sol aérobie)	18 jours
Biodegradation (condition anaérobie)	Pas de dégradation avant 70 jours

Le triclosan est utilisé dans une large gamme de produits ménagers, y compris le savon, le déodorant, le dentifrice, le bain de bouche, ainsi que divers produits en plastique tels que les jouets pour enfants et les ustensiles de cuisine (Fig. 17).

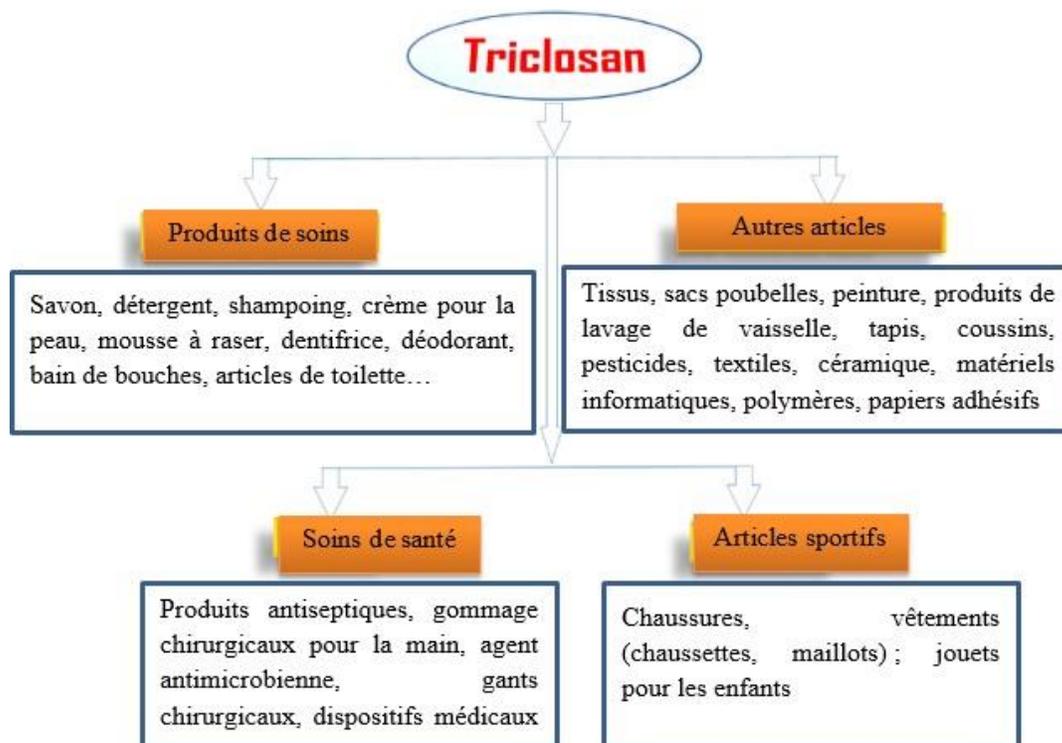


Figure 17 : Applications du triclosan (Dhillon *et al.*, 2015)

La large utilisation du TCS dans divers produits, provoquant ainsi une augmentation de la concentration TCS dans l'environnement. Actuellement, le TCS se retrouve dans tous les compartiments de l'environnement, y compris le sol, l'eau de surface et le lait maternel (Chalew et Halden, 2009 ; Buth *et al.*, 2010). La détection continue du TCS a conduit à un débat sur la sécurité, l'efficacité et la réglementation de son utilisation. Diverses études mettent l'accent sur les problèmes de santé émergents liés à l'utilisation du TCS, tels que la résistance microbienne, les irritations cutanées, la perturbation endocrinienne, l'incidence plus élevée d'allergies, l'altération du métabolisme des hormones thyroïdiennes et le développement des tumeurs dû au TCS (Schweizer, 2009 ; Latch *et al.*, 2003). Contrairement à d'autres contaminants émergents (CE), comme les composés organochlorés, le TCS n'est pas considéré comme un polluant chimique à haute priorité. Malgré la toxicité aiguë et l'hypothèse de ne pas montrer d'effets secondaires

chroniques, l'utilisation du TCS n'est pas bien réglementée (Jones *et al.*, 2000 ; Rodricks *et al.*, 2010).

Compte tenu de l'utilisation intensive et de la nature omniprésente du triclosan, des inquiétudes ont augmenté quant à son comportement dans l'environnement et sa toxicité pour les organismes aquatiques. Le triclosan est un composé ionique et lipophile avec une constante de dissociation acide ou une valeur pKa de 8,14 (Fig. 18) et une valeur de log K_{OW} de 4,8 (Reiss *et al.*, 2002). Il s'est avéré toxique de manière aiguë et chronique pour les organismes aquatiques dans de nombreuses études sur les algues, les invertébrés et les poissons (Dann et Hontela, 2011). Bien qu'il existe une grande quantité de données pour les organismes d'eau douce, seules quelques études ont rapporté des données de toxicité aiguë du triclosan pour les organismes estuariens ou marins (DeLorenzo *et al.*, 2008 ; Farre *et al.*, 2008).

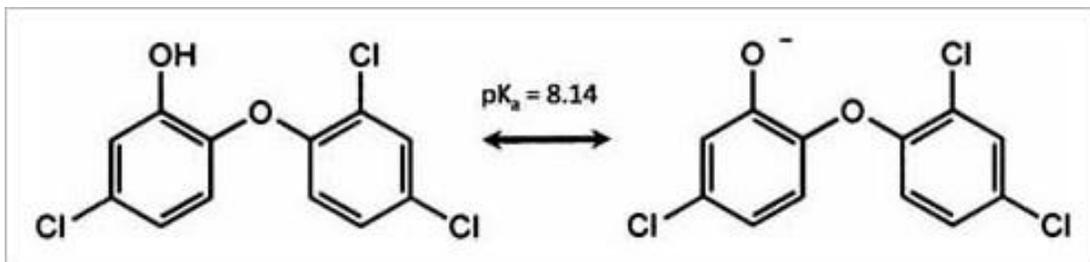


Figure 18: Structures chimiques protonées et non protonées du triclosan, qui a une constante de dissociation acide (pKa) de 8,14 (Perron *et al.*, 2012)

Un certain nombre des études ont rapporté une accumulation de TCS dans les algues, les vers, les plantes et les poissons (Adolfsson-Erici *et al.*, 2002 ; Boehmer *et al.*, 2004 ; Coogan *et al.*, 2007 ; Kinney *et al.*, 2008). De plus le seuil de toxicité de TCS varie en fonction de la durée d'exposition et l'espèce (Tab. 4). Sa structure proche avec certains œstrogènes a déclenché

l'apparition des caractères masculines chez les poissons (Foran *et al.*, 2000). Pour les organismes aquatiques, les mécanismes d'absorption potentiels des contaminants lipophiles sont l'absorption directe de l'eau à travers les surfaces exposées, principalement les branchies (bioconcentration), mais aussi par la consommation d'aliments (bioamplification) (Latch *et al.*, 2003).

Tableau 4: Valeurs de la concentration médiane avec effets (CE50) et de la concentration létale médiane (CL50) du triclosan tirées de la littérature pour certains organismes estuariens/marins

(Perron *et al.*, 2012)

Organismes	Durée d'exposition	Point final	CL50	Références
Bactéries <i>Vibrio fischeri</i>	15–30 min 15 min	inhibition du luminescence	280 mg/L (EC50)	Farre <i>et al.</i> , 2008
Phytoplancton <i>Dunaliella tertiolecta</i>	96 h	Densité des cellules	3,55 mg/L (EC50)	De Lorenzo <i>et al.</i> , 2008
Invertébrés <i>Palaemonetes pugio</i>	96 h	Mortalité	305 mg/L	DeLorenzo <i>et al.</i> , 2008
<i>Americamysis bahia</i>	96 h	Mortalité	74,3 mg/L	Perron <i>et al.</i> , 2012
<i>Ampelisca abdita</i>	96 h	Mortalité	73,4 mg/L	Perron <i>et al.</i> , 2012

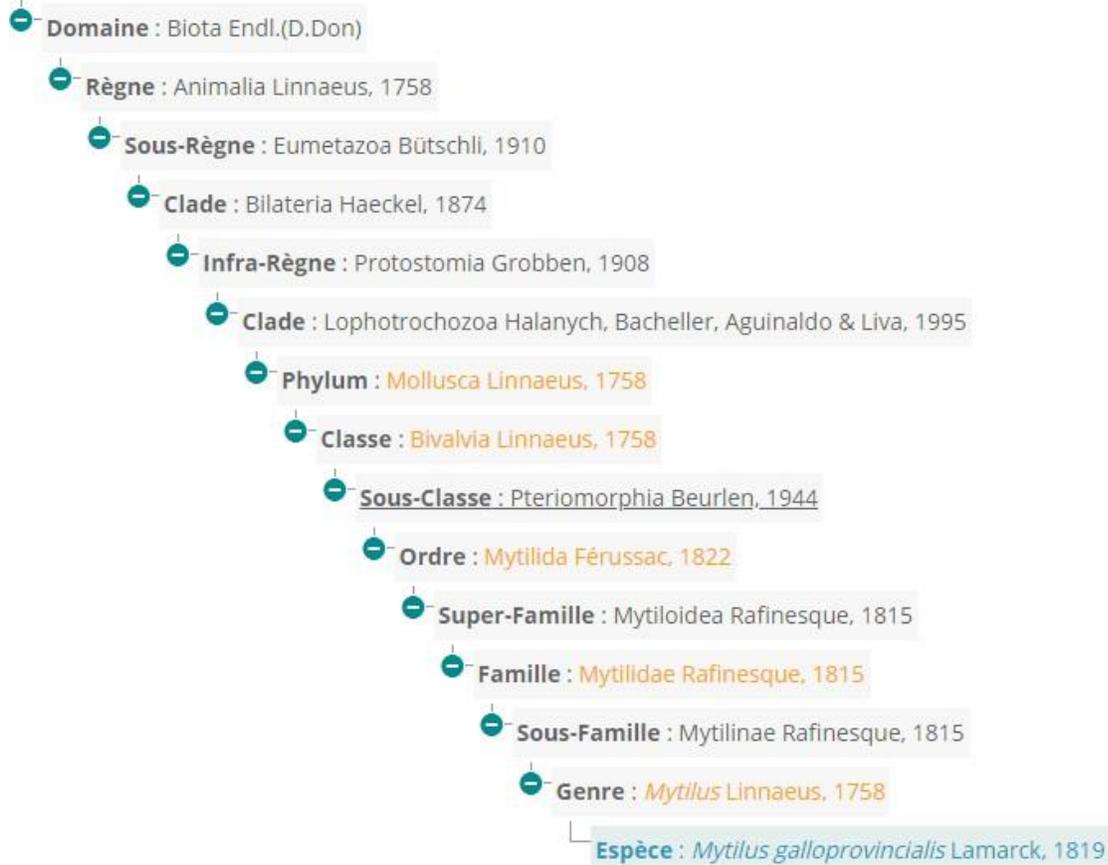
Diverses études ont examiné la toxicité du TCS sur les organismes aquatiques supérieurs (Franz *et al.*, 2008 ; Tatarazako *et al.*, 2004). Les valeurs de toxicité aiguë variaient de 1,4 à 3000 $\mu\text{g L}^{-1}$ avec des valeurs CE50 pour les crustacés (mortalité chez *Daphnia magna* à 390 $\mu\text{g L}^{-1}$), les insectes (survie de *Chironomus tentans* à 3000 g L^{-1}), poissons (mortalité de *Pimephales promelas* à 260 g L^{-1}), plantes supérieures (inhibition de la croissance de *Lemna gibba* à 62,5 $\mu\text{g L}^{-1}$) et des espèces de microalgues (inhibition de croissance de *Scenedesmus subspicatus* à 1,4 $\mu\text{g L}^{-1}$ et *Skeletonema* sp à 66 $\mu\text{g L}^{-1}$). Les microalgues sont les plus sensibles au TCS [Franz *et al.*, 2008 ; Orvos *et al.*, 2004 ; Ricart *et al.*, 2010).

Toutes les études de toxicité de TCS mettent en évidence les risques et suggèrent l'interdiction de l'utilisation du TCS. En conséquence, La FDA a proposé, pour une évaluation complète de la toxicité du TCS sur la santé humaine et animale, de réglementer son utilisation ultérieure dans les produits de consommation. Même si cela la proposition n'inclut pas le devenir environnemental du TCS, ce facteur devrait être inclus tout produit chimique introduit dans les produits de consommation. En ce sens, en 2010, plus de 80 des organisations ont demandé à l'EPA d'interdire l'utilisation du TCS au-delà des pesticides. Le Minnesota a interdit la vente de tout produit d'entretien (savons) contenant du triclosan le 16 mai 2014. Cette interdiction fait que les fabricants éliminent progressivement le triclosan jusqu'au début de 2017 (Dhillon *et al.*, 2015). Pour compléter le scénario nord-américain, au Canada, environ 1730 produits dont des produits de soins personnels, des cosmétiques et des produits de santé contenant du triclosan, ont été signalés en 2011. Certains rapports provenant du Canada indiquent que le triclosan serait un véritable contaminant. Par conséquent, à partir de 2015, la santé au Canada a interdit l'utilisation de TCS (Dhillon *et al.*, 2015).

4. Modèle biologique de choix : la moule *Mytilus galloprovincialis*

4.1. Généralités

La moule méditerranéenne est une espèce appartenant au :



Toutes les espèces de *Mytilus* ont des coquilles distinctives dont la coloration va du noir avec des teintes bleues ou violacées au brun foncé et parfois au brun clair. Bien que *Mytilus galloprovincialis* diffère par sa forme des autres espèces de *Mytilus*, dans la pratique, les analyses de plusieurs caractères morphologiques sont le plus souvent utilisées pour le distinguer de manière fiable des autres espèces de *Mytilus* (McDonald *et al.*, 1991; Beaumont, 2008; Gardner et Thompson, 2009). Elliot *et al.* (2008) signalent que les rapports hauteur/longueur de la coquille peuvent être utilisés pour identifier *M. galloprovincialis*. Dans la mer du Japon, Semenikhina *et al.* (2008) décrivent des différences morphologiques entre les larves de *M. galloprovincialis* et de

M. trossulus. Selon l'ISSG (2019), *M. galloprovincialis* a tendance à devenir plus gros que les autres espèces, jusqu'à 15 cm, bien qu'il n'atteigne généralement que 5 à 8 cm.

Mytilus galloprovincialis, a été introduite dans diverses régions du monde en dehors de son aire de répartition méditerranéenne d'origine, à la fois involontairement par le transport maritime et par la culture. Elle est considérée comme hautement envahissante, du moins dans certaines parties du monde, en raison de sa vitesse de propagation rapide et de sa capacité à déplacer et à supplanter les moules indigènes.

La moule *Mytilus galloprovincialis* (Fig. 19) vit sur des substrats durs de la zone intertidale à des profondeurs de 40 m.



Figure 19 : Photo de la moule méditerranéenne *Mytilus galloprovincialis*

On la trouve le long des côtes et des rivages rocheux, ainsi que dans les ports et estuaires abrités. L'aire de répartition naturelle se situe en Méditerranée (Barsotti et Meluzzi, 1968) et dans la partie Atlantique orientale, de l'Irlande et du Royaume-Uni à l'Afrique du Nord (Comesana *et al.*, 1998); on peut supposer que l'expansion de l'aire de répartition en Atlantique a été naturelle. Cette espèce est également présente sur la côte Pacifique d'Amérique du Nord (McDonald et Koehn, 1988) et au Japon (Wilkins *et al.*, 1983), à Hong Kong (Lee et Morton, 1985), en Afrique du Sud (Grant et Cherry, 1985), au Chili (Hilbish *et al.*, 2000) et en Australie (Hilbish *et al.*, 2000). L'introduction dans ces régions est sans aucun doute due aux activités humaines, à moins que les

moules australiennes indigènes ne soient considérées comme faisant partie de la même espèce que *M. galloprovincialis* (Hilbish *et al.*, 2000). Les introductions historiques ont probablement été accidentelles, mais cette espèce est activement cultivée, donc l'aquaculture peut également être la source d'introductions secondaires ; elle a été introduite dans l'État de Washington par le biais d'écloseries en raison de sa plus grande résistance présumée à la néoplasie hémique disséminée que le *M. trossulus* indigène, et sa propagation ultérieure dans la région s'est probablement faite par le transport maritime et la navigation de plaisance (Wonham, 2004). Fly *et al.* (2015) fournissent un article sur la physiologie et la biogéographie des moules européennes en réponse au changement climatique.

La délimitation de l'aire de répartition exacte de *Mytilus galloprovincialis* est compliquée par le manque de différences morphologiques fiables entre les espèces de *Mytilus* et par l'hybridation. Par exemple, en France, en Grande-Bretagne et en Irlande, *M. galloprovincialis* est sympatrique avec *M. edulis* et les deux se croisent (Gosling, 1992). En dehors de son aire de répartition naturelle, *M. galloprovincialis* est connu pour s'hybrider avec *M. trossulus* dans le Pacifique (Rawson et Hilbish, 1995; Brannock *et al.*, 2009). Au Chili, en Australie et en Nouvelle-Zélande, il existe des preuves de deux types distincts de moules, dont l'un est *M. galloprovincialis* (Hilbish *et al.*, 2000), mais on ne sait pas si elles s'hybrident ou non.

Mytilus galloprovincialis est cultivé en Albanie, Bulgarie (où c'est l'une des espèces commerciales les plus importantes (Merdzhanova *et al.*, 2016), Chine, Croatie, Égypte, France, Grèce, Italie, Maroc, Portugal, Fédération de Russie, Espagne, Afrique du Sud, Turquie, Ukraine, ex-Yougoslavie (Hickman, 1992), Canada (J Shields, University of Queensland, Australie, communication personnelle, 2010) et Écosse (Royaume-Uni) (Beaumont, 2008). Les principaux pays producteurs de cette espèce sont illustrés dans la figure 20.



Figure 20 : Principaux pays producteurs de *Mytilus galloprovincialis* (FAO, 2006)

En raison des difficultés d'identification des espèces, il est probable que certaines fermes élèvent par inadvertance *M. galloprovincialis* en plus des espèces indigènes de *Mytilus*. Les installations aquacoles peuvent utiliser de nouvelles techniques pour produire des moules triploïdes et tétraploïdes, qui sont fonctionnellement stériles, éliminant ainsi le risque d'établissement de populations sauvages (McEnnulty *et al.*, 2001).

La recherche génomique de *M. galloprovincialis* a récemment été avancée par la dernière technologie de pyroséquençage de nouvelle génération (Craft *et al.*, 2010). Ce récent pyroséquençage a fourni de nombreuses informations génomiques pour *M. galloprovincialis* et identifié de nouvelles différences d'expression entre divers tissus, mitochondries et micro-

organismes associés (Craft *et al.*, 2010). Cela facilitera également la production indispensable d'un microréseau d'oligonucléotides pour *M. galloprovincialis*, faisant ainsi progresser la recherche génomique sur cet organisme.

4.2. La moule en écotoxicologie

Les moules sont largement utilisées à la fois comme fruits de mer et comme organismes sentinelles dans le suivi des effets de la pollution anthropique dans les zones côtières (Farrington *et al.*, 2016).

L'utilisation des moules comme espèces sentinelles environnementales découlent de leurs caractéristiques biologiques et écologiques qui les rendent pratiquement idéal pour la surveillance de la pollution. Les moules sont sessiles, de taille moyenne (un individu peut fournir suffisamment de tissu pour l'analyse chimique), peuvent être facilement récoltées, et comme elles sont des créatures robustes qu'elles sont faciles à garder en culture, ce qui les rend adaptés au laboratoire pour des analyses d'exposition écotoxicologique ainsi que des analyses *in situ*. Elles se nourrissent par filtration de phytoplancton en pompant et filtrant de grands volumes d'eau sur leurs grandes branchies ciliées. Ce comportement de filtration de l'eau de mer leur permet également d'accumuler efficacement les polluants chimiques de l'eau de mer, offrant ainsi une mesure intégrative de la concentration et de la biodisponibilité des polluants de l'eau de mer *in situ*. De plus, les moules sont importantes sur le plan écologique car elles fournissent des services écologiques essentiels tels que la nourriture et l'habitat à une multitude d'autres espèces, et en tant que consommateurs primaires, elles agissent comme des véhicules pour le transfert des polluants anthropiques de la phase abiotique et du niveau de production primaire vers les niveaux trophiques plus élevés dans la chaîne alimentaire marine côtière, comme les invertébrés mangeurs de moules (Haukas *et al.*, 2010 ; Farrell et Nelson, 2013 ; Larsen *et al.*, 2016).

4.3. Absorption, accumulation et épuration des contaminants anthropiques chez la moule

Les moules marines sont connues pour absorber et accumuler efficacement les contaminants anthropiques de leur environnement et elles ont une capacité de biotransformation limitée pour les polluants par rapport, par exemple, aux poissons et autres vertébrés.

Les moules conviennent donc comme des animaux modèles dans les études de bioconcentration/bioaccumulation de polluants et de toxicocinétique. La bioconcentration est le processus dans lequel les substances chimiques sont absorbées par les organismes récepteurs uniquement par absorption sur les surfaces respiratoires et cutanées, c'est-à-dire que l'exposition par l'alimentation n'est pas incluse; alors que la bioaccumulation est la même (que la bioconcentration) mais inclut également l'exposition chimique et l'absorption par l'alimentation (Arnot et Gobas, 2006).

La toxicocinétique des contaminants chimiques englobe tous les phénomènes liés aux propriétés physico-chimiques des produits chimiques et au comportement environnemental (répartition des phases, biodisponibilité), allant de l'absorption dans les organismes récepteurs, aux taux de transport interne et modèles de distribution *in vivo*, au taux de bioconcentration /bioaccumulation, biotransformation (métabolisme), à l'élimination/dépuration, et aux tendances de transfert trophique (bioamplification).

Chez les moules, il existe trois mécanismes principaux pour l'absorption des contaminants environnementaux : (1) l'absorption par diffusion passive de la phase dissoute sur les surfaces externes (principalement les branchies, mais aussi le manteau et la paroi intestinale), (2) l'absorption active par les ions transmembranaires et transport par pompe (ouïes, paroi intestinale) et (3) l'absorption active par endocytose de particules contaminées (principalement la paroi intestinale, mais aussi la surface des branchies). Les principales voies et mécanismes d'absorption des produits chimiques dans les moules dépendent d'une série de facteurs, notamment

: les propriétés physico-chimiques du polluant, les conditions physico-chimiques de l'eau, et plusieurs facteurs biologiques liés à la moule elle-même.

Bien que l'absorption de contaminants organiques hydrophobes (non polaires), tels que les polychlorobiphényles (PCB) et les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), soit principalement considérée comme un processus de diffusion passive/processus de partage d'équilibre, d'autres mécanismes plus complexes s'appliquent aux métaux sous forme de traces car leur accumulation par les moules et d'autres organismes aquatiques est influencée par divers facteurs, tels que les multiples voies d'exposition (régime alimentaire et solution), la spéciation des métaux, les associations et la complexation des ligands, la composition chimique du milieu environnant et les effets physiologiques ou biochimiques sur biodisponibilité (Luoma et Rainbow, 2005).

Pour les contaminants organiques hydrophobes, on pense que l'absorption et la dépuration chez *Mytilus* se produisent principalement par des processus d'équilibre de phase passifs sur les surfaces externes (principalement les branchies) et sur la paroi intestinale (Goldberg, 1980). Les principales sources d'absorption de contaminants par les moules sont les produits chimiques dissous dans l'eau de mer ambiante et dans les particules alimentaires contaminées (principalement du phytoplancton). Contrecarrant les processus d'absorption et de bioaccumulation, il existe plusieurs facteurs/processus contrôlant la perte/l'épuration des contaminants dans les moules. Ceux-ci incluent l'échange respiratoire, l'évacuation fécale et la biotransformation.

Un équilibre complexe entre les processus d'absorption des contaminants et de dépuration détermine si un polluant à un moment donné se concentrera ou se dépouillera dans la moule. Les cinétiques d'absorption et d'épuration des polluants chez les moules et autres organismes sentinelles sont le plus souvent étudiées et décrites de manière simplifiée, par ex. en supposant des conditions d'état stable pour les facteurs clés et la faisabilité d'utiliser des modèles d'absorption et d'élimination

à un seul compartiment.

Les principales voies de transport/distribution interne des contaminants dans les moules sont présentées en figure 21. Cependant, il a été rapidement réalisé que la toxicocinétique des processus sont trop complexes pour être correctement décrits par de simples modèles d'absorption et d'élimination à un seul compartiment (Stegeman et Teal, 1973).

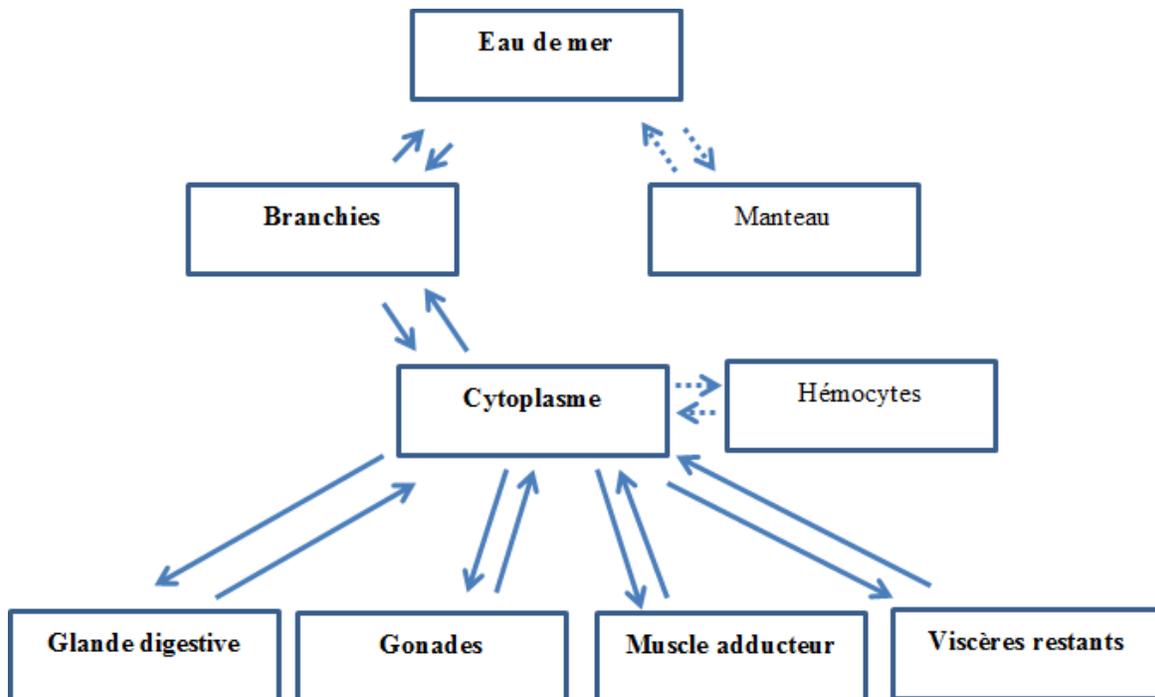


Figure 21 : Représentation schématique des principales voies de transport/distribution interne des contaminants dans les moules bleues. Les flèches pleines et les polices en gras indiquent les principales voies alors que les alternatives itinéraires sont affichées sous forme de flèches en pointillés et de polices normales. Illustration adaptée de Ricciardi *et al.* (2016).

Des modèles toxicocinétiques plus avancés ont donc été développés, tels que ceux basés sur la théorie du bilan énergétique dynamique (DEB) (Vanharen et Kooijman, 1993), pour décrire

comment de multiples facteurs liés au polluant, à l'environnement et à l'état physiologique de l'organisme sentinelle peut agir pour influencer la bioaccumulation et l'effet des contaminants anthropiques.

Comme chez d'autres espèces de bivalves suspendus, les branchies très grandes et complexes de *Mytilus* ont une variété de fonctions clés dans l'alimentation, les échanges gazeux, la digestion et l'évacuation des déchets (Cranford *et al.*, 2011). Les mouvements coordonnés des cils à la surface des branchies assurent un pompage constant de l'eau de mer à travers la cavité palléale des moules où les, avec une efficacité élevée, capturent et piègent les particules de nourriture en suspension dans le mucus, et assurent ensuite le transport de ce mélange vers le système digestif des moules. Le système branchial est le site dominant pour l'interaction directe avec l'environnement, avec sa grande surface et son épithélium mince, et est donc un organe clé pour l'absorption et l'élimination des contaminants chimiques.

L'absorption active de contaminants via la paroi intestinale (par exemple, impliquant généralement une endocytose de particules et de particules d'aliments contaminés) est généralement moins étudiée que les processus d'absorption impliquant une diffusion passive sur les surfaces externes. Cependant, plusieurs études ont montré que la charge de contaminants qui pénètre par le tube digestif peut être importante pour de nombreux produits (Björk *et al.* 1997 ; Axelman *et al.*, 1999).

Il existe actuellement une prise de conscience croissante du devenir et des effets potentiels des nanoparticules et des microplastiques dans les moules (Van Cauwenberghe et Janssen, 2014 ; Li *et al.*, 2015 ; Sellami *et al.*, 2017). Contrairement au poisson, que les humains mangent normalement sans système digestif, les moules sont consommées entières, ce qui rend particulièrement important l'évaluation de la sécurité alimentaire humaine à partir de ces contaminants particuliers émergents. Par conséquent, davantage de connaissances sont

nécessaires sur l'absorption et la purification des particules nanométriques et microscopiques dans les moules.

La connaissance de la bioaccumulation des polluants dans les moules est importante pour l'évaluation des risques et des examens concernant cette question sont disponibles pour de nombreuses classes de polluants.

4.4. Les Biomarqueurs chez la moule

Les biomarqueurs sensibles aux polluants ont pris de l'ampleur en écotoxicologie marine, le plus souvent avec les poissons comme organismes cibles (Van der Oost *et al.*, 2003). Mais les nombreux potentiels intéressants liés à la détection de biomarqueurs dans les moules ont été reconnus très tôt par Moore (1991), et le nombre d'études sur les biomarqueurs de la moule rapporté dans les revues scientifiques environnementales a augmenté régulièrement et compte actuellement plus de 1 700 études, soit environ 10 % de toutes les études de biomarqueurs rapportées.

Dans les nombreux rapports sur les biomarqueurs des moules, le stress oxydatif est le problème le plus souvent abordé. Le stress oxydatif est une condition défavorable qui résulte d'un déséquilibre prolongé entre la concentration *in vivo* de radicaux libres toxiques dérivés des molécules d'oxygène, d'azote ou de soufre et la capacité du système de défense antioxydant des organismes à neutraliser ces molécules oxydantes très actives (Winston et Digiulio, 1991 ; Lushchak, 2011). Les radicaux sont produits naturellement au cours de la respiration et du métabolisme cellulaires et les radicaux ont également des rôles essentiels dans la signalisation cellulaire, l'apoptose, l'expression des gènes et le transport des ions ; mais des niveaux excessifs provoqueront une série d'effets dommageables sur les tissus, les cellules et les composantes subcellulaires, par peroxydation lipidique, lésions et mutations de l'ADN (Lue *et al.*, 2010). De nombreux facteurs de stress liés aux contaminants environnementaux, notamment les métaux de

transition, les HAPs, les rayonnements ionisants, les pesticides organochlorés et organophosphorés, sont connus pour provoquer un stress oxydatif. Les systèmes de défense antioxydants de la moule impliquent à la fois les actions des antioxydants moléculaires tels que le glutathion (GSH) et les activités de la glutathion S-transférase (GST), de la GSH-peroxydase et de la catalase, de préférence dans les branchies et la glande digestive (Manduzio *et al.*, 2004).

Les problèmes d'effet liés aux branchies sont abordés dans environ 25 % de tous les articles sur les biomarqueurs de la moule rapportés dans la littérature scientifique, soulignant le rôle clé des branchies dans la cinétique d'absorption et d'élimination et en tant que matrice très appropriée pour les études sur les effets du stress oxydatif et les problèmes histopathologiques. Soldatov *et al.* (2007) ont résumé les recherches sur les spécificités tissulaires du complexe antioxydant enzymatique chez *M. galloprovincialis* et ont conclu que les branchies sont les tissus les plus touchés lorsque les toxiques environnementaux provoquent un stress oxydatif, rendant ainsi les branchies adaptées aux diagnostics écologiques sur ces problèmes.

De nombreuses études ont utilisé des marqueurs histologiques et histopathologiques dans les branchies des moules pour évaluer les effets du stress (Bignell *et al.*, 2011 ; Katalay *et al.*, 2016).

L'ADN est l'un des composants cellulaires très sensibles au stress oxydatif et l'évaluation des dommages à l'ADN est considérée comme un biomarqueur crucial pour évaluer le potentiel génotoxique des facteurs de stress environnementaux.

Dans les populations naturelles, les moules sont exposées à des mélanges complexes de polluants chimiques de concentrations variables et à d'autres pressions anthropiques qui peuvent provoquer une gamme variée d'effets, en particulier pour les moules qui vivent à proximité de zones peuplées ou industrialisées. Divers types de phénomènes d'effets additifs, synergiques ou antagonistes peuvent se développer lorsque les espèces sentinelles sont exposées à plusieurs (et souvent

plusieurs) facteurs de stress toxiques en même temps (Beyer *et al.*, 2014). Pour évaluer comment les moules et autres espèces sentinelles dans ces écosystèmes exposés réagissent à des stress complexes, l'évaluation intégrée des écosystèmes (EIE) a été développée ces dernières années comme une approche intégrée holistique de la surveillance des effets biologiques. La liste recommandée de biomarqueurs et d'analyses chimiques dans le cadre du schéma d'intégration du CIEM est présentée ci-dessous (Fig. 22). Bien qu'il existe de nombreux autres biomarqueurs disponibles, ceux-ci comprennent des méthodes validées qui peuvent être considérées comme plus fiables et auxquelles sont associés des critères d'évaluation. Ils mesurent une gamme de réponses allant de la santé générale à des effets plus spécifiques tels que la neurotoxicité et la génotoxicité.

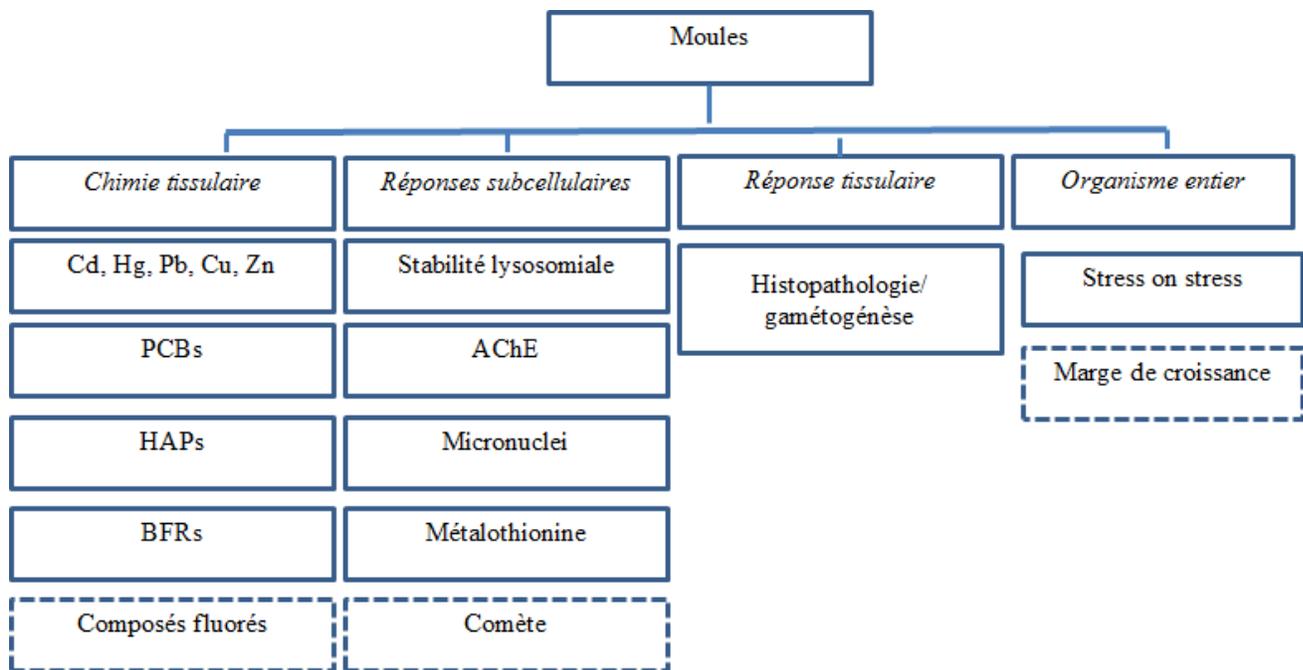


Figure 22 : Méthodes recommandées pour les effets biologiques incluses dans la composante moules du CIEM évaluation intégrée des écosystèmes. Les lignes pleines sont les méthodes de base, tandis que les lignes pointillées représentent des méthodes. PCB, biphényles polychlorés; HAP, hydrocarbure aromatique polycyclique; RFB, retardateurs bromés de flammes ; AChE, acétylcholinestérase. Figure adaptée de Davies et Vethaak (2012).

Les réponses subcellulaires sont souvent relativement rapides après une exposition chimique et peuvent être utilisées comme un signal d'alerte précoce. Le temps de réponse est généralement court et les effets réversibles. En revanche, les réponses au niveau des tissus se forment après des durées d'exposition plus longues et se développent en changements structurels dans les tissus clés tels que la glande digestive, les gonades et les branchies. Les réponses de l'organisme entier, telles que la portée de la croissance ou la survie dans l'air (stress sur stress), sont des critères d'évaluation simples mais importants lors de l'évaluation de la valeur adaptative de la population et du lien avec l'état de l'environnement.

En combinant les biomarqueurs et en considérant ces réponses avec des données sur la charge corporelle chimique, une approche intégrative holistique peut être réalisée qui peut indiquer la santé d'un environnement ou l'impact qu'un mélange chimique peut avoir sur les moules dans un certain plan d'eau. Les pays participant à l'accord OSPAR sont tenus d'effectuer une surveillance intégrative dans le cadre de leurs programmes nationaux de surveillance. Cependant, en raison de la faible pression exercée sur les États membres et des contraintes de suivi des budgets, très peu de pays se conforment pleinement à cette exigence. Une approche plus typique de la surveillance générale a consisté à employer un plus petit nombre de biomarqueurs recommandés chez les moules et à concentrer davantage l'étude sur la mesure des concentrations de la charge corporelle chimique. Cependant, limiter le nombre de biomarqueurs au sein du schéma intégrateur réduirait l'efficacité de la démarche de l'IEA qui pourrait conduire à une sous-évaluation de l'état de l'environnement. La sélection de biomarqueurs dans un cadre intégré dépend du type de contaminant chimique qui devrait dominer le plan d'eau. Un cadre recommandé a été suggéré pour l'exposition aux métaux et aux matières organiques, en sélectionnant une combinaison de biomarqueurs généraux et plus spécifiques qui répondraient le plus probablement aux différents groupes chimiques (Gubbins et al., 2012).

L'utilisation d'une approche multi-biomarqueurs produira souvent des données de réponse complexes qui peuvent être difficiles à interpréter, pour ne pas dire à intégrer dans les cadres de politique environnementale. Pour englober ce problème, plusieurs moyens de simplifier des données complexes ont été développés, parmi lesquels l'indice dit de réponse intégrée aux biomarqueurs (IBR) (Beliaeff et Burgeot, 2002) est l'un des plus fréquemment utilisés.

L'utilisation des biomarqueurs conventionnels chez les moules nécessite une connaissance approfondie des mécanismes de toxicité, comme moyen de réduire le biais possible de se concentrer sur seulement quelques réponses (par exemple, des protéines ou des enzymes spécifiques) et de négliger d'autres, de relation inconnue avec le contaminant, mais qui pourraient être plus importants sur le plan écotoxicologique. D'autre part, l'utilisation de nouveaux outils moléculaires, comme les technologies -omiques, est considérée comme ayant un grand potentiel pour identifier de nouveaux biomarqueurs impartiaux d'exposition et d'effet sans aucune connaissance préalable des mécanismes toxiques des contaminants, par ex. Gomes *et al.* (2014). Les technologies de profilage moléculaire telles que la transcriptomique, la protéomique et la métabolomique sont utilisées dans un nombre croissant d'études en laboratoire et sur le terrain avec *Mytilus* et d'autres sentinelles marines pour identifier les profils de signature moléculaire indiquant différents facteurs de stress environnementaux et pour identifier le mode d'action 748 (MoA) des substances toxiques chimiques et leurs mélanges (Veldhoen et al., 2012 ; Tomanek, 2014). Aujourd'hui, ces outils de toxicologie systémique représentent la frontière de la recherche dans la découverte de biomarqueurs écotoxicologiques et pour l'étude des liens possibles avec les effets à un niveau supérieur d'organisation biologique, y compris les effets sur la santé humaine.

5. Terminologie

5.1. La biosurveillance

La biosurveillance est définie et discutée dans de nombreux articles, par exemple, par Langston *et al.* (2012): c'est un outil précieux en plus des outils utilisés pour mesurer la contamination (analyse de la qualité de l'eau, essais de toxicité et enquête écologique) car elle permet de réaliser une mesure directe de la biodisponibilité des contaminants. Le même concept mais en termes de science de l'évaluation des risques a été réitéré par Gupta et Singh (2011): c'est une approche importante de l'évaluation des risques de l'environnement et des expositions professionnelles qui fournit une estimation de la dose adsorbée et donne un accès indirect à la détermination de la concentration du site cible.

Dans divers manuels écologiques, la biosurveillance est décrite comme une estimation intégrée de la qualité de l'environnement. En effet, selon Rand *et al.* (1995), la surveillance biologique (ou biosurveillance) nécessite l'utilisation régulière et systématique d'organismes vivants pour évaluer les changements de l'environnement ou de la qualité de l'eau. Des mesures répétitives sont réalisées et celles-ci sont analysées de manière statistique. La définition comprend donc l'analyse de l'état de l'environnement en surveillant les individus, les espèces, les populations et les communautés pour comprendre les changements qui peuvent survenir à la suite d'une exposition chimique sur de courtes ou longues périodes. La biosurveillance est importante car des réponses biologiques peuvent être déclenchées à des concentrations chimiques inférieures aux limites de détection analytiques.

Il est toujours très important d'effectuer une surveillance chimique en conjonction avec la biosurveillance pour déterminer comment les organismes sont exposés et à quel niveau de concentrations.

Il ressort clairement de l'ensemble des études mentionnées ci-dessus que la définition du terme biosurveillance est scientifiquement différente. Ainsi, pour éviter toute confusion terminologique, il est essentiel d'utiliser la surveillance chimique exclusivement pour l'identification et la quantification des polluants chimiques dans les tissus des bivalves. Le terme biosurveillance doit être limité à des observations complexes d'organismes vivants pour évaluer les changements de la qualité environnementale (Zuykov *et al.*, 2013).

La biosurveillance de la contamination de l'environnement nécessite des données sur les réponses qui, à leur tour, devraient être étayées par des outils appropriés tels que la bioaccumulation, les biomarqueurs (par exemple, cyto-histopathologiques, biochimiques, etc.), les observations morphologiques et comportementales, l'analyse au niveau de la population et de la communauté. Cependant, ces outils sont influencés par des facteurs abiotiques et biotiques (Salinité, approvisionnement alimentaire, variation saisonnière et âge). Ainsi, aucun de ces outils sont vraiment indépendants et ne peuvent pas être utilisés individuellement pour l'évaluation de la qualité de l'environnement. De toute évidence, la bioaccumulation est un outil clé de biosurveillance, mais uniquement son intégration avec d'autres outils pourraient aider à élucider l'impact et les réponses induits par les polluants eux-mêmes dans les organismes biologiques (population, communauté, etc.), et cela fournirait une voie pour comprendre les mécanismes impliqués (Rand *et al.*, 1995).

5.2. Les biomarqueurs

En bref, les biomarqueurs sont les premiers indicateurs des changements de l'état morpho-fonctionnel des bivalves sous l'effet des polluants, car, un effet toxique sera apparent au niveau subcellulaire avant qu'il ne soit perceptible à des niveaux biologiques plus élevés (Zuykov *et al.*, 2013). Contrairement à la simple mesure des contaminants qui s'accumulent dans les tissus de l'organisme, les biomarqueurs peuvent offrir des informations biologiquement plus pertinentes

sur l'impact potentiel de polluants sur la santé des organismes (Calisi *et al.*, 2008).

Il est à noter qu'on doit pris en compte que : 1) les biomarqueurs ne doivent pas être consultés comme panacée pour les études sur la pollution chimique, c'est-à-dire que diversfacteurs biotiques et abiotiques peuvent aussi influencer les biomarqueurs; (2) les biomarqueurs uniques ne reflètent pas légitimement la détérioration de la santé d'un organisme; l'utilisation d'une approche multi-biomarqueurs est nécessaire pour une évaluation plus réaliste de l'impact biologique des produits chimiques et pour élucider les mécanismes sous-jacents à l'apparition de telles altérations (Guidi *et al.*, 2010; Serafim *et al.*, 2011) et (3) l'utilisation de biomarqueurs est difficile, coûteuse et prend du temps.

5.3. Stresseurs multiples et types d'interaction

Les écosystèmes aquatiques peuvent recevoir simultanément plusieurs types de polluants (stresseurs). Ces facteurs de stress interagissent entre eux pour avoir un impact différent (Jackson *et al.*, 2016). Il existe une variété d'interactions (tableau I, figure 2) qui peuvent modifier les services écosystémiques de manières différentes. Ces interactions dépendent de l'identité du facteur de stress, de la structure de la communauté et du type de service (Jackson *et al.*, 2016).

Les facteurs de stress peuvent interagir pour créer un impact égal à (interaction additive), plus petit que (interaction antagoniste), ou supérieur à (interaction synergique) leurs effets uniques (tableau I, figure 2). Des interactions antagonistes non additif peuvent se produire lorsque l'impact d'un facteur de stress est si important qu'il éclipse celui du deuxième facteur de stress (Jackson *et al.*, 2016). Par exemple, une grave sécheresse pourrait éclipser tout impact des arbres envahissants sur la disponibilité de l'eau.

Les interactions synergiques des facteurs de stress sont souvent considérées comme les plus dommageables à cause de l'amplification de leurs impacts (Jackson *et al.*, 2016). Celles-ci peuvent survenir lorsque l'impact de deux facteurs de stress est plus grand que prévu (Tab. 5). Ce dernier

cas peut avoir lieu parce que les services écosystémiques deviennent vulnérables lorsque les deux facteurs de stress sont présents. Par exemple, l'inondation des terres cultivées causées par des événements météorologiques extrêmes pourraient empirer avec un changement de couverture terrestre dû à la déforestation en raison de la capacité réduite du sol à retenir l'eau (Douglas *et al.*, 2008; Wheeler et Evans, 2009).

Tableau 5 : Types d'interaction entre les stressseurs multiples (Jackson *et al.*, 2016)

Type d'interaction	Description
Additive	L'impact de deux facteurs de stress se produisant simultanément est égal à la somme de leurs effets uniques
Antagonisme	L'impact de deux facteurs de stress se produisant simultanément est inférieur à la somme de leurs effets uniques
Synergisme	L'impact de deux facteurs de stress se produisant simultanément est plus que la somme de leurs effets uniques
Atténuation	Un facteur de stress réduit l'impact d'un deuxième facteur de stress
Successive	Un facteur de stress provoque l'apparition d'un deuxième facteur de stress

CHAPITRE II

PROCEDURES EXPERIMENTALES

Au cours de cette thèse, les moules méditerranéennes collectées de la lagune de Bizerte au mois de mars 2018 ont été transférées au laboratoire et réparties dans des microcosmes à raison de 05 individus/microcosmes. Ces dernières ont été acclimatées durant une semaine dans des conditions contrôlées ; une température de 19 ± 2 °C, un taux d'oxygène de 6,2 mg/L, une salinité de 32‰ et une photopériode normale réglée à 12 heures. L'eau a été renouvelée chaque 2 jours pour garantir un apport nutritif régulier.

Après la période d'acclimatation, elles ont été exposées à plusieurs types de contaminants : des nanoparticules, des hydrocarbures aromatiques polycycliques, deux pesticides et des mélanges binaires de contaminants.

1. Contamination par les nanoparticules

Plusieurs types de nanoparticules ont été considérés pour étudier leurs impacts écotoxicologiques sur la moule à savoir : les nanoparticules de monoxyde de zinc (ZnO NPs), les nanoparticules de monoxyde de zinc dopées par le cuivre (Cu-ZnO NPs), les nanoparticules de monoxyde de zinc dopées par l'Or (Au-ZnO NPs), les nanoparticules de dioxyde de titane (TiO₂ NPs) et les nanoparticules de dioxyde de titane dopées par l'Or (Au-TiO₂ NPs).

1.1. Synthèse des nanoparticules de choix

La synthèse des nanoparticules de ZnO, de Cu-ZnO et d'Au-ZnO a été réalisée selon la méthode chimique proposée par Fkiri *et al.*, 2017. Des quantités d'acétate de zinc dihydraté et de dichlorure de cuivre dissoutes dans 50 ml de polyol sont placées dans un ballon tricol. L'ensemble est maintenu sous reflux et sous agitation mécanique continue jusqu'à atteindre 140°C, température à laquelle la phase ZnO est obtenue. L'injection d'un volume de solution aqueuse de H₂AuCl₄.3H₂O, [0.761 10⁻³ M] à cette température s'accompagne d'un changement de couleur (violet) indiquant la formation de nanoparticules hybrides d'Au-ZnO.

Pour les nanoparticules de Cu-ZnO, il s'agit de chauffer dans un ballon tricol équipé d'un thermocouple, d'un montage à reflux et d'une tige à agitation mécanique (Fig. 23), et d'une solution de précurseurs (acétate de zinc dihydraté et dichlorure de cuivre) dissous dans le solvant approprié. Le mélange est maintenu à une température $\Theta = 160\text{ }^{\circ}\text{C}$ pendant 60 min puis refroidi jusqu'à température ambiante. Les particules de $\text{Zn}_{1-x}\text{Cu}_x\text{O}$ (avec $x = 0.1$), recherchées sont récupérées par centrifugation. Elles sont lavées plusieurs fois à l'éthanol avant d'être séchées à l'étuve sous air à $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ pendant 12 h.

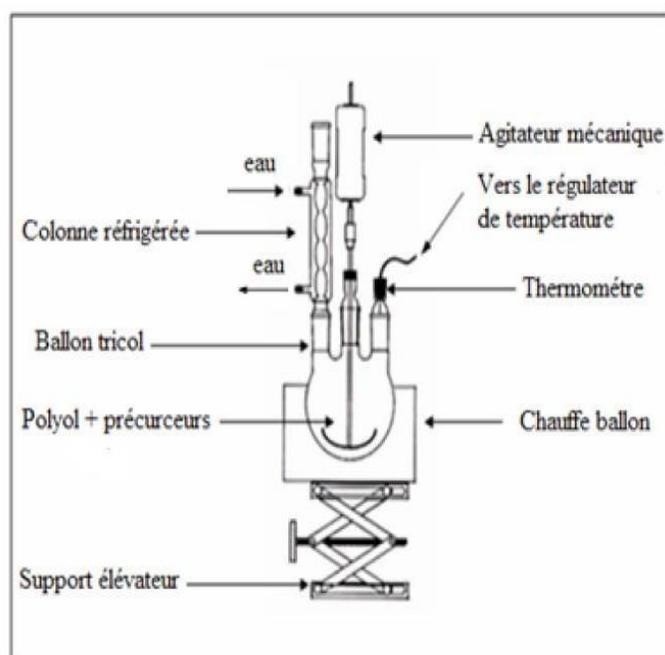


Figure 23: Schéma de montage de la synthèse en milieu polyol.

Pour synthétiser les nanoparticules de TiO_2 et d' AuTiO_2 , du tétrachloroaurate d'hydrogène trihydraté ($\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) et du butoxyde de titane [$\text{Ti}(\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3)_4$], ont été dissous dans 50 mL de diméthylsulfoxyde (DMSO) avec un rapport molaire Ti / Au de 30. Le mélange a été ensuite chauffé à $190\text{ }^{\circ}\text{C}$ et maintenu à cette température pendant 2 h sous agitation mécanique. Une suspension colloïdale homogène (rose) a été obtenue. A la fin de la réaction, le précipité a été séparé par centrifugation, lavé plusieurs fois avec de l'éthanol / acétone (2: 1), puis

séché sous vide à 50 ° C pendant 12 h pour donner de poudre TiO₂ et d'Au-TiO₂ gris. Les échantillons de TiO₂ et d'Au-TiO₂ préparés ont été calciné à 400 ° C. Le recuit ultérieur des nanoparticules d'Au-TiO₂ par traitement solvothermique a induit une cristallinité et permet d'éliminer complètement les molécules organiques de solvant piégées à l'intérieur des particules.

1.2. Caractérisation des nanoparticules

1.2.1. Analyse de phase

La diffraction des rayons X (XRD) est une technique de mesure qui permet d'accéder aux caractéristiques cristallographiques des matériaux. Elle est basée sur l'interaction d'un faisceau de rayons X avec le réseau cristallographique du matériau. Les interférences créées suite à ces interactions sont caractéristiques du réseau étudié. Cette technique est donc largement utilisée en minéralogie pour déterminer la structure cristalline des particules minérales, en particulier des nanoparticules.

Au cours de cette thèse et afin de vérifier la pureté des phases obtenues, les diagrammes de diffraction des rayons X ont été systématiquement réalisés pour toutes les poudres obtenues en utilisant (STOE-STADI P) (INEL diffractomètre ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$)).

1.2.2. Analyse par microscopie électronique à transmission (MET)

L'analyse élémentaire des poudres obtenues a été réalisée à l'aide d'un spectromètre EDX monté sur un microscope électronique en transmission MET de marque (JEOL-ARM 200F).

En microscopie électronique à transmission, le faisceau d'électron est transmis à travers un échantillon très mince déposé sur une grille conductrice. Après la transmission du faisceau à travers l'échantillon et les interactions avec les particules, les électrons non absorbés sont focalisés sur un détecteur d'imagerie (Fluorescence écran ou caméra CCD). En MET, le contraste et la visualisation des particules est fonction de la densité d'électrons dans la particule, de son épaisseur et de ses structures et des orientations cristallographiques. Le MET a une résolution supérieure au MEB

et donne une résolution subnanométrique. En terme de sensibilité, les performances sont aussi meilleures ($> 0,1 \mu\text{g/g}$) (Le Hécho *et al.*, 2010). Le MET a également l'avantage de pouvoir combiner un mode d'observation à un mode d'analyse élémentaire. La spectrométrie dispersive en énergie (EDS) ou la spectroscopie en pertes d'énergies des électrons (EELS) sont des techniques qui associées au MET permettant de fournir une information sur la composition chimique d'une nanoparticule isolée.

1.2.3. Taille et stabilité des nanoparticules

La détermination de la taille des nanoparticules a été effectuée en utilisant la diffusion dynamique de la lumière (DLS).

La technique DLS est basée sur le mouvement aléatoire des particules dû à la collision avec les molécules de solvant (mouvement brownien). Par conséquent, seulement les particules en suspension dans un liquide peuvent être caractérisées. Les plus grosses particules ont un mouvement plus lent que les particules plus épaisses dans le même solvant et à la même température. Le coefficient de diffusion translationnelle de la particule dans un fluide est lié au diamètre hydrodynamique en utilisant l'équation de Stokes-Einstein (Berne et Pecora, 2000). Les principaux facteurs qui modifient le coefficient de diffusion translationnelle sont la taille, la structure de surface, la concentration des particules, et la présence d'ions dans le milieu (Jafari et Esfanjani, 2017).

La taille des particules peut influencer les caractéristiques des matériaux, tels que la réactivité, la vitesse de dissolution et la stabilité de la dispersion colloïdale. La technique de DLS peut être utilisée pour déterminer le diamètre des particules composées de matières organiques (par exemple, glucides, protéines, tensioactifs), ou composés inorganiques (par exemple, nanoparticules d'or ou d'argent), ou même ceux formés par des oxydes des métaux (Jafari et Esfanjani, 2017).

Lorsque les particules colloïdales dispersées dans des milieux liquides sont irradiées par une source laser, les changements d'intensité de la lumière diffusée sont observés en fonction du temps. Le profil de ces changements dépend de la taille des particules, ou en d'autres termes, dépendant du coefficient de diffusion. Les plus grosses particules se déplacent lentement, ce qui entraîne des changements dans le profil d'intensité de diffusion de la lumière sur une plus grande échelle de temps. D'autre part, les particules plus petites se déplacent rapidement, ce qui entraîne des changements brusques du profil d'intensité de diffusion de la lumière. Le coefficient translationnel de diffusion (D) des particules peut être obtenu en analysant ces profils, et donc converti en rayon hydrodynamique (R_H) (ou diamètre) en utilisant l'équation de Stokes-Einstein:

$$D = kT/6\pi\eta R_H$$

Où k est la constante de Boltzmann ($J K^{-1}$), T est la température (K), et η (Pas) est la viscosité du milieu dispersant (Schmitz, 1990).

La taille obtenue par DLS correspond au diamètre d'une sphère en mouvement avec le même D des particules soumises à l'analyse. La valeur de D peut être affectée par la structure de la surface et la concentration des particules, ainsi que par les propriétés du milieu dispersant telles que la force ionique, viscosité et indice de réfraction, permettant l'étude des caractéristiques de surface des particules. Cela signifie que le diamètre calculé par DLS peut être surestimé par rapport au diamètre obtenu par microscopie électronique, dans lequel les particules sont généralement éliminées du milieu réactionnel.

L'étude de la stabilité des nanoparticules est effectuée en déterminant le potentiel Zeta.

Pour les petites particules dans un liquide, il n'existe pas de technique satisfaisante pour déterminer la charge superficielle des particules. La méthode commune consiste à déterminer le potentiel électrique d'une particule à un emplacement éloigné de la surface des particules, quelque part dans la couche diffuse. Cet emplacement, lié au mouvement des particules dans le liquide, est appelé

plan de glissement ou de cisaillement. Le potentiel mesuré à ce plan est appelé potentiel zêta, qui est un paramètre important pour les colloïdes ou les nanoparticules en suspension. Sa valeur est étroitement liée à la stabilité de la suspension et à la morphologie de la surface des particules. Par conséquent, il est largement utilisé dans les études de stabilité des produits et la recherche sur l'adsorption de surface (Delgado *et al.*, 2007).

Parmi les trois méthodes existantes pour la détermination du potentiel zêta des particules en suspension, à savoir, la diffusion de la lumière électrophorétique (ELS), acoustique et électroacoustique, en raison de sa sensibilité, sa précision et sa polyvalence, la ELS est de loin le meilleur choix pour de nombreuses applications (Ware et Haas, 1983). Cependant, la ELS classique, utilisant la lumière transmise et la diffusion de réception à un petit angle (généralement 8–30°) ne peuvent pas être utilisées pour les échantillons troubles. Le potentiel zêta, contrairement à la taille des particules ou au poids moléculaire, est une propriété impliquant non seulement les particules mais aussi leur environnement, par exemple le pH, la force ionique, et même le type d'ions dans la suspension. Par conséquent, dans de nombreux cas, même si le potentiel zêta des particules en suspension est mesuré après dilution pour obtenir une résolution élevée et précise, ces résultats peuvent varier considérablement de leurs vraies valeurs obtenues dans leur environnement d'origine et peut avoir, de fait peu d'utilité pratique.

Mesurer la distribution du potentiel zêta dans une suspension concentrée est un défi technologique. Les méthodes acoustiques donnent seulement des valeurs moyennes avec une faible sensibilité à condition que la concentration du solide soit connue. L'approche de rétrodiffusion utilisée dans la mesure de la taille ne peut pas être adoptée en raison de l'interférence du mouvement brownien avec le mouvement électrophorétique orienté dans le sens large des angles de diffusion. Par exemple, pour une particule de 250 nm avec un potentiel zêta de 60 mV, lorsqu'il est soumis à un champ de 30 V, le mouvement électrophorétique produira un décalage Doppler de 55 Hz à un

angle de diffusion de 10° et le mouvement brownien de la particule provoquera un élargissement du pic de 3,5 Hz. Si la mesure est effectuée à un angle de diffusion de 160° , le décalage Doppler et l'élargissement du pic sera de 108 Hz et 430 Hz, respectivement, rendant impossible la détermination précise du potentiel zêta.

Récemment, un agencement optique unique pour mesurer le potentiel zêta en suspension concentrée a été inventé (Tsutsui *et al.*, 2005) en utilisant une électrode unique qui est conductrice mais transparente à la fois aux lumières incidentes et diffusées dans la mesure ELS. L'entrée de la lumière incidente d'un côté d'une fenêtre épaisse est réfractée par la fenêtre et sort de la fenêtre vers la cellule d'échantillon par une surface, qui est perpendiculaire à la première surface, sur laquelle un métal mince sert d'électrode transparente. Les particules se déplacent électrophorétiquement dans le champ créé par cette électrode et une autre électrode ordinaire. La lumière diffusée par les particules près de la surface de la fenêtre est réfractée deux fois avant de sortir de l'autre côté de la fenêtre (Fig. 24). Cette configuration permet une lumière de courte longueur de trajet à un petit angle de diffusion ($\sim 35^\circ$) afin d'éviter l'interférence de l'élargissement brownien.

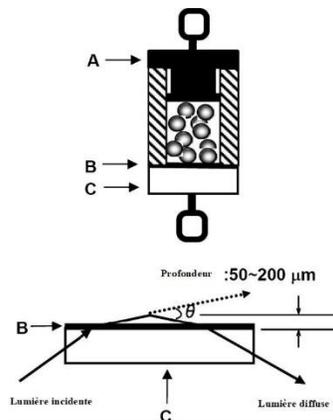


Figure 24 : La cellule comprenant une électrode ordinaire (A) et une électrode transparente (B) appliquée sur une fenêtre optique (C). La partie inférieure de la figure montre la fenêtre optique et le trajet de la lumière. θ est l'angle de diffusion réel (Xu, 2008).

L'avantage supplémentaire de cette technique est qu'en raison du volume de diffusion, il n'y a pas de flux électro-osmotique généralement causé par la charge de surface des parois cellulaires. Par conséquent, le décalage Doppler mesuré provient uniquement du mouvement des particules sans interférence du mouvement du liquide. La mesure de la taille des particules dans des échantillons concentrés peut également être effectuée à l'aide de cette cellule d'échantillonnage lorsque le champ électrique n'est pas appliqué.

Dans le présent travail, la taille des nanoparticules et leur potentiel Zeta ont été déterminés à l'aide d'un Zetasizer Ultra (Malvern Panalytical Ltd., Malvern, Royaume-Uni) équipé d'un laser He-Ne à une longueur d'onde de 632,8 nm et une puissance maximale de 10 mW. Toutes les expériences ont été réalisées à 25 ° C en utilisant un volume d'échantillon de 1 ml et des cuvettes jetables (DTS0012, Malvern Panalytical Ltd., UK). Les paramètres de l'instrument ont été optimisés automatiquement à l'aide du logiciel ZS XPLOER (Malvern Panalytical Ltd., Royaume-Uni).

1.3. Expérience de contamination par les nanoparticules

Au cours de cette expérience, les moules ont été réparties dans des microcosmes à raison de 5 spécimens par microcosme. Ces derniers ont été considérés en triplicata pour les témoins et les traités par les nanoparticules (Fig. 25).

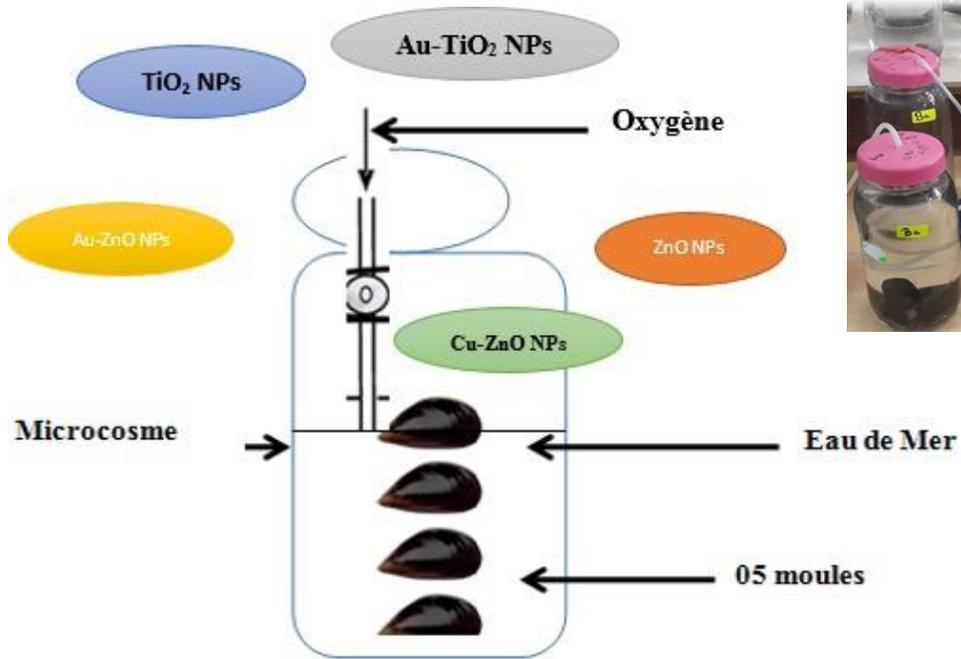


Figure 25 : Expérience de contamination par les nanoparticules

Ainsi, 33 microcosmes ont été préparés pour cette étude (Tab. 6).

Tableau 6 : désignation des groupes d'aquariums considérés pour la contamination par les nanoparticules

Control (témoins)	Aquariums non contaminées
ZnO NP1	Aquariums contaminés avec 50 µg/L de nanoparticules de ZnO
ZnO NP2	Aquariums contaminés avec 100 µg/L de nanoparticules de ZnO
Cu-ZnO NP1	Aquariums contaminés avec 50 µg/L de nanoparticules de Cu- ZnO
Cu-ZnO NP2	Aquariums contaminés avec 100 µg/L de nanoparticules de Cu- ZnO
Au-ZnO NP1	Aquariums contaminés avec 50 µg/L de nanoparticules d'Au- ZnO
Au-ZnO NP2	Aquariums contaminés avec 100 µg/L de nanoparticules d'Au- ZnO
TiO ₂ NP1	Aquariums contaminés avec 50 µg/L de nanoparticules de TiO ₂
TiO ₂ NP2	Aquariums contaminés avec 100 µg/L de nanoparticules de TiO ₂
Au-TiO ₂ NP1	Aquariums contaminés avec 50 µg/L de nanoparticules d'Au-TiO ₂
Au-TiO ₂ NP2	Aquariums contaminés avec 100 µg/L de nanoparticules d'Au-TiO ₂

Les concentrations de NPs considérées dans la présente étude ont été sélectionnées en fonction des concentrations environnementales pertinentes de nanoparticules d'oxyde métallique allant du nanogramme au milligramme par litre (Gottschalk *et al.*, 2009; Luo *et al.*, 2011). Les solutions mères de NPs (20 mg / mL) ont été préparées en dissolvant chaque NPs dans de l'eau distillée et avant chaque contamination, les solutions mères ont été conservées à température ambiante pendant 2 h sous agitation mécanique. Pour permettre une concentration de 50 µg / L et 100 µg / L de NPs / eau de mer, 7,5 µL et 15 µL ont été ajoutés aux réservoirs à partir de solutions mères de NPs.

2. Contamination par les hydrocarbures aromatiques polycycliques

Dans le présent travail, trois hydrocarbures aromatiques polycycliques ont été choisis à savoir : le Benzanthracène (Banth), le Fluoranthène (FL) et le Benzo(a)pyrène (B(a)p). L'expérience de contamination (Fig. 26) a été effectuée durant 14 jours en testant deux concentrations (50 $\mu\text{g/L}$ et 100 $\mu\text{g/L}$) pour chaque produit.

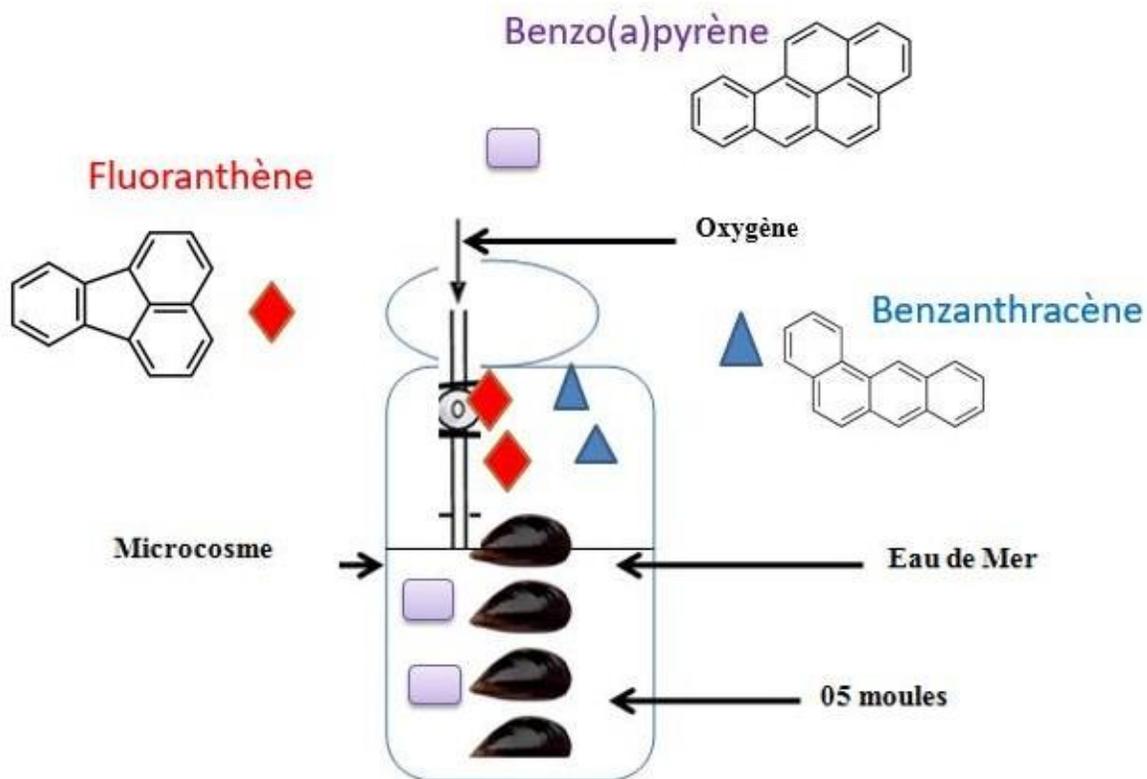


Figure 26 : Expérience de contamination par les hydrocarbures aromatiques polycycliques

Ainsi 24 microcosmes ont été préparés pour cette étude (Tab. 7).

Tableau 7 : Désignation des groupes d'aquariums considérés pour la contamination par les HAPs.

Control (témoins)	Aquariums non contaminés
DMSO	Aquariums traités par le diméthylsulfoxyde
Banth1	Aquariums contaminés avec 50 µg/L de Benzanthracène
Banth2	Aquariums contaminés avec 100 µg/L de Benzanthracène
FL1	Aquariums contaminés avec 50 µg/L de Fluoranthène
FL2	Aquariums contaminés avec 100 µg/L de Fluoranthène
B(a)p1	Aquariums contaminés avec 50 µg/L de Benzo(a)pyrène
B(a)p2	Aquariums contaminés avec 100 µg/L de Benzo(a)pyrène

Les concentrations des HAPs ont été considérées en se basant sur plusieurs travaux écotoxicologiques (Anyakora *et al.*, 2005 ; Zhou et Maskoui, 2003 ; Bellas *et al.*, 2008; Giannapas *et al.*, 2012; Sellami *et al.*, 2015).

Des solutions mères ont été préparées en dissolvant le Benzo(a)pyrène, le Fluoranthène et le Benzanthracène dans le diméthylsulfoxyde (DMSO), avant la dilution dans l'eau de mer, car le DMSO n'a pas d'effet significatif sur les réponses des biomarqueurs (Haque *et al.*, 2019). De plus, il a été démontré que l'exposition au DMSO à des concentrations inférieures ou égales à 0,005% V / V (50 µl. L⁻¹) n'affectait pas les profils métaboliques des bivalves marins (Banni *et al.*, 2010; Jiang *et al.*, 2019). Les solutions mères ont d'abord été préparées en mélangeant 20 mg des HAPs dans 1 mL de DMSO. 15 µL représente le volume ajouté aux microcosmes à partir de la solution

mère de chaque HAP préparé dans du DMSO (20 mg/mL) pour permettre une concentration de 100 µg HAP/L d'eau de mer et 7,5 µL représente le volume ajouté aux microcosmes à partir de la solution mère pour permettre une concentration de 50 µg HAP/L d'eau de mer.

Le Benzo (a) pyrène, le Fluoranthène et le Benzanthracène (pureté $\geq 96\%$) ont été achetés auprès de Sigma-Aldrich, Co, St. Louis, MO, USA.

3. Contamination par les pesticides : cas du diuron et du triclosan

Au cours de cette thèse on s'est intéressé à la contamination par deux pesticides ; le diuron et le triclosan (Fig. 27).

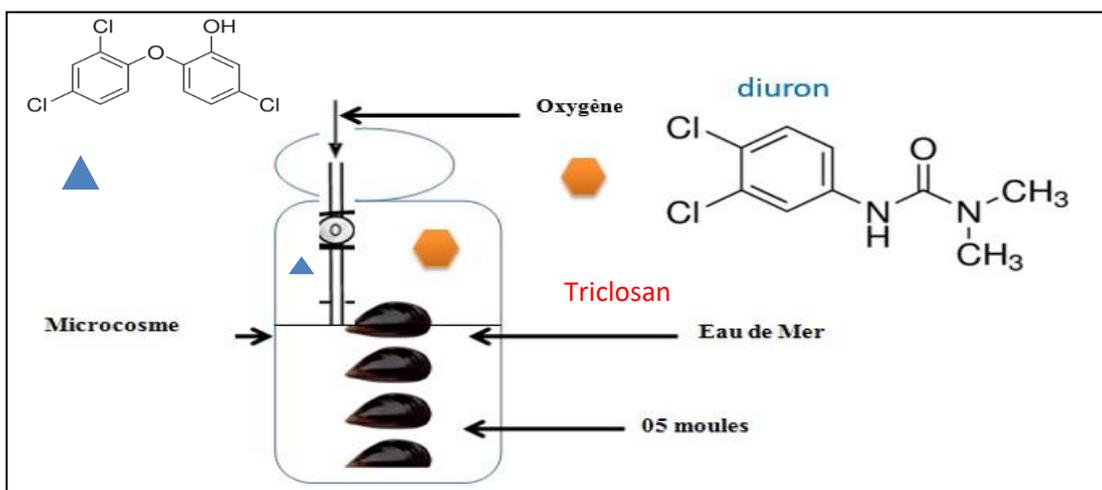


Figure 27: Expérience de contamination par le diuron et per le triclosan Pour se faire

18 microcosmes ont été préparés pour les pesticides considérés (Tab. 8).

Tableau 8 : Désignation des groupes d'aquariums considérés pour la contamination par les pesticides.

Control (témoins)	Aquariums non contaminés
DMSO	Aquariums traités par le diméthylsulfoxyde
Di1	Aquariums contaminés avec 50 µg/L de diuron
Di2	Aquariums contaminés avec 100 µg/L de diuron
TCS1	Aquariums contaminés avec 50 µg/L de triclosan
TCS2	Aquariums contaminés avec 100 µg/L de triclosan

4. Contamination par les mélanges

L'expérience de contamination par les mélanges correspond aussi bien au mélange binaire de nanoparticules (le ZnO, le Cu-ZnO, l'Au-ZnO, le TiO₂ et l'Au-TiO₂) avec les hydrocarbures aromatiques polycycliques (le Banth, le FL et le B(a)p) et que les nanoparticules (le ZnO, le Cu-ZnO, l'Au-ZnO, le TiO₂ et l'Au-TiO₂) avec le diuron et le triclosan.

➤ La première expérience (Fig. 28) concerne le mélange de nanoparticules avec les HAPs : pour se faire 45 microcosmes ont été préparés pour cette étude (Tab. 9).

Tableau 9 : Désignation des groupes d'aquariums traités par les mélanges de contaminants

ZnONP2+Banth2	Aquariums contaminés avec 100 µg/L de nanoparticules de ZnO et 100 µg/L de Benzanthracène
ZnONP2+FL2	Aquariums contaminés avec 100 µg/L de nanoparticules de ZnO et 100 µg/L de Fluoranthène
ZnONP2+B(a)p2	Aquariums contaminés avec 100 µg/L de nanoparticules de ZnO et 100 µg/L de Benzo(a)pyrène
Cu-ZnONP2+Banth2	Aquariums contaminés avec 100 µg/L de nanoparticules de Cu-ZnO et 100 µg/L de Benzanthracène
Cu-ZnONP2+FL2	Aquariums contaminés avec 100 µg/L de nanoparticules de Cu-ZnO et 100 µg/L de Fluoranthène
Cu-ZnONP2+B(a)p2	Aquariums contaminés avec 100 µg/L de nanoparticules de ZnO et 100 µg/L de Benzo(a)pyrène
Au-ZnONP2+Banth2	Aquariums contaminés avec 100 µg/L de nanoparticules d'Au-ZnO et 100 µg/L de Benzanthracène
Au-ZnONP2+FL2	Aquariums contaminés avec 100 µg/L de nanoparticules d'Au-ZnO et 100 µg/L de Fluoranthène
Au-ZnONP2+B(a)p2	Aquariums contaminés avec 100 µg/L ZnO de nanoparticules d'Au-ZnO et 100 µg/L de Benzo(a)pyrène
TiO ₂ NP2+Banth2	Aquariums contaminés avec 100 µg/L de nanoparticules de TiO ₂ et 100 µg/L de Benzanthracène

TiO ₂ NP2+FL2	Aquariums contaminés avec 100 µg/L de nanoparticules de TiO ₂ et 100 µg/L de Fluoranthène
TiO ₂ NP2+B(a)p2	Aquariums contaminés avec 100 µg/L de nanoparticules de TiO ₂ et 100 µg/L de Benzo(a)pyrène
AuTiO ₂ NP2+Banth2	Aquariums contaminés avec 100 µg/L de nanoparticules d'Au-TiO ₂ et 100 µg/L de Benzanthracène
Au-TiO ₂ NP2+FL2	Aquariums contaminés avec 100 µg/L de nanoparticules d'Au-TiO ₂ et 100 µg/L de Fluoranthène
Au-TiO ₂ NP2+B(a)p2	Aquariums contaminés avec 100 µg/L de nanoparticules d'AuTiO ₂ et 100 µg/L de Benzo(a)pyrène

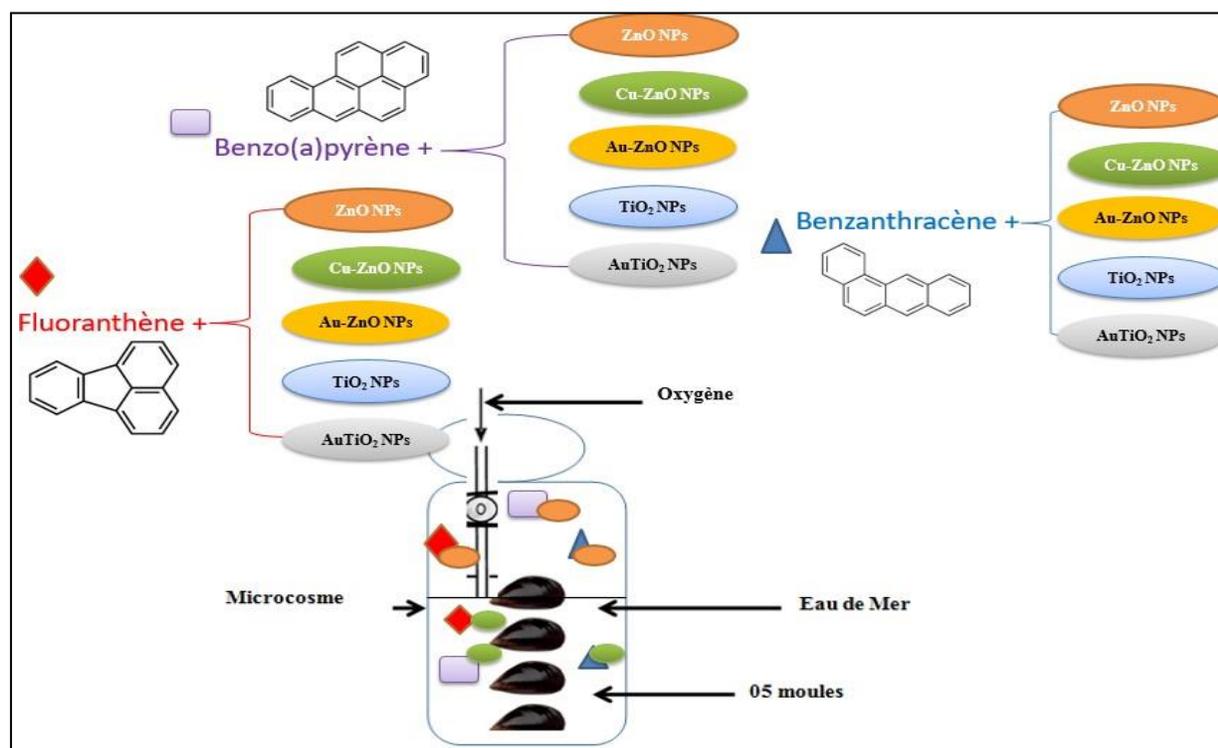


Figure 28: Expérience de contamination des moules par les mélanges de nanoparticules avec les hydrocarbures aromatiques polycycliques

- La deuxième expérience (Fig. 29) consiste à contaminer les moules par des mélanges de nanoparticules avec le diuron et le triclosan (Tab. 10).

Tableau 10 : Désignation des groupes d'aquariums considérés pour la contamination par le mélange de nanoparticules avec le diuron et le triclosan.

ZnONP2+ Di2	Aquariums contaminés avec 100 µg/L de nanoparticules de ZnO avec 100 µg/L de diuron
ZnONP2+ TCS2	Aquariums contaminés avec 100 µg/L de nanoparticules de ZnO avec 100 µg/L de triclosan
CuZnONP2+ Di2	Aquariums contaminés avec 100 µg/L de nanoparticules de CuZnO avec 100 µg/L de diuron
CuZnONP2+ TCS2	Aquariums contaminés avec 100 µg/L de nanoparticules de CuZnO avec 100 µg/L de triclosan
AuZnONP2+ Di2	Aquariums contaminés avec 100 µg/L de nanoparticules d'AuZnO avec 100 µg/L de diuron
AuZnONP2+ TCS2	Aquariums contaminés avec 100 µg/L de nanoparticules d'AuZnO avec 100 µg/L de triclosan
TiO ₂ NP2+ Di2	Aquariums contaminés avec 100 µg/L de nanoparticules de TiO ₂ avec 100 µg/L de diuron
TiO ₂ NP2+ TCS2	Aquariums contaminés avec 100 µg/L de nanoparticules de TiO ₂ avec 100 µg/L de triclosan
AuTiO ₂ NP2+ Di2	Aquariums contaminés avec 100 µg/L de nanoparticules d'AuTiO ₂ avec 100 µg/L de diuron
AuTiO ₂ NP2+ TCS2	Aquariums contaminés avec 100 µg/L de nanoparticules d'AuTiO ₂ avec 100 µg/L de Triclosan

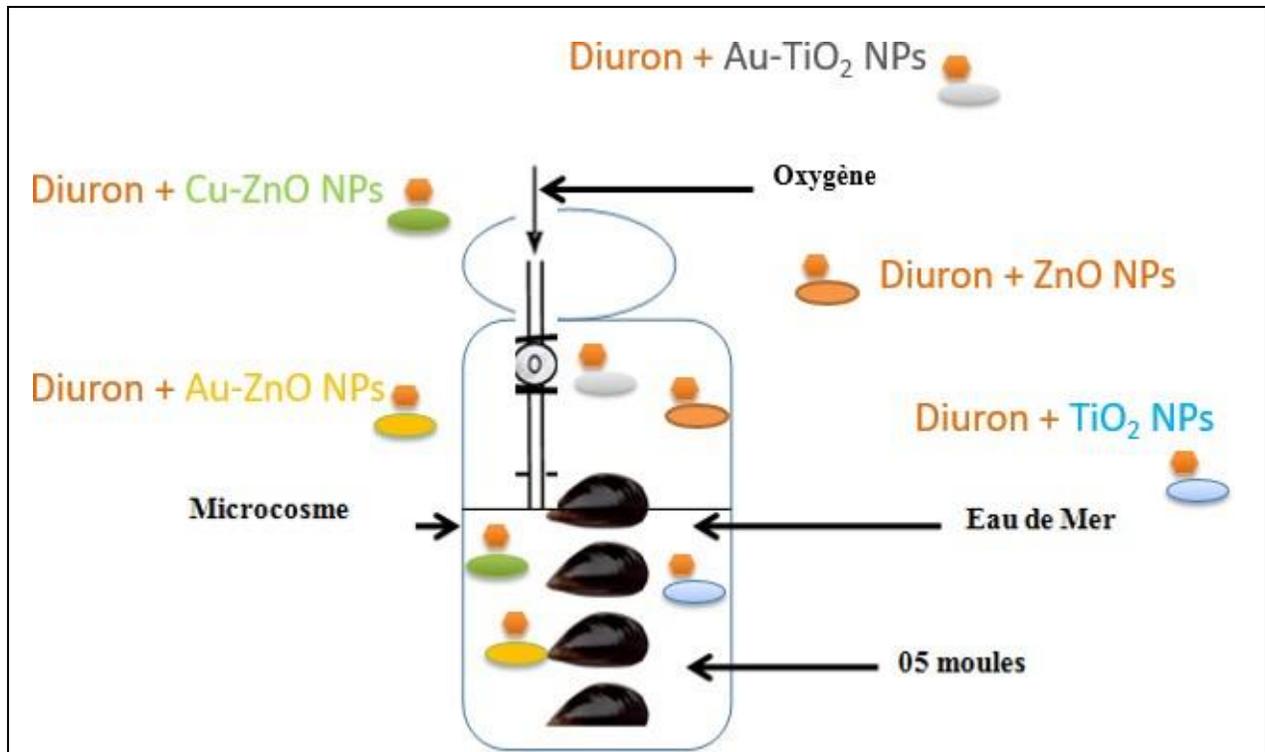


Figure 29 : Expérience de contamination des moules par les mélanges binaires : cas des nanoparticules avec le diuron

5. Etude écotoxicologique

Au cours de cette thèse l'impact des nanoparticules, des HAPs, de diuron et des mélanges est étudié au niveau physiologique par le biais de la capacité de filtration et la capacité de respiration et biochimique par le biais des activités enzymatiques.

5.1. Détermination de la capacité de filtration et de respiration chez les moules

La capacité de filtration chez les moules non traitées et traitées par les nanoparticules (ZnO NPs, Cu-ZnO NPs, Au-ZnO NPs, TiO₂ NPs et Au-TiO₂ NPs), les HAPs (Benanthracène, Fluoranthène et benzo(a)pyrène), les pesticides (le diuron et le triclosan) et les mélanges binaires de nanoparticules avec les HAPs et les pesticides est mesurée selon la méthode de Coughlan, 1969 (Fig. 30).

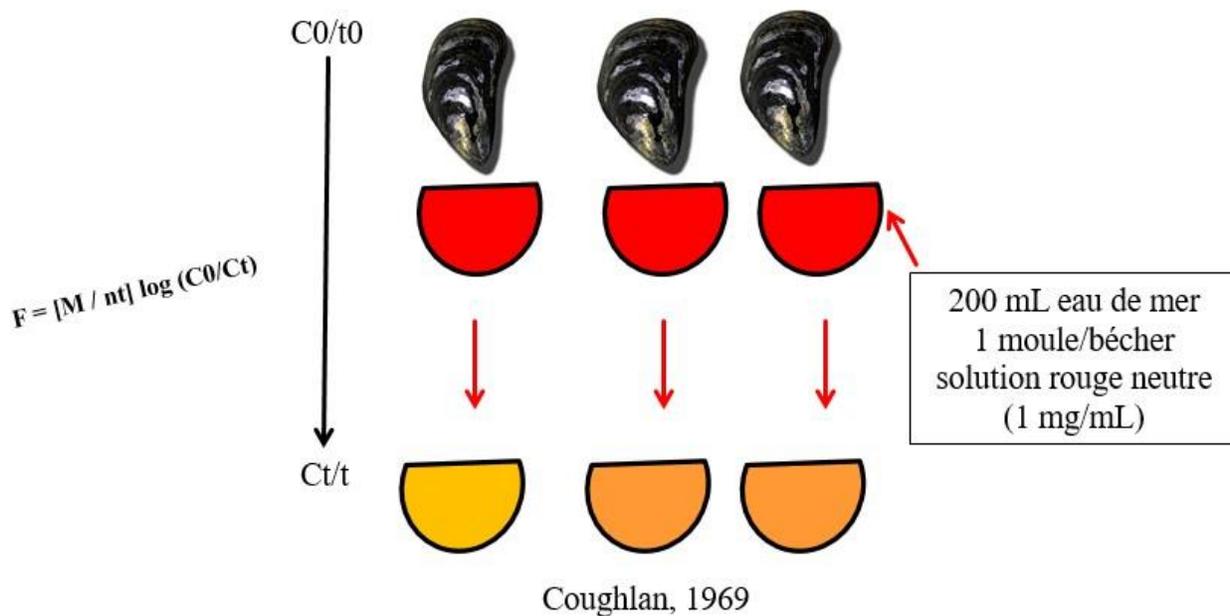


Figure 30: Détermination de la capacité de filtration selon la méthode de Coughlan, 1969

La capacité de filtration est mesurée en suivant la disparition des particules du colorant rouge neutre introduites dans la colonne d'eau en présence de la moule. Après l'exposition à différentes conditions expérimentales, cinq moules de chaque traitement ont été placés dans des béchers de 200 mL (1 moule par bécher) contenant 100 ml d'une solution de rouge neutre (1 mg/mL) à l'abri de la lumière pendant 2 heures. Un échantillon d'eau a été retiré au préalable de chaque bécher pour déterminer la concentration initiale réelle de rouge neutre (C_0). Après 2 h, les moules ont été retirées et la concentration de rouge neutre restante (C_t) a été déterminée, pour chaque bécher par mesure de l'absorbance à 530 nm. La vitesse de filtration, exprimée en $\text{mg animal}^{-1} \text{ h}^{-1}$, a été déterminée selon la formule suivante (Equation 1):

$$F = [M / nt] \log (C_0/C_t) \quad \text{Equation 1}$$

Où F est la vitesse de filtration, M est le volume de la solution d'essai, n est le nombre de moules utilisés, t est le temps de l'expérience exprimé en heure, C_0 et C_t sont les concentrations initiale

et finale du colorant.

La capacité de respiration des moules non traitées et traitées est mesurée selon la méthode de Basti *et al.*, 2016. En effet après 2 heures d'exposition aux nanoparticules, aux HAPs, au diuronet aux mélanges de contaminants, le taux d'oxygène est déterminé dans des chambres dépourvues de la lumière et équipée d'une sonde d'oxygène. La capacité de respiration est estimée en appliquant la formule suivante (**Equation 2**):

$$R = [C_{t_0} - C_{t_i}] \times V / (t_i - t_0) \quad \text{Equation 2}$$

Où

R = Taux de respiration (mg O₂ h⁻¹)

C_t = Concentration d'oxygène dans l'eau (mg O₂ L⁻¹) à un instant t₀ = temps initial et t_i temps final

V = Volume total de l'eau de mer dans les chambres dépourvues de la lumière.

5.2. Détermination des protéines totales chez les moules

Après 14 jours d'exposition, les moules non traitées et traitées sont ouvertes en écartant les deux valves après incision de leurs muscles à l'aide d'un scalpel. Les glandes digestives et les branchies ont été prélevées dans la glace et placées dans des piluliers et serviront pour le broyage. Ce dernier a été effectué à l'aide d'un ultra Turrax dans 3 volumes d'une solution tampon contenant (10 mM Tris/HCl (pH 7.2), 500 mM saccharose, 1 mM EDTA et 1mM PMSF). L'homogénat obtenu est centrifugé à 20 000g pendant 30 minutes à 4°C pour obtenir une fraction aqueuse post-mitochondriale. Le dosage des protéines totales est effectué pour cette fraction selon la méthode de Bradford (1976) en raison de sa fiabilité et sa large utilisation.

Le bleu de coomassie, utilisé comme réactif, réagit avec les protéines de la fraction aqueuse pour donner un complexe bleu qui absorbe à une longueur d'onde de 595 nm. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de protéines présente dans chaque échantillon. La

préparation de la gamme étalon a été réalisée avec de l'albumine sérique et les échantillons ont été dilués au dixième avec un tampon d'homogénéisation spécifique à chaque biomarqueur. 250 μL de la gamme étalon ont été ajoutés à 750 μL de bleu de coomassie et 10 μL de l'échantillon dilué au dixième par la solution tampon. A partir de ce mélange, 50 μL ont été prélevés et ajoutés à 200 μL du solution tampon et 750 μL de bleu de coomassie afin d'obtenir un complexe qui absorbe à 595 nm.

5.3. Détermination de l'activité superoxyde dismutase (SOD)

La superoxyde dismutase (SOD) est une métalloenzyme qui forme la première ligne de défense contre les espèces réactives de l'oxygène (ROS). Cette protéine catalyse la dismutation du l'anion superoxyde (O_2^-) en oxygène moléculaire et peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) [Figure 31a] et diminue le taux de l' O_2^- qui endommage les cellules à une concentration excessive (Kangralkar *et al.*, 2010). Cette réaction s'accompagne d'une réaction d'oxydo-réduction alternative des ions métalliques présents dans le site actif du SOD (Yasui et Baba, 2006). En se basant sur le cofacteur présent dans le site actif, la SOD peut être classée en quatre groupes distincts: Cuivre-Zinc-SOD (Cu, Zn-SOD) [Figure 31b], fer SOD (Fe-SOD), manganèse SOD (Mn-SOD), et Nickel SOD (McCord et Fridovich, 1969; Tainer *et al.*, 1983). Les différentes formes du SOD sont inégalement répartis dans tous les règnes biologiques et sont situés dans différents compartiments subcellulaires (Miller, 2001; Youn, *et al.*, 1996).

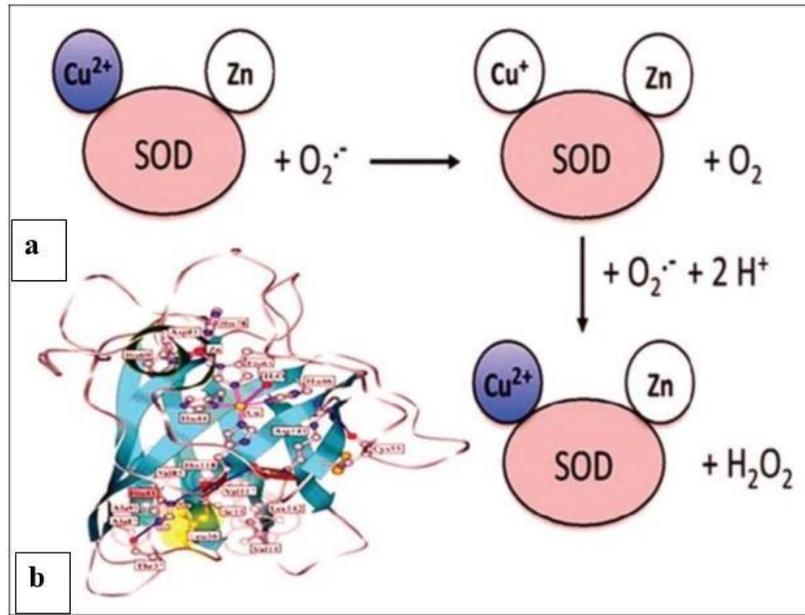


Figure 31: (a) Le mécanisme catalytique pour la dismutation de l'O₂^{•-} par la superoxyde dismutase (SOD). (b) Structure des sous-unités de Cu, Zn-SOD du bovin (Younus, 2018).

La détermination de l'activité SOD est effectuée au cours de ce travail selon la méthode de Marklund et Marklund, 1974. Cette méthode est basée sur la capacité de la SOD à inhiber l'auto-oxydation du pyrogallol dans une solution tampon Tris-succinate (50 mM). Le tampon a été aéré pendant 1 h avant usage. L'oxydation du pyrogallol est surveillée en mesurant l'absorbance à 420 nm et 1 U de l'activité SOD est définie comme une inhibition de 50% du processus d'oxydation. L'activité SOD est déterminée à l'aide de la formule suivante (Equation 3) :

$$\text{Activité SOD} = \left(\frac{\Delta Do \text{ blanc}}{\Delta Do \text{ échantillon}} - 1 \right) = U_{\text{SOD}} / t / v \quad \text{Équation 3}$$

$(U_{\text{SOD}}/t / v) / [\text{prot}] = U \text{ SOD}/\text{min}/\text{mg} \text{ protéines}$

$\Delta \text{ DO}$: Variation de la densité optique

v : représente le volume de l'échantillon a ajouté

[prot] : la quantité de protéines dans le volume de l'échantillon.

5.4. Détermination de l'activité CAT

La catalase est une enzyme oxydoréductase qui joue un rôle crucial dans la désactivation des espèces réactives de l'oxygène (ERO), essentiellement le peroxyde d'hydrogène, souvent produit comme sous-produit de la respiration aérobie (Beers and Sizer, 1952). Par conséquent, il agit comme un antioxydant et protège la cellule contre le stress oxydatif (Abbott *et al.*, 2009). La catalase est une molécule hydrolysant plus d'un million de molécules du substrat, par seconde. La catalase est un tétramère (Fig. 32) de quatre chaînes polypeptidiques, chacune de plus de 500 acides aminés longs. Il contient quatre groupes d'hème de porphyrine (fer) qui laisse l'enzyme réagir avec le peroxyde d'hydrogène.

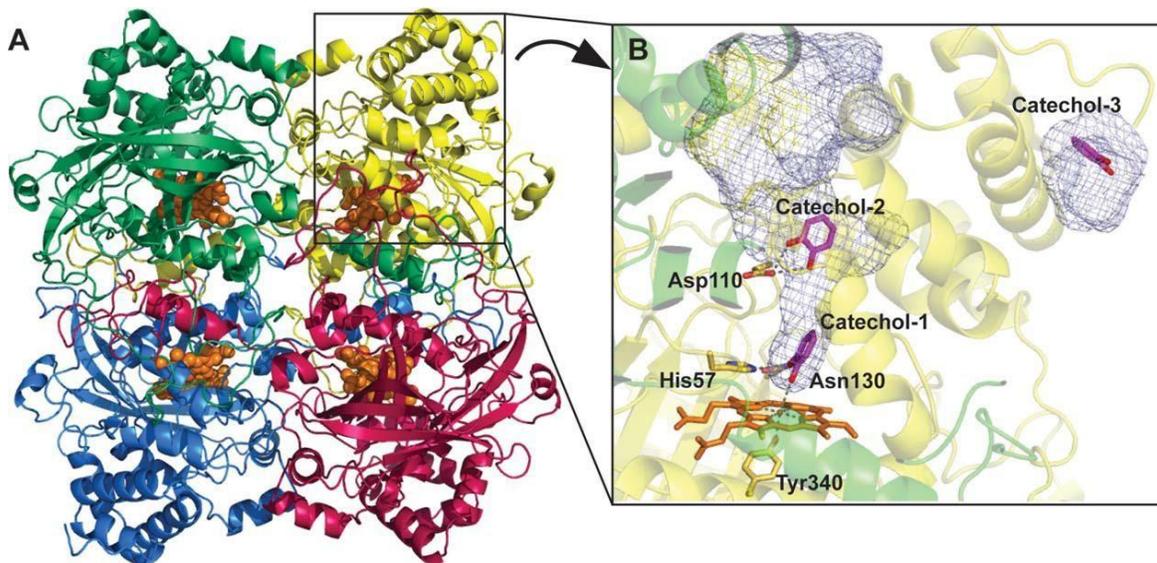
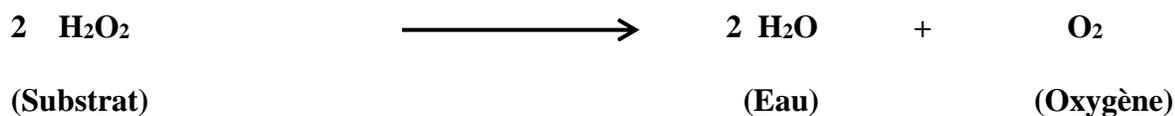


Figure 32 : a) Structure de la catalase et de son canal principal, b) zoom sur une partie de la molécule (Loewen *et al.*, 2015)

La catalase est généralement située dans un organite cellulaire et bipolaire de l'environnement appelé le peroxysome (Fita et Rossmann, 1985).

Le mécanisme de base du fonctionnement de cette enzyme implique la décomposition subséquente du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en oxygène et en eau, soulageant ainsi le stress oxydatif causé par ce substrat comme illustré dans réaction ci-dessous (Barynin *et al.*, 2001).



Au cours du présent travail, l'activité de la catalase est mesurée en suivant la décomposition de H₂O₂. La décomposition du H₂O₂ par la catalase peut être suivie directement par la diminution en extinction par unité de temps à 240 nm. La différence d'extinction par unité de temps est la mesure de l'activité de la catalase. Une unité (U) de l'activité catalase est définie comme la quantité d'enzyme qui a causé un changement d'absorbance de 0,001 / min (Aebi, 1984).

5.5. Peroxydation lipidique et le malondialdéhyde (MDA)

La peroxydation lipidique est une réaction en chaîne qui se produit lors d'un stress oxydatif conduisant à la formation de divers composés actifs, y compris le propanediol et le 4-hydroxynonéal (HNE) entraînant des dommages cellulaires. La peroxydation lipidique peut être initiée par toute espèce chimique qui peut extraire un atome d'hydrogène de la chaîne latérale d'un acide gras polyinsaturé (AGPI) qui est généralement présent dans les membranes cellulaires (Singh *et al.*, 2014). Les peroxydes lipidiques, dérivés d'acides gras polyinsaturés, sont instables. Ils peuvent facilement se décomposer pour former une série de composés, qui comprennent le malondialdéhyde (MDA). Le MDA est le principal métabolite de l'acide arachidonique et sert de biomarqueur fiable pour stress oxydatif. Le MDA (Fig. 33) est un agent mutagène et produit de trois carbondialdéhyde hautement réactif lors de la peroxydation d'acides gras polyinsaturés et du

métabolisme de l'acide arachidonique. Le MDA est aussi généré lors de la dégradation de l'endoperoxyde de prostaglandine (PGH₂) en 12-hydroxyheptadécatriénate (HHT). Il a la formule moléculaire C₃H₄O₂ et a une masse molaire de 72,02 g mol⁻¹ et un point d'ébullition de 108°C. Les points de fusion se situent entre 72-74 °C (IARC, 1986). L'aspect générale du MDA est solide et sous forme d'aiguille. Il a une valeur pKa de 4,46 et existe en base conjuguée (-O-CH = CH - CHO) (IARC, 1986).

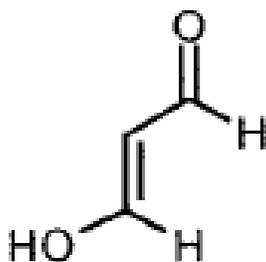


Figure 33 : Structure chimique du malondialdéhyde (MDA) (Niedernhofer *et al.*, 2003)

Le MDA participe à différentes réactions biologiques à l'intérieur des cellules, y compris la formation de liaison covalente avec les protéines, l'ARN et l'ADN (Chole *et al.*, 2010).

La détermination du taux de MDA au cours de cette thèse est effectuée selon la méthode de Buege et Aust (1978) en termes d'espèces réactives à l'acide thiobarbiturique, en utilisant le malondialdéhyde (MDA) comme standard. L'absorbance a été lue à 535 nm et la peroxydation lipidique a été exprimée en nMol de malondialdéhyde (MDA) / mg de protéines.

5.6. Détermination de l'activité Acétylcholinéstorasique

L'acétylcholinéstorase (AChE) (Fig. 34) est une enzyme qui catalyse sélectivement la liaison ester dans l'acétylcholine par hydrolyse au niveau de la fente synaptique pour arrêter son rôle de transmission d'impulsions. En conséquence, l'activation des neurones cholinergiques revient à l'état de repos (Williams *et al.* 2011). De plus, l'AChE régule la neurotransmission cholinergique chez les vertébrés en inactivant l'acétylcholine immédiatement après la libération de neurones

présynaptiques (Pope et Brimijoin, 2018).

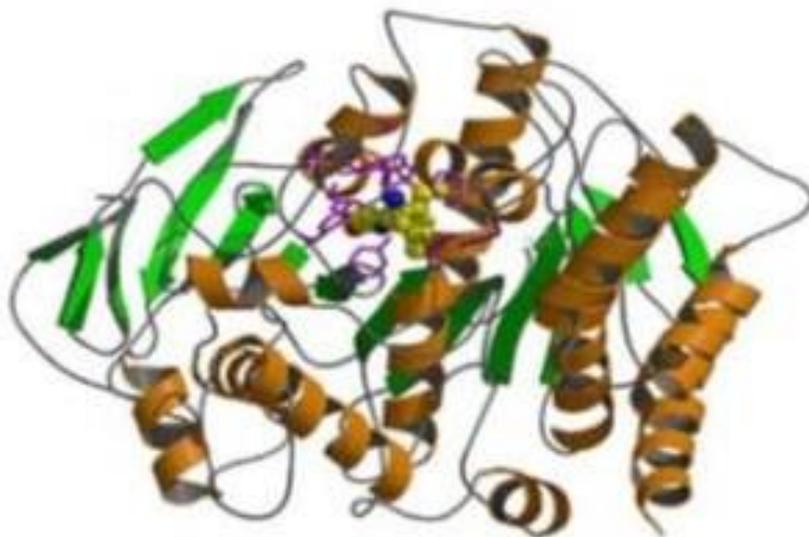


Figure 34 : Structure de l'Acétylcholinestérase (Zaki *et al.*, 2020)

L'AChE lyse l'acétylcholine à un rythme très rapide (jusqu'à 10 000 molécules par seconde). L'enzyme a principalement deux sites actifs, un site périphérique anionique (SPA) et un site catalytique actif (SCA), pour la liaison au substrat. L'AChE séquestre temporairement l'interaction SPA par une interaction de type π -cation entre le tryptophane sur la surface de l'enzyme et l'amine quaternaire de l'AChE (Dvir *et al.*, 2010; Li *et al.*, 2016). Plus tard, une tétraédrique intermédiaire se forme au SCA par une réaction entre l'atome de l'oxygène du groupe acétyle et le résidu sérine – histidine – glutamate de l'enzyme par une liaison covalente (Fig. 35).

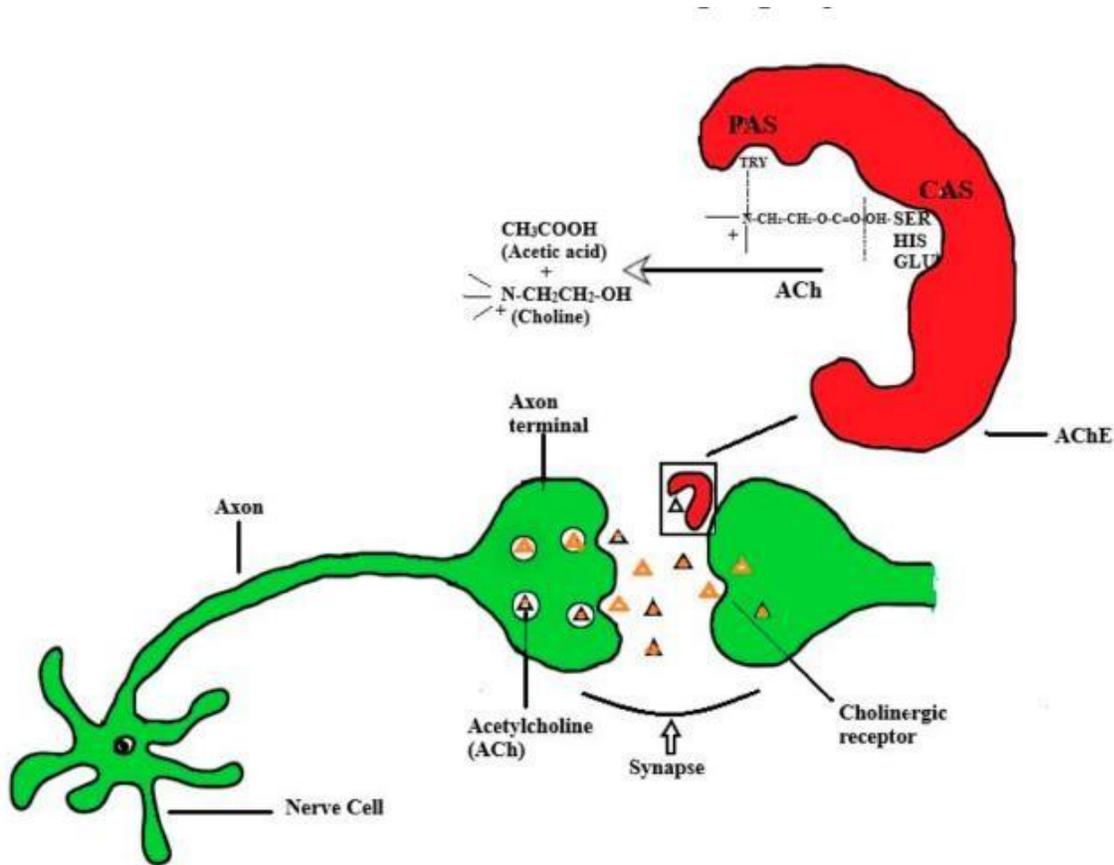


Figure 35 : Transmission de l'acétylcholine et action d'acétylcholinestérase (AChE) sur l'acétylcholine. ACh: acétylcholine; AChE: acétylcholinestérase; PAS: site anionique périphérique; CAS: site actif catalytique; TRY: tryptophane; SER: sérine; HIS: histidine; GLU: glutamate (Arya *et al.*, 2021).

Au cours de cette thèse la détermination de l'activité AChE est fondée sur la méthode décrite par Ellman *et al.* (1961) faisant intervenir le 5, 5, dithio-bis 2-nitrobenzoate (DTNB) qui réagit avec les thiols pour donner le 5-thio-2-nitrobenzoate (TNB) à un pH voisin de 8. L'activité spécifique (AS) de cette enzyme a été déterminée par la formule suivante (Equation 4) :

$$AS = \left(\frac{(\Delta DO / \text{min})}{\epsilon * L} \right) * \left(\frac{V_{\text{tot}}}{V_{\text{enz}}} \right) * 1000 / P_{\text{tot}} \quad \text{Equation 4}$$

Où :

DO: Densité optique.

ΔDO : pente de la droite de régression obtenue après hydrolyse du substrat en fonction du temps. ϵ :

Coefficient d'extinction molaire du DTNB ($1,36 \times 10^4$)

L : Epaisseur de la cuve (1 cm)

V_{tot}: Volume total en ml (surnageant + DTNB + tampon tris+ substrat acétylcholine).Venz:

Volume du surnageant (mL).

P tot: Quantité de protéines exprimée en mg.

6. Suivi de la photodégradation des hydrocarbures aromatiques polycycliques par les nanoparticules

Les activités photocatalytiques des nanoparticules ont été testées via la dégradation du benzanthracène, du fluoranthène et du benzo (a) pyrène, suite à une stimulation par des irradiations ultraviolettes. Dans chaque expérience, 10 mg du photocatalyseur a été dispersé sous agitation dans une solution aqueuse de 100 ml de benzanthracène ($C_{18}H_{12}$), de fluoranthène ($C_{18}H_{10}$) et du benzo (a) pyrène ($C_{20}H_{12}$) à 10 mg / L dans un réacteur en verre. Pour assurer l'équilibre adsorption-désorption, la solution a été agitée pendant 3 h à l'obscurité avant l'irradiation. La suspension sous agitation a été ensuite exposée à une lumière de 250 W/m^2 dans une chambre d'essai ATLAS Suntest XLS équipée d'une lampe Xénon. À chaque intervalle de temps (0 min, 60 min et 120 min), 1 mL de solution a été échantillonné puis filtré à travers un filtre de porosité $0,20 \mu\text{m}$ (Chromafil® PET- 20/25) pour éliminer la poudre de photocatalyseur. La concentration de benzanthracène, de fluoranthène et du benzo (a) pyrène a été déterminée en utilisant un Spectrophotomètre UV-visible de type Lambda 750 Starcky.

La cinétique de dégradation photocatalytique des différents produits testés est modélisée selon l'équation de Langmuir – Hinshelwood réduite à l'équation 5 :

$$\ln (C_0 / C_t) = k_{ap}t \quad \text{Equation 5}$$

Où C_0 et C_t étant les concentrations initial et instantané du benzanthracène, fluoranthène et du benzo (a) pyrène et k_{ap} étant la constante de vitesse apparente d'une réaction de pseudo- premier ordre.

7. Traitement statistique des données

L'analyse statistique des résultats enzymatiques et ceux de la réponse physiologique a été effectués en utilisant le logiciel STATISTICA version 8.0. En effet, le test ANOVA d'ordre 1 a été utilisé en cas d'homogénéité des variances pour mettre en évidence d'éventuelles différences significatives entre les conditions expérimentales.

Le test de la différence significative de Tukey, appelé aussi le test de la différence hautement significative, a été utilisé dans la présente étude pour des comparaisons multiples entre les différentes conditions.

CHAPITRE III

RESULTATS

ET

DISCUSSION

Partie A : EFFET D'UN SEUL CONTAMINANT

I : Contamination par les nanoparticules

1. Introduction

La présence et l'impact des nanoparticules (NPs) dans les milieux aquatiques ont attiré beaucoup d'attention ces dernières années (Feng *et al.*, 2020 ; Sellami *et al.*, 2017b ; Leite *et al.*, 2020). Les NPs peuvent atteindre le milieu marin soit directement (par dépôt aérien, déversement et ruissellement) ou indirectement (via les systèmes fluviaux). Leurs concentrations varient souvent des niveaux allant du ng/L pour les eaux de surface à quelques µg/L dans les effluents (Gottschalk *et al.*, 2009 ; Li *et al.*, 2017).

Arrivant au milieu marin, ces produits peuvent avoir un impact sur les organismes marins, en particulier les invertébrés (Farré *et al.*, 2009; Moore 2006). Ces derniers, notamment les bivalves, sont largement utilisés pour évaluer les effets aigus et chroniques des polluants, car leurs paramètres sont souvent en corrélation avec le degré de contamination du milieu (Canesi *et al.*, 2007 ; Banni *et al.*, 2010 ; Sellami *et al.* 2017a ; Li *et al.*, 2021).

La moule *Mytilus galloprovincialis* est utilisée comme modèle pour étudier la toxicité de plusieurs contaminants. Ce sont des bivalves benthiques qui habitent dans les environnements côtiers et qui se sont révélés comme espèces sensibles indicatrices de la pollution de ces milieux (Babaranti *et al.*, 2019 ; Bat *et al.*, 2019 ; Li *et al.*, 2019). Ainsi, les branchies et la glande digestive des moules sont couramment utilisées pour estimer l'impact des xénobiotiques sur la santé des moules et sur l'environnement (Manduzio *et al.*, 2004 ; Canesi *et al.*, 2007). Ces deux organes sont d'un intérêt particulier car ils sont impliqués dans la plupart des processus de biotransformation (Manduzio *et al.*, 2004). D'autre part, les réponses des biomarqueurs chez les bivalves représentent un outil de prédiction des effets toxicologiques des contaminants chimiques.

Plusieurs études ont montré que les produits chimiques sont responsables d'un déséquilibre oxydatif et des altérations enzymatiques (Mlouka *et al.*, 2019; Stara *et al.*, 2020). Les enzymes de défense contre le stress oxydant sont parmi les biomarqueurs les plus utilisés pour révéler le statut oxydatif des bivalves exposés à plusieurs contaminants. Ces enzymes représentent le principal système de défense associé à l'élimination des espèces réactives de l'oxygène (ROS) nocives. La production excessive des ROS peut induire des dommages oxydatifs dans la cellule altérant la membrane lipidique et inactivant les protéines. De ce fait les enzymes comme la catalase et le superoxyde dismutase sont impliqués pour se protéger contre les ROS.

L'acquisition des données sur l'impact écotoxicologique des nanoparticules particulièrement chez les bivalves en utilisant les activités enzymatiques liées aux ROS et au stress oxydant peut nous aider à mieux comprendre les mécanismes d'action de ces nano-objets et à mettre au point des stratégies de dépistage et de biosurveillance.

Au cours de cette partie nous traitons le comportement et les effets de cinq nanoparticules à savoir le ZnO, le Cu-ZnO, l'Au-ZnO, le TiO₂ et l'Au-TiO₂.

2. Comportement des nanoparticules dans la matrice environnementale

Le suivi des propriétés des NPs dans l'eau de mer après exposition constitue un élément essentiel pour souligner leurs stabilités dans la matrice environnementale. Dans la présente étude, la phase cristalline de la poudre brute de synthèse a été déterminée par DRX. La figure 36 montre les analyses en DRX des nanoparticules de ZnO, Cu-ZnO, Au-ZnO, TiO₂ et Au-TiO₂. Tous les pics de diffraction du ZnO et du ZnO dopé par le Cu sont indexés sur une structure hexagonale avec des pics caractéristiques (100), (002) et (101) (groupe d'espace P63 mc, JCPDS n° 36-1451) (Mezni *et al.* 2014a, b ; Fkiri *et al.* 2017). Pour les nanoparticules Au-ZnO, outre la diffraction des pics des nanoparticules de ZnO, deux petites intensités supplémentaires observés à $2\theta = 38,3^\circ$ et $44,2^\circ$ et affecté à la diffraction des plans (111) et (200) de nanoparticules d'Au cubiques à

faces centrées. La poudre de nanoparticules TiO_2 révèle des nanoparticules pures et bien cristallisées. Les pics correspondent à la phase tétragonale anatase TiO_2 (groupe d'espace 41/a m d, et les constantes de réseau $a = 3,7845\text{Å}$, $c = 9.5143\text{Å}$) (JCPDS21-1276) (Mezni *et al.* 2017). Pour l' Au-TiO_2 à côté des pics caractéristiques du TiO_2 , des pics supplémentaires sont détectés et peuvent être attribués à la structure cubique d' Au et par conséquent prouver la formation réussie de NPs d' AuTiO_2 . Ainsi, avec les pics de diffraction des nanoparticules de TiO_2 , trois pics de diffraction sont présents à $2\theta = 38,33$; $44,21$ et $64,79^\circ$ et ont été affectés, respectivement, à la diffraction des plans (111), (200) et (220) cubiques à faces centrées des nanoparticules d' Au (JCPDS n° 65- 2870) (Mezni *et al.*, 2019).

Les résultats de la DRX permettent de montrer que les poudres synthétisées sont cristallines.

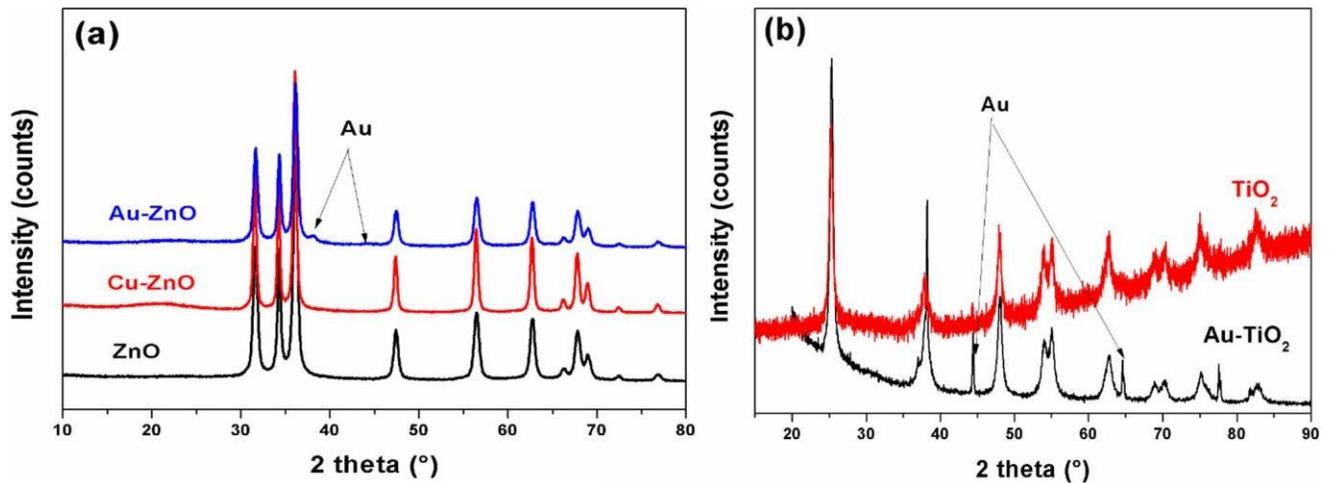


Figure 36: Diffraction des rayons X des nanoparticules de (a) ZnO, Cu-ZnO et Au-ZnO et (b) TiO_2 et Au-TiO_2

La figure 37 illustre la morphologie des nanoparticules synthétisées observées par MET dans de l'eau distillée et de l'eau de mer. En effet, les nanoparticules de ZnO et de ZnO dopé par

le Cu sont de formes quasi sphériques et de petites tailles. La taille moyenne des nanoparticules observée a été estimée entre 15 à 30 nm (Fig. 37a et b). La figure 37C montre que les nanoparticules d'Au-ZnO sont principalement composées d'Au quasi-sphérique (environ 20 à 50 nm) entourés de nanoparticules de ZnO (15-25 nm) de sorte que les matériaux hybrides peuvent être considérées comme des nanoparticules de ZnO de petite taille décorant les nanoparticules d'Au de grande taille (Au-ZnO) (Fkiri *et al.*, 2017). Les figures 37d et 37e montre que les nanoparticules de TiO₂ et d'Au-TiO₂ sont principalement constituées de noyaux d'or quasi-sphériques (environ 10-20 nm) entourés de nanoparticules de dioxyde de titane (15-25 nm) formant un revêtement avec une bonne dispersion. La taille moyenne du noyau d'Au et des nanoparticules de TiO₂ est environ 20 nm (Mezni *et al.*, 2019). Les morphologies des nanoparticules sont pratiquement les mêmes indépendamment du milieu : eau distillée ou eau de mer. Ce résultat indique la stabilité des nanoparticules préparées.

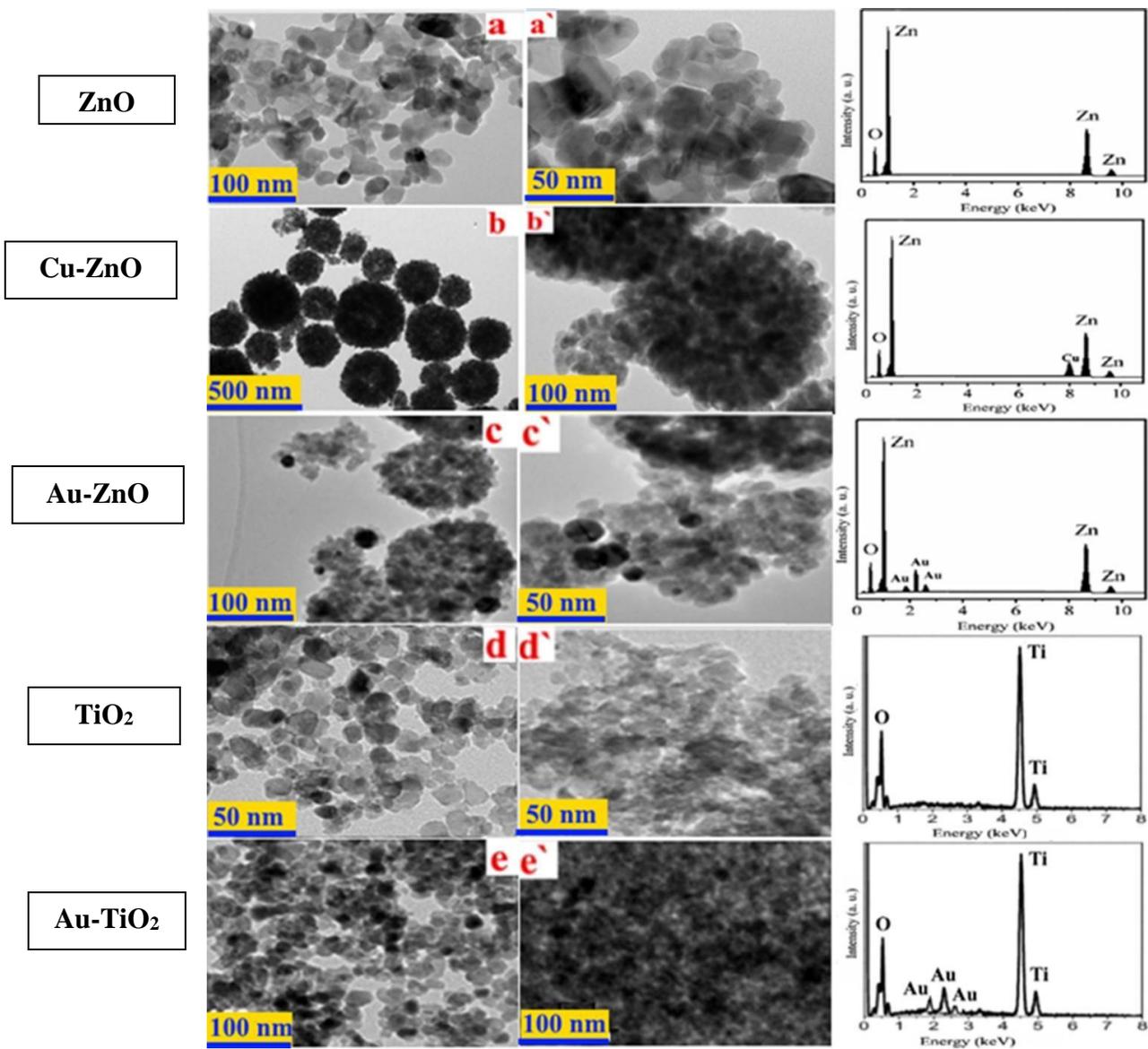


Figure 37: Images de microscopie électronique à transmission et spectre EDS des nanoparticules de ZnO, Cu-ZnO, Au-ZnO, TiO₂ et Au-TiO₂ dans l'eau distillée (a, b, c, d, e) et dans l'eau de mer (a', b', c', d', e')

La diffusion dynamique de la lumière (DLS) est une technique primordiale pour suivre les propriétés des NPs, en particulier le changement de taille avant et après incubation dans l'eau de mer. En effet, la taille des NPs est un paramètre important qui affecte directement l'activité

photocatalytique de ces nanomatériaux. La figure 38 montre le comportement granulométrique des 5 photocatalyseurs dans l'eau distillée (Fig. 38a) et dans l'eau de mer (Fig. 38b).

La taille de différents photocatalyseurs augmente après incubation dans l'eau de mer (Fig. 38b), un changement déjà anticipé en raison de la grande charge de l'eau de mer par rapport à l'eau distillée. En effet, il a été signalé que, dans l'eau de mer, la salinité élevée favorise l'agrégation (Batley *et al.*, 2013; Hull *et al.*, 2011). D'autre part, la taille de tous les photocatalyseurs reste inférieure à 100 nm, ce qui n'a pas d'effet sur les performances photocatalytiques des cinq nanoparticules (Fig. 38).

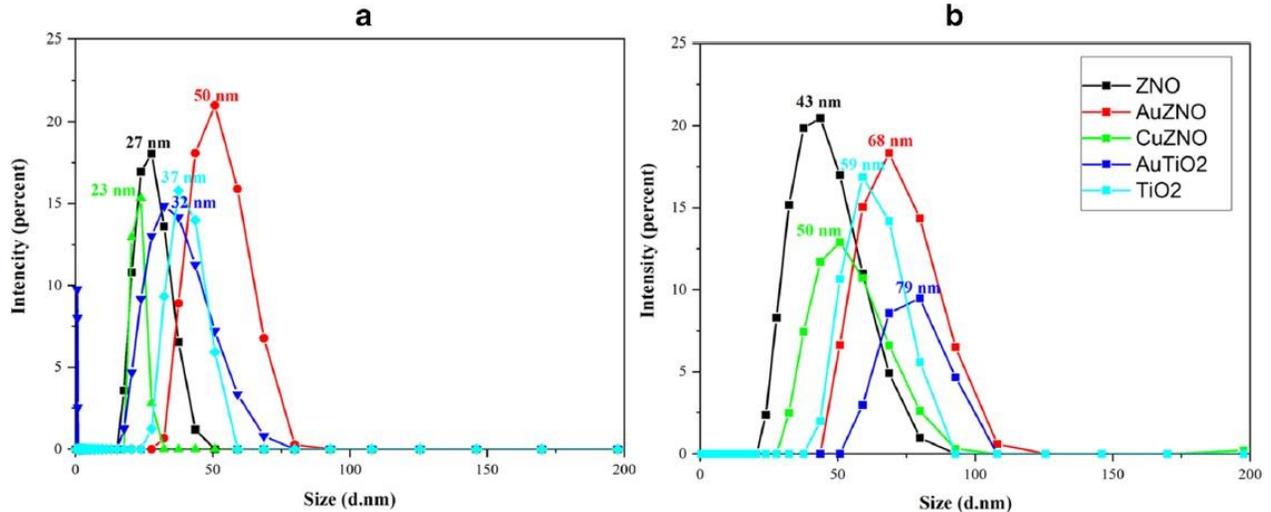


Figure 38: Spectres de diffusion dynamique de la lumière (DLS) des nanoparticules de ZnO, de Cu-ZnO, d’Au-ZnO, de TiO₂ et d’Au-TiO₂ dispersées dans l’eau distillée (a) et dans l’eau de mer

(b)

3. Effets écotoxicologiques des nanoparticules

3.1. Effets sur la réponse physiologique

Dans le présent travail, la réponse physiologique des moules à la contamination par les NPs de ZnO, de Cu-ZnO, d’Au-ZnO, de TiO₂ et d’Au-TiO₂ a été étudiée par le biais de la capacité de filtration (FR) et de respiration (RR). En effet, suite à l’exposition aux cinq formes de

nanoparticules, une altération physiologique a été observée (Fig. 39 et 40). Chez les individus non traités, la capacité de filtration est de $115 \pm 4,58 \text{ mg indiv}^{-1} \text{ h}^{-1}$ qui reste pratiquement non significativement variante ($p > 0,05$) après traitement par toutes les nanoparticules à une concentration de $50 \mu\text{g/L}$.

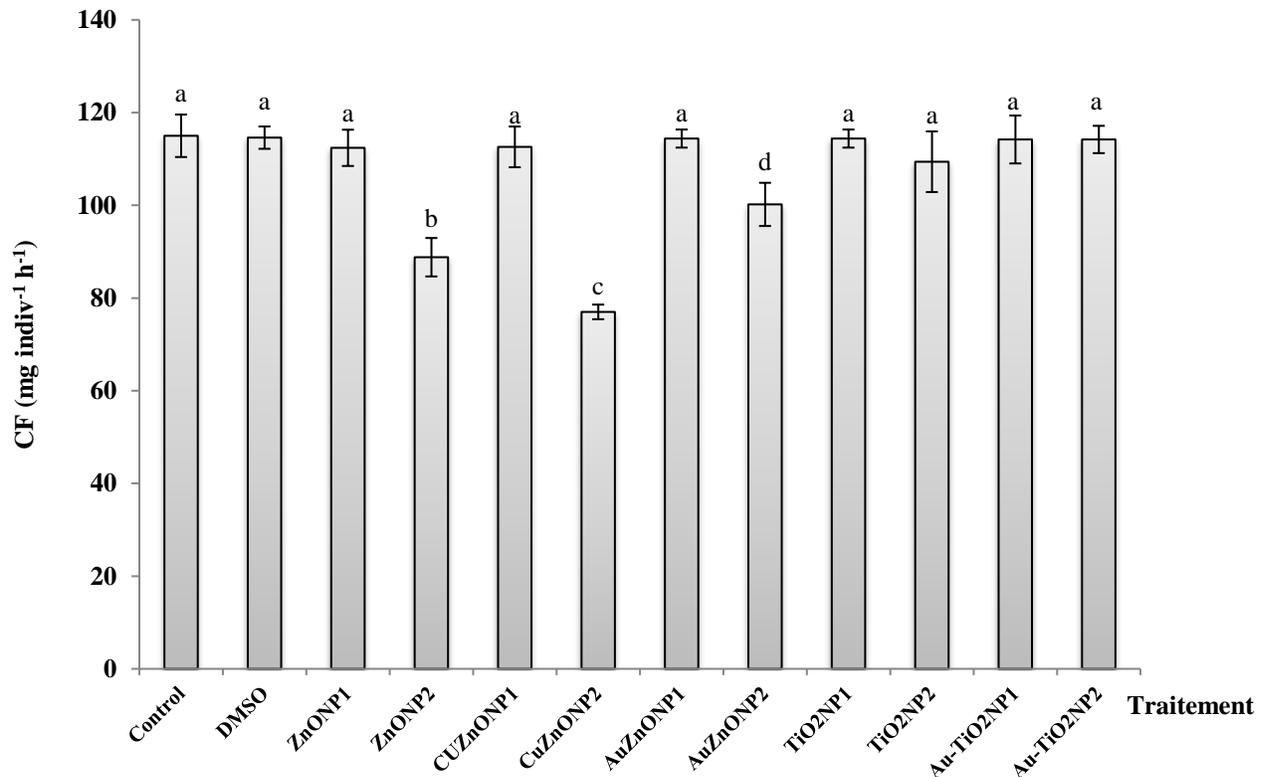


Figure 39 : Variation moyenne ($n = 5$) de la capacité de filtration (CF) des moules témoins et traitées durant 14 jours par $50 \mu\text{g/L}$ (1) et $100 \mu\text{g/L}$ (2) de nanoparticules de ZnO, de Cu-ZnO, d' Au-ZnO, de TiO₂ et d' Au-TiO₂. a, b, c et d : lettres indiquant des différences significatives ou non à $p < 0,05$.

Cependant, le traitement par $100 \mu\text{g/L}$ des nanoparticules de ZnO et de Cu-ZnO ont diminué la capacité de filtration pour atteindre respectivement $88,8 \pm 4,14 \text{ mg indiv}^{-1} \text{ h}^{-1}$ et $77 \pm 1,58 \text{ mg indiv}^{-1} \text{ h}^{-1}$.

Ces résultats montrent que la physiologie de la moule, notamment la capacité de filtration, peut être affectée en présence d'une contamination relativement élevée par les nanoparticules et que la réponse est dépendante du type et de la concentration des NPs. Nos résultats sont en accord avec les études de Trevisan *et al.* (2014) qui ont observé une diminution de la capacité de filtration des moules traitées par les nanoparticules de ZnO.

La réponse polluant et concentration dépendante est observée aussi pour la capacité de respiration. En effet, la capacité de respiration des moules témoins qui est de $0,698 \pm 0,06 \text{ mg O}_2 \text{ h}^{-1}$ est diminuée jusqu'aux $0,45 \pm 0,02$; $0,42 \pm 0,01$; $0,43 \pm 0,008$; $0,54 \pm 0,015 \text{ mg O}_2 \text{ h}^{-1}$ respectivement après le traitement par $100 \mu\text{g/L}$ de nanoparticules de ZnO, Cu-ZnO, Au-ZnO et AuTiO₂ (Fig. 40).

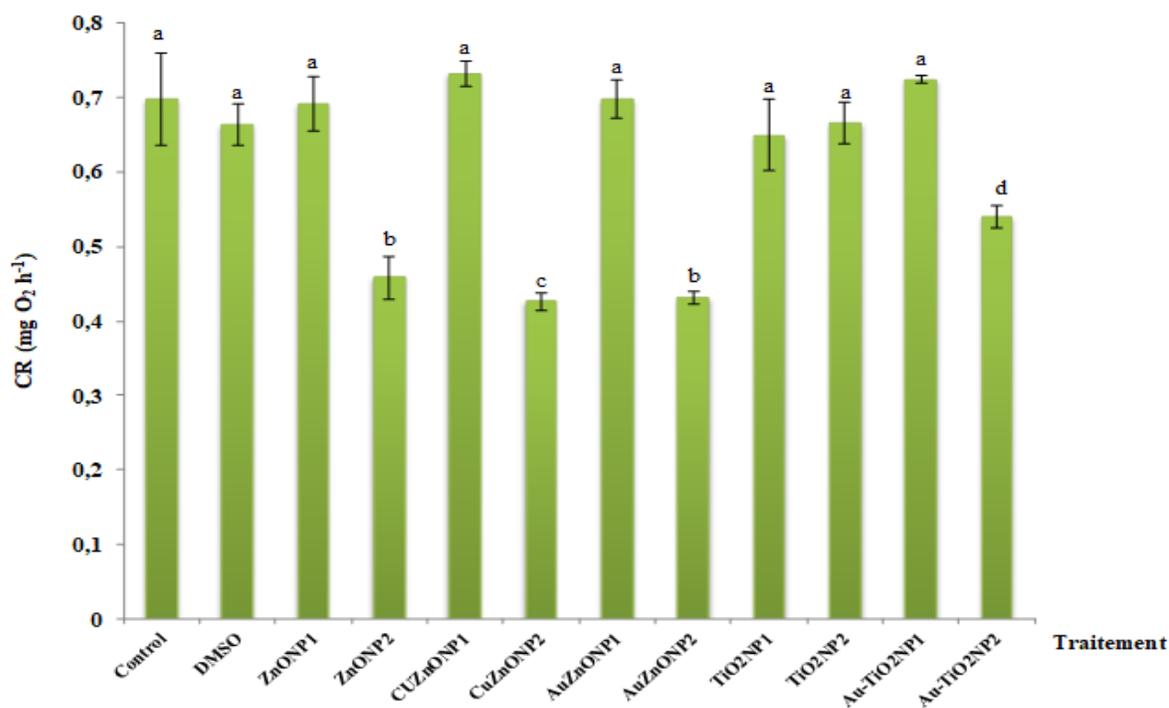


Figure 40 : Variation moyenne (n = 5) de la capacité de respiration (CR) des moules témoins et traitées durant 14 jours par $50 \mu\text{g/L}$ (1) et $100 \mu\text{g/L}$ (2) de nanoparticules de ZnO, de Cu-ZnO, d'Au-ZnO, de TiO₂ et d'Au-TiO₂. a, b, c et d : lettres indiquant des différences significatives ou non à $p < 0,05$.

Ces mesures physiologiques fournissent une indication concernant les conséquences probables des facteurs de stress environnementaux sur la population et sont considérées comme un moyen efficace pour quantifier l'impact des produits chimiques sur les mollusques bivalves (Bayne *et al.*, 1979; Donkin *et al.*, 1997). L'accent mis sur la physiologie des bivalves est une nouvelle tendance dans les tests biologiques utilisant des paramètres tels que la capacité de filtration et de respiration comme indicateurs de toxicité chimique (Saidani *et al.*, 2019). De plus, la capacité de filtration et le taux de respiration sont des paramètres physiologiques très importants pour expliquer l'adaptation et la flexibilité des moules après exposition à des facteurs de stress environnementaux. Dans la présente étude, la capacité de filtration et le taux de respiration ont diminué après exposition des moules à 100 µg/L de nanoparticules de ZnO et du Cu-ZnO. Ce résultat confirme que ces deux formes affectent l'état physiologique de la moule méditerranéenne *M. galloprovincialis*. De plus, la réduction est probablement liée à l'accumulation de NPs dans les tissus des moules ce qui pourrait diminuer l'absorption d'oxygène et la réduction subséquente de la production d'énergie cellulaire, comme supposé pour d'autres organismes exposés à des facteurs de stress environnementaux (Barboza *et al.*, 2018; Pacheco *et al.*, 2018). Nos résultats sont en bon accord avec une étude précédente faisant état d'une altération physiologique chez les moules *Mytilus edulis*, dépendante de la concentration des NPs (Donkin *et al.*, 1997). De même, Saidani *et al.* (2019) ont observé une diminution de la capacité de filtration et du taux de respiration chez les palourdes exposées aux NPs de TiO₂ et d'AuTiO₂. Ces auteurs ont suggéré que les NPs peuvent réduire la capacité des branchies à consommer de l'oxygène et à éliminer les particules. De plus, la contamination peut affecter le battement des cils et les muscles des branchies, qui sont sous le contrôle du système nerveux.

Nos observations montrent que *M. galloprovincialis* n'est pas capable de maintenir son

métabolisme aérobie normal sous l'exposition à 100 µg/L de NPs de ZnO et de Cu-ZnO, et ceci peut mettre l'accent sur la présence d'un mécanisme d'économie d'énergie qui sert à réduire son activité lorsqu'elle est exposée à des facteurs de stress.

3.2. Effets des nanoparticules sur la réponse des biomarqueurs du stress oxydant et de neurotoxicité des moules

3.2.1. Activité du superoxyde dismutase

L'activité du superoxyde dismutase (SOD) dans la glande digestive et les branchies des moules mesurées après 14 jours d'exposition à 50 et 100 µg/L de NPs de ZnO, de Cu-ZnO, d'Au-ZnO, de TiO₂ et d'Au-TiO₂ est illustrée dans la figure 41.

L'activité de ce biomarqueur a été modifiée en fonction de la nature et de la concentration du contaminant. En effet, l'activité SOD a augmenté d'une manière significative dans les glandes digestives des moules exposées à 100 µg/L de NPs par rapport aux moules témoins. La valeur la plus élevée est enregistrée après exposition à 100 µg/L de CuZnONPs. De plus, pour les autres formes de NPs, l'activité de cette enzyme a augmenté après exposition à la même concentration selon l'ordre suivant : AuZnONPs < ZnONPs < TiO₂NPs < AuTiO₂NPs. Le même profil d'augmentation a été observée au niveau des branchies avec une activité maximale de l'ordre de $1,97 \pm 0,19$ unité par mg de protéines enregistrée chez les moules traitées par 100 µg/L de nanoparticules de CuZnO par rapport à une activité de $0,87 \pm 0,2$ unité par mg de protéines enregistrée au niveau des branchies des moules témoins.

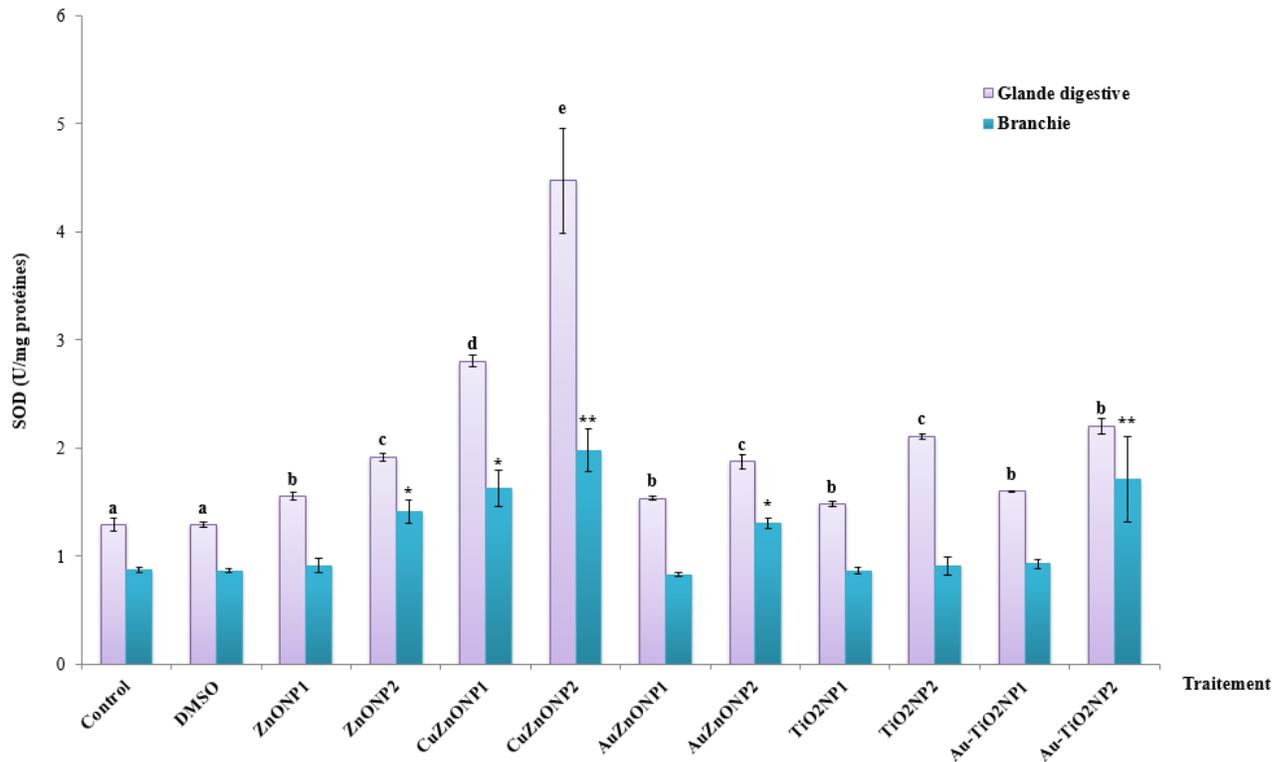
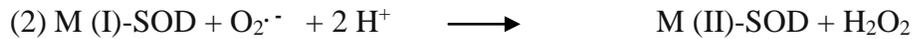
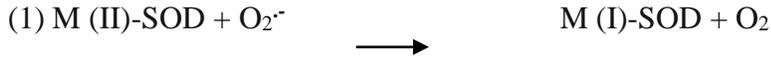


Figure 41: Variation moyenne (n = 5) de l'activité superoxyde dismutase (SOD) au niveau de la glande digestive et des branchies des moules témoins et traitées durant 14 jours par 50 µg/L (1) et 100 µg/L (2) de nanoparticules de ZnO, de Cu-ZnO, d'Au-ZnO, de TiO₂ et d'Au-TiO₂. a, b, c, d et e : lettres indiquant des différences significatives ou non à p < 0,05 au niveau de la glande digestive. * et ** indiquent des différences significatives respectivement à p < 0,05 et p < 0,01 au niveau des branchies.

Nos résultats sont en accord avec ceux rapportés chez les moules *Mytilus galloprovincialis* exposées à différents types et différentes concentrations de nanoparticules (Canesi *et al.*, 2010). Les auteurs ont suggéré qu'en raison des mécanismes physiologiques impliqués dans le processus d'alimentation, les NPs absorbées par les branchies sont dirigé vers la glande digestive, où l'absorption intracellulaire des NPs induit un stress oxydatif. De plus, l'augmentation de l'activité SOD confirme un état de stress oxydatif induit après exposition aux NPs, puisque cette enzyme

est impliquée dans la transformation de l'anion superoxyde selon les deux réactions suivantes :



Où M représente le cuivre et le fer (Valko *et al.*, 2005).

De plus, les modifications de l'activité SOD observée dans notre étude pourraient être liée à une dérégulation métallique après contamination aux nanoparticules principalement métalliques. En effet, la SOD est une métalloenzyme qui existe sous différents isoformes caractérisées par leurs métaux redox actifs aux niveaux des sites catalytiques. Chez les moules, l'isoforme Cu/Zn-SOD a été détecté dans les branchies et les glandes digestives et contribue à l'activité cytosolique de cette enzyme (Manduzio *et al.*, 2003). De plus, la modulation du SOD observée pourrait représenter une conséquence directe de l'activation du Cu/Zn-SOD. D'autre part, l'augmentation du SOD dans les deux tissus de la moule, indique que les NPs génèrent un stress oxydatif. Ainsi, les branchies et les glandes digestives sont sensibles aux polluants environnementaux et sont couramment utilisées comme organes cibles dans les études écotoxicologiques (Alazemi *et al.*, 1996 ; Canesi *et al.*, 2007; Gornati *et al.*, 2016). De plus, ces organes remplissent de nombreuses fonctions biologiques, telles que la respiration, l'osmorégulation, la digestion, l'excrétion des déchets et l'équilibre acido-basique (Alazemi *et al.*, 1996 ; Canesi *et al.*, 2007; Gornati *et al.*, 2016). Nos résultats indiquent que ces organes sont sensibles à la contamination par les NPs. Ajoutant à ce propos que la sensibilité des branchies pourrait être liée à leurs multiples fonctions et à leur position anatomique, agissant comme première barrière au contact des contaminants.

3.2.2. Activité de la catalase

La figure 42 illustre la variation moyenne de l'activité CAT au niveau des branchies et de la glande digestive des moules témoins et traitées durant 14 jours par deux concentrations de nanoparticules de ZnO, de Cu-ZnO, d'Au-ZnO, de TiO₂ et d'Au-TiO₂.

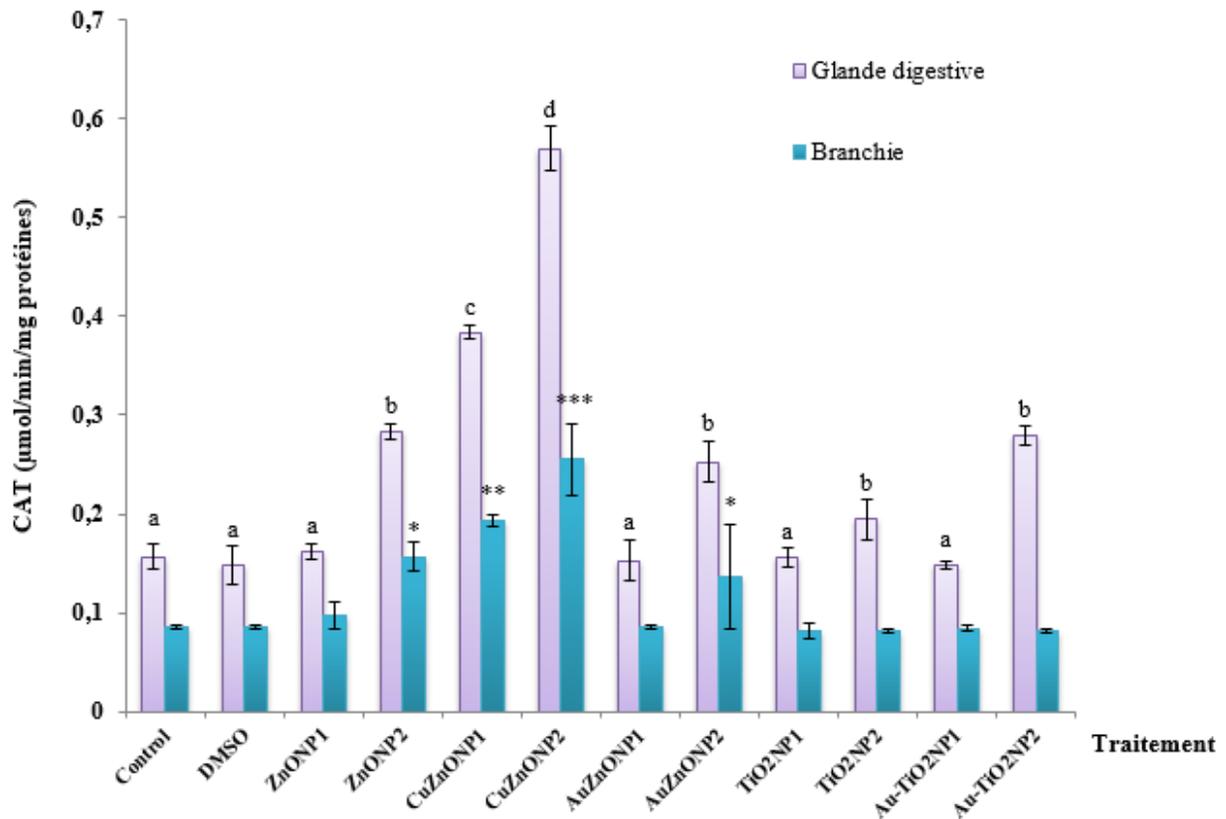


Figure 42: Variation moyenne (n = 5) de l'activité catalase (CAT) au niveau de la glande digestive et des branchies des moules témoins et traitées durant 14 jours par 50 μg/L (1) et 100 μg/L (2) de nanoparticules de ZnO, de Cu-ZnO, d'Au-ZnO, de TiO₂ et d'Au-TiO₂. a, b, c et d : lettres indiquant des différences significatives ou non à p < 0,05 au niveau de la glande digestive. *, ** et *** indiquent des différences significatives respectivement à p < 0,05 ; p < 0,01 et à p < 0,001 au niveau des branchies.

La catalase comme la SOD est une enzyme impliquée contre le stress oxydatif généré par les espèces réactives de l'oxygène, et particulièrement le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). En effet, cette enzyme est localisée dans les peroxysomes et catalyse la conversion du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en oxygène moléculaire (O₂) et en eau (Daoud *et al.*, 2012). Une augmentation de l'activité CAT observée dans la présente étude peut donc être liée à l'augmentation du taux de H₂O₂ dans les branchies et la glande digestive des moules. Ce résultat confirme que le degré du stress oxydatif est probablement une conséquence de la détoxification des ROS. Il est bien connu que les ROS peuvent réguler l'expression des enzymes antioxydantes (Takano *et al.*, 2003). De plus, la CAT est partiellement affectée par l'oxydation du Fe (IV) inactive ; l'anion superoxyde produit lors de la détoxification peut inverser la formation de ce composé inactif en réduisant le composé Fe (IV) inactif en Fe (III) actif (Zamocky et Koller, 1999).

Les résultats de l'activité CAT ont mis en évidence un stress oxydatif induit par les nanoparticules chez les moules exposées, conformément à une étude précédente qui a montré que les NPs sont responsables du stress oxydatif au niveau des branchies et la glande digestive de la palourde *Corbicula fluminea* (Renault *et al.*, 2008). De même, Cid *et al.*, (2015) ont montré que l'activité de la CAT augmente de manière concentration-dépendante chez la palourde *Corbicula fluminea* exposée aux NPs, suggérant que cette augmentation est liée à la production des ROS dans la glande digestive et à la pénétration des NPs dans les cellules digestives. Pan *et al.*, (2012) ont également montré que l'activité de cette enzyme augmente chez la palourde *Scrobicularia plana*, exposée à une concentration de 100 mg. L⁻¹ d'AuNPs, liant cette augmentation à l'activation du système de défense.

A l'inverse de l'activité SOD, aucune modification significative ($p > 0,05$) n'a été observée pour l'activité CAT dans les glandes digestives des moules traitées en présence de 50 µg/L de NPs à

l'exception de CuZnONP1 ($p = 0,000029$).

Les activités SOD et CAT ont montré une réponse différente, indiquant que le mode d'action des NPs dépend de leurs propriétés. Ce résultat est en accord avec les travaux de Canesi *et al.*, (2014), qui ont étudié la réponse des biomarqueurs après exposition de *M. galloprovincialis* aux NPs de TiO_2 et ont constaté que la réponse est dépendante du tissu et du biomarqueur étudié. De plus, les données relatives aux activités SOD et CAT appuient l'hypothèse que le stress oxydatif peut représenter un mécanisme de toxicité des NPs chez les moules.

La production excessive des ROS peut dépasser la capacité antioxydante et conduit à un état de dommage cellulaire altérant ou inactivant les protéines et les lipides membranaires. De plus, la quantification tissulaire du taux de malondialdéhyde (MDA) est un biomarqueur approprié pour l'estimation de la peroxydation lipidique (Ayala *et al.*, 2014).

3.2.3. Taux du malondialdéhyde (MDA) chez les moules traitées par les nanoparticules

Les taux de peroxydation lipidique, obtenus en mesurant le taux du malondialdéhyde (MDA), chez les moules exposées aux NPs de ZnO, de Cu-ZnO, d'Au-ZnO, de TiO_2 et d'Au- TiO_2 , montre un effet qui dépend de la nature du contaminant, de sa concentration et de l'organe considéré (Fig. 43). Ainsi, au cours de cette étude le taux de MDA mesuré au niveau de la glande digestive des moules témoins est de l'ordre de $2,66 \pm 0,73$ nMol/mg de protéines a augmenté à $3,27 \pm 0,2$ nMol/mg de protéines après exposition à $100 \mu\text{g/L}$ de NPs de ZnO pour atteindre une valeur maximale de $4,32 \pm 0,12$ nMol/mg de protéines suite à l'exposition à $100 \mu\text{g/L}$ de NPs de CuZnO.

La réponse concentration dépendante est observée après exposition à $50 \mu\text{g/L}$ et $100 \mu\text{g/L}$ de NPs de CuZnO où le taux de MDA s'élève avec l'augmentation de la concentration. Parallèlement, le taux de MDA a augmenté d'une manière significative ($p < 0,05$) après exposition à $100 \mu\text{g/L}$ de

NPs de ZnO, de Cu-ZnO et d'Au-TiO₂. Contrairement à la glande digestive, l'exposition à 50 µg/L et 100 µg/L de NPs d'AuZnO à moduler le taux de ce biomarqueur, mettant en évidence une réponse dépendante de l'organe et de la nature de NPs.

Le changement de la teneur en MDA confirme l'état oxydatif des moules dans les différentes conditions d'exposition. Nos résultats concordent avec des études antérieures, montrant que les nanoparticules peuvent provoquer des dommages membranaires chez les moules *Mytilus galloprovincialis* et *Mytilus coruscus*, suite à une augmentation des niveaux de malondialdéhyde (Sellami *et al.*, 2017 ; Huang *et al.*, 2018). Ce dommage peut également résulter de l'incapacité des moules à activer les enzymes antioxydantes et à éliminer les contaminants (Leite *et al.*, 2020). Dans la présente étude, l'augmentation du taux de MDA confirme donc le dommage cellulaire induit par les NPs.

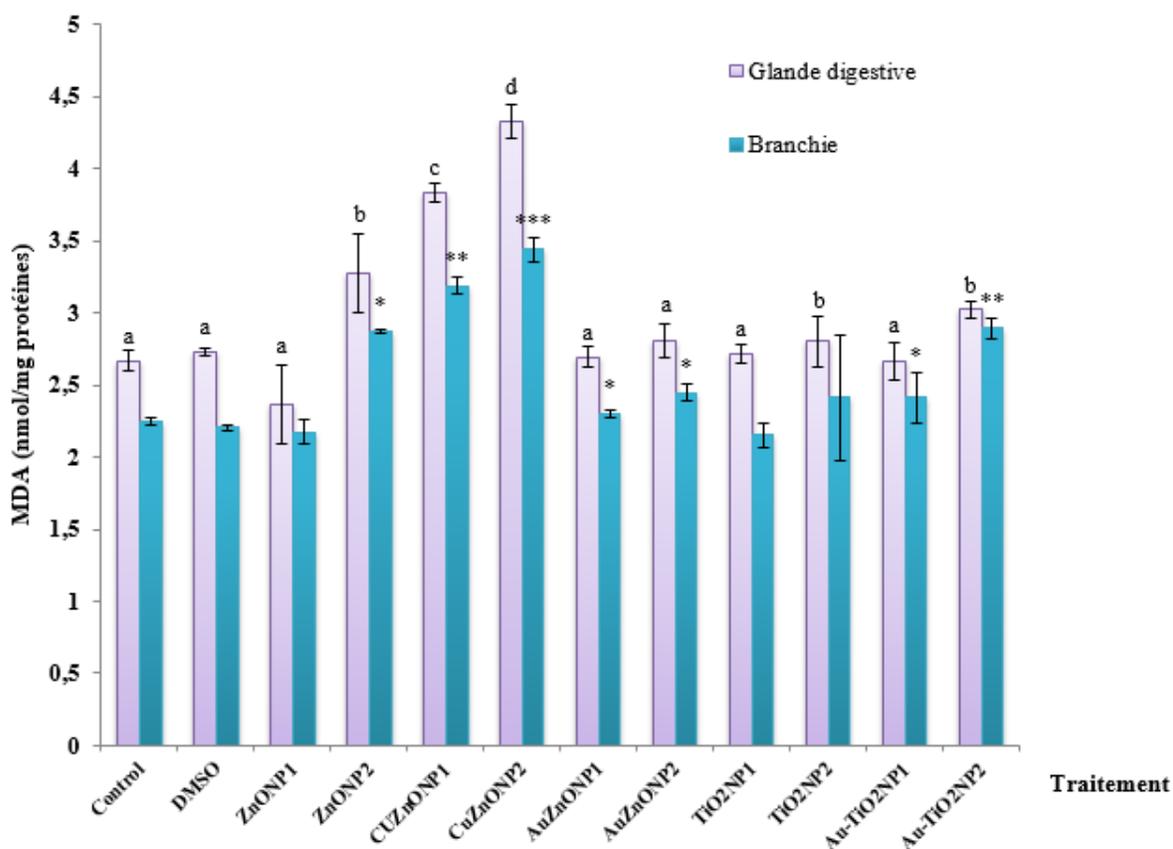


Figure 43: Variation moyenne (n = 5) du taux de malondialdéhyde (MDA) au niveau de la glande digestive et des branchies des moules témoins et traitées durant 14 jours par 50 µg/L (1) et 100 µg/L (2) de nanoparticules de ZnO, de Cu-ZnO, d’Au-ZnO, de TiO₂ et d’Au-TiO₂. a, b, c et d : lettres indiquant des différences significatives ou non à p < 0,05 au niveau de la glande digestive. *, ** et *** indiquent des différences significatives respectivement à p < 0,05 ; p < 0,01 et à p < 0,001 au niveau des branchies.

3.2.4. Activité acétylcholinéstorasique

La mesure de l’activité acétylcholinéstorase (AChE) au niveau des branchies et de la glande digestive des moules témoins et traitées par 50 µg/L et 100 µg/L de NPs de ZnO, de Cu-ZnO, d’Au-

ZnO, de TiO₂ et d’Au-TiO₂ montre que l’activité maximale est enregistrée chez les moules témoins (Fig.44). En effet, une activité de l’ordre de $1,53 \pm 0,2 \mu\text{Mol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines est enregistrée au niveau de la glande digestive alors qu’une activité de l’ordre de $0,98 \pm 0,02 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines est enregistrée au niveau des branchies des moules témoins.

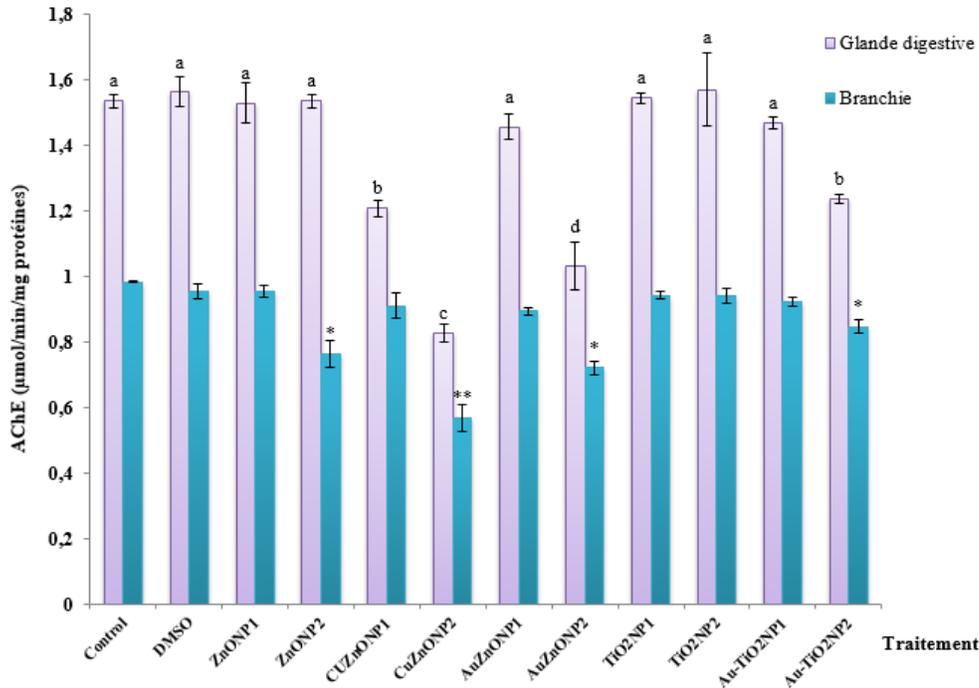


Figure 44: Variation moyenne (n = 5) de l’activité acétylcholinestérase (AChE) au niveau de la glande digestive et des branchies des moules témoins et traitées durant 14 jours par 50 μg/L (1) et 100 μg/L (2) de nanoparticules de ZnO, de Cu-ZnO, d’Au-ZnO, de TiO₂ et d’Au-TiO₂. a, b, c et d : lettres indiquant des différences significatives ou non à p < 0,05 au niveau de la glande digestive. *, ** et *** indiquent des différences significatives respectivement à p < 0,05 et p < 0,01 au niveau des branchies.

L'exposition des moules à 50 µg/L et 100 µg/L de NPs de CuZnO a diminué l'activité de ce biomarqueur respectivement à $1,2 \pm 0,02$ µmol/min/mg de protéines et à $0,82 \pm 0,02$ µmol/min/mg de protéines au niveau de la glande digestive. De même, le traitement par 100 µg/L de NPs d'AuZnO et d'AuTiO₂ a diminué significativement l'activité AChE par rapport aux moules témoins. Cependant, les autres traitements n'ont pas modifié significativement ($p > 0,05$) l'activité de ce biomarqueur au niveau de cet organe.

Pour les branchies, une nette diminution est observée chez les moules traitées par 100 µg/L de NPs de ZnO, de CuZnO, d'AuZnO et d'AuTiO₂.

La détermination de l'activité AChE chez les organismes marins a été précédemment étudiée en écotoxicologie, compte tenu de son rôle crucial dans les organismes vivants (Holas *et al.*, 2012 ; Dhull *et al.*, 2013 ; Akrami *et al.*, 2014 ; He *et al.*, 2014). En effet, l'AChE qui hydrolyse l'acétylcholine au niveau du système nerveux central (He *et al.*, 2014) est utilisé pour la détection des effets des contaminants environnementaux notamment les organophosphorés (Dhull *et al.*, 2013) et les métaux lourds (Gioda *et al.*, 2013). Dans la présente étude, l'activité AChE a été souvent inhibée dans les branchies et la glande digestive après exposition à deux concentrations de différentes formes de NPs. La diminution observée met en évidence l'effet toxique et le seuil potentiel d'induction de neurotoxicité chez les moules, suite à une exposition à ces produits. De plus, l'inhibition de l'AChE pourrait être liée à l'effet indirect des espèces réactives de l'oxygène et particulièrement le H₂O₂ généré en présence de NPs dans les branchies et dans la glande digestive. En effet, l'activité AChE est régulée par le taux de peroxyde d'hydrogène, qui est responsable de l'altération du site actif de cette enzyme (Schallreuter *et al.*, 2006 ; Schallreuter *et al.*, 2007).

Nos résultats sont en accord, en terme de sensibilité aux NPs, avec ceux rapporté par Xia *et al.*, (2017), qui ont signalé une modulation de l'activité AChE dans les branchies et la glande digestive

du bivalve *C. farreri* après 14 jours d'exposition aux NPs du n-TiO₂. De plus les NPs peuvent entrer dans le système nerveux centrale et induire des lésions neuronales par le biais de divers mécanismes médiés par la production des ROS et le stress oxydatif ainsi que des inflammations (Hu et Gao, 2010).

Au cours de ce travail nous avons aussi souligné la sensibilité particulière des moules aux NPs de CuZnO. Ce résultat peut être lié à la forte affinité du cuivre pour les groupes donneurs de soufre qui peuvent provoquer une inhibition de l'AChE en se liant à ses résidus thiol (Gomes *et al.*, 2011).

II : Contamination par les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs)

1. Introduction

Les produits chimiques à base d'hydrocarbures sont des composants majeurs du pétrole brut et sont classés comme HAPs, hydrocarbures aliphatiques saturés, hydrocarbures aliphatiques insaturés et hydrocarbures saturés alicycliques (Hayakawa *et al.*, 2018). L'impact de ces quatre catégories sur l'écosystème est particulièrement préoccupant en raison de leur toxicité spécifique. Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs), un groupe chimique qui possède au moins deux anneaux aromatiques, sont des composés omniprésents dans l'air, l'eau et le sol (Honda *et al.*, 2007 ; Tamamura *et al.*, 2007). Ils sont classés comme polluants nocifs pour l'environnement (Barron, 2012; Snyder et al., 2015). Les HAPs sont largement détectés dans les différents compartiments du milieu aquatique : l'eau, les sédiments, les poissons, les invertébrés benthiques, les oiseaux marins et les mammifères marins (Uno *et al.*, 2010 ; Chizhova *et al.*, 2013). Ces produits sont dérivés principalement de carburants (pétrogéniques), d'un processus de combustion incomplète (pyrogène), du métabolisme organique (biogénique), et par le processus diagénétique

de transformation dans les sédiments (Hylland, 2006). Parmi ces quatre sources, celles pétrogéniques et pyrogènes sont principalement artificielles et contribuent de manière importante à la pollution des écosystèmes aquatiques.

Concernant la pollution des milieux aquatiques par les HAPs, les accidents de marée noire sont parmi les plus conséquents de point de vue degrés d'exposition (Uno *et al.*, 2017 ; Hayakawa *et al.*, 2018). Au cours des dernières décennies, plusieurs déversements d'hydrocarbures se sont produits partout dans le monde et d'énormes quantités de pétrole brut ont été rejetées dans le milieu aquatique. Plusieurs chercheurs ont trouvé que le pétrole brut contenait des HAPs qui avaient des effets toxiques, tels que l'immunotoxicité, des anomalies embryonnaires et une cardiotoxicité pour la faune, y compris les poissons, les organismes benthiques et les vertébrés marins (Barron, 2012; Snyder *et al.*, 2015). La toxicité la plus préoccupante des HAPs est leur cancérogénicité (Collins *et al.*, 1998; Rengarajan *et al.*, 2015). En bref, les HAPs sont transportés dans les cellules en raison de leur hydrophobie et induisent l'expression génique du cytochrome P450 (Jørgensen *et al.*, 2008 ; Bekki *et al.*, 2013). Les enzymes à base de P450 exprimées métabolisent les HAPs en métabolites supplémentaires. Il est important de noter que plusieurs intermédiaires dans cette voie métabolique peuvent se lier à l'ADN et devenir mutagène/cancérogène. Ainsi, en raison de leur cancérogénicité, le Centre international de recherche du Cancer (IARC) a classé le Benzantracène et le Benzo[a]pyrène comme étant probablement des produits chimiques cancérigènes (groupe 2A).

Les HAPs sont considérés aussi comme des produits préoccupants car ils sont d'importants polluants organiques de l'environnement. Par ailleurs, des études toxicologiques complémentaires ont révélé d'autres types de toxicités des HAPs comme le stress oxydatif et la perturbation endocrinienne (Bekki *et al.*, 2009; MacDonald *et al.*, 2013). En raison de leur ubiquité dans le milieu naturel et de divers effets nocifs sur les organismes, les HAPs sont parmi les polluants organiques les plus préoccupants.

Le présent travail vise à étudier les effets toxiques de trois HAPs : le Benzanthracène, le Fluoranthène et le Benzo(a)pyrène chez les invertébrés aquatiques, particulièrement les mollusques bivalves.

2. Effets des hydrocarbures aromatiques polycycliques sur la réponse physiologique de la moule

La réponse physiologique de la moule *Mytilus galloprovincialis* a été étudiée par le biais de la capacité de filtration (Fig. 45) et la capacité de respiration (Fig. 46). En effet, l'exposition à deux concentrations (50 µg/L et 100 µg/L) de trois HAPs (le Benzanthracène [Banth1 = 50 µg/L et Banth2 = 100 µg/L], le Fluoranthène [FL1 = 50 µg/L et FL2 = 100 µg/L] et le Benzo(a)pyrène [B(a)p1 = 50 µg/L et B(a)p2 = 100 µg/L]) a modifié la physiologie d'une manière contaminant et concentration dépendante.

La figure 45 qui illustre la variation moyenne de la capacité de filtration chez les moules témoins et traitées par les HAPs montre que le Benzanthracène n'a entraîné aucunes modifications à une concentration de 50 µg/L. Cependant une concentration plus élevée de 100 µg/L, a induit une diminution de la capacité de filtration passant de $115,0 \pm 4,6$ mg/ind/h chez les témoins à $103,2 \pm 1,9$ mg/ind/h chez les moules traitées montrant une différence significative par rapport aux groupes témoins.

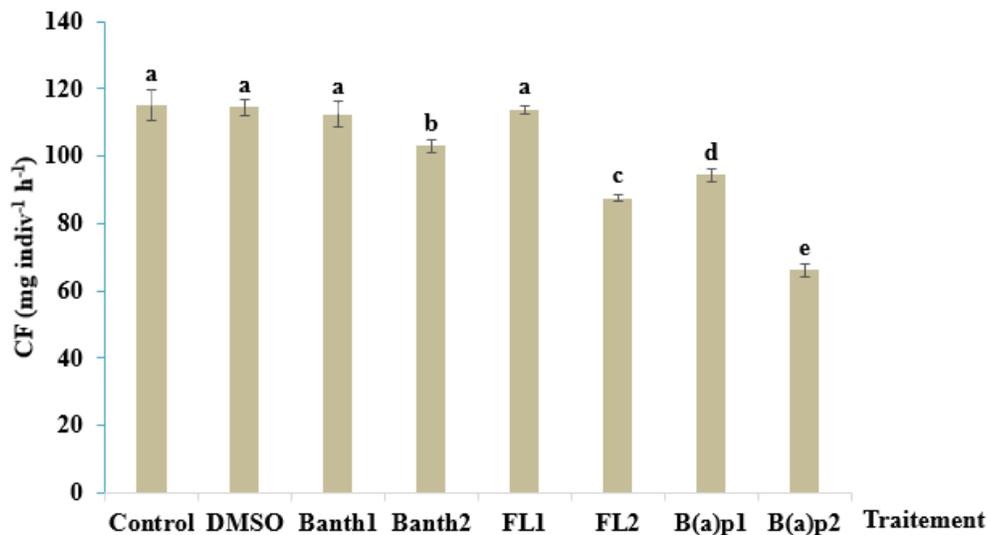


Figure 45 : Variation moyenne de la capacité de filtration chez les moules témoins (control) et traitées durant 14 jours par le Benzanthracène (Banth1 = 50 µg/L et Banth2 = 100 µg/L), le Fluoranthène (FL1 = 50 µg/L et FL2 = 100 µg/L) et le Benzo(a)pyrène (B(a)p1 = 50 µg/L et B(a)p2 = 100 µg/L). a,b,c,d et e : lettres indiquant une différence significative ou non à $p < 0,05$. ANOVA 1, test HSD de tukey.

L'effet prononcé sur la capacité de filtration est enregistré chez les moules traitées par le benzo(a)pyrène à une concentration de 100 µg/L où cette capacité diminue pour atteindre une valeur minimale de $66,2 \pm 1,9$ mg/ind/h. cependant, un effet modéré dépendant de la concentration est enregistré suite à l'exposition au Fluoranthène avec une diminution significative à 100 µg/L seulement ; la concentration à 50 µg/L n'a induit aucun effet significatif ($p = 0,996$).

La capacité de filtration est souvent utilisée dans les programmes de biosurveillance au cours des dernières années et a été reconnue comme biomarqueur sensible pour les polluants chimiques (Karacik *et al.*, 2009). Ce biomarqueur s'est avéré être la cible d'un large éventail de contaminants. Ainsi, une diminution de la capacité de filtration doit être considérée comme un indicateur d'un stress physiologique général, c'est-à-dire non spécifique, bien que plusieurs

publications aient souligné l'importance d'utiliser la capacité de filtration pour évaluer les effets des HAPs (Hellou et Law, 2003). La comparaison des chiffres publiés précédemment avec les résultats présentés dans la figure 45 suggèrent que la mesure de la capacité de filtration donne une indication fiable de l'effet toxique, et que ce paramètre est comparable en termes de sensibilité à d'autres biomarqueurs.

Dans notre travail, la diminution de la capacité de filtration chez la moule suite à l'exposition aux HAPs confirme l'état de stress général lié à la concentration et dépendante de la nature chimique de produit. Ces résultats sont en accord avec les travaux de Sellami *et al.*, (2015) qui ont montré que l'anthracène est capable d'affecter la capacité de filtration de la moule *M. galloprovincialis* d'une manière concentration dépendante. De même, Culbertson *et al.*, (2008) ont souligné une diminution de la capacité de filtration chez la moule *Geukensia demissa* exposée aux HAPs.

L'exposition au B(a)p conduit à une diminution drastique de la capacité de filtration chez *M. galloprovincialis*. Cette réduction peut être due au colmatage des canaux d'eau des lamelles branchiales par le B(a)p. en effet, les branchies des moules sont de structure membraneuse exposée à l'eau ambiante souvent contaminée par des toxines et des agents pathogènes. L'altération des branchies, organes dynamiques qui piègent les particules alimentaires pendant la filtration, semble donc affecter l'efficacité de l'alimentation par filtration chez *M. galloprovincialis* dans son habitat naturel.

Les mécanismes par lesquels les polluants affectent la capacité de filtration restent encore mal connus et méritent une étude plus approfondie. Brown et Newell (1972) ont testé les effets des métaux sur la moule et ont découvert que seul le cuivre exerçait un effet inhibiteur direct sur les cils branchiaux.

Un profil de réponse similaire est enregistré en termes de capacité de respiration (Fig. 46).

En effet, la capacité de respiration enregistrée chez les moules témoins est de l'ordre de $0,67 \pm 0,06$ mg O₂/h. L'utilisation du diméthylsulfoxyde comme solvant n'a pas affecté la réponse de ces organismes suggérant la non toxicité de ce produit chez ces invertébrés. De même, l'exposition à 50 µg/L et 100 µg/L de Benzantracène n'a pas induit la capacité de respiration chez la moule. Cependant, le Fluoranthène et le Benzo(a)pyrène ont modulé significativement la capacité de filtration d'une manière contaminant et concentration dépendante ; la valeur minimale est enregistrée chez les moules traitées par 100 µg/L de Benzo(a)pyrène.

La moule a développé un mécanisme unique d'alimentation par filtration lamellaire des aliments et des particules en suspension (Ray *et al.*, 2020). Ce processus de filtration aide à éliminer les polluants chimiques de la colonne d'eau. Selon Ostroumov (2004), l'estimation de la capacité respiratoire fournit des informations utiles sur l'état de l'organisme et le degré de contamination de son habitat naturel.

Les moules appartenant à l'ordre *Eulamellibranchiata* ont développé des branchies bien étendues pour la respiration (Ray *et al.*, 2020). Ces organes sont en contact direct avec divers groupes de toxines environnementales, dont les HAPs. Les moules ont des lamelles branchiales bien développées utilisées dans l'échange gazeux et l'alimentation. Un mode d'alimentation avec une filtration efficace et continu permet à la moule de filtrer un grand volume d'eau dans un temps relativement court (Ward et Shumway, 2004).

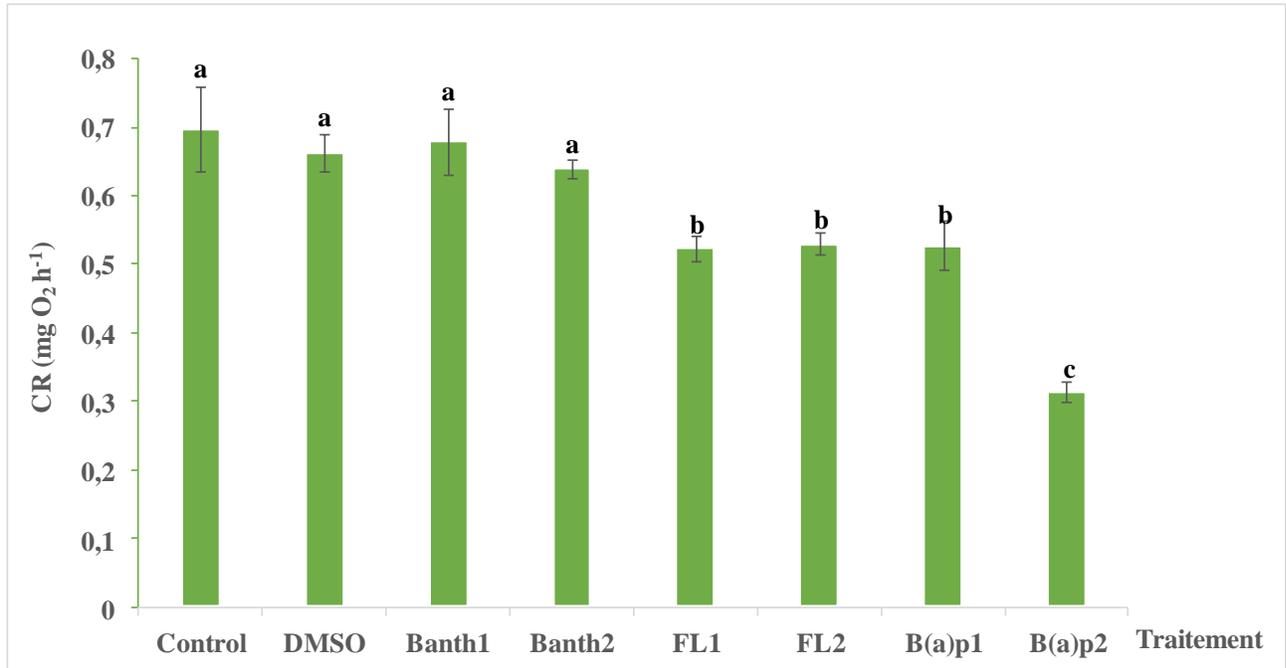


Figure 46 : Variation moyenne de la capacité de respiration chez les moules témoins (control) et traitées durant 14 jours le Benzantracène (Banth1 = 50 µg/L et Banth2 = 100 µg/L), le Fluoranthène (FL1 = 50 µg/L et FL2 = 100 µg/L) et le Benzo(a)pyrène (B(a)p1 = 50 µg/L et B(a)p2 = 100 µg/L. a, b et c : lettres indiquant une différence significative ou non à $p < 0,05$ ANOVA 1, test HSD de tukey

Selon Saidani *et al.* (2019), la respiration est affectée par les nanoparticules chez la palourde *Ruditapes decussatus*. La réduction de la capacité respiratoire peut être le résultat de la réduction de la consommation d'énergie (Basti et al., 2016). L'accumulation des HAPs peut également avoir un effet sur les battements ciliaires et musculaires. Parallèlement, l'inhibition de la capacité respiratoire est probablement liée à une baisse du taux de consommation d'oxygène des moules contaminées par les HAPs.

La diminution de la capacité de respiration suggère un stress métabolique pouvant affecter l'état biologique général de la moule exposée aux HAPs.

3. Effets des hydrocarbures aromatiques polycycliques sur le statut oxydative et neurotoxique de la moule

3.1. Effets sur l'activité superoxyde dismutase

La figure 47 illustre la variation moyenne de l'activité superoxyde dismutase (SOD) au niveau de la glande digestive et des branchies des moules témoins et traitées durant 14 jours les trois HAPs considérés : le Benzanthracène (Banth), le Fluoranthène (FL) et le Benzo(a)pyrène (B(a)p). En effet, l'exposition aux différents contaminants a modifié de manière significative l'activité de cette enzyme au niveau de la glande digestive, quel que soit la concentration testée. Ainsi, une augmentation concentration dépendante a été enregistrée par rapport au groupe témoin au niveau de cet organe après exposition au Benzanthracène. L'activité a augmenté de $1,29 \pm 0,05$ U/mg protéines (valeur enregistrée au niveau de la glande digestive des moules témoins) à $2,27 \pm 0,33$ U/mg protéines (valeur enregistrée au niveau de la glande digestive des moules traitées par 50 $\mu\text{g/L}$ de Benzanthracène) pour atteindre un maximum de $3,28 \pm 0,54$ U/mg protéines (valeur enregistrée au niveau de la glande digestive des moules des moules traitées par 100 $\mu\text{g/L}$ de Benzanthracène), soit une différence significative, respectivement de $p = 0,000142$ et $p = 0,000138$. De même le traitement des moules par 50 et 100 $\mu\text{g/L}$ du Fluoranthène et du Benzo(a)pyrène a augmenté l'activité SOD au niveau de la glande digestive d'une manière concentration dépendante. La valeur maximale a été enregistrée au niveau de la glande digestive des moules traitées par 100 $\mu\text{g/L}$ du Benzo(a)pyrène, soit $4,07 \pm 0,20$ U/mg protéines. Contrairement à la glande digestive, le Benzanthracène (Banth) et le Fluoranthène (FL) n'ont pas affecté l'activité SOD au niveau des branchies des moules traitées par une concentration égale à 50 $\mu\text{g/L}$. cependant, une augmentation significative est enregistrée à 100 $\mu\text{g/L}$ au niveau de cette organe.

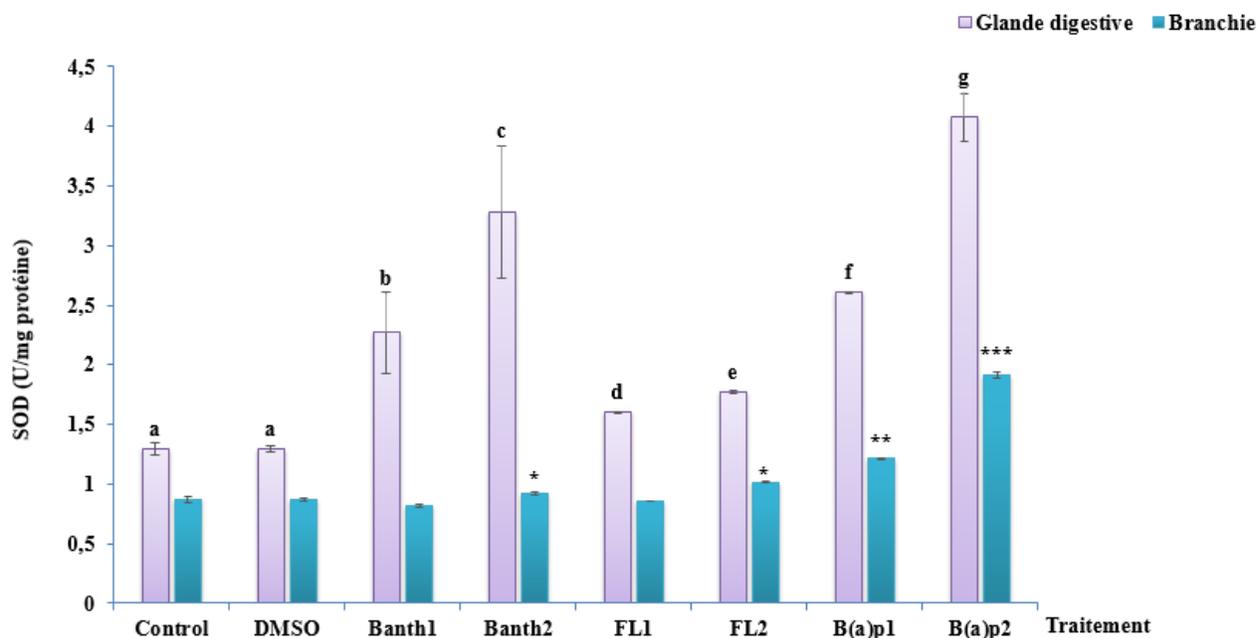


Figure 47 : Variation moyenne de l'activité superoxyde dismutase au niveau de la glande digestive et des branchies des moules témoins (control) et traitées durant 14 jours par le Benzantracène (Banth1 = 50 µg/L et Banth2 = 100 µg/L), le Fluoranthène (FL1 = 50 µg/L et FL2 = 100 µg/L) et le Benzo(a)pyrène (B(a)p1 = 50 µg/L et B(a)p2 = 100 µg/L). a,b, c, d, e, f et g: lettres indiquant une différence significative au niveau de la glande digestive et *,** et *** indiquent une différence significative au niveau des branchies respectivement à $p < 0,05$, à $p < 0,01$ et à $p < 0,001$ ANOVA 1, test HSD de tukey.

Cette réponse contaminant, concentration et organe dépendante de l'activité SOD met en évidence le seuil de sensibilité de l'espèce et de l'organe vis-à-vis des trois HAPs considérés.

Le système antioxydant protège les cellules contre les effets délétères des ROS en maintenant les espèces réactives de l'oxygène endogènes à des niveaux relativement bas et en atténuant les dommages liés à leur grande réactivité. Une gamme de mécanismes de défense antioxydants est présente chez les mollusques bivalves, y compris des composés de faible poids

moléculaire (vitamine E, acide ascorbique, glutathion réduit...) et des enzymes adaptées (Winston, 1991). Parmi ces enzymes, la superoxyde dismutase (SOD) est un oxydo-réductase, qui catalyse la dismutation de l'anion superoxyde en oxygène moléculaire et en peroxyde d'hydrogène (Fridovich, 1989). Cette métalloenzyme existe dans plusieurs isotopes caractérisés par leurs métaux redox actifs au niveau des sites catalytiques. Manduzio et al. (2003) ont caractérisé l'isoforme Cu/Zn-SOD dans les branchies et la glande digestive de la moule bleue (*Mytilus edulis*), et ont illustré que trois isoformes contribuent à l'activité cytosolique de cette enzyme, l'une d'entre elles étant inductible par les polluants dans des conditions expérimentales.

L'augmentation de l'activité SOD au cours de notre travail met en évidence un état de stress oxydatif liée à la production excessive des radicaux libres, particulièrement l'anion superoxyde. De plus l'effet prononcé au niveau de la glande digestive est dû au fait que cet organe est impliqué dans laplupart des processus métaboliques de la biotransformation. Nos résultats sont en accord avec les travaux de Cheung *et al.* (2001) qui ont montré une corrélation entre la concentration des HAPs et l'activité SOD chez la moule. Les auteurs suggèrent aussi que l'une des caractéristiques importantes de cette enzyme est son inductibilité dans des conditions de stress oxydatif. Une telle induction peut être une adaptation importante au stress induit par les polluants.

Au cours de ce travail, le B(a)p a le plus touché l'activité SOD et ceci met l'accent sur l'interaction entre l'enzyme et la nature du contaminant. Cheung *et al.*, (2001) ont signalé que la SOD hépatique a montré une corrélation positive avec les concentrations tissulaires de B[a]p mais pas avec les autres HAPs évalués.

3.2. Effets sur l'activité catalase

L'efficacité de la SOD en tant qu'antioxydant repose aussi sur son coopération avec d'autres enzymes, comme la catalase (Manduzio et al. (2003). Cette dernière catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire. Au cours de cette étude, l'activité

moyenne de la catalase évaluée au niveau de la glande digestive et des branchies de la moule exposée au Benzanthracène (Banth), au Fluoranthène (FL) et au Benzo(a)pyrène (B(a)p) est illustrée par la figure 48.

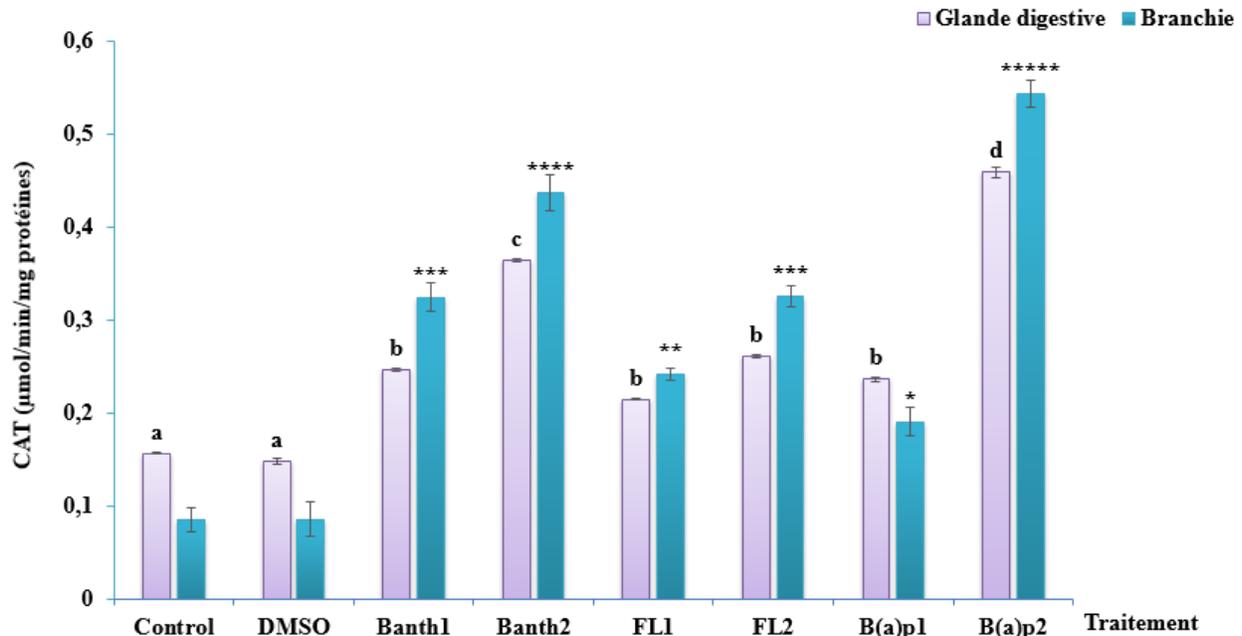


Figure 48 : Variation moyenne de l'activité catalase au niveau de la glande digestive et des branchies des moules témoins (control) et traitées durant 14 jours par le Benzanthracène (Banth1 = 50 μg/L et Banth2 = 100 μg/L), le Fluoranthène (FL1 = 50 μg/L et FL2 = 100 μg/L) et le Benzo(a)pyrène (B(a)p1 = 50 μg/L et B(a)p2 = 100 μg/L). a, b, c et d: lettres indiquant une différence significative ou non à $p < 0,05$ au niveau de la glande digestive et *, **, ***, **** et *****) indiquent une différence significative au niveau des branchies à $p < 0,05$; à $p < 0,01$ et à $p < 0,001$ ANOVA 1, test HSD de tukey.

L'activité de la catalase a augmenté significativement ($p < 0,05$) au niveau des deux organes des moules traitées par les trois HAPs testés. Cette augmentation est dépendante de la nature du

contaminant et de sa concentration. En effet, l'ordre croissant d'effet au niveau de la glande digestive est : FL1 < B(a)p1 < Banth1 < FL2 < Banth2 < B(a)p2.

Les moules sont des organismes filtreurs et peuvent accumuler des polluants liés aux particules. Les contaminants organiques tels que les HAPs ont tendance à être distribués dans la phase particulaire et peuvent s'accumuler dans les tissus des moules à un niveau élevé. La charge corporelle des xénobiotiques est le résultat d'un équilibre dynamique entre le processus d'absorption et celui d'épuration qui est affecté par l'état corporel et la disponibilité de la nourriture. En conséquence, de grandes différences de concentrations des polluants dans les tissus chez des individus habitant le même site sont fréquemment rencontrés (Cheung *et al.*, 2001). Sur cette base, des analyses basées sur les échantillons regroupés peuvent entraîner une résolution réduite, faisant des corrélations entre les réponses des biomarqueurs et les concentrations de polluants difficiles à interpréter. Cette complication potentielle est surmontée dans la présente étude sous forme de réponses individuelles à des concentrations de polluants chez les moules. De plus, les moules habitant des environnements contaminés par les HAPs peuvent être exposés au stress oxydatif causé par une variété de radicaux oxygénés. Pour éviter ce problème, les organismes développent des stratégies de défense telles que la génération d'antioxydants et l'activation des enzymes antioxydantes. En effet, des études antérieures ont démontré que ces réponses antioxydantes peuvent être induites par le stress oxydatif, et que leurs intensités présentent une corrélation positive statistiquement significative avec certains niveaux de polluants organiques dans les tissus, comme les HAPs (Cheung *et al.*, 2001).

L'augmentation de l'activité catalase au cours de cette étude semble être impliquée dans la détoxification de l'excès des radicaux d'oxygène libres générés lors du métabolisme des hydrocarbures. Cette augmentation a été démontrée chez d'autres bivalves exposés expérimentalement à différents xénobiotiques organiques (Wenning *et Di Giulio*, 1988; Cajaraville

et al., 1992). Ainsi, les changements dans les niveaux de l'activité catalase ne semblent pas indiquer une lésion cellulaire ou tissulaire mais peuvent au contraire représenter un mécanisme adaptatif de défense qui protège les organismes contre la toxicité des radicaux libres induite par les hydrocarbures. En fait, les moules peuvent développer certains mécanismes d'adaptation qui pourraient « neutraliser » en partie les effets toxiques des hydrocarbures (Cajaraville et al., 1992).

3.3. Effets sur le taux du malondialdéhyde

L'intensification du stress oxydatif est responsable de la diminution de l'efficacité des enzymes antioxydantes et d'une augmentation de la perméabilité membranaire se traduisant par une augmentation du niveau de malondialdéhyde (MDA). Le MDA est un indicateur des dommages oxydatifs chez les invertébrés (Pampanin *et al.*, 1988). De plus, la peroxydation lipidique basée sur la quantification tissulaire du MDA est un biomarqueur approprié pour prédire la peroxydation lipidique des acides gras oméga-3 et oméga-6 (Ayala *et al.* 2014). Les effets des produits chimiques sur le MDA sont très discutés dans la littérature et des études ont signalé que les composés organiques tels que les HAPs induisent la production de MDA (Viarengo et al., 1990). Au cours de la présente étude, l'effet du Benzanthrène (Banth), du Fluoranthène (FL) et du Benzo(a)pyrène (B(a)p) sur la membrane exprimée en termes de MDA est illustrée par la figure 49. En effet, un taux élevé de MDA détecté dans la glande digestive et les branchies des moules traitées peut mettre en évidence l'absorption des différentes formes de NPs par ces organes et l'effet dommageable sur les cellules membranaires de *M. galloprovincialis*. De plus, le changement du taux de MDA révèle le statut oxydatif des moules aux différentes conditions d'exposition. Nos résultats concordent avec des études antérieures, montrant que les HAPs provoquent des effets négatifs chez la moule *Mytilus galloprovincialis* entraînant une augmentation de niveaux de malondialdéhyde (Sellami *et al.*, 2017). Ce statut oxydatif peut également résulter de l'inefficacité de la capacité des moules à activer les enzymes antioxydantes et à éliminer les contaminants (Leite *et al.*, 2020). Dans la

présente étude, l'augmentation de la MDA confirme les dommages cellulaires sous l'influence des HAPs. Ces dommages dépendants de la concentration et de la nature des contaminants ont résulté de l'état oxydatif des moules exposées aux différents HAPs.

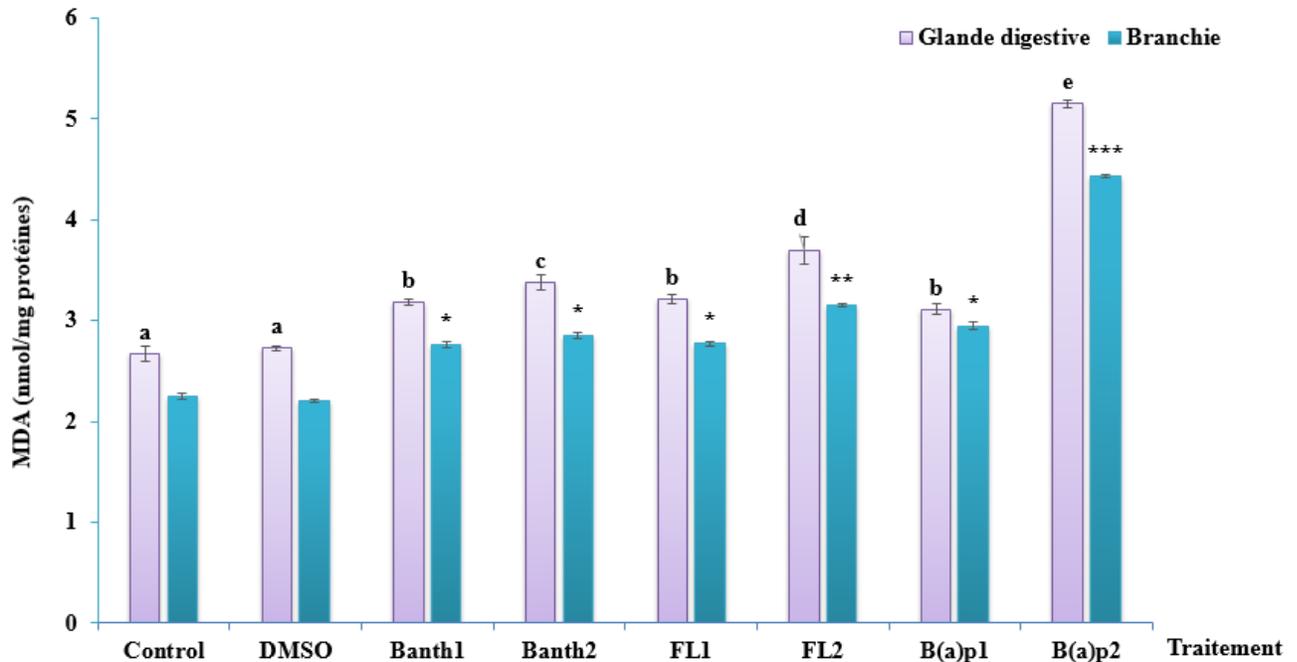


Figure 49: Variation moyenne du taux de malondialdéhyde (MDA) au niveau de la glande digestive et des branchies des moules témoins (control) et traitées durant 14 jours par le Benzantracène (Banth1 = 50 µg/L et Banth2 = 100 µg/L), le Fluoranthène (FL1 = 50 µg/L et FL2 = 100 µg/L) et le Benzo(a)pyrène (B(a)p1 = 50 µg/L et B(a)p2 = 100 µg/L). a, b, c, d et e: lettres indiquant une différence significative ou non à $p < 0,05$ au niveau de la glande digestive et *, ** et *** indiquent une différence significative au niveau des branchies à $p < 0,05$; à $p < 0,01$ et à $p < 0,001$ ANOVA 1, test HSD de tukey.

Nos résultats sont en accord avec les travaux de Kaloyianni et al. (2009) qui ont rapporté une augmentation d'environ 28,2 % des niveaux de MDA chez la moule *M. galloprovincialis* exposée aux HAPs pendant 6 jours et ont lié la peroxydation des lipides membranaires à la

production des ROS. De plus, l'induction du niveau de MDA chez les moules est concentration dépendante et pourrait être le résultat du niveau des ROS générés après une exposition liée aux facteurs temps et concentration (Tavazzi *et al.*, 2000). L'augmentation du niveau des ROS pourrait représenter une conséquence directe de processus métabolique entraînant un stress oxydatif. Une réponse concentration dépendante a été observée chez *Chlamys ferrari*, exposée au benzo(a)pyrène et au benzo (k) fluoranthène (Pan *et al.*, 2006). L'altération des phospholipides membranaires est le principal événement des dommages oxydatifs (Cossu *et al.*, 2000). Ainsi, le changement de la fluidité membranaire peut inactiver les enzymes antioxydantes et détruire les récepteurs membranaires (Cossu *et al.*, 2000). D'autres études ont montré une induction significative de la peroxydation lipidique de *P. maximus* avec un maximum d'environ 6,6 nmol/mg de protéines à haute concentration (200 µg/L) de phénanthrène (Hannam *et al.*, 2010). En effet, la saturation des cellules membranaires par les ROS peut catalyser le processus d'oxydation (De Almeida *et al.*, 2007). De plus, le degré de peroxydation lipidique dépend de l'efficacité du système antioxydant contre les ROS (Pilarczyk et Correia, 2009).

3.4. Effet sur l'activité acétylcholinésterasique

La mesure de l'activité de l'acétylcholinestérase (AChE) est un paramètre important utilisé pour évaluer les effets causés par des composés neurotoxiques pour le biote marin. L'AChE joue un rôle clé dans le système neuromusculaire, en empêchant les contractions musculaires incontrôlables. Cette enzyme catabolise la transformation du neurotransmetteur acétylcholine en choline dans les synapses cholinergiques. Son inhibition provoque une accumulation d'acétylcholine, une hyperpolarisation de la membrane postsynaptique et perturbe la transmission neuronale. Pour ces raisons, l'inhibition de cette enzyme peut provoquer des changements physiologiques, conduisant dans des cas extrêmes à la paralysie et à la mort des organismes marins (Fulton et Key, 2001). Dans cette étude, le Benzanthracène (Banth), le Fluoranthène (FL) et le

Benzo(a)pyrène (B(a)p) ont diminué l'activité de ce biomarqueur au niveau de la glande digestive et des branchies d'une manière contaminant, organe et concentration dépendante (Fig. 50). En effet, le Banth et le FL n'ont pas modifié l'activité AChE au niveau de la glande digestive à une concentration 50 µg/L.

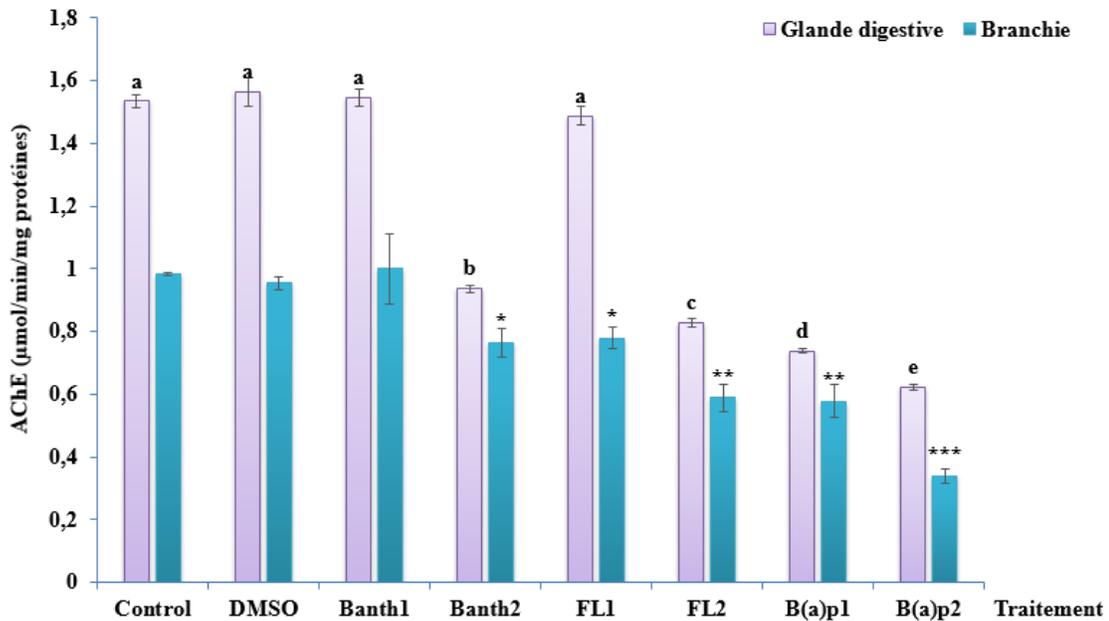


Figure 50 : Variation moyenne de l'activité acétylcholinestérase (AChE) au niveau de la glande digestive et des branchies des moules témoins (control) et traitées durant 14 jours par le Benzantracène (Banth1 = 50 µg/L et Banth2 = 100 µg/L), le Fluoranthène (FL1 = 50 µg/L et FL2 = 100 µg/L) et le Benzo(a)pyrène (B(a)p1 = 50 µg/L et B(a)p2 = 100 µg/L). a,b, c, d et e: lettres indiquant une différence significative ou non à $p < 0,05$ au niveau de la glande digestive et *,** et *** indiquent une différence significative au niveau des branchies à $p < 0,05$; à $p < 0,01$ et à $p < 0,001$ ANOVA 1, test HSD de tukey.

Cependant, une inhibition est enregistrée au niveau des branchies après exposition des moules à 50 µg/L du FL où l'activité a diminué en passant de $0,980 \pm 0,002$ µmol/min/mg de protéines (valeur

enregistrée au niveau des branchies des moules témoins) à $0,770 \pm 0,034 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines (valeur enregistrée au niveau des branchies des moules traitées par FL1), montant une différence significative $p = 0,000145$.

L'effet nature contaminant est observé aussi bien au niveau de la glande digestive qu'au niveau des branchies et suit le gradient suivant : $\text{Banth2} < \text{FL2} < \text{B(a)p2}$. Ainsi, la valeur minimale est enregistrée chez les moules traitées par $100 \mu\text{g}/\text{L}$ de B(a)p, montrant l'impact neurotoxique de ce composé et le seuil de sensibilité de la moule.

Les HAPs, subissant des réactions de biotransformation, pourraient conduire à la production de ROS (Grintzalis *et al.*, 2012). Étant donné que la neurotoxicité est généralement associée à la présence de radicaux libres (Junqueira *et al.*, 2004), l'inhibition de l'activité de l'AChE chez les moules pourrait être un effet indirect des ROS à médiation des HAPs. La présence de ces intermédiaires pourrait affecter la synthèse de l'AChE, qui pourrait à son tour conduire à une altération des fonctions neuronales dégénératives (Grintzalis *et al.*, 2012). Grintzalis *et al.*, (2012) ont rapporté la diminution de l'activité AChE chez les moules exposées pendant 7 jours aux HAPs et ont lié l'inhibition de ce biomarqueur à la production des dérivés oxydatifs médiés par les HAPs dans les cellules (Grintzalis *et al.*, 2012). De plus, l'inhibition de l'activité AChE par les HAPs peut indiquer l'altération du processus de neurotransmission cholinergique (Vieira *et al.*, 2008).

Les liens entre la réponse physiologique et l'inhibition de l'AChE sont bien documentés pour les organismes aquatiques (Amiard-Triquet, 2009). Dans le présent travail, la diminution de la capacité de filtration et la capacité respiratoire ont été accompagnées d'une inhibition de l'activité AChE et cette relation pourrait résulter de la concentration des HAPs et la durée d'exposition. De même, Cooper et Bidwell (2006) ont observé une corrélation significative entre l'activité AChE et la réponse physiologique chez les bivalves exposés aux composés organiques. Ces auteurs suggèrent la présence d'un seuil d'inhibition enzymatique, et les effets sur l'organisme peuvent

survenir après une réduction statistiquement significative d'une activité enzymatique. De plus, l'acétylcholine peut affecter l'activité des cils latéraux par la décharge des médiateurs et l'action des xénobiotiques sur l'AChE. Par conséquent, la diminution de l'activité AChE enregistrée au cours de cette étude pourrait affecter l'activité des cils latéraux conduisant à une diminution de la respiration et de la filtration. Nos résultats sont en accord avec ceux documentés par Basti *et al.*, (2016) où la réponse physiologique a été réduite avec la diminution de l'activité AChE chez la palourde.

Il existe également des preuves que l'inhibition de l'AChE est fortement corrélée avec une augmentation cruciale des espèces réactives de l'oxygène (ROS) (Schallreuter *et al.*, 2004). Antonio *et al.* (2003) ont mis en évidence une corrélation positive entre l'augmentation de l'activité CAT et l'inhibition de l'activité AChE chez les espèces aquatiques, ce qui est le cas aussi de la présente étude.

En résumé, *M. galloprovincialis* semble être sensible aux trois HAPs considérés de manière concentrations, organes et nature de contaminant dépendants. Les résultats devraient être utiles pour prédire l'état de la population naturelle et peuvent aider à l'adoption de mesures environnementales plus appropriées pour l'évaluation des risques engendrés par les HAPs. La modification des paramètres biochimiques et physiologiques représente également un outil important pour comprendre les effets toxiques des HAPs chez les invertébrés aquatiques. L'induction de ces marqueurs peut être directement liée à la concentration des polluants et/ou à la production de ROS au niveau de la glande digestive et au niveau des branchies. De plus, ces biomarqueurs pourraient être considérés comme de bons paramètres de surveillance de la contamination par les HAPs.

III : contamination par les pesticides

1. Introduction

La contamination par les pesticides est un problème majeur qui touche à la fois la santé publique et l'environnement.

Environ 3,5 millions de tonnes de pesticides sont utilisés dans le monde chaque année (Pretty et Bharucha, 2015) pour accroître la production agricole en contrôlant ou neutralisant les plantes indésirables (herbicides), les insectes et les arachnides (insecticides) ainsi que les champignons (fongicides). Bien que les pesticides soient conçus et commercialisés pour cibler les espèces nuisibles, les organismes non ciblés sont souvent sensibles en raison de la nature des voies biochimiques entre les taxons (Damalas et Eleftherohorinos, 2011 ; Pisa *et al.*, 2015). On estime que seulement 0,1 % des pesticides appliqués aux terres agricoles atteignent les ravageurs cibles, le reste est répandu dans les autres compartiments de l'environnement (Mahboob *et al.*, 2014). Ainsi, les pesticides peuvent présenter un risque considérable pour les organismes non ciblés lorsqu'ils atteignent les milieux aquatiques (Davis *et al.*, 2013). De plus, comme de multiples pesticides sont souvent appliqués sur les cultures, des cocktails chimiques sont fréquemment détectés dans les eaux côtières, où ils peuvent agir de manière synergique ou additive, provoquant un large éventail d'effets néfastes sur la santé des espèces aquatiques exposées (Nunes *et al.*, 2018). Les pesticides persistent généralement à des concentrations relativement faibles dans les eaux côtières et ne dépassent souvent les normes pour la qualité de l'eau qu'après des périodes de fortes pluies (Gallen *et al.*, 2019). Malgré cela, les études toxicologiques (Jones et Kerswell 2003; Vera Candiotti *et al.*, 2010) s'intéressent souvent à l'exposition aiguë (concentrations élevées pour de courtes périodes) au lieu de l'exposition chronique (concentration faible et persistante) même si cette dernière représente le cas le plus courant (Cantin *et al.*, 2007 ; Negri *et al.*, 2015).

Les herbicides sont parmi les pesticides les plus fréquemment détectés dans les bassins hydrographiques et dans les zones marines intertidales et subtidales (Shaw *et al.*, 2010). Pendant des décennies, le diuron [3-(3, 4-dichlorophényl) -1, L-diméthyl urée], herbicide largement utilisé, a été l'un des 25 principaux pesticides agricoles conventionnels utilisés aux États-Unis et dans le monde entier pour lutter contre les mauvaises herbes (Liu *et al.*, 2014 ; Beluci *et al.*, 2021). L'utilisation annuelle du diuron en agriculture aux États-Unis a récemment varié de 2 à 6 millions de livres par an. Il se classe généralement parmi les 5 à 7 premiers pesticides utilisés aux États-Unis dans les applications industrielles et commerciales. Le diuron est également utilisé comme biocide dans des peintures « antifouling » (Liu *et al.*, 2014 ; Mohammed *et al.*, 2020).

Le diuron est très stable et persistant, principalement dans les milieux aquatiques. Ce composé peut provoquer des maladies rénales, une anémie hémolytique, une hématopoïèse compensatrice, des troubles endocriniens et il peut également potentiellement provoquer des cancers (Silva Moretto *et al.*, 2019 ; Tekin *et al.*, 2020). Le diuron menace gravement les organismes aquatiques, en particulier les espèces sensibles (Mohammed *et al.*, 2020). Ainsi, des efforts scientifiques sont nécessaires pour mettre en évidence sa toxicité et essayer de surmonter sa persistance.

Parallèlement, le triclosan aussi appelé 5-chloro-2-(2,4-dichlorophénoxy) phénol ou hexachlorophène, est un biocide (pesticide organochloré proche des chlorophénols) enregistré comme pesticide auprès de l'APE en 1969 (Kumar *et al.*, 2015). Il est largement utilisé depuis les années 1970, et massivement dans des centaines de produits courants depuis le début des années 1990. Ce produit chimique est détectable dans les cours d'eau et les organismes aquatiques y compris les algues, les poissons, les dauphins ainsi que dans l'urine humaine, le sang et le lait maternel (Orvos *et al.*, 2002 ; Adolfsson *et al.*, 2000). Des études en laboratoire ont montré que le triclosan est un perturbateur endocrinien capable d'interférer avec les hormones et critique pour le

développement normal et la reproduction (Veldhoen *et al.*, 2006). Il entre dans le système aquatique par diverses voies et constitue une grande menace pour les algues et autres biotes (Orvos *et al.*, 2002, Wilson *et al.*, 2009). Il s'adsorbe au sol et aux sédiments et peut devenir bioaccumulable et préoccupant pour les organismes aquatiques et terrestres (Chalew et Halden, 2009). Des rapports écotoxicologiques récents sur le triclosan ont suscité l'intérêt de chercheurs sur la présence du triclosan et ses effets potentiels.

Les effets sublétaux des pesticides sur les paramètres physiologiques ou métaboliques des organismes aquatiques sont essentiels pour l'évaluation de leur toxicité chimique. Ces effets se manifestent souvent à de faibles concentrations et peuvent être liés à la santé des individus et par conséquent à la santé de la population (Lankadurai *et al.*, 2013).

En effet, les pesticides peuvent affecter les processus physiologiques de la vie des organismes par induction ou suppression de réactions enzymatiques (Cappello *et al.*, 2019). Parmi les différents biomarqueurs, les activités enzymatiques du stress oxydatif et de neurotoxicité ont été largement utilisés pour évaluer les effets toxiques des pesticides tels que les carbamates et les organophosphorés (Sayed *et al.*, 2019). L'exposition aux pesticides à de faibles concentrations pourraient ne pas être mortelle pour les organismes aquatiques mais peuvent affecter leur physiologie et leur état biochimique (Mahboob *et al.*, 2014).

Le présent travail a pour objectifs d'étudier la toxicité potentielle de deux pesticides : le diuron et le triclosan sur la moule *Mytilus galloprovincialis* par le biais de la réponse physiologique et biochimique, dans le but de déterminer le seuil de sensibilité de cette espèce et de comprendre le mode d'action de ces produits au niveau des organismes aquatiques.

2. Impacts physiologiques de l'exposition au diuron et au triclosan

L'exposition de la moule *Mytilus galloprovincialis* à deux concentrations 50 µg/L et 100 µg/L du diuron (Di1 et Di2) et du triclosan (TCS1 et TCS2) a touché la capacité de filtration d'une

manière contaminant et concentration dépendante (Fig. 51). En effet, la capacité de filtration a diminué pour atteindre respectivement $53,60 \pm 3,20$ mg/ind/h et $28,20 \pm 2,58$ mg/ind/h après exposition au Di1 et au Di2 montrant des différences significatives respectivement de $p = 0,000141$ et $p = 0,000138$ par rapport aux groupes témoins où on a enregistré une valeur moyenne de $115,00 \pm 4,58$ mg/ind/h.

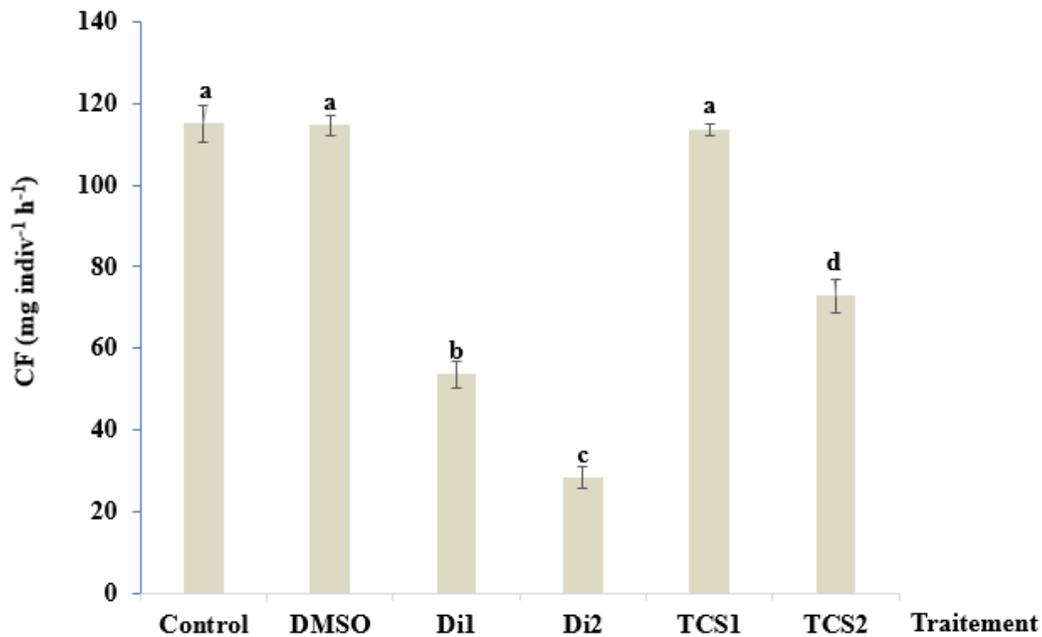


Figure 51 : Variation moyenne de la capacité de filtration chez les moules témoins (control) et traitées durant 14 jours par le DMSO, le diuron (Di1 = 50 µg/L et Di2 = 100 µg/L), le triclosan (TCS1 = 50 µg/L et TCS2 = 100 µg/L). a,b,c et d: lettres indiquant une différence significative ou non à $p < 0,05$. ANOVA 1, test HSD de tukey

Cependant, le profil est différent pour le triclosan où la concentration 50 µg/L n'a pas touché significativement ($p = 0,982$) la capacité de filtration chez la moule. La concentration 100 µg/L du triclosan a au contraire diminué significativement la capacité de filtration qui a passé de

115,00 ± 4,58 mg/ind/h (valeur enregistrée chez les moules témoins) à 72,80 ± 4,08 mg/ind/h (valeur enregistrée chez les moules traitées par 100 µg/L du triclosan).

Le même profil de réponse est observé pour la capacité de respiration qui est touchée en fonction de la nature du contaminant et de la concentration (Fig. 52).

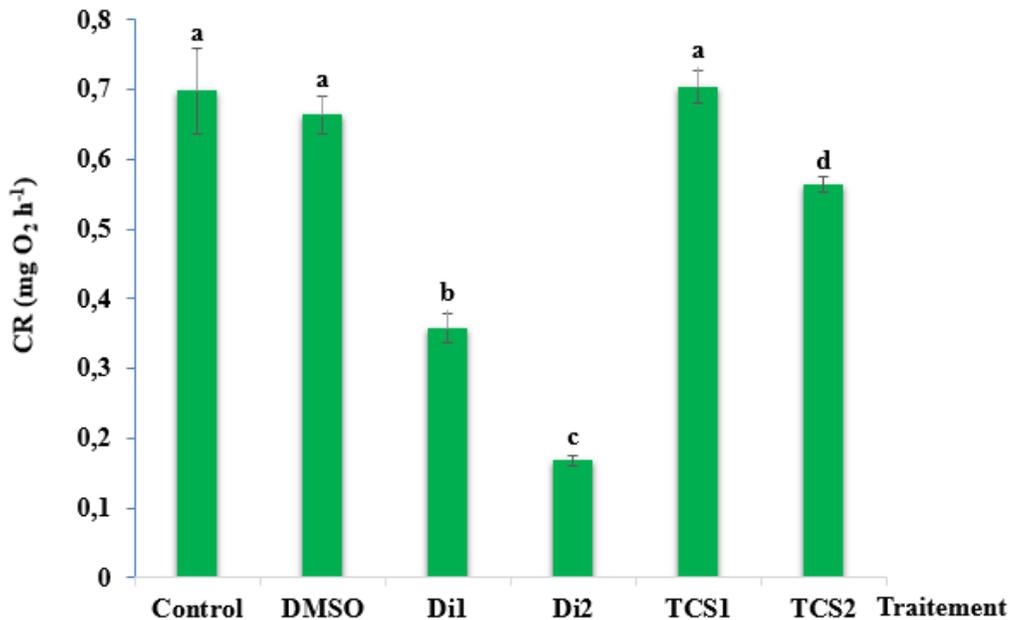


Figure 52 : Variation moyenne de la capacité de respiration chez les moules témoins (control) et traitées durant 14 jours par le diuron (Di1 = 50 µg/L et Di2 = 100 µg/L) et le triclosan (TCS1 = 50 µg/L et TCS2 = 100 µg/L). a, b, c et d: lettres indiquant une différence significative ou non à $p < 0,05$. ANOVA 1, test HSD de tukey

Ainsi, la capacité de respiration maximale enregistrée chez les moules non traitées est de l'ordre de $0,70 \pm 0,06$ mg O₂/h alors que la valeur minimale, qui est enregistrée chez les moules traitées par 100 µg/L de diuron, est de l'ordre de $0,168 \pm 0,008$ mg O₂/h, montrant une différence

significative ($p = 0,0005$).

L'effet concentration est très nette suite à l'exposition au diuron où la capacité de respiration est diminuée progressivement de $0,70 \pm 0,06$ mg O₂/h chez les moules témoins à $0,350 \pm 0,021$ mg O₂/h chez les moules traitées par 50 µg/L de diuron pour atteindre un minimum de $0,168,000 \pm 0,008$ mg O₂/h chez les moules traitées par 100 µg/L du même produit.

Il est à noter que l'absence de différence significative entre les moules témoins et celles traitées par le diméthylsulfoxyde (DMSO) confirme la non toxicité de ce produit comme suggéré par plusieurs auteurs (Haque *et al.*, 2019 ; Jiang *et al.*, 2019). Ainsi, ces auteurs ont signalé que le DMSO n'a pas d'effet significatif sur les réponses des biomarqueurs. De plus, il a été montré que l'exposition au DMSO à des concentrations inférieures ou égales à 0,005% V/V n'a pas d'effet sur le profil métabolique des bivalves marins (Banni *et al.*, 2010 ; Jiang *et al.*, 2019).

La réponse physiologique en termes de capacité de filtration et de capacité de respiration souligne la toxicité des deux pesticides considérés. Parallèlement, le seuil de sensibilité de la moule dépend de la nature du contaminant. Ainsi, l'espèce semble être plus sensible au diuron que le triclosan. La présente étude soutient l'hypothèse selon laquelle la capacité de respiration est fortement liée à la capacité de filtration. Ceci peut s'expliquer par le fait que lors de l'alimentation par filtration à travers les branchies, l'absorption d'oxygène qui est déterminée par le taux de diffusion d'oxygène de l'eau s'écoule à travers l'épithélium des branchies ainsi que d'autres surfaces externes du corps.

L'exposition des moules à des concentrations croissantes de contaminants diminue la capacité de filtration et par conséquent la capacité de respiration liée au taux de l'oxygène. Des résultats similaires ont été signalés chez la moule bleue traitée par des concentrations croissantes d'oxygène (Tang et Riisgård, 2018). Ces auteurs ont observé que la moule *M. edulis* répond en fermant progressivement les valves, conduisant à un taux de filtration rapidement décroissant et

une réduction concomitante de la fréquence respiratoire. Ces observations appuient l'hypothèse selon laquelle la moule est capable d'économiser de l'énergie sous l'effet d'un stress en réduisant la capacité de filtration (taux de ventilation) ; la fréquence respiratoire devient fortement réduite (Riisgård et Larsen, 2015). De même, Köprücü *et al.* (2010) ont signalé que l'exposition à la cyperméthrine peut affecter les processus neuronaux centraux (éventuellement à la fois membranaires et synaptiques), ce qui entraîne à son tour une altération du système effecteur régulant la contraction et la relaxation des muscles adducteurs, et conduit à une altération de la capacité de filtration et de respiration chez la moule *Unio elongatulus*. L'effet de la cyperméthrine à des concentrations de 10 µg/L ou plus peut être interprété comme dépressif pour la capacité de filtration des moules. Il s'agit d'une action néfaste car lors de la réduction de la capacité de filtration, les processus d'alimentation, de respiration et d'excrétion sont réduits, affectant à la fois les processus vitaux des moules et leur fonction de nettoyage de l'eau, qui est un facteur important pour le maintien d'un écosystème aquatique sain (Köprücü *et al.*, 2010).

Enfin, nos résultats suggèrent que les mesures de la capacité de filtration et de respiration peuvent être utilisées pour évaluer les effets de perturbations environnementales sur la moule.

3. Impacts de l'exposition au diuron et au triclosan sur les paramètres du stress oxydatif et de la neurotoxicité

Les connaissances sur les effets des radicaux libres sont importantes dans les processus biologiques, ainsi que dans les mécanismes de toxicité induits par des contaminants. Ceci a conduit à une augmentation considérable de l'application de biomarqueurs de stress oxydatif comme la SOD et la CAT dans plusieurs programmes de biosurveillance des organismes aquatiques (Livingstone, 2001). À l'aide de spécimens sauvages de *M. galloprovincialis* collectés de la lagune de Bizerte, cette étude visait à évaluer la réponse du système de défense antioxydant enzymatique afin d'évaluer le statut antioxydant des moules potentiellement exposées à deux pesticides, et

d'évaluer leur utilisation en tant que biomarqueurs. Des approches similaires ont été utilisées par d'autres auteurs considérant l'évaluation de la réponse des enzymes de défenses antioxydantes chez les populations naturelles de *Mytilus spp* exposés aux métaux (Canesi *et al.*, 1999) et aux contaminants organiques (Akcha *et al.*, 2000, Orbea *et al.*, 2002).

Au cours du présent travail, l'exposition des moules à deux concentrations croissantes de 50 µg/L et 100 µg/L de diuron et de triclosan a modifié significativement ($p < 0,05$) l'activité des enzymes antioxydantes ; la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et le taux de malondialdéhyde (MDA).

3.1. Impacts sur l'activité de la superoxyde dismutase

L'activité de la superoxyde dismutase (SOD) a augmenté significativement au niveau de la glande digestive et des branchies des moules traitées par le diuron d'une manière concentration et contaminant dépendante (Fig. 53). Ainsi, le traitement des moules à des concentrations de 50 µg/L et 100 µg/L a augmenté l'activité de ce biomarqueur au niveau de la glande digestive, passant de $1,29 \pm 0,05$ U/mg de protéines (valeur enregistrée au niveau de la glande digestive du groupe témoin) à $3,600 \pm 0,214$ U/mg de protéines (valeur enregistrée au niveau de la glande digestive du groupe traité par 50 µg/L) pour atteindre une valeur maximale de $4,680 \pm 0,218$ U/mg de protéines au niveau de la glande digestive des moules traitées par une concentration de 100 µg/L. Le même profil de réponse est observé au niveau des branchies avec une augmentation significative ($p = 0,000138$) par rapport au groupe témoin. Ainsi, on enregistre $2,20 \pm 0,06$ U/mg de protéines après exposition au Di1 et une valeur maximale de $2,86 \pm 0,10$ U/mg de protéines après exposition au Di2.

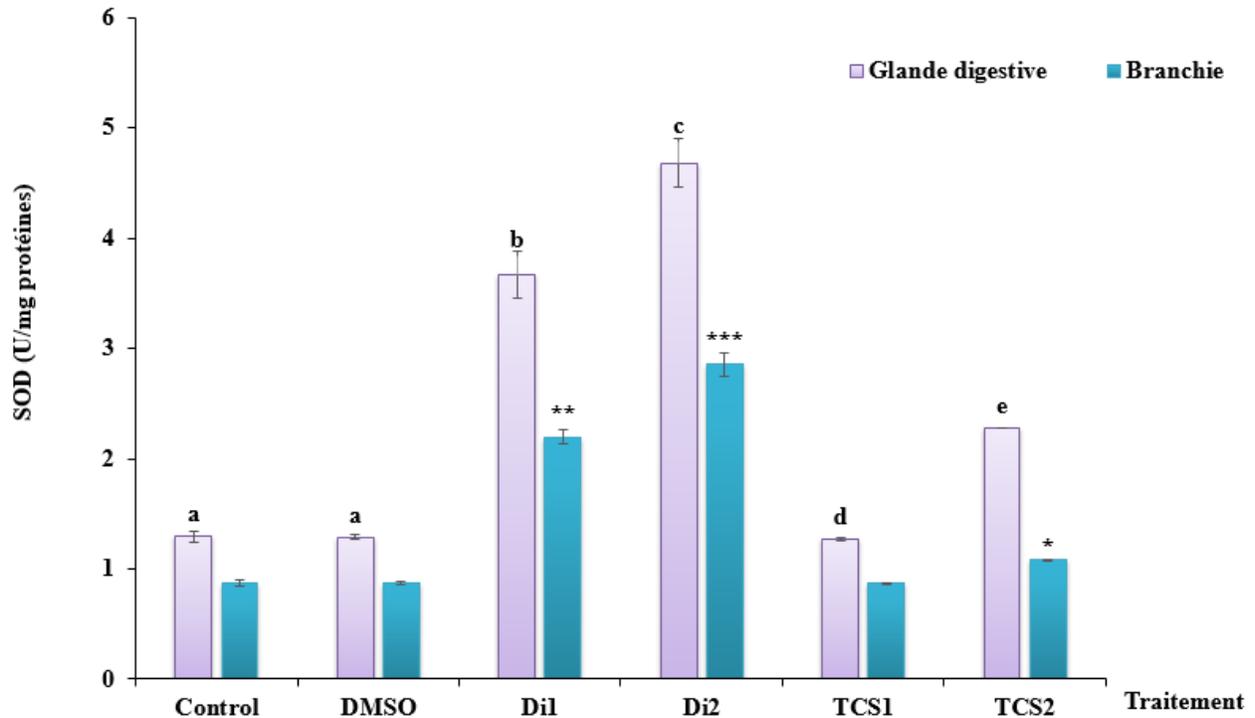


Figure 53: Variation moyenne de l'activité superoxyde dismutase (SOD) au niveau des branchies et de la glande digestive des moules témoins (control) et traitées durant 14 jours par le diuron (Di1 = 50 $\mu\text{g/L}$ et Di2 = 100 $\mu\text{g/L}$) et le triclosan (TCS1 = 50 $\mu\text{g/L}$ et TCS2 = 100 $\mu\text{g/L}$). a, b, c et d : lettres indiquant une différence significative ou non au niveau de la glande digestive à $p < 0,05$. *, **, *** : indiquent une différence significative au niveau des branchies respectivement à $p < 0,05$; $p < 0,01$ et $p < 0,001$. ANOVA 1, test HSD de tukey

La réponse de la SOD à l'exposition au triclosan diffère de celle du diuron. En effet, l'exposition des moules à une concentration de 50 $\mu\text{g/L}$ de triclosan (TCS1) n'a pas modifié significativement l'activité de cette enzyme au niveau de la glande digestive ($p = 0,99$) et au niveau des branchies ($p = 0,99$) par rapport aux moules témoins. Cependant, le traitement par une concentration de 100 $\mu\text{g/L}$ (TCS2) a induit une augmentation significative au niveau des deux organes qui atteint $2,270 \pm 0,001$ U/mg de protéines au niveau de la glande digestive et $1,080 \pm$

0,007 U/mg de protéines au niveau des branchies.

Nos résultats mettent l'accent sur la sensibilité de la SOD à la contamination par le diuron et par le triclosan. Cette sensibilité est dépendante du contaminant et montre que le diuron semble plus toxique que le triclosan. Elle est aussi dépendante de la concentration d'exposition où la forte concentration considérée (100 µg/L) exerce un effet prononcé. L'augmentation de la SOD est probablement liée à la production des espèces réactives de l'oxygène, essentiellement l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$). La fonction métabolique essentielle de cette enzyme est de convertir ce radical en eau. Par conséquent, l'augmentation potentielle de la production de l'anion superoxyde conduit à la réponse antioxydante observée suite au traitement par les deux pesticides (Regoli et Giuliani, 2014). De même, Felício *et al.* (2018) ont observé une augmentation de la SOD après exposition au diuron, suggérant que le contaminant interférait avec les enzymes de défenses antioxydantes, déclenchant la production des ROS. La réponse concentration dépendante, observée dans la glande digestive et les branchies suite à l'exposition au contaminants testés, indique que le diuron et le triclosan pourrait exercer des mécanismes toxiques similaires liés à la voie du stress oxydatif dans les organes analysés (Bouzidi *et al.*, 2021).

3.2. Impacts sur l'activité catalase

La catalase (CAT) est une enzyme antioxydante impliquée aussi dans la détoxification du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) généré suite à un stress environnemental. Au cours de la présente étude, l'exposition des moules à deux concentrations de diuron et de triclosan a induit l'activité de ce biomarqueur au niveau de la glande digestive et des branchies d'une manière concentration dépendante (Fig. 54). En effet, la valeur moyenne de l'activité CAT a augmenté de $0,150 \pm 0,013$ µmol/min/mg de protéines au niveau de la glande digestive des moules témoins à $0,440 \pm 0,015$ µmol/min/mg de protéines au niveau de la glande digestive des moules traitées par 50 µg/L de diuron montrant une différence statistiquement significative ($p = 0,00013$). L'activité de cette

enzyme atteint une valeur maximale de $0,55 \pm 0,02 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines au niveau de la glande digestive des moules traitées par $100 \mu\text{g}/\text{L}$ de diuron. De même, l'activité SOD est touchée au niveau des branchies des moules traitées par le diuron où on enregistre une activité maximale de $0,320 \pm 0,029 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines au niveau des branchies des moules traitées par $100 \mu\text{g}/\text{L}$ de diuron par rapport à une valeur minimale de $0,080 \pm 0,001$ enregistrée au niveau des branchies des moules témoins.

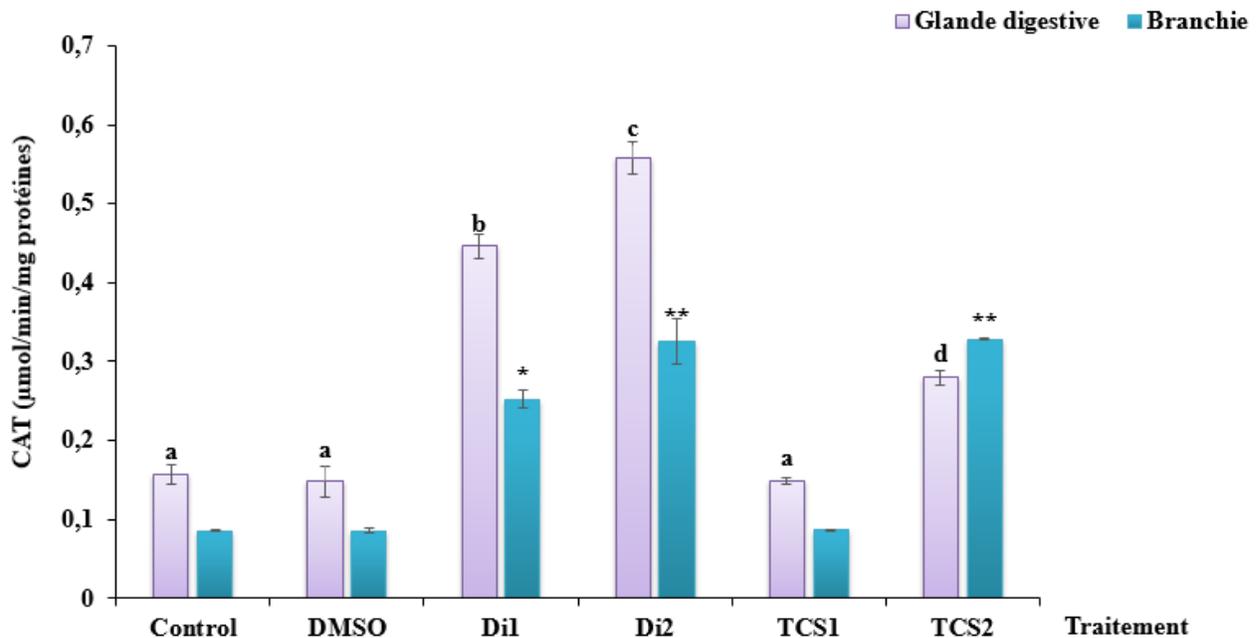


Figure 54: Variation moyenne de l'activité catalase (CAT) au niveau des branchies et de la glande digestive des moules témoins (control) et traitées durant 14 jours par le diuron (Di1 = $50 \mu\text{g}/\text{L}$ et Di2 = $100 \mu\text{g}/\text{L}$), le triclosan (TCS1 = $50 \mu\text{g}/\text{L}$ et TCS2 = $100 \mu\text{g}/\text{L}$). a, b,c et d: lettres indiquant une différence significative ou non au niveau de la glande digestive à $p < 0,05$. * et ** : indiquent une différence significative au niveau des branchies à $p < 0,05$ et à $p < 0,01$. ANOVA

1, test HSD de tukey

L'exposition des moules au triclosan a touché l'activité CAT au niveau des deux organes pour la forte concentration seulement (TCS2). Au contraire, aucun effet significatif ($p > 0,05$) n'a été observé suite au traitement par 50 µg/L de ce contaminant.

Nos résultats montrent que l'induction de l'activité de la catalase, enzyme de défense oxydatif, est liée non seulement à la concentration du stresser mais aussi à la nature du contaminant.

L'induction de l'activité enzymatique antioxydante due à la présence de niveaux élevés de contaminants ne doit pas être considérée comme une règle générale, étant donné qu'une variation considérable de réponses a été observée entre différentes espèces, suite à une exposition à un mélange unique ou complexe de contaminants (Livingstone, 2001). Par exemple, dans des conditions de laboratoire, certains auteurs ont rapporté une diminution des activités enzymatiques antioxydantes suite à une exposition à court terme de *M. galloprovincialis* aux acides résiniques (Gravato *et al.*, 2005) et aux métaux (Canesi *et al.*, 1999). D'autres auteurs ont suggéré que des périodes d'exposition relativement courtes, ne dépassant pas souvent sept jours, peuvent induire une diminution transitoire des activités enzymatiques antioxydantes, qui peut être suivie par l'induction du système antioxydant. Ainsi, une augmentation de l'activité des enzymes antioxydantes peut refléter une adaptation à l'exposition chronique à des niveaux élevés de contamination conféreront une protection accrue contre le stress oxydatif (Cheung *et al.*, 2001, Romero-Ruiz *et al.*, 2003). La SOD et la CAT, en tant que premières lignes de défenses antioxydantes, sont très sensibles à l'augmentation des niveaux de production de ROS stimulée par les contaminants. Porte *et al.* (1991) ont démontré une augmentation des valeurs d'activité de la SOD et de la CAT suite à l'accumulation d'hydrocarbures dans les tissus des moules. Dans le présent travail, des corrélations ont été trouvées entre les activités SOD et CAT déterminées dans

la glande digestive et les branchies des moules et dépendant de la concentration d'exposition.

L'effet prononcé du diuron par rapport au triclosan, observé au cours de cette étude, peut également être attribué au facteur de la bioaccumulation des deux contaminants. En effet, Santos *et al.* (2019) ont montré que le diuron présente un facteur de bioaccumulation supérieur à celui du triclosan.

3.3. Impacts sur le taux du malondialdéhyde

La production excessive des espèces réactives de l'oxygène peut conduire à un déséquilibre oxydatif résultant d'une lésion oxydative des lipides membranaires. En effet, si la production des ROS dépasse la capacité antioxydante, l'oxydation de macromolécules cellulaires telles que les lipides, les protéines, les acides nucléiques et les glucides peut avoir lieu (Van der Oost *et al.*, 2003). Le biomarqueur largement utilisé pour étudier les lésions oxydatives des lipides est le malondialdéhyde (MDA), un aldéhyde qui est un sous-produit dérivé de la décomposition des hydroperoxydes lipidiques formés par l'oxydation des acides gras polyinsaturés (Van der Oost *et al.*, 2003 ; Almeida *et al.*, 2007). Le MDA est une molécule hautement réactive (Trivic et Leskuvac, 1994) qui peut réagir avec d'autres macromolécules (Bartels, 2001), y compris les acides nucléiques, générant des adduits à l'ADN (Van der Oost *et al.*, 2003 ; Almeida *et al.*, 2007).

Au cours de ce travail, la mesure du taux de MDA au niveau de la glande digestive et des branchies des moules traitées par le diuron et le triclosan a révélé que ces deux produits sont capables d'altérer la barrière membranaire. L'effet des deux produits dépend de la nature du contaminant et de la concentration d'exposition (Fig. 55).

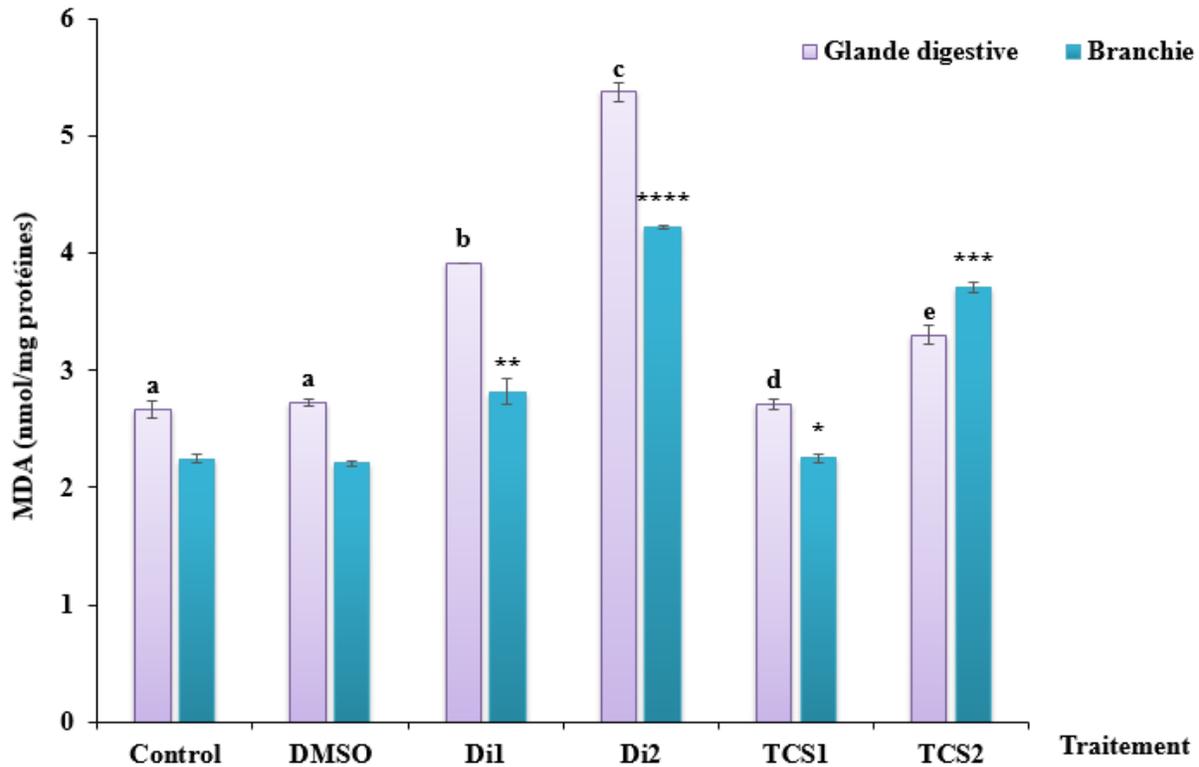


Figure 55: Variation moyenne du taux de malondialdéhyde (MDA) au niveau des branchies et de la glande digestive des moules témoins (control) et traitées durant 14 jours par le diuron (Di1 = 50 µg/L et Di2 = 100 µg/L) et le triclosan (TCS1 = 50 µg/L et TCS2 = 100 µg/L). a,b,c,d et e: lettres indiquant une différence significative ou non au niveau de la glande digestive à $p < 0,05$. *, **, *** et ****: indiquent une différence significative au niveau des branchies à $p < 0,05$; à $p < 0,01$ et à $p < 0,001$. ANOVA 1, test HSD de tukey

Le taux de MDA a augmenté significativement de $2,660 \pm 0,073$ nmol/mg de protéines au niveau de la glande digestive des moules témoins à $3,910 \pm 0,003$ nmol/mg de protéines au niveau de la glande digestive des moules traitées par 50 µg/L de diuron (Di1) et à $5,370 \pm 0,075$ nmol/mg de protéines au niveau de la glande digestive des moules traitées par 100 µg/L de diuron (Di2). Cette augmentation concentration dépendante souligne le seuil de sensibilité membranaire de la

glande digestive des moules à la contamination par le diuron et confirme une peroxydation lipidique membranaire, qui a eu lieu au niveau de cet organe. De même, l'effet concentration est observé au niveau des branchies avec un profil d'augmentation qui suit le gradient de concentration montrant une valeur maximale de MDA enregistrée au niveau des branchies des moules traitées par 100 µg/L de diuron par rapport aux branchies des moules non traitées.

Par opposition au diuron, la concentration à 50 µg/L du triclosan n'a pas modifié significativement le taux du MDA au niveau des organes considérés. Cependant, la concentration 100 µg/L a augmenté significativement le taux de MDA respectivement au niveau de la glande digestive et des branchies tout en restant inférieur à l'effet du diuron.

Il en ressort de nos résultats que la réponse du MDA est corrélée avec la concentration du contaminant. Des résultats semblables ont été observés chez le poisson tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposé au diuron (Felício *et al.*, 2018). Ces auteurs ont suggéré que les niveaux de MDA dans les branchies présentaient une nette réponse au contaminant étudié et que ce biomarqueur peut être qualifié de biomarqueur général pour les études de surveillance du diuron et de ces métabolites. De plus, il est bien connu que plusieurs classes de pesticides sont capables d'induire la peroxydation de la membrane en réponse à une action non compensatoire du système antioxydant contre une production excessive des ROS, produites dans des conditions de stress (Regoli et Giuliani, 2014).

3.4. Impacts sur l'activité acétylcholinestérase

L'acétylcholinestérase (AChE) est une enzyme essentielle dans la transmission de l'influx nerveux. Son inhibition est directement liée aux mécanismes d'action toxique de certains pesticides et certains métaux (Tsangaris *et al.*, 2007, Viarengo *et al.*, 2007). L'inhibition de l'AChE entraîne une accumulation d'acétylcholine au niveau des synapses nerveuses et la perturbation de la transmission nerveuse, et cela a été mesuré systématiquement pour évaluer les impacts

biologiques des pesticides en milieu aquatique (Lundebye *et al.*, 1997).

Au cours de ce travail, l'activité AChE mesurée au niveau de la glande digestive et des branchies des moules exposées au diuron et au triclosan montre une variation liée à la nature du contaminant et la concentration d'exposition. En effet, l'activité maximale de cette enzyme est enregistrée chez les moules témoins aussi bien pour la glande digestive que pour les branchies (Fig. 56). Cette activité est de l'ordre de $1,53 \pm 0,02$ $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines au niveau de la glande digestive et de l'ordre de $0,980 \pm 0,002$ $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines au niveau des branchies.

L'exposition des moules a deux concentrations de diuron 50 $\mu\text{g}/\text{L}$ (Di1) et 100 $\mu\text{g}/\text{L}$ (Di2) diminue l'activité AChE respectivement à $0,8700 \pm 0,0008$ $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines et à $0,510 \pm 0,025$ $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines au niveau de la glande digestive. De même, au niveau des branchies, l'activité de cette enzyme diminue respectivement à $0,740 \pm 0,008$ $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines et à $0,540 \pm 0,014$ $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines.

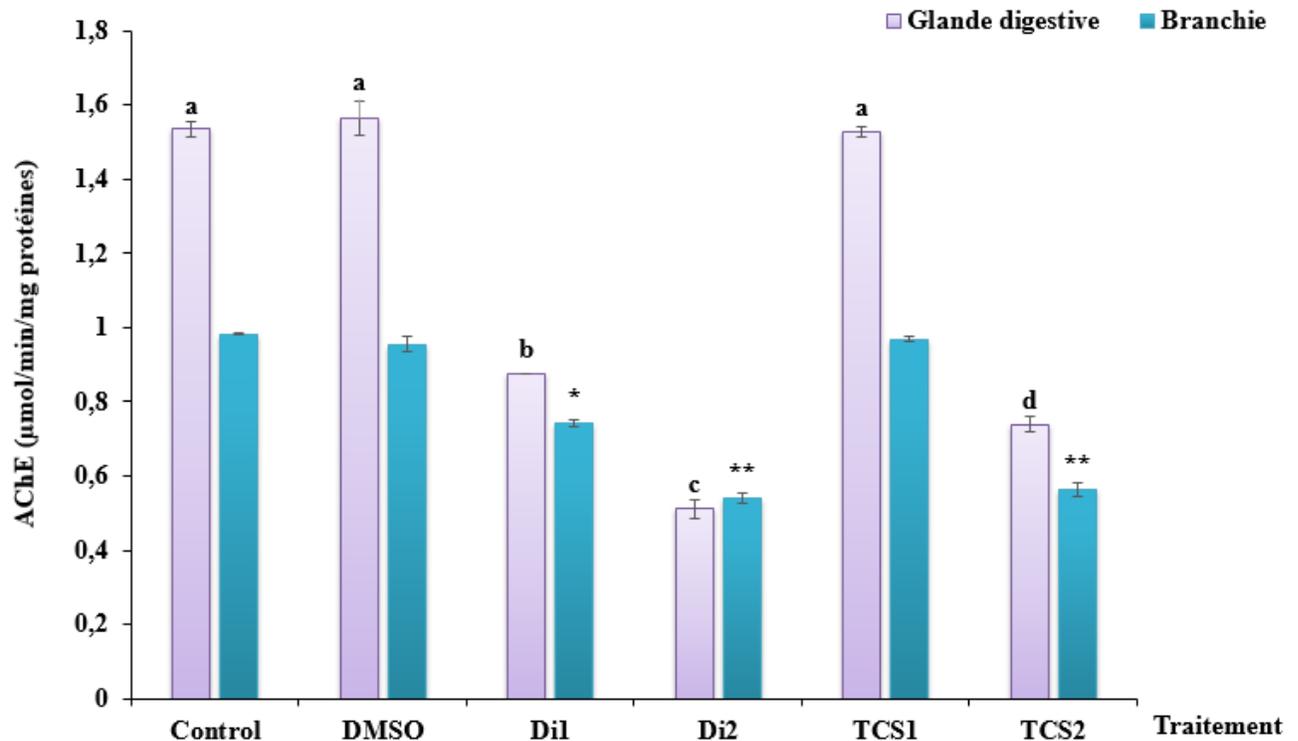


Figure 56 : Variation moyenne de l'activité acétylcholinestérase (AChE) au niveau des branchies et de la glande digestive des moules témoins (control) et traitées durant 14 jours par le diuron (Di1 = 50 μg/L et Di2 = 100 μg/L) et le triclosan (TCS1 = 50 μg/L et TCS2 = 100 μg/L). a, b, c et d: lettres indiquant une différence significative ou non au niveau de la glande digestive à $p < 0,05$. * et ** : indiquent une différence significative au niveau des branchies à $p < 0,05$ et à $p < 0,01$. ANOVA 1, test HSD de tukey

Au contraire, l'exposition des moules à 50 μg/L de triclosan n'a pas modifié significativement l'activité AChE au niveau de la glande digestive ($p = 0,998$) et au niveau des branchies ($p = 0,553$) par rapport au groupe témoin. Cette réponse témoigne de la capacité de résistance de la moule à cette concentration du triclosan. Cela indique que les mécanismes compensatoires qui permettent à ces organismes de résister aux variations naturelles de l'environnement peuvent également

conférer une certaine résistance à l'exposition aux triclosan comme suggéré par Brown *et al.* (2004). Cependant, la concentration de 100 µg/L (TCS2) touché significativement l'activité de ce biomarqueur montrant une diminution significative au niveau de la glande digestive et des branchies.

Nos résultats confirment donc que le diuron et le triclosan peuvent affecter la neurotransmission chez la moule. Des études comparables ont montré que les pesticides inhibent l'activité de l'acétylcholinestérase *in vitro* de manière concentration-dépendante dans les branchies et les muscles de la moule *Perna perna* (Sandrini *et al.*, 2013). Ces auteurs ont suggéré que l'inhibition de l'activité enzymatique a atteint plus de 50 % même aux plus faibles concentrations testées et que cette inhibition peut expliquer l'incapacité des moules à faire face aux pesticides (Sandrini *et al.*, 2013).

L'action du diuron et du triclosan peut être aussi considérée comme avoir un effet direct sur la structure enzymatique. Ainsi, les pesticides peuvent former une liaison covalente avec le site actif de l'AChE, donnant un complexe enzyme-substrat stable, conduisant à son inhibition et son inactivation (Sanchez-Hernandez et Walker, 2000). Cet effet toxique peut se produire non seulement chez les vertébrés mais chez d'autres organismes, notamment aquatiques, qui partagent la même voie de régulation de la neurotransmission (Cooper et Bidwell, 2006). De plus, l'inhibition de l'AChE peut être liée à la concentration du substrat (ASCh) suite à l'exposition au diuron et au triclosan. En effet, selon l'étude de Colletier *et al.* (2006), des niveaux élevés du substrat ASCh peuvent altérer l'activité hydrolytique de l'AChE, en empêchant la sortie rapide du produit de dégradation (acétate) de l'acétylcholine. Cet effet entraîne une réduction significative du taux d'hydrolyse, similaire à ce qui a été observé dans notre étude. Des résultats similaires ont également été signalés pour d'autres organismes aquatiques (Garcia *et al.*, 2000 ; Nunes *et al.*, 2005 ; Pereira *et al.*, 2019). Il semble donc de ce qui a été décrit pour d'autres organismes aquatiques, que l'AChE

présente dans les tissus de la moule est susceptible d'être saturé à des niveaux élevés du substrat.

En résumé de cette partie liée à l'impact du diuron et du triclosan sur la moule *Mytilus galloprovincialis* il en ressort que :

- a. Les deux produits sont capables d'altérer la physiologie de cette espèce en affectant sa capacité de filtration et de respiration.
- b. Les deux pesticides peuvent induire un déséquilibre oxydatif à l'origine d'un stress oxydant dépassant la capacité de défense antioxydante de l'espèce et par conséquent un dommage cellulaire qui se traduit par une peroxydation lipidique
- c. Les deux produits testés sont capables d'interagir avec la barrière neuromusculaire aboutissant à une neurotoxicité
- d. L'ensemble des paramètres étudiés montre que l'effet dépend de la concentration et de la nature chimique du contaminant.

Partie B : EFFETS DE MÉLANGES DE CONTAMIANTS

1. Introduction

Les écosystèmes aquatiques reçoivent une variété de polluants, y compris les nanoparticules (NPs), les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) et les pesticides, émanant notamment des activités anthropiques (Sellami *et al.*, 2017 ; Behera *et al.*, 2018 ; Adochite et Andronic, 2021).

Ces polluants peuvent interagir avec les organismes aquatiques conduisant à une altération de leur structure et/ou fonction. De plus, l'interaction entre les produits chimiques et les différents compartiments des cellules a été considérée dans les études toxicologiques antérieures, basées sur le niveau de production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et d'enzymes antioxydantes.

Ainsi, l'équilibre entre la production et l'élimination des ROS médiée par des activités enzymatiques détermine le potentiel de toxicité des polluants qui joue un rôle crucial dans l'évaluation des risques. Les activités des enzymes antioxydantes tels que la superoxyde dismutase (SOD) et la catalase (CAT) offrent un mécanisme polyvalent pour contrôler les ROS intracellulaires en maintenant l'homéostasie redox, protégeant ainsi les organismes du stress oxydatif (Ni *et al.*, 2019). Par conséquent, l'évaluation des activités de ces enzymes antioxydantes peut aider à surveiller le niveau de stress oxydatif induit chez les organismes exposés à un seul ou un mélange de polluants.

Il est bien connu que les études des effets de toute substance dans les organismes aquatiques sont de plus en plus complexes. Ceci est principalement attribuable au fait que les polluants se produisent rarement seuls, mais plutôt en combinaison avec d'autres substances toxiques. Les interactions entre polluants peuvent produire des impacts égaux à (effet additif), plus petit que (effet antagoniste) ou plus grand que (effet synergique) la somme de leurs effets individuels (Jackson *et al.*, 2016).

À ce jour, peu de données ont été rapportées sur l'influence des NPs sur la toxicité des HAPs et des pesticides pour les invertébrés marins (Farkas *et al.*, 2015 ; Adochite et Andronic, 2021). Par conséquent, de telles enquêtes représentent une voie prometteuse pour de plus amples recherches.

La présente étude se propose : (1) d'évaluer la toxicité potentielle de trois HAPs (le Benzanthracène, le fluoranthène et le benzo(a)pyrène) et de deux pesticides (le diuron et le triclosan) en combinaison avec plusieurs formes de NPs (le ZnO, l'Au-ZnO, le Cu-ZnO, le TiO₂ et l'AuTiO₂) sur la moule *Mytilus galloprovincialis*; (2) de comparer la sensibilité des organes des moules (la glande digestive et les branchies) à ces types d'expositions; (3) d'explorer les voies enzymatiques impliquées dans la toxicité de mélanges de contaminants et (4) de prédire si les nanoparticules pourraient réduire efficacement la toxicité des contaminants dans de réels scénarios.

2. Effets du mélange des nanoparticules et des hydrocarbures aromatiques polycycliques

Au cours de ce travail, l'effet du mélange de nanoparticules et des HAPs est étudié par le biais de la réponse physiologique et biochimique.

2.1. Effet du mélange sur la réponse physiologique

Les résultats de la capacité de filtration et de respiration des moules exposées aux mélanges de 100 µg/L de ZnONPs (ZnONP2), d'AuZnONPs (AuZnONP2), de CuZnONPs (CuZnONP2), de TiO₂NPs (TiO₂NP2) et d'Au-TiO₂NPs (Au-TiO₂NP2) avec 100 µg/L de Benzanthracène (Banth2), de Fluoranthène (FL2) et de benzo(a)pyrène (B(a)p2) sont illustrés dans les figures 57 et 58.

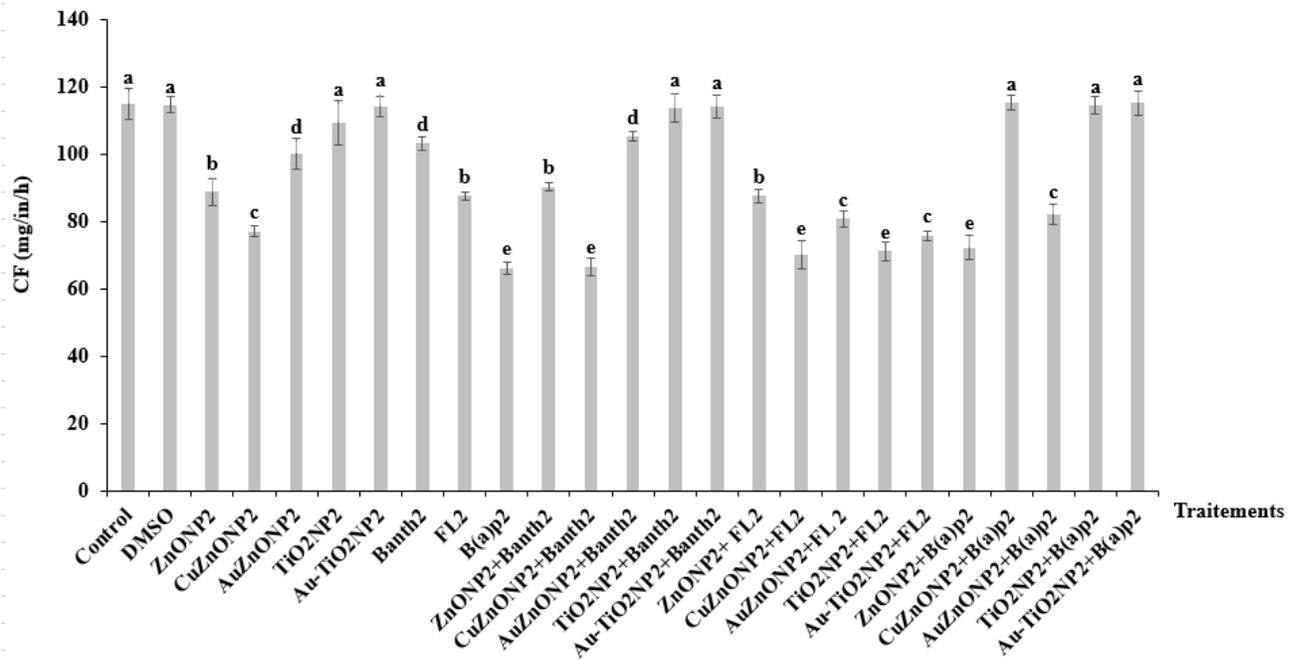


Figure 57 : Effets de l'exposition aux NPs, aux HAPs et aux mélanges binaires NPs-HAPs sur la capacité de filtration des moules. a, b, c, d et e : lettres indiquant une différence significative ou non à $p < 0,05$. ANOVA 1, test HSD du Tukey

La capacité de filtration (CF) est touchée suite à l'exposition aux mélange d'une manière contaminants dépendante par comparaison avec le groupe « control » et l'effet individuel des contaminants. En effet, le mélange binaire du Banth2 avec les 05 formes nanométriques montre que les deux formes nanométriques ; ZnONP2 et CuZnONP2 ont réduit significativement la capacité de filtration par rapport aux moules témoins et aux moules traitée par le Banth2 seul. Ainsi, la valeur minimale de CF est observée en présence du mélange Banth2 + CuZnNP2, montrant une interaction synergique entre les deux types de contaminants. Cependant un effet similaire à celui de Banth2 est observé suite à l'exposition au mélange binaire de Banth2 avec les

NPs d'AuZnONP2. A l'inverse, l'exposition des moules aux mélanges de Banth2 avec le TiO₂NP2 et l'AuTiO₂NP2 n'a pas modifié significativement ($p > 0,05$) la capacité de filtration par rapport aux groupe témoin, mais semble montrer une correction par rapport aux moules traitées par le Banth2 seul. Par conséquent, une interaction de type antagonisme entre le Benzanthracène et les deux NPs doit être considérée.

Un autre profil de réponse différent de celui de Banth2 est observé suite à l'exposition au mélange binaire de NPs avec le fluoranthène (FL2). En effet, la co-exposition des moules aux NPs de CuZnONP2, du TiO₂ et d'AuTiO₂ avec le FL2 a réduit significativement la capacité de filtration des moules par rapport aux moules témoins et celles traitées par le FL2 seul, mettant en évidence une interaction synergique. Cependant, la co-exposition aux NPs de ZnONP2 et d'AuZnONP2 avec le FL2 n'a pas modifié la capacité de filtration par rapport aux moules traitées par le FL2 seul.

Un troisième profil est observé avec le mélange binaire du B(a)p2 avec les 05 formes nanométriques, où deux types d'interactions sont mis en jeu. La première est de type antagonisme observée suite à la co-exposition des moules aux B(a)p2 avec le CuZnONP2, l'AuZnONP2, le TiO₂NP2 et l'AuTiO₂NP2 où les quatre formes ont corrigé l'action physiologique induite par le B(a)p2. Le deuxième type d'interaction est observée suite à l'exposition au mélange binaire de B(a)p2 et le ZnONP2 où l'effet est le même que celui observé suite à l'exposition au B(a)p2.

Les résultats relatifs à la capacité de respiration (CR) montrent un profil souvent similaire à celui de la capacité de filtration, caractérisé par des effets dépendants de la nature du mélange (Fig.58). En effet, les mélanges AuZnONP2 + Banth2, TiO₂NP2 + Banth2, AuTiO₂NP2 + Banth2, CuZnONP2 + B(a)p2, TiO₂NP2 + B(a)p2 et AuTiO₂NP2 + B(a)p2 n'ont pas affecté la capacité de respiration des moules par comparaison aux moules témoins. Cependant, les autres mélanges binaires ont diminué la capacité de respiration d'une manière significative par rapport aux témoins.

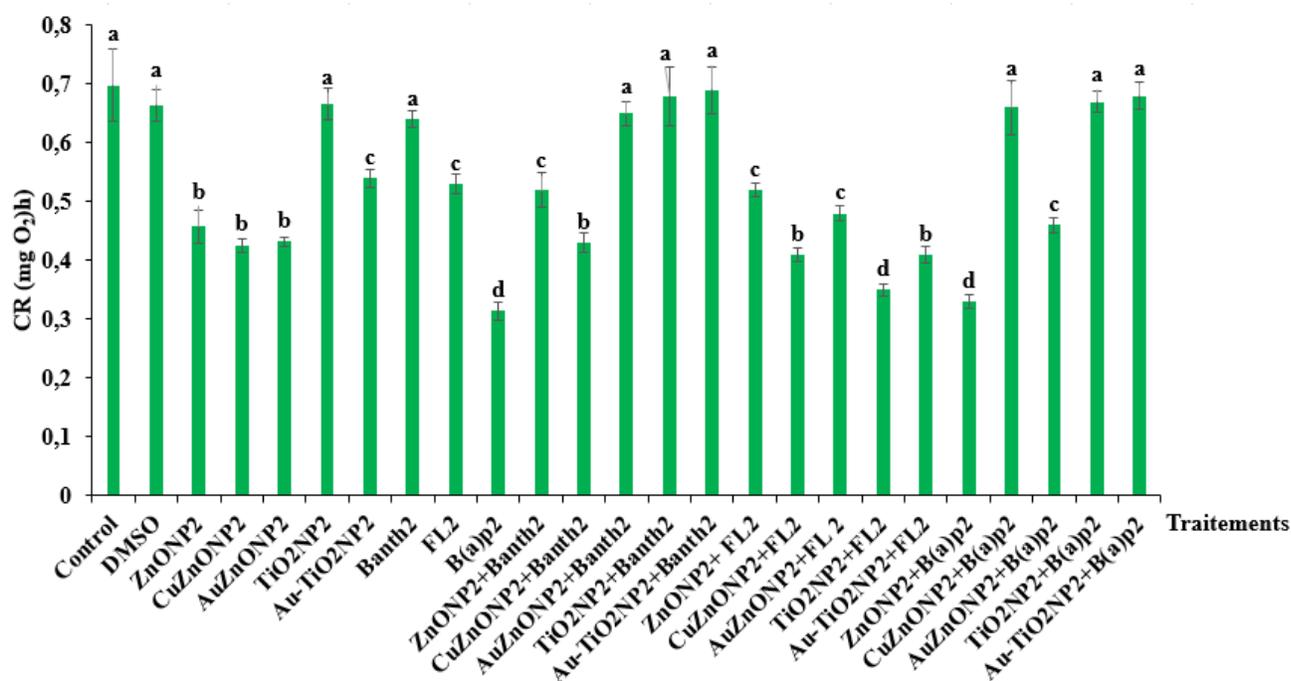


Figure 58 : Effets de l'exposition aux NPs, aux HAPs et aux mélanges binaires NPs-HAPs sur la capacité de respiration des moules. a, b, c et d : lettres indiquant une différence significative ou non à $p < 0,05$. ANOVA 1, test HSD du Tukey

Les mélanges de ZnONP2 + Banth2 et ZnONP2 + Banth2 ont diminué la capacité de respiration d'une manière significative par rapport au Banth2 seul qui n'a pas d'effet sur cette réponse. Ce résultat met en évidence une interaction de type potentialisation. Ce dernier phénomène survient lorsqu'une substance qui n'a habituellement pas d'effets toxiques, est combinée à un produit chimique, en le rendant beaucoup plus toxique.

Les 05 formes nanométriques combinées au FL2 ont produit un effet plus intense que celui du FL2 seul, suggérant une interaction synergique.

Enfin, une interaction de type antagonisme est observée suite à l'exposition du mélange binaire AuZnONP2 + B(a)p2.

Il en ressort des résultats relatifs à la capacité de filtration et de respiration, que les mélanges de

NPs avec les HAPs peuvent altérer la physiologie de la moule. Cet effet délétère est dépendant de la nature chimique des contaminants mis en jeu. De plus, des interactions toxicologiques de types synergique, antagonisme, potentialisation et additif peuvent avoir lieu au sein de la matrice biologique considérée. Ceci peut également être attribué à une interaction chimique possible qui a eu lieu entre les produits avant l'addition aux microcosmes. Nos résultats concordent avec des études écotoxicologiques antérieures qui ont suggéré que l'interaction de plusieurs facteurs de stress peut avoir des effets additifs ou générer des résultats complexes, y compris des réponses synergiques ou antagonistes de différentes variables écosystémiques (Folt *et al.*, 1999; Piggott *et al.*, 2012). De plus, l'étude de l'effet combiné de plusieurs facteurs de stress anthropiques est importante car les conséquences sont souvent imprévisibles sur la base de la connaissance des effets individuels (Townsend *et al.*, 2008). Ces informations sont précieuses pour la compréhension de l'impact réel des contaminants sur l'écosystème et l'estimation des coûts associés.

Des résultats comparables ont été confirmés chez la moule exposée aux mélanges binaires de cuivre avec le phénanthrène avec une interaction synergique observée après 12 jours d'exposition (Moore *et al.*, 1984).

2.2. Réponse des biomarqueurs à la contamination par les mélanges des HAPs et NPs

Les activités SOD et CAT ont été mesurées dans les glandes digestives et les branchies des moules après 14 jours d'exposition à 100 µg/L de ZnONPs (ZnONP2), AuZnONPs (AuZnONP2), CuZnONPs (CuZnONP2), TiO₂NPs (TiO₂NP2) et Au-TiO₂NPs (Au-TiO₂NP2) combinés à 100 µg/L du Benzanthracène (Banth2), Fluoranthène (FL2) et du Benzo(a)pyrène (B(a)p2). L'activité de ces deux biomarqueurs a été différemment modifiée en fonction de la nature du mélange de contaminants et l'organe mis en jeu.

2.2.1. Réponse de la superoxyde dismutase

Différentes formes d'interactions ont été observées pour l'activité SOD dans la glande

digestive et les branchies de *M. galloprovincialis* après exposition au mélange des HAPs et des NPs (Fig. 59 et 60). La combinaison du ZnONP2, TiO₂NP2 et AuTiO₂NP2 avec le Banth2 et le B(a)p2 diminue l'activité SOD par rapport à l'exposition aux Banth2 et B(a)p2 seules. De même, les mélanges AuZnONP2 + Banth2 et CuZnONP2 + B(a)p2 ont également réduit l'activité SOD par rapport aux Banth2 et B(a)p2 seuls. L'AuZnONP2 et l'AuTiO₂NP2 combinés au FL2 ont réduit l'activité de ce biomarqueur. Cette réponse témoigne de l'existence d'une interaction antagoniste entre les contaminants au sein de la glande digestive de la moule (Jackson *et al.*, 2016).

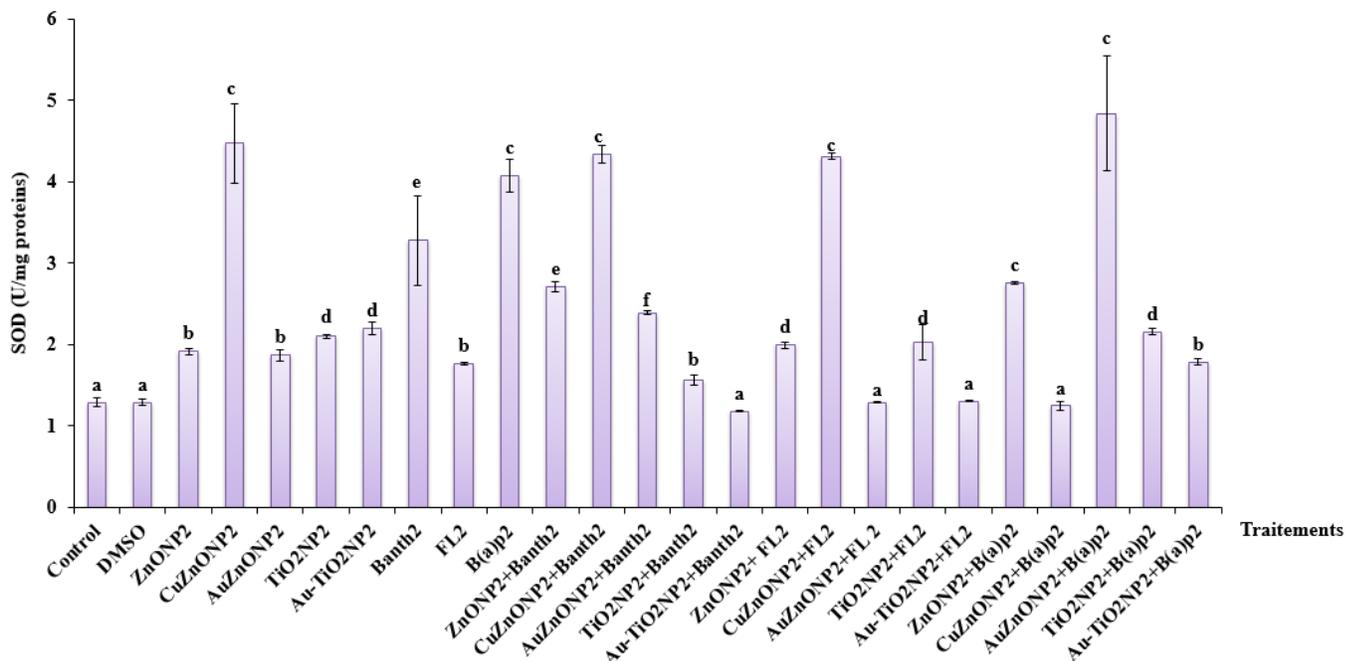


Figure 59: Effets de l'exposition aux NPs, HAPs et aux mélanges binaires NPs-HAPs sur l'activité SOD au niveau de la glande digestive des moules. a, b, c, d, e et f: différentes lettres indiquant une différence significative ou non à $p < 0,05$. ANOVA 1, test HSD du Tukey

Le profil de l'activité SOD est différent au niveau des branchies (Fig. 60). En effet une interaction de type potentialisation par rapport à l'effet observé avec le Benzantracène, qui n'a pas d'effet sur l'activité SOD au niveau des branchies, en combinaison avec le ZnONP2 et le

CuZnONP2. De plus, la combinaison du Banth2 avec l’AuZnONP2, le TiO₂NP2 et l’AuTiO₂NP2 n’a pas modifié significativement ($p > 0,05$) l’activité SOD au niveau de ces organes par rapport aux groupes témoins et traités par le Benzanthracène seul (Fig. 60).

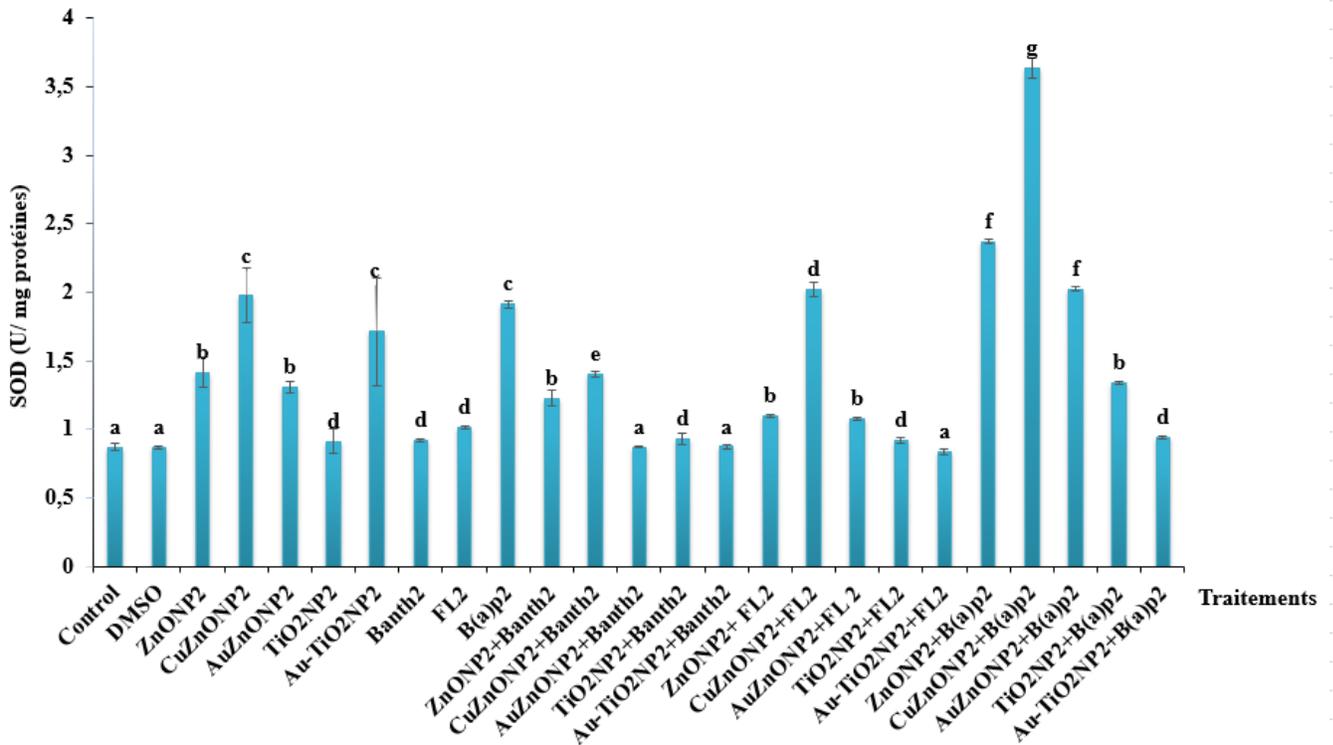


Figure 60: Effets de l’exposition aux NPs, HAPs et aux mélanges binaires NPs-HAPs sur l’activité SOD au niveau des branchies des moules. a, b, c, d, e et f: lettres indiquant une différence significative ou non à $p < 0,05$. ANOVA 1, test HSD du Tukey

La combinaison entre le FL2 avec le TiO₂NP2 et l'AuTiO₂NP2 n'a pas induit un effet significatif par rapport aux groupes témoins et traités par le FL2 seul. Cependant, les mélanges binaires (ZnONP2 + FL2), (CuZnONP2 + FL2) et (AuZnONP2 + FL2) mettent en évidence une potentialisation caractérisée par un effet plus élevé par rapport à celui du FL2 seul qui lui n'a pas d'effet significatif.

Pour le B(a)p, deux interactions ont eu lieu au niveau des branchies. La première est de type synergique observée suite à l'exposition aux mélanges (ZnONP2 + B(a)p2) et (CuZnONP2 + B(a)p2) et la deuxième est de type antagoniste observée suite à l'exposition aux mélanges de (TiO₂NP2 + B(a)p2) et (AuTiO₂NP2 + B(a)p2).

2.2.2. Réponse de la catalase

La réponse de la catalase est différente de celle du SOD au niveau des deux organes. Ainsi, les trois HAPs ont modifié l'activité CAT au niveau de la glande digestive et les branchies (Fig.61 et Fig.62). L'exposition des moules aux mélanges binaires entre NPs et des HAPs a montré différentes catégories d'interactions. Une interaction de type synergique est observée au niveau de la glande digestive suite à l'exposition aux mélanges binaires (ZnONP2+ Banth2), (AuZnONP2 + Banth2), (ZnONP2 + FL2) et (CuZnONP2 + FL2).

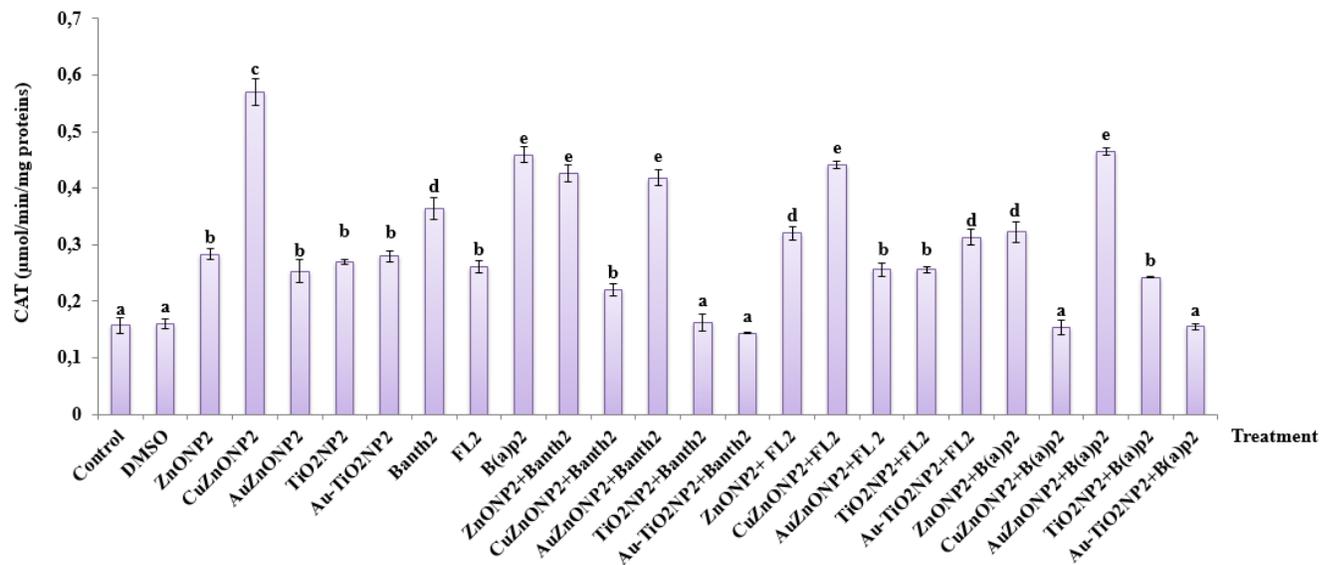


Figure 61 : Effets de l'exposition aux NPs, aux HAPs et les mélanges binaires NPs-HAPs sur l'activité CAT au niveau de la glande digestive des moules. a, b, c, d et e : lettres indiquant une différence significative ou non à $p < 0,05$. ANOVA 1, test HSD du Tukey

Cependant, une interaction de type antagoniste est observée pour l'activité CAT au niveau du même organe des moules traitées par (TiO₂NP2 + Banth2), (AuTiO₂NP2 + Banth2), (ZnONP2 + B(a)p2), (CuZnONP2 + B(a)p2), (TiO₂NP2 + B(a)p2) et (AuTiO₂NP2 + B(a)p2).

La réponse de l'activité CAT au niveau des branchies a été au contraire, différente de celle de la glande digestive pour les combinaisons (ZnONP2+ Banth2), (AuZnONP2 + Banth2) et (AuTiO₂NP2 + FL2). En effet, les combinaisons (ZnONP2 + Banth2) et (AuZnONP2 + Banth2), qui ont induit un effet synergique au niveau de la glande digestive, n'ont montré aucun effet significatif au niveau des branchies (Fig. 62).

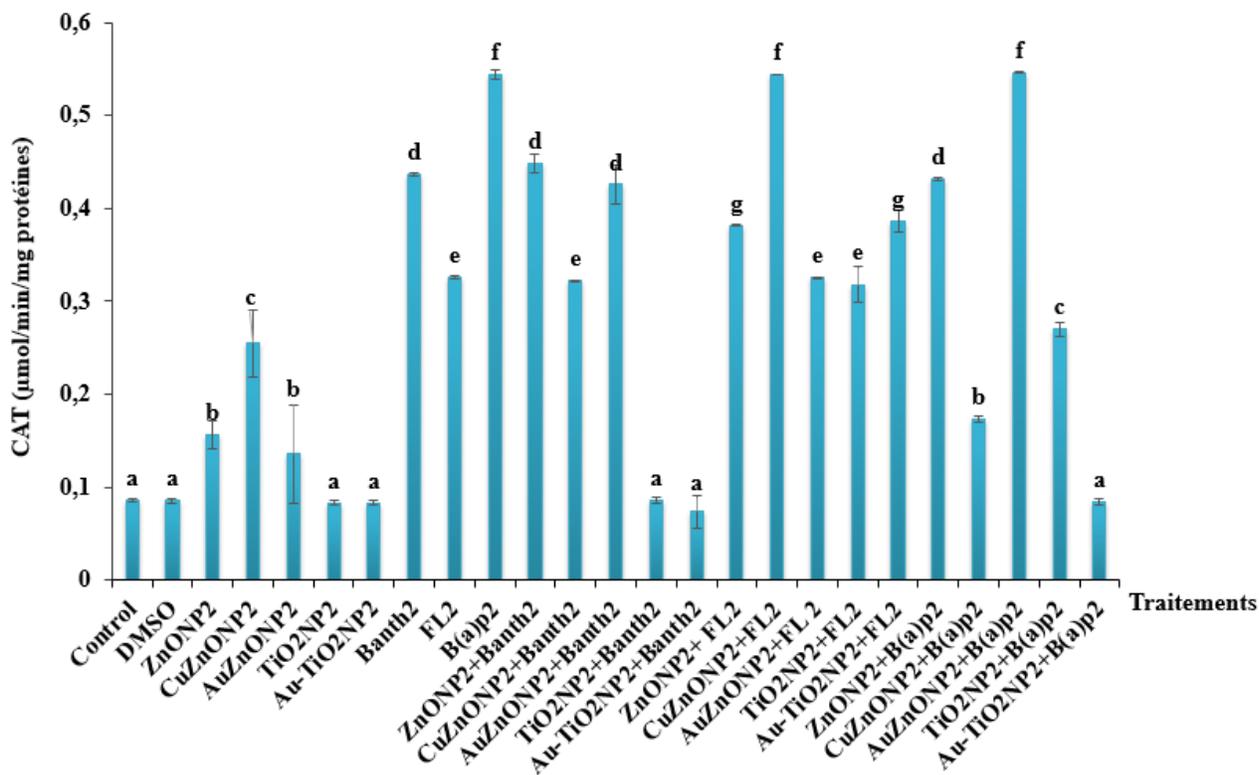


Figure 62 : Effets de l'exposition aux NPs, aux HAPs et les mélanges binaires NPs-HAPs sur l'activité CAT au niveau des branchies des moules. a, b, c, d et e : lettres indiquant une différence significative ou non à $p < 0,05$. ANOVA 1, test HSD du Tukey

Ce résultat témoigne de l'existence d'une relation entre le contaminant et la fonction physiologique de l'organe. Ainsi, Canesi *et al.* (2010) ont suggéré qu'en raison des mécanismes physiologiques impliqués dans le processus d'alimentation, les contaminants absorbés par les branchies sont dirigés vers la glande digestive, où l'absorption intracellulaire de contaminants induit un stress oxydatif.

L'augmentation de l'activité SOD et CAT confirme un stress oxydatif induit après exposition à certains mélanges de NPs avec les HAPs puisque ces enzymes sont également impliquées dans la désintoxication contre l'O₂⁻ et le H₂O₂.

La réduction des activités des biomarqueurs avec certains mélanges par rapport à leurs effets individuels témoigne d'une interaction antagoniste (Jackson *et al.*, 2016). Ce type de réponse est rencontré au niveau des deux organes suite à la co-exposition aux TiO₂NP2 et AuTiO₂NP2 avec le Banth2 et le B(a)p2. Ces résultats sont en accord avec ceux observés dans les tissus de *M. edulis* exposée au mélange binaire du TiO₂NPs avec leB(a)p (Farkas *et al.*, 2015). Les auteurs ont suggéré que ce phénomène peut être expliqué par une dégradation oxydative des HAPs en présence de NPs.

Aucun effet significatif n'a été observé pour l'activité SOD et l'activité CAT après exposition à l'AuZnONP2 combinée avec le B(a)p2 par rapport à l'effet individuel du B(a)p2 au niveau des deux organes. De plus, aucun effet significatif n'a été observé pour le CAT après exposition à l'AuZnONP2 et le TiO₂NP2 combinées à la FL2 par rapport à l'effet individuel du FL2.

L'augmentation des activités enzymatiques observée pour certaines combinaisons suggère une interaction synergique (Jackson *et al.*, 2016). Ces résultats pourraient être attribués à une forte biodisponibilité et une forte internalisation des HAPs en présence des nanomatériaux (Naasz *et al.*, 2018).

Dans cette étude, les activités SOD et CAT ont montré des profils variables en réponse aux différents mélanges indiquant que le mode d'effet dépend des propriétés des contaminants étudiés comme l'hydrophobie des HAPs et la surface des NPs. Nos résultats sont en accord avec les travaux de Canesi *et al.* (2014) qui ont étudié la réponse des biomarqueurs après exposition de *M. galloprovincialis* aux NPs de TiO₂NPs combinées au 2,3,7,8-TCDD. Ces auteurs ont constaté la présence d'interactions antagonistes et synergiques se produisant en fonction du tissu et du biomarqueur étudié.

La SOD et la CAT sont impliqués dans le mécanisme de détoxification contre les ROS induits en cas de stress oxydatif. L'augmentation de l'activité enzymatique observée après l'exposition aux

mélanges confirme un état du stress oxydatif et la stimulation du système de défense oxydatif qui protège les moules contre les dommages oxydatifs. En effet, lorsque les moules sont exposées à des polluants, la production des ROS augmente, conduisant à l'activation du système de défense antioxydante (Regoli et Giuliani, 2014). En outre, les différents types d'interactions observées sont en bon accord avec des études antérieures rapportées, montrant que la CAT joue un rôle mineur dans le métabolisme du H₂O₂ lorsqu'il est produit à des taux faibles mais joue un rôle plus important, lorsque le taux est élevé (Barata *et al.*, 2005; Jones *et al.*, 1981).

Les données obtenues pour les activités SOD et CAT appuient l'hypothèse que le stress oxydatif représente un mécanisme de toxicité des mélanges de HAPs et de NPs chez la moule et que des interactions biologiques de type antagonistes, potentialisation et synergistes, pourraient se produire.

2.2.3. Réponse du malondialdéhyde

Les taux de peroxydation lipidique, obtenus en mesurant les taux du malondialdéhyde (MDA) (produit de la peroxydation lipidique), chez les moules exposées aux mélanges binaires des HAPs et des NPs sont souvent différents du groupe « control » (Fig.63).

Au niveau de la glande digestive, le taux de MDA a toujours augmenté à l'exception des mélanges (TiO₂NP2 + Banth2), (AuTiO₂NP2 + Banth2), (CuZnONP2 + B(a)p2), et (AuTiO₂NP2 + B(a)p2).

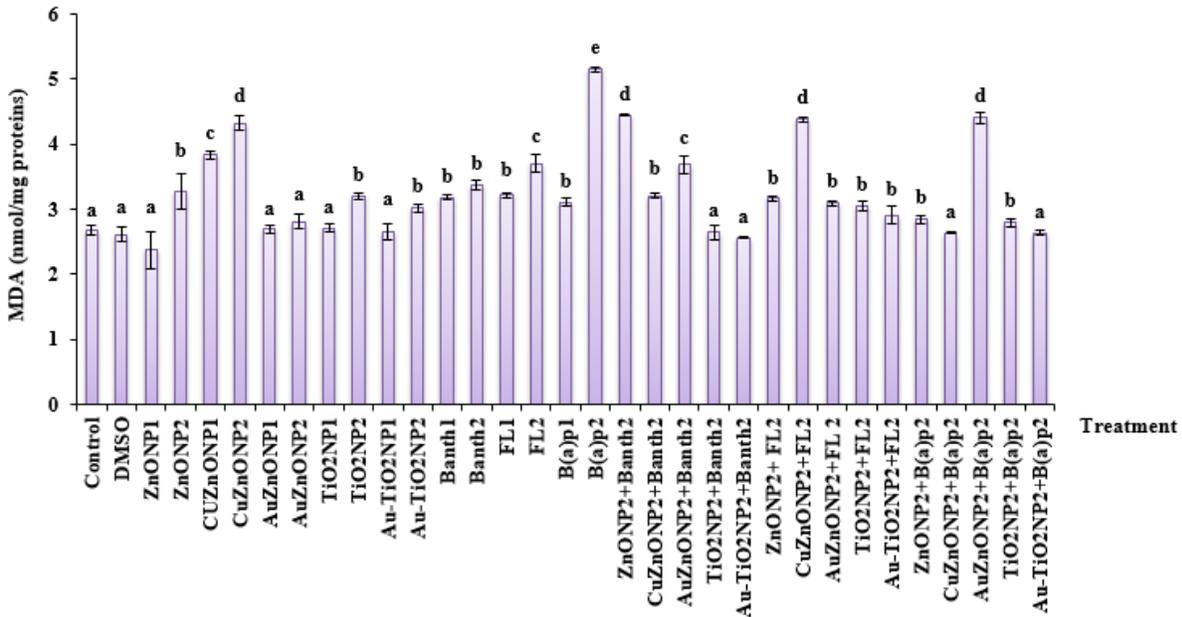


Figure 63 : Effets de l'exposition aux NPs, aux HAPs et aux mélanges binaires NPs-HAPs sur le taux de MDA dans la glande digestive des moules. a, b, c, d et e : lettres indiquant une différence significative ou non à $p < 0,05$. ANOVA 1, test HSD du Tukey

L'augmentation du taux de MDA pour la plupart des mélanges confirme la présence d'un dommage oxydatif chez les moules. Nos résultats concordent avec des études antérieures, montrant que les HAPs et les nanoparticules provoquent des effets négatifs, respectivement, chez les moules *Mytilus galloprovincialis* et *Mytilus coruscus*, entraînant une augmentation des niveaux de malondialdéhyde (Sellami *et al.*, 2017a, b, Huang *et al.*, 2018). Ce statut oxydatif peut également résulter de l'incapacité des moules à activer les enzymes antioxydantes et à éliminer les contaminants (Leite *et al.*, 2020).

Le profil du MDA au niveau des branchies diffère de celui observé pour la glande digestive (Fig. 64). Ainsi, la plupart des mélanges ont induit un effet délétère suggérant la présence d'un dommage membranaire lié à la contamination. De plus, une interaction de type antagoniste est

observée pour tous les mélanges à l'exception pour la co-exposition aux mélanges (AuZnONP2 + Banth2) et (CuZnONP2 + FL2). Cette réponse spécifique au niveau des branchies est probablement liée à la structure de cet organe. En effet, les branchies présentent une large surface en contact direct avec l'eau de mer qui fait que l'absorption, la bioaccumulation et le métabolisme des xénobiotiques se produisent principalement dans ce tissu (Piazza *et al.*, 2016).

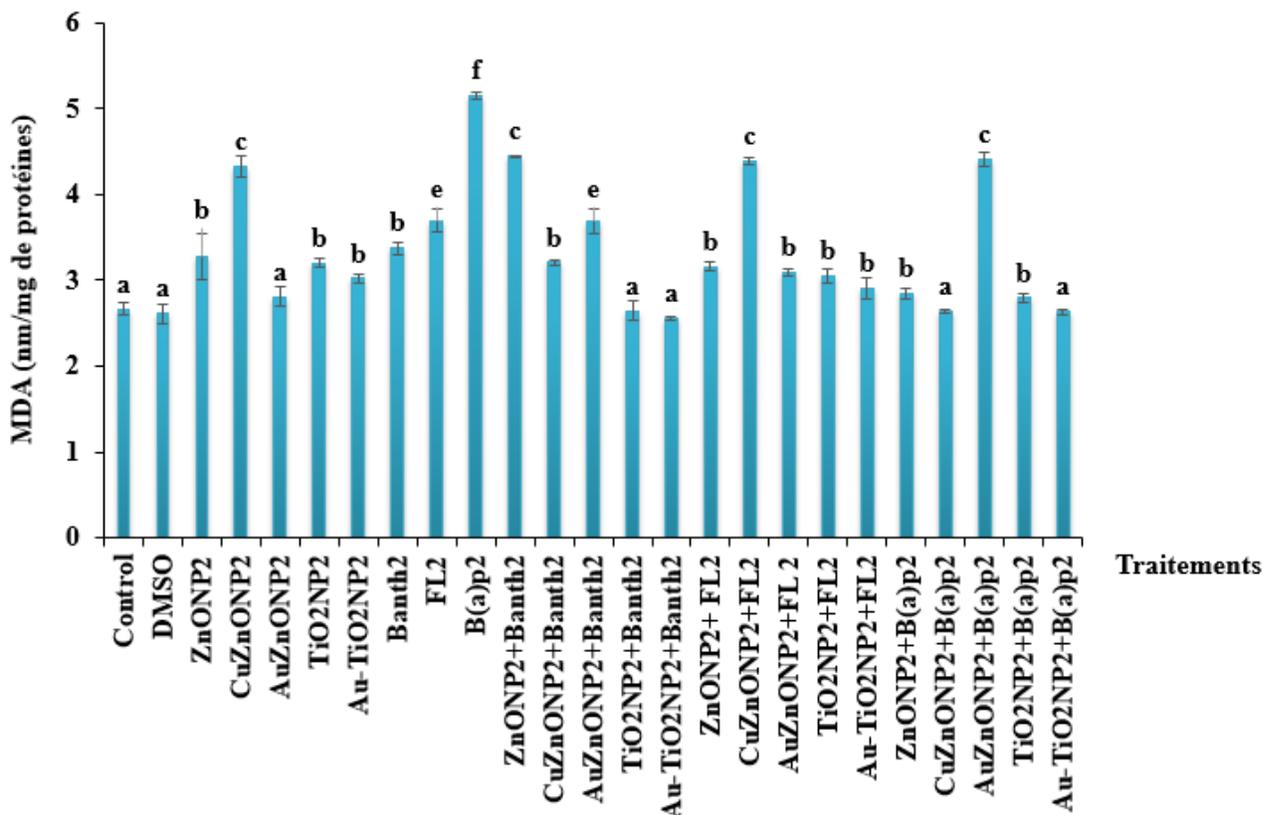


Figure 64 : Effets de l'exposition aux NPs, aux HAPs et aux mélanges binaires NPs-HAPs sur le taux de MDA dans les branchies des moules. a, b, c, d et e : lettres indiquant une différence significative ou non à $p < 0,05$. ANOVA 1, test HSD du Tukey

La variation observée du taux de MDA suite à la co-exposition confirme que les dommages cellulaires sous l'influence de mélanges NPs-HAPs dépendent de la nature des contaminants et de l'organe.

2.2.4. Réponse de l'acétylcholinestérase

Les effets observés, en terme de stress oxydant et de dommage membranaire, suite à la co- exposition aux différents mélanges considérés nous mènent à penser à des effets plus sévères touchant l'aspect neuromusculaire. La détermination de l'activité acétylcholinestérase (AChE) constitue un paramètre important largement utilisé en écotoxicologie pour évaluer les effets neurotoxiques des contaminants chez les bivalves marins. Dans la présente étude, l'activité AChE mesurée au niveau de la glande digestive (Fig.65) et les branchies (Fig. 66) des moules, a été touchée de manière contaminants et organes dépendant.

Ainsi, une interaction de type synergique a été observée entre le ZnONP2 et le Banth2 est observée au niveau de la glande digestive, se traduisant par une inhibition de l'activité AChE plus accentuée enregistrée suite à la co- exposition par rapport à l'effet du Banth2 appliqué seul (Fig. 65).

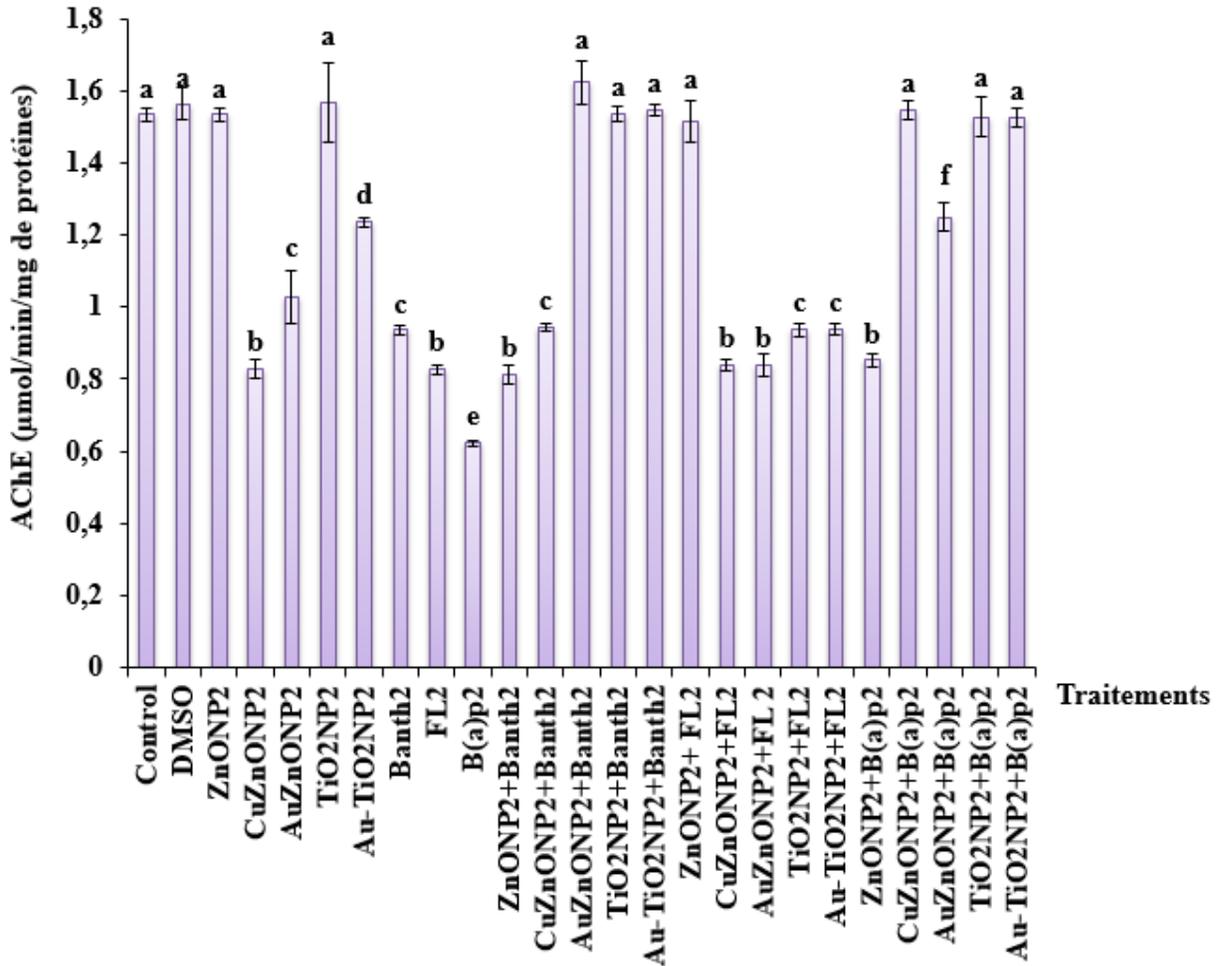


Figure 65 : Moyenne de l'activité acétylcholinestérase (AChE) dans la glande digestive des moules traitées par les NPs, les HAPs et les mélanges de NPs-HAPs. a, b, c, d et e : lettres indiquant une différence significative ou non à $p < 0,05$. ANOVA 1, test HSD du Tukey

Un autre type d'interaction plus fréquent observé au niveau de la glande digestive et caractérisé par une activité supérieure à l'effet du Banth2 seul, met en évidence une interaction antagoniste entre le Banth2 et l'AuZnONP2, le TiO₂NP2 et l'AuTiO₂NP2. Ce type d'interaction est rencontré aussi avec le B(a)p2 combiné avec toutes les formes nanométriques et avec le FL2 combiné avec le ZnONP2, le TiO₂NP2 et l'AuTiO₂NP2.

Le profil de l'activité AChE observé au niveau des branchies (Fig. 66) a montré une différence par rapport à celui de la glande digestive suite à l'exposition aux mélanges (ZnONP2 + Banth2), (AuZnONP2 + Banth2), (CuZnONP2 + FL2), (TiO₂NP2 + FL2) et (AuTiO₂NP2 + FL2).

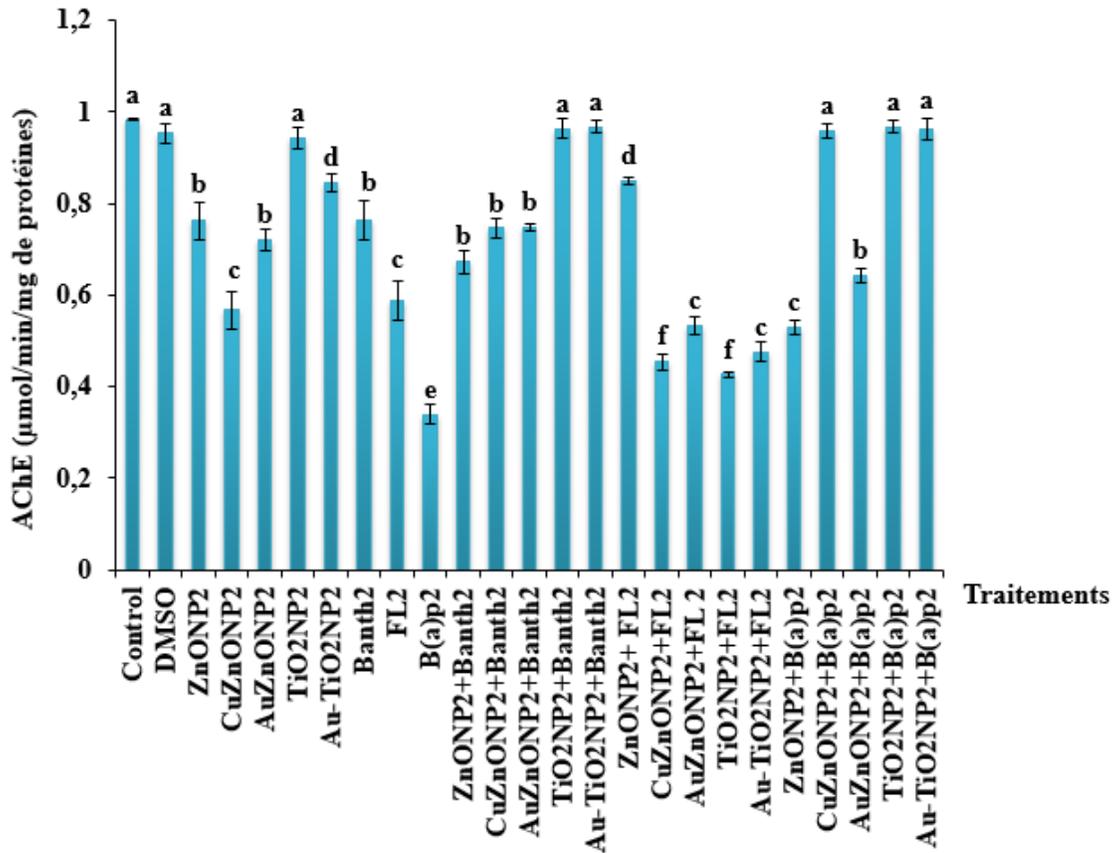


Figure 66 : Moyenne de l'activité acétylcholinestérase (AChE) dans les branchies des moules traitées par les NPs, les HAPs et les mélanges NPs-HAPs. a, b, c, d et e : lettres indiquant une différence significative ou non à $p < 0,05$. ANOVA 1, test HSD du Tukey

L'inhibition prononcée de l'activité AChE enregistrée suite à la co-exposition à certains mélanges suggère un effet neurotoxique combiné des molécules mises en jeu. Cependant, l'interaction antagoniste pour d'autres mélanges peut témoigner de l'existence d'une correction possible, qui peut avoir lieu, en ajoutant certaines NPs à des HAPs comme le cas du B(a)p2 avec

qui toutes les NPs considérées dans l'étude ont réduit son effet neurotoxique au niveau de la glande digestive et les branchies se traduisant par une augmentation de l'activité AChE. Ce phénomène peut être attribué à la capacité des NPs à diminuer la bioaccumulation du B(a)p au niveau du système neuromusculaire comme suggéré par Farkas *et al.* (2015). Les auteurs ont ajouté que ce phénomène peut être lié à une dégradation probable des HAPs en présence de NPs.

Ainsi, la dégradation des HAPs par les NPs constituerat un autre objectif de la présente étude visant à comprendre les différents profils rencontrés pour l'ensemble des paramètres écotoxicologiques.

2.3. Dégradation des HAPs par les nanoparticules

Le tableau 11 montre les constantes de vitesse k_{ap} pour la dégradation photocatalytique du Benzanthracène, du Fluoranthène et du Benzo(a)pyrène, en solution aqueuse.

Les résultats de l'exposition à la lumière UV dans une solution aqueuse par le produit tel que préparé, ont montré que le dopage par le cuivre et l'or ont fortement amélioré l'efficacité des nanoparticules de ZnO à dégrader les HAPs. D'autre part, la capacité de photodégradation des HAPs par l'addition des nanoparticules d'or au TiO₂ pour construire les nanoparticules hybrides d'Au-TiO₂ a été augmentée (Fig. 67). En général, la réaction de photodégradation induite par le dioxyde de titane est déclenchée par la photogénération de couples (e-/h+) (Mezni *et al.*, 2014a, b). Ce dernier agit comme une puissante source qui se traduit par la production de diverses réactions d'oxydation/réduction, qui induisent la décomposition de différents polluants. En outre, l'existence des NPs d'Au sur la surface de TiO₂ peut améliorer l'efficacité photocatalytique du photocatalyseur par la présence de la propriété de résonance plasmonique de surface optique intrinsèque (SPR) (Mezni *et al.*, 2014a, b). Cette caractéristique conduit à une augmentation du transfert d'électrons à la surface de TiO₂ et par conséquent à augmenter l'activité photocatalytique de ce photocatalyseur (Mezni *et al.*, 2014a, b). De plus, l'amélioration de la capacité photocatalytique utilisant les NPs

hybrides d'Au-TiO₂ peut être attribué à la durée de vie prolongée de la charge générée par les électrons (e⁻/h⁺) induits par le rayonnement électromagnétique local intense générés par les NPs d'Au (Mezni *et al.*, 2014a, b).

Tableau 11 : Constantes de vitesse de pseudo-premier ordre (k_{ap}) de la dégradation des HAPs obtenues sous l'effet des photocatalyseurs de ZnO et de TiO₂ et des photocatalyseurs hybrides d'AuTiO₂, d'Au-ZnO et de Cu-ZnO

échantillons	ZnO	Cu-ZnO	Au-ZnO	TiO ₂	Au-TiO ₂
<i>Benzanthracène</i>					
K_{ap} (min)	0,0029	0,0035	0,0054	0,0240	0,0294
<i>Fluoranthène</i>					
K_{ap} (min)	0,0032	0,0015	0,0041	0,0069	0,0108
<i>Benzo(a)pyrène</i>					
K_{ap} (min)	0,0022	0,0019	0,0029	0,0184	0,0185

La figure 67A illustre la Ln (C₀/C_t) en fonction du temps d'irradiation pour les nanoparticules synthétisées utilisées pour dégrader le Benzanthracène. Les constantes de vitesse de pseudo-premier ordre pour ZnO, Cu-ZnO, Au-ZnO, TiO₂ et Au-TiO₂ sont respectivement 0,0029, 0,0035, 0,0054, 0,0240 et 0,0294 min⁻¹. Il est ainsi observé que l'addition de l'or ou le dopage de ZnO avec du cuivre améliore l'activité photocatalytique des NPs de TiO₂ et de ZnO pour le Benzanthracène. D'autre part, l'addition de l'or au TiO₂ augmente la constante de vitesse de 0,0240 à 0,0294 min⁻¹. Pour le Fluoranthène (Fig.67B), l'addition d'or aux nanoparticules du ZnO (Au-ZnO) augmente son activité photocatalytique de ce dernier (k_{ap} = 0,0041 min⁻¹). Un comportement

similaire a été observé pour l’Au-TiO₂ ($k_{ap} = 0,0108 \text{ min}^{-1}$). De même, les résultats montrent que la constante k_{ap} augmente par rapport aux NPs de TiO₂ pur ($k_{ap} = 0,0069 \text{ min}^{-1}$). La figure 67C présente les différentes constantes pour la dégradation du Benzo (a)pyrène à température ambiante. Les constantes de pseudo-premier ordre sont 0,0022, 0,0019, 0,0029, 0,018 et 0,0185 min^{-1} , respectivement pour ZnO, Cu-ZnO, Au-ZnO, TiO₂ et Au-TiO₂.

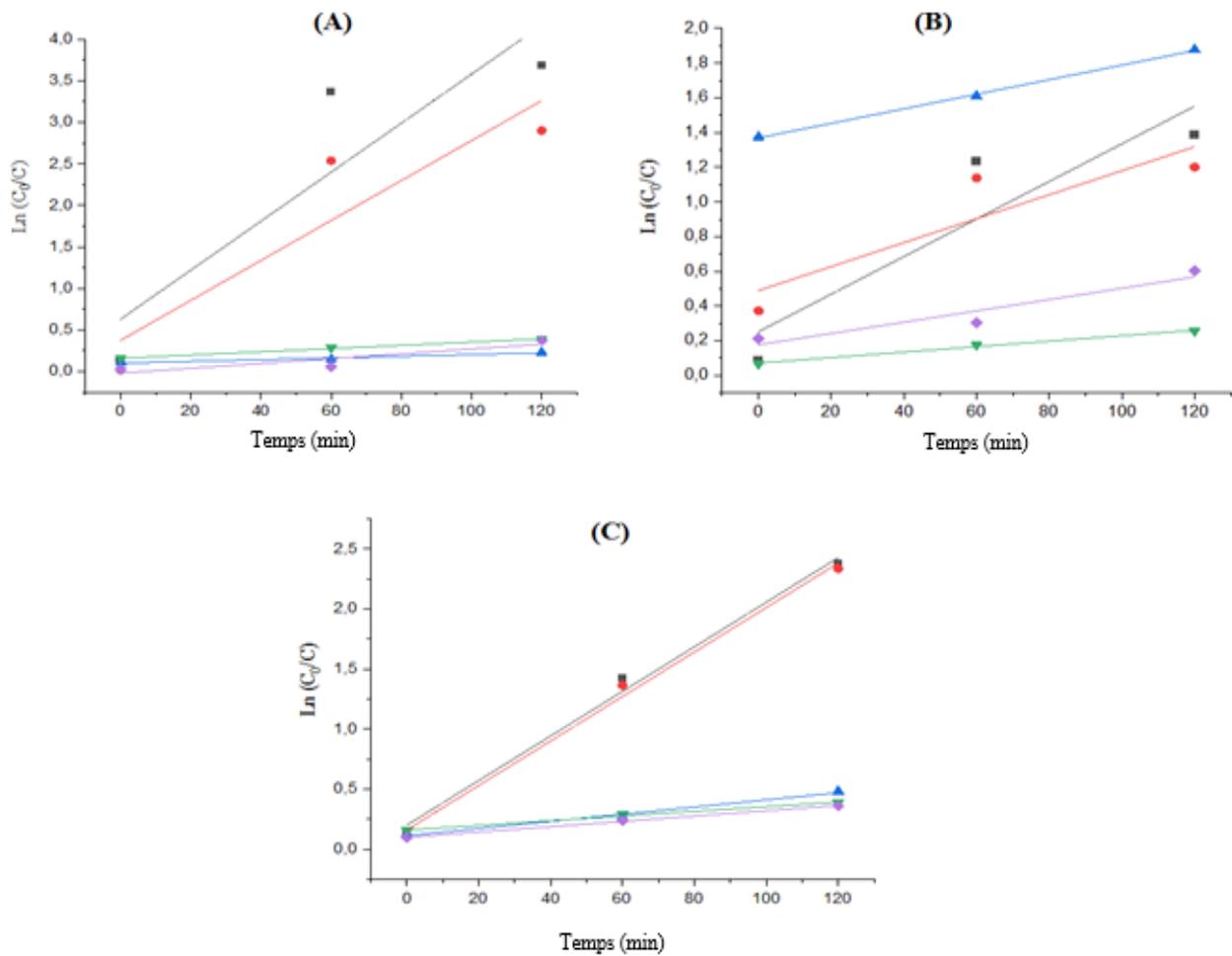


Figure 67 : Evolution de $\ln(C_0/C_t)$ en fonction du temps d'irradiation pour la dégradation de trois HAPs, le Benzanthracène (A), le Fluoranthène (B) et le Benzo(a)pyrène (C) en présence de différentes nanoparticules (■: AuTiO₂, ●: TiO₂, ▲: Au-ZnO, ▼: Cu-ZnO et ◆: ZnO). C₀ et C_t étant les concentrations initial et instantané des HAPs

Dans l'ensemble, les résultats de la photodégradation des HAPs montrent qu'une amélioration du processus est observée en présence de NPs dopées par rapport aux NPs non dopées.

En résumé, pour cette partie, les résultats mettent en évidence les impacts d'une exposition combinée entre les nanoparticules et les HAPs chez les moules. De ces résultats, il en ressort que, les moules contaminées par les différents mélanges ont montré des effets dépendants des contaminants, de l'organe et de la nature de l'interaction. Ainsi, l'exposition combinée a mis en jeu des interactions antagoniste, synergique et de potentialisation entre polluants.

Cette étude met en évidence les risques dérivés des HAPs et des NPs et notamment de leurs associations dans les systèmes côtiers, ce qui peut facilement résulter d'une décharge industrielle. L'intensité croissante des contaminants industriels rend cette étude d'une grande importance.

Cette étude représente également une approche environnementale plus réaliste pour l'évaluation des risques, compte tenu de l'augmentation possible des contaminants dérivés de la combinaison des HAPs et des NPs, pouvant compromettre les processus biochimiques des moules en présence de deux facteurs de stress.

Concernant l'activité de photodégradation, les travaux en cours prouvent la haute efficacité photocatalytique du ZnONP et du TiO₂ NPs contre les HAPs dans des conditions ambiantes. D'autre part, il a été démontré que le dopage par le cuivre ou l'incorporation de NPs métalliques augmente les performances du photocatalyseur. En effet, la modification de la structure intrinsèque des semi-conducteurs peut augmenter la durée de vie du produit généré pendant le processus photocatalytique et améliore donc l'activité et le rendement photocatalytique du semi-conducteur.

Sur la base des effets toxiques et photocatalytiques obtenus, les NPs considérées peuvent constituer une solution prometteuse comme photocatalyseurs pour d'autres applications, en particulier dans la décontamination de l'environnement et des énergies renouvelables.

3. Effets de mélanges de nanoparticules et de pesticides

Au cours de ce travail, l'effet du mélange de nanoparticules et de pesticides est étudié après 14 jours de co-exposition à 100 µg/L du ZnONPs (ZnONP2), AuZnONPs (AuZnONP2), CuZnONPs (CuZnONP2), TiO₂ONPs (TiO₂NP2) et Au-TiO₂ONPs (Au-TiO₂NP2) mélangé à 100 µg/L du diuron (Di2) ou à 100 µg/L du triclosan (TCS2).

3.1. Effets sur la réponse physiologique

La capacité de filtration des moules a été touchée significativement après la co-exposition aux mélanges de NPs et de pesticides d'une manière dépendante de la composition chimique du mélange (Fig.68).

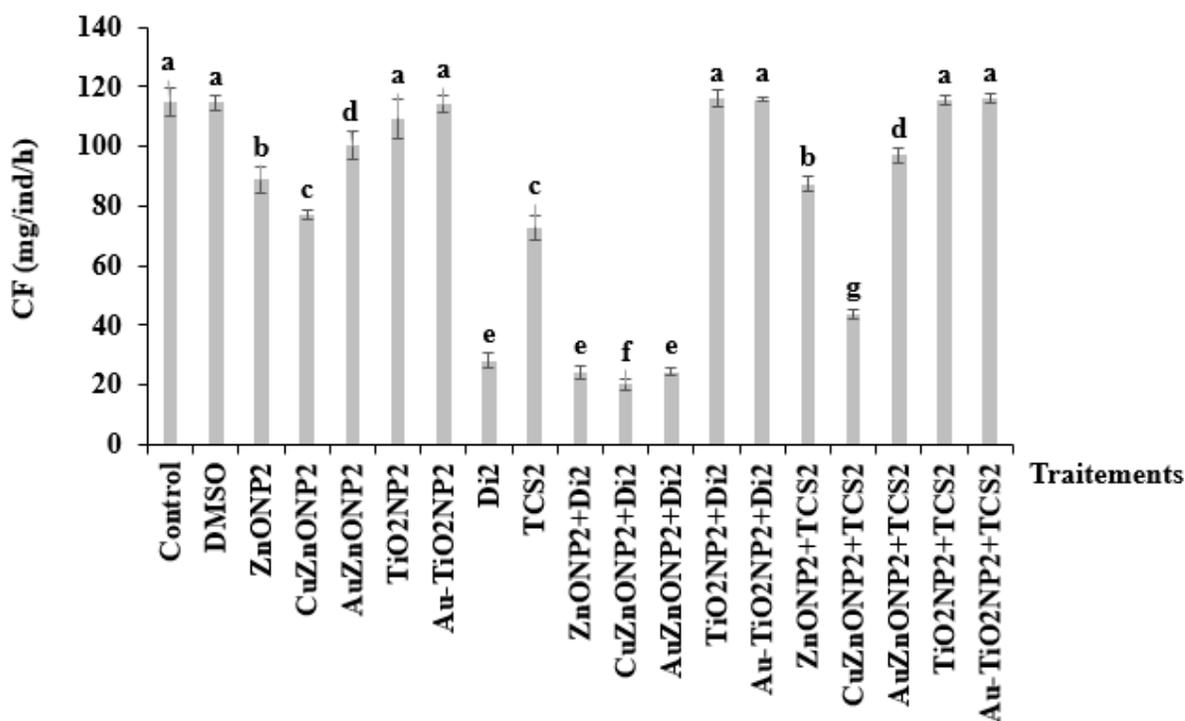


Figure 68 : Effets de l'exposition aux NPs, aux pesticides et aux mélanges binaires NPs-pesticides sur la capacité de filtration des moules. a, b, c, d, e, f et g: lettres indiquant une différence significative ou non à $p < 0,05$. ANOVA 1, test HSD du Tukey

Il a été constaté, tout d'abord, que les nanoparticules de TiO_2 et d' AuTiO_2 mélangées au diuron et au triclosan n'ont pas affecté significativement la capacité de filtration des moules par rapport aux moules témoins et aux moules traitées par le diuron et le triclosan seuls. Sachant que ces deux derniers ont modifié significativement la capacité de filtration des moules, la co-exposition avec les nanoparticules de TiO_2 et d' AuTiO_2 a donc induit une réponse de type antagoniste caractérisée par un effet physiologique réduit.

Un deuxième profil de réponse caractérisé par un effet similaire à celui du diuron est observé suite à la co-exposition de Di2 avec les nanoparticules de ZnONP2, de CuZnONP2 et de AuZnONP2. Ce profil met en évidence une absence d'interaction à ce niveau physiologique.

Contrairement, la co-exposition des moules aux NPs avec le TCS2 a abouti soit à une interaction synergique observée en mélangeant le TCS2 avec les NPs de CuZnONP2, soit à une interaction antagoniste en mélangeant le TCS2 avec les NPs de ZnONP2 et d'AuZnONP2.

Ces résultats témoignent de l'existence de différents modes d'actions physiologiques liés à la nature du mélange mis en jeu. Bhagat *et al.* (2020) ont suggéré que l'interaction des NPs avec les contaminants peut entraîner une agrégation, une réduction de la biodisponibilité et une altération de la toxicité pour l'organisme. Par exemple, l'accumulation de contaminants adsorbés sur les NPs peut entraîner une augmentation de l'exposition et des effets. De plus, l'adsorption des polluants sur les NPs est un paramètre intéressant qui dépend de plusieurs facteurs y compris la surface et la charge des NPs. Parallèlement, le comportement des NPs dans la matrice environnementale contrôle la disponibilité des polluants. Ainsi, l'agrégation des nanoparticules peut entraîner une augmentation de la taille et une réduction de la surface spécifique et des sites de sorption. Ceci peut conduire à une biodisponibilité plus faible pour les organismes exposés et par conséquent à une réduction de l'effet. Ce phénomène est observé dans la présente étude suite à la co-exposition des moules aux nanoparticules de TiO_2 et d' AuTiO_2 mélangées au diuron et au

triclosan. De même, Zhang *et al.* (2018) ont observé une réduction de la toxicité chez *Microcystis aeruginosa* suite à l'exposition au mélange de nanoparticules avec le glyphosate.

La capacité de respiration (CR) est aussi touchée significativement d'une manière composition de mélange dépendante (Fig.69). En effet, une interaction de type antagonisme est observée suite à la co-exposition aux nanoparticules de TiO₂ et d'AuTiO₂ mélangées au diuron et au triclosan. Par contre, et un effet synergique est observée suite à la co- exposition des nanoparticules de CuZnONP2 avec le Di2 et le TCS2 d'une part et les nanoparticules du ZnONP2 et d'AuZnONP2 avec le TCS2 d'autre part.

L'augmentation de l'effet suite à la co-exposition est en accord avec les travaux de Handy *et al.* (2008), qui ont suggéré qu'il existe des preuves claires d'interactions synergiques entre les NPset les polluants environnementaux. De même, l'exposition du poisson *tilapia* au mixture carbofuran-NPs augmente la toxicité du carbofuran suite à une réduction de la consommation spécifique d'oxygène et du temps de nage jusqu'à l'épuisement, ce qui représente un effet de potentialisation (Campos-Garcia *et al.*, 2015). Cependant, la réduction de la CR liée à la co-exposition NPs-pesticides montre que cette mixture affecte les processus de respiration des moules, les amenant à utiliser d'autres sources d'énergie pour les réactions de détoxification et la stabilisation des réactions métaboliques. Ceci pourraient expliquer la réduction de la consommation spécifique d'oxygène en présence de concentrations élevées de polluants (Vargas *et al.*, 1991).

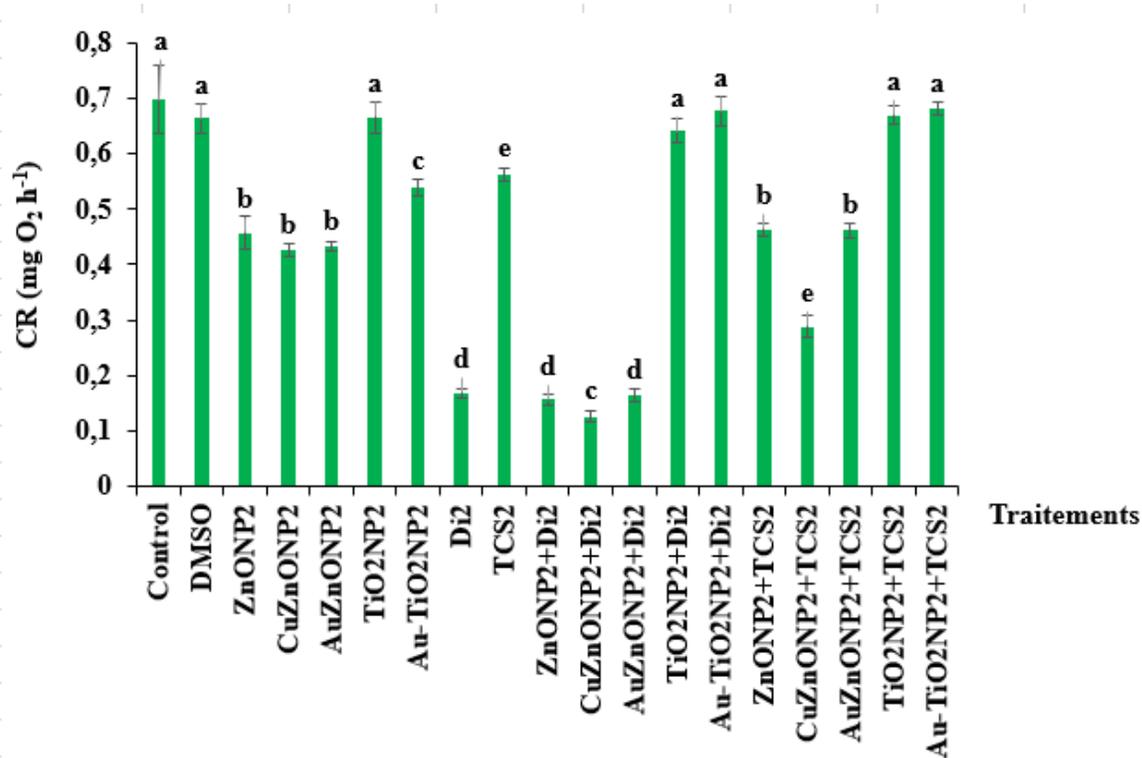


Figure 69 : Effets de l'exposition aux NPs, aux pesticides et aux mélanges binaires NPs-pesticides sur la capacité de respiration des moules. a, b, c, d, e, f et g: lettres indiquant une différence significative ou non par rapport au control et entre les groupes à $p < 0,05$. ANOVA 1, test HSD du Tukey

L'étude de la toxicité des mélanges vise à déterminer si l'effet toxique des polluants suit l'approche additive simple, ou s'il dévie pour induire une interaction synergique, antagoniste ou un effet de potentialisation. Les résultats de la capacité de filtration et la capacité de respiration confirment ce qui a été suggéré par Bhagat *et al.* (2020) qui ont mentionné que la composition chimique du mélange et le mécanisme d'action de chaque contaminant influence l'effet toxicologique global.

Dans l'ensemble, la toxicité d'un mélange NPs-pesticides est dépendante de la composition du mélange et du paramètre étudié. Une réduction de la toxicité du mélange peut être

attribuée à une forte adsorption des pesticides sur les NPs et/ou à la charge et les propriétés des produits (Zhang *et al.*, 2018). Cependant, l'effet synergétique qui a eu lieu peut se produire comme suggéré par Jeong *et al.* (2018) chez le rotifère *Brachionus koreanus* exposé au mélange nanoplastique avec le triclosan. Ces auteurs ont montré que les nanoplastiques augmentent la toxicité du triclosan et que la co-exposition perturbe au moins les processus biologiques. De plus, l'altération des paramètres physiologiques peut être liée aux changements dans la distribution de l'énergie dont la moule a besoin pour maintenir l'homéostasie et survivre (Kerr, 1971).

3.2. Effets sur la réponse biochimique

La mesure de l'impact du mélange NPs-pesticides est effectuée en se basant sur les paramètres du stress oxydant (activité SOD, activité CAT et taux du MDA) et de la neurotoxicité (activité AChE) après 14 jours de la co-exposition aux mélanges de 05 formes nanométriques (ZnO, CuZnO, AuZnO, TiO₂ et AuTiO₂) avec 02 pesticides (le diuron et le triclosan).

3.2.1. Effets sur l'activité de la superoxyde dismutase

L'activité SOD mesurée au niveau de la glande digestive et des branchies de la moule a été touchée d'une manière dépendante de la composition chimique du mélange et de l'organe considéré (Fig. 70). En effet, par comparaison à l'exposition au diuron seul, la co-exposition des moules aux NPs du ZnO avec le Di2 a réduit l'activité SOD passant de $3,67 \pm 0,05$ U/mg de protéines à $2,270 \pm 0,001$ U/mg de protéines au niveau de la glande digestive et de $2,19 \pm 0,21$ U/mg de protéines à $1,080 \pm 0,007$ U/mg de protéines au niveau des branchies. De même, la co-exposition aux NPs d'AuTiO₂ associées au Di2 a diminué l'activité de cette enzyme pour atteindre $1,250 \pm 0,006$ U/mg de protéines au niveau de la glande digestive et $0,870 \pm 0,075$ U/mg de protéines au niveau des branchies. Ces résultats témoignent de l'existence d'une interaction qualifiée d'antagoniste caractérisée par un effet réduit par rapport à celui du diuron seul. Contrairement, l'exposition aux mélanges binaires (CuZnONP2 + Di2), (AuZnONP2 + Di2) et

(TiO₂NP2 + Di2) a augmenté significativement l'activité SOD passant respectivement à $4,71 \pm 0,05$ U/mg de protéines, à $5,25 \pm 0,11$ U/mg de protéines et à $4,50 \pm 0,03$ U/mg de protéines au niveau de la glande digestive et à $3,23 \pm 0,11$ U/mg de protéines, à $3,65 \pm 0,11$ U/mg de protéines et à $2,88 \pm 0,11$ U/mg de protéines au niveau des branchies. Cette augmentation de l'effet après coexposition met en évidence une interaction synergique caractérisée par un effet plus élevé par rapport que celui du diuron seul.

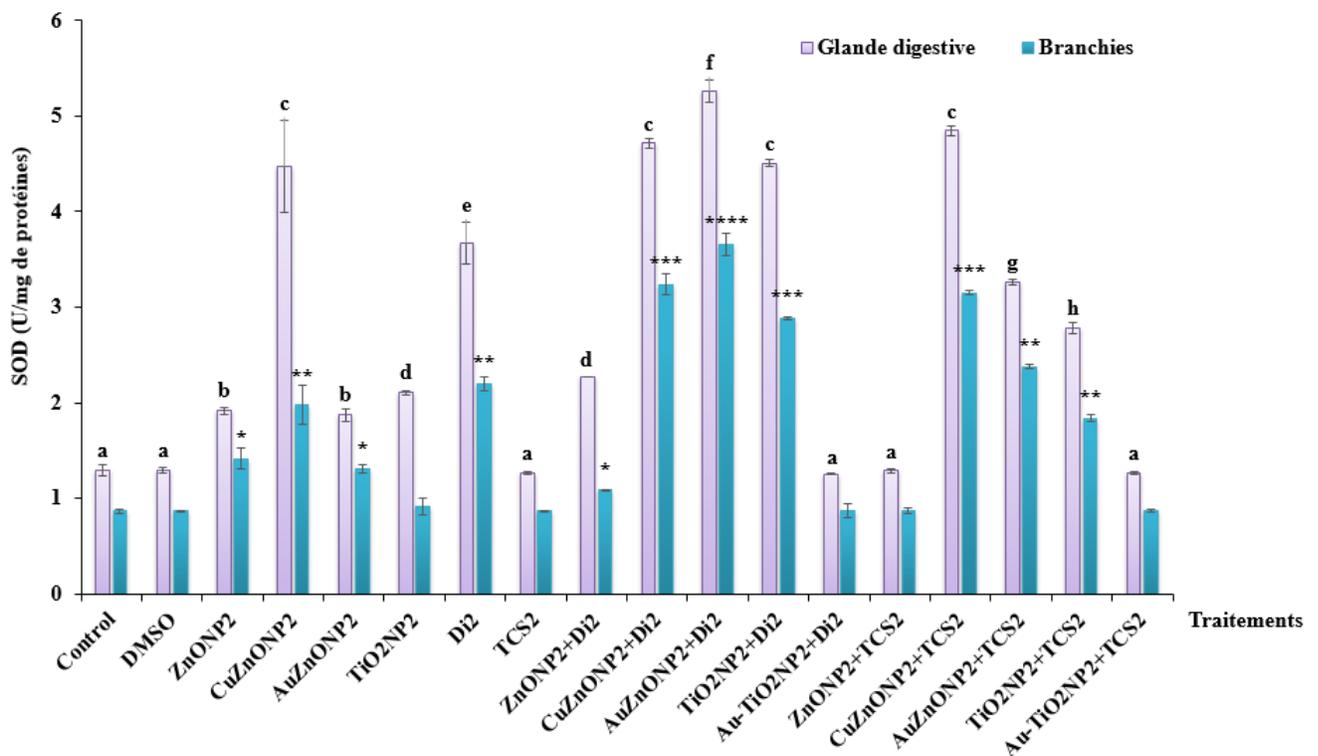


Figure 70 : Effets de l'exposition aux NPs, aux pesticides et aux mélanges binaires NPs-pesticides sur l'activité SOD au niveau de la glande digestive et les branchies des moules. a, b, c, d, e, f, g et h: lettres indiquant une différence significative ou non par rapport au control et entre les groupes à $p < 0,05$ au niveau de la glande digestive. *, **, *** et ****: indiquent une différence significative à $p < 0,05$ au niveau des branchies (ANOVA 1, test HSD du Tukey)

Pour les mélanges des NPs avec le TCS, le profil est différent sachant que le TCS seul n'a pas induit un effet significatif sur l'activité SOD au niveau de la glande digestive et des branchies de la moule. Ainsi, la combinaison des NPs de ZnO et d'AuTiO₂ avec le TCS2 n'a pas induit un effet significatif. Cependant, la combinaison des NPs de CuZnO, d'AuZnO et de TiO₂ avec TCS2 a augmenté l'activité SOD mettant en évidence une interaction toxicologique de type potentialisation.

3.2.2. Effets sur l'activité catalase

Un profil différent est observé pour l'activité CAT au niveau des deux organes de la moulesuite aux différents mélanges (Fig. 71). En effet, l'activité de cette enzyme est touchée significativement ($p < 0,05$) avec les deux pesticides considérés.

L'effet de la combinaison NPs-pesticides sur la CAT met en évidence deux types d'interactions possibles au niveau de la glande digestive:

- 1- Une interaction caractérisée par une réduction de l'activité CAT observée suite à l'exposition des moules aux mélanges de (ZnONP2 + Di2), (ZnONP2 + TCS2), (CuZnONP2 + Di2), (TiO₂NP2 + Di2), (AuTiO₂NP2 + Di2) et (AuTiO₂NP2 + TCS2) par comparaison à l'effet individuel du Di2 et du TCS2. Cette interaction est qualifiée d'antagoniste.
- 2- Une interaction caractérisée par une augmentation de l'activité par rapport à celle de l'exposition individuelle du Di2 et du TCS2 observée suite à l'exposition aux mélanges de (AuZnONP2 + Di2), (AuZnONP2 + TCS2) et (CuZnONP2 + TCS2). Cette interaction est qualifiée de synergique.

Au niveau des branchies, l'activité CAT diffère pour le mélange de (ZnONP2 + Di2) où aucune modification significative n'a été observée par rapport à l'effet du diuron seul et pour le mélange (CuZnONP2 + TCS2) où l'activité est réduite par rapport à l'effet du TCS2 seul.

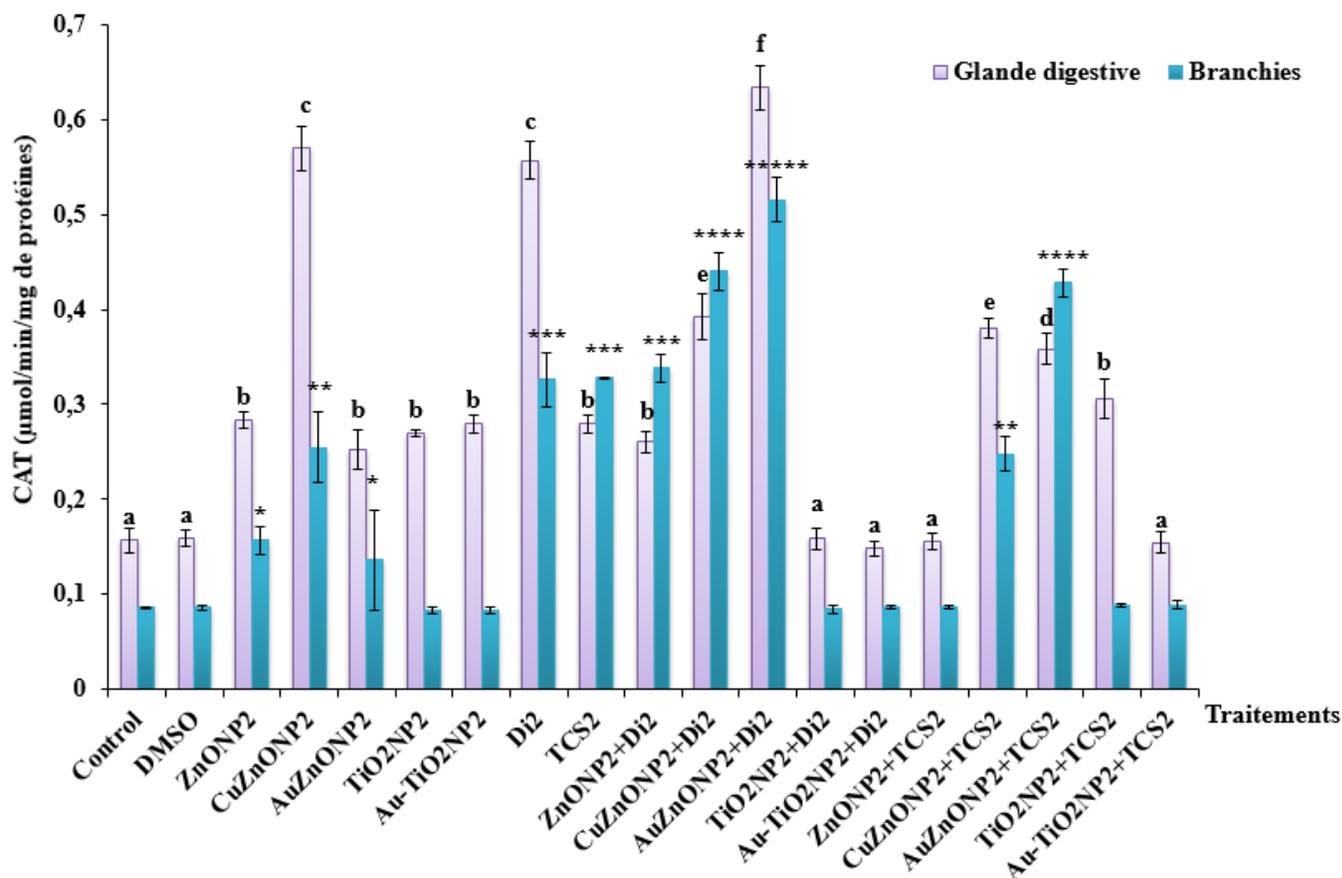


Figure 71 : Effets de l'exposition aux NPs, aux pesticides et aux mélanges binaires NPs-pesticides sur l'activité CAT au niveau de la glande digestive et des branchies des moules. a, b, c, d et e: lettres indiquant une différence significative par rapport au control et entre les groupes à $p < 0,05$ au niveau de la glande digestive. *, **, ***, **** et ***** : indiquent une différence significative à $p < 0,05$ au niveau des branchies (ANOVA 1, test HSD du Tukey).

3.2.3. Effets sur le taux du malondialdéhyde

Le taux du MDA est aussi affecté au niveau des deux organes d'une manière composition chimique dépendante (Fig. 72).

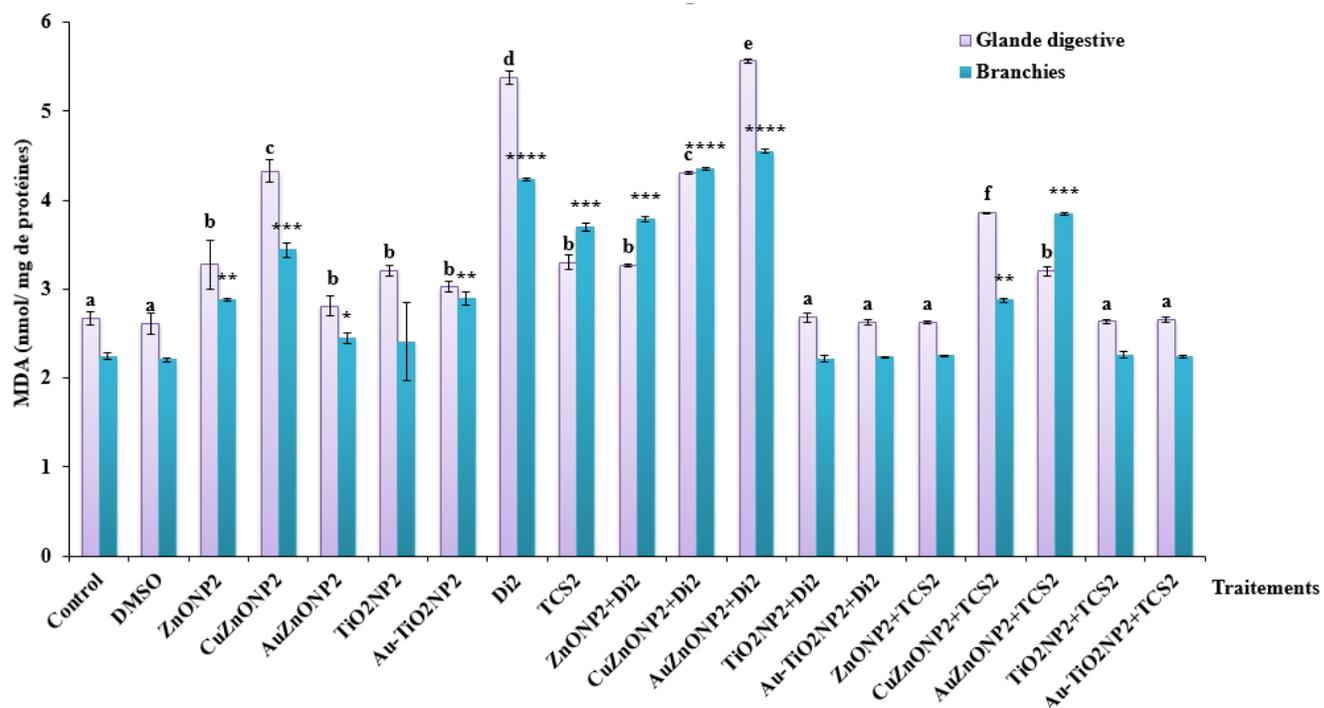


Figure 72 : Effets de l'exposition aux NPs, aux pesticides et aux mélanges binaires NPs-pesticides sur le taux du MDA au niveau de la glande digestive et des branchies des moules. a, b, c, d, e et f: lettres indiquant une différence significative par rapport au control et entre les groupes à $p < 0,05$ au niveau de la glande digestive. *, **, *** et **** : indiquent une différence significative à $p < 0,05$ au niveau des branchies (ANOVA 1, test HSD du Tukey)

La combinaison des NPs de ZnONP2, de CuZnONP2, de TiO2NP2 et d'AuTiO2NP2 avec le Di2 a réduit d'une manière significative le taux du MDA au niveau de la glande digestive par rapport à l'effet du diuron seul, montrant une interaction antagoniste entre ces NPs et le diuron. Cependant, le mélange des NPs (AuZnONP2 + Diu2) a augmenté le taux de MDA au niveau du même organe par comparaison à l'effet du Di2 seul montrant une interaction synergique.

Un profil différent est observé pour le cas des mixtures NPs-TCS2 au niveau de cet organe où on enregistre une interaction de type synergique pour le cas du (CuZnONP2 + TCS2) et une

absence d'effet pour le mélange (CuZnONP2 + TCS2) par comparaison à l'effet du TCS2 seul et par rapport aux mêmes mélanges avec le Di2.

Le facteur organe est aussi impliqué pour ce marqueur oxydatif où une différence est observée pour les branchies par rapport à la glande digestive avec les mélanges (CuZnONP2 + Di2), (AuZnONP2+ Di2) et (CuZnONP2 + TCS2).

Dans l'ensemble, les paramètres du stress oxydatif considérés au cours de ce travail, à savoir l'activité SOD, l'activité CAT et le taux de malondialdéhyde sont affectés par les mélanges de NPs- Diuron et de NPs-TCS d'une manière composition chimique, organe et marqueur dépendante.

Les organismes aquatiques sont inévitablement exposés aux mélanges de contaminants dans l'environnement. Les composants individuels de ces cocktails chimiques sont susceptibles de produire différents effets toxiques (action indépendante) ou interagissent d'une manière additive, synergique ou antagoniste (Barata et al., 2006). Une méthode simple a donc été utilisée pour déterminer la nature de la relation entre les NPs et les pesticides dans des essais de mélange menés dans la présente étude, en comparant le niveau mesuré de chaque biomarqueur du stress oxydant après exposition aux mélanges de contaminants. Les résultats relatifs aux biomarqueurs du stress oxydant témoignent de l'existence d'une étroite relation entre la réponse de l'organe et la composition chimique du mélange mis en jeu. Ceci peut être probablement lié à des processus métaboliques propres à chaque organe qui interviennent dans la défense contre le stress généré suite à l'exposition.

L'augmentation de l'activité SOD et de l'activité CAT représente une indication du stress oxydant généré par les ROS et constitue un signal de l'activation de la barrière de défense pour la détoxification de polluants. Parallèlement, les interactions chimiques des polluants responsables d'un effet plus élevé (synergisme) mettent l'accent sur le seuil de sensibilité des organes et leur capacité de défense antioxydante face à différentes mixtures.

Le synergisme met aussi l'accent sur une interaction chimique possible entre les molécules. En effet, Fayaz *et al.* (2010) ont suggéré que l'effet synergique peut être causé par une liaison entre les produits chimiques et les NPs. Ainsi, les molécules contiennent de nombreux groupes actifs tels que l'hydroxyle, qui réagit facilement avec les NPs par chélation. De même, Li *et al.* (2005) ont suggéré que l'effet synergique peut être lié à la capacité des NPs à transporter les molécules chimiques à l'intérieur de la cellule.

Par ailleurs, une réduction de l'effet sur les biomarqueurs du stress oxydant (antagonisme) peut être considérée comme une réaction d'atténuation de la toxicité liée soit à un mécanisme métabolique ou à une interaction chimique entre les contaminants. En effet, les processus métaboliques faisant intervenir les paramètres de défense enzymatique, y compris la SOD et la CAT, vont protéger la cellule des ROS si leurs concentrations ne dépassent pas la capacité antioxydante suite à l'exposition à certains mélanges. Par conséquent, la capacité de défense antioxydante à contrôler l'excès des ROS va obligatoirement faire diminuer l'effet délétère sur la membrane cellulaire, observable par la réduction du taux de MDA chez la moule.

3.2.4. Effets sur l'activité acétylcholinestérase

L'inhibition de l'acétylcholinestérase entraîne une accumulation d'acétylcholine dans le système cholinergique central et les articulations neuromusculaires, conduisant à la sur-stimulation des cellules cibles (Sanglio *et al.*, 2001). Au cours de notre étude, l'inhibition de cette enzyme a été détectée seulement suite à l'exposition au mélange (AuZnONP2 + Di2) au niveau de la glande digestive et des branchies par comparaison à l'effet du Di2 seule (Fig.73). Cette interaction synergique caractérisée par une intense inhibition met en évidence l'action de ce mélange sur le système neuromusculaire. Cependant une interaction antagoniste a été enregistrée pour les mélanges (ZnONP2 + Di2), (ZnONP2 + TCS2), (Cu ZnONP2 + Di2), (Cu ZnONP2 + TCS2), (TiO2NP2 + Di2), (TiO2NP2 + TCS2), (AuTiO2NP2 + Di2) et (AuTiO2NP2 + TCS2) au niveau

de la glande digestive et des branchies.

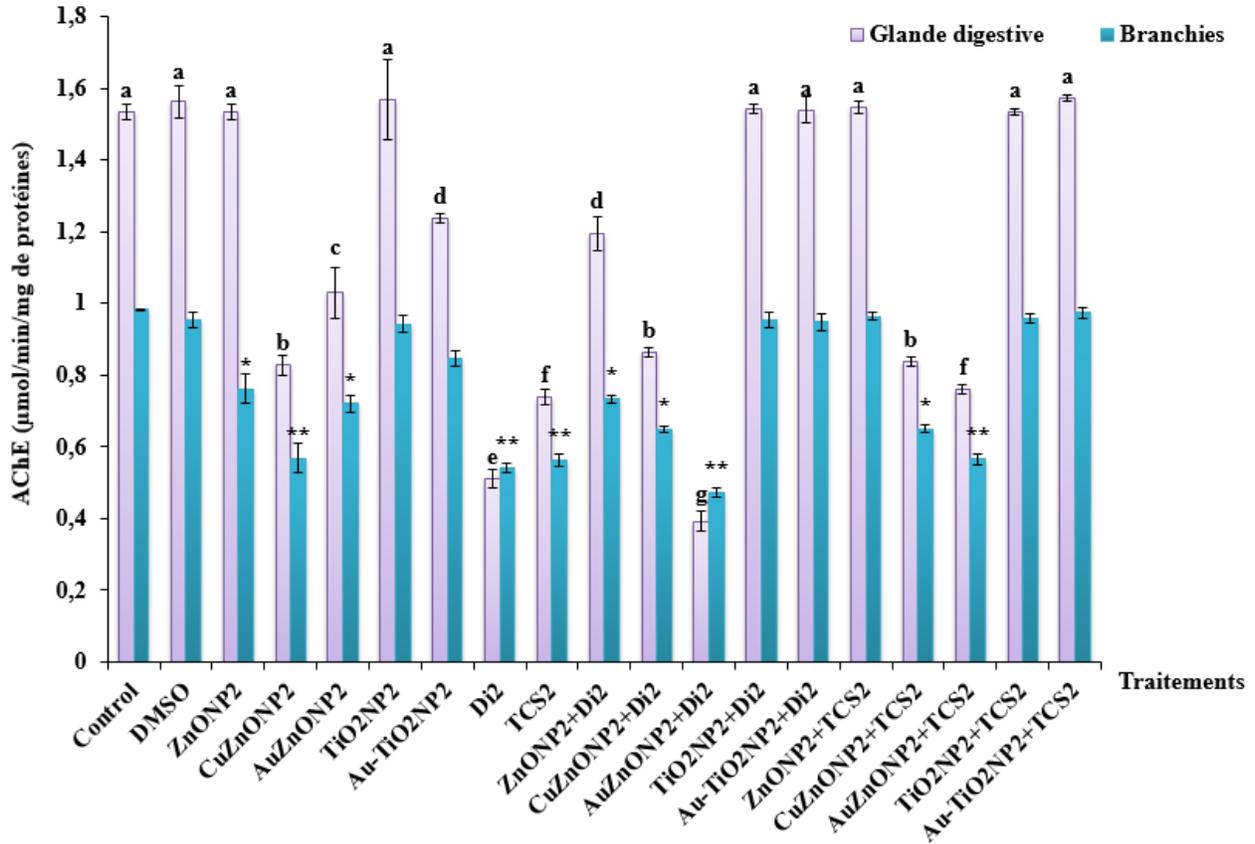


Figure 73 : Effets de l'exposition aux NPs, aux pesticides et aux mélanges binaires NPs-pesticides sur l'activité AChE au niveau de la glande digestive et des branchies des moules. a, b, c, d, e, f et g: lettres indiquant une différence significative ou non par rapport au contrôle et entre les groupes à $p < 0,05$ au niveau de la glande digestive. *, ** et ***: indiquent une différence significative à $p < 0,05$ au niveau des branchies (ANOVA 1, test HSD du Tukey).

Les résultats de l'activité AChE montrent que la plupart des NPs sont capables de contrôler l'effet neurotoxique du diuron et du triclosan au niveau de la glande digestive et des branchies de la moule *M.galloprovincialis*. Ce contrôle est réalisé de deux manières :

- 1- Une réduction de l'effet inhibiteur des pesticides mais qui reste significative par rapport

au groupe témoin.

- 2- Une neutralisation de l'effet inhibiteur qui devient non significatif même par rapport au groupe témoin.

Par conséquent, et même en présence d'un effet sur le statut oxydatif, l'ampleur de l'effet neurotoxique dépend de la composition chimique de la mixture.

**CONCLUSION
ET
PERSPECTIVES**

Conclusion et perspectives

L'objectif de notre travail est d'étudier les effets de contamination par différents types de polluants environnementaux, à savoir les nanoparticules (NPs), les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs) et les pesticides sur les bivalves marins. En effet, nous avons évalué la réponse à différentes échelles suite à la contamination par cinq NPs (ZnO NPs, Cu-ZnO NPs, AuZnO NPs, TiO₂ NPs et Au- TiO₂ NPs), trois HAPs (le Benzanthracène (Banth), le fluoranthène (FL) et le benzo(a)pyrène (B(a)p)) ainsi que et deux pesticides (le diuron (Di) et le triclosan (TCS)). Nos résultats peuvent rendre compte du seuil de sensibilité des bivalves et de la toxicité potentielle de ces produits au niveau de l'environnement aquatique. Notre étude combine la détermination de paramètres physiologiques et biochimiques pour fournir des données plus pertinentes, visant l'évaluation de l'impact des contaminants chimiques sur les espèces à intérêts écologiques et économiques. Parallèlement, l'interprétation des résultats relatives à l'impacts des NPs, des HAPs et des pesticides nécessite le plus souvent une connaissance sur le comportement de ces molécules dans le milieu marin. Cette vision globale qui combine l'interprétation de données chimiques et écotoxicologiques permettrait d'analyser et justifier le profil relationnel entre les polluants et les organismes marins.

Tout d'abord, les expériences entreprises durant cette étude nous permettent de dégager plusieurs conclusions concernant le comportement des NPs de ZnO, Cu-ZnO, AuZnO, TiO₂ et d'Au-TiO₂ et leurs impacts sur la moule *Mytilus galloprovincialis*. En effet, les analyses structurales et microscopiques des cinq NPs considérées ont confirmé la stabilité de ces molécules dans l'eau de mer. Une fois dans l'eau de mer, les NPs, les HAPs et les pesticides seront filtrés par la moule et

ceci a été confirmé par les modifications apportées au niveau de la capacité de filtration et la capacité de respiration du bivalve. L'évaluation de ces deux paramètres a mis en évidence un effet dépendant de la nature du polluant et de la concentration testée. Ainsi, pour les NPs, on a enregistré un effet prononcé de la contamination par 100 µg/L de NPs de ZnO, de CuZnO et d'AuZnO par rapport aux NPs de TiO₂ et d'Au-TiO₂. Concernant les HAPs, la forte concentration considérée du benzanthracène, du benzo(a)pyrène et du fluoranthène a touché la physiologie de la moule et le benzo(a)pyrène semble le plus toxique. Pour le cas des pesticides, le diuron a affecté la capacité de filtration et la capacité de respiration à partir de la faible concentration considérée (50 µg/L) par comparaison au triclosan qui n'a modifié les deux paramètres que seulement à la forte concentration testée (100 µg/L).

Ces résultats mettent en évidence le seuil de sensibilité physiologique de la moule à la contamination par les différents contaminants testés, souvent dépendante de la nature du contaminant et de la concentration.

Au niveau biochimique, une modulation de l'activité superoxyde dismutase (SOD) et de la catalase (CAT) a été observée au niveau des branchies et la glande digestive de la moule suite à l'exposition durant 14 jours à 50 et 100 µg/L des cinq NPs, des trois HAPs et des deux pesticides testés.

Les résultats soulignent, d'une part le seuil de sensibilité du système de défense antioxydant représenté par la SOD et la CAT et d'autre part, confirme l'aptitude de ces contaminants à générer des espèces réactives de l'oxygène et par conséquent une altération de l'état redox de la moule. De plus, l'effet observé au niveau des deux tissus confirme la bioaccumulation des contaminants chez ce bivalve.

Nos résultats ont montré aussi que l'interaction entre les produits utilisés et la barrière de défense antioxydant dépend de la nature du contaminant où les NPs de CuZnO, le benzo(a)pyrène et le diuron semblent les plus toxiques. Elle dépend aussi de la concentration du contaminant, en notant

que la forte concentration considérée (100 µg/L) affecte de plus les activités des enzymes antioxydantes. Parallèlement, l'évaluation de l'état de dommages membranaires par le biais du malondialdéhyde a montré qu'une peroxydation lipidique peut avoir lieu au niveau des branchies et de la glande digestive de la moule suite à la contamination par les trois types de contaminants. Cet effet dépend de la concentration, de la nature du contaminant et de l'organe mis en jeu.

Les NPs de ZnO, de CuZnO et de l'AuTiO₂ ainsi que les trois HAPs et les deux pesticides testés peuvent être aussi considérées comme des perturbateurs du système nerveux. Ceci a été confirmé suite à l'inhibition de l'activité acétylcholinésterasique (AChE).

Les résultats relatifs à l'effet de la mixture binaire des cinq NPs avec les trois HAPs et les deux pesticides ont mis en évidence différents types d'interactions possibles pouvant avoir lieu au niveau physiologique et biochimique.

Ainsi, au niveau physiologique, la co-exposition des moules aux NPs en présence des HAPs ou des pesticides a induit trois types d'interactions ; une absence d'interaction, un antagonisme ou un synergisme. Toutefois, le type d'interaction dépend de la nature chimique du mélange qui détermine l'effet toxicologique.

La réponse biochimique évaluée suite à la co-exposition a montré aussi des interactions de type antagonisme, synergisme et une potentialisation dépendante de la nature chimique de mélange, de l'organe et du biomarqueur biochimique testé.

Le travail effectué justifie l'utilisation de plusieurs approches comme outils de diagnostic et d'évaluation écotoxicologiques des NPs, HAPs et pesticides appliqués individuellement ou en combinaison dans le monde aquatique, particulièrement marin.

Les interactions chimiques des nanoparticules avec les hydrocarbures aromatiques polycycliques constituent aussi un des aspects évalués au cours de cette thèse et dont les résultats ont montré une efficacité photocatalytique importante des NPs de ZnO et du TiO₂ pour les trois HAPs considérés.

De plus, le dopage par le cuivre ou l'incorporation de NPs métalliques augmente les performances photocatalytiques. Ce résultat peut servir de support justifiant la possibilité de l'utilisation des NPs dans les programmes de réhabilitation des milieux contaminés par les HAPs tout en respectant le seuil de sensibilité des organismes vivants.

Si nos résultats ont apporté des informations pertinentes tout en mettant en évidence les impacts potentiels des polluants considérés, certaines limites méthodologiques ainsi qu'un relatif manque d'informations ont constitué des obstacles pour tester la distribution et le devenir des polluants dans tous les organes de la moule.

Au vu des résultats obtenus dans cette étude, il apparaît important de poursuivre ce suivi expérimental à long terme, toujours dans l'objectif d'améliorer la fiabilité et la représentativité de l'interprétation des données recueillies et, par conséquent, l'évaluation et la mise au point de scénarios écotoxicologiques réels.

Une autre perspective de ce travail est de suivre les effets des polluants testés sur la réponse d'autres biomarqueurs (notamment génomiques et protéomiques) afin de mettre en place une base de données écotoxicologique pour ces produits décrivant non seulement l'effet de ces molécules mais aussi de leurs produits transformés.

Parallèlement à l'utilisation de l'approche multimarqueurs, il pourrait être également utile d'utiliser une approche multi-espèces pour améliorer la détection des effets des mélanges de contaminants.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

- Abbas, Q., Liu, G., Yousaf, B., Ali, M.U., Ullah, H., Ahmed, R., 2019. Effects of biochar on uptake, acquisition and translocation of silver nanoparticles in rice (*Oryza sativa* L.) in relation to growth, photosynthetic traits and nutrients displacement. *Environmental Pollution* 250, 728–736.
- Abbas, Q., Yousaf, B., Ullah, H., Ali, M.U., Ok, Y.S., Rinklebe, J., 2020. Environmental transformation and nano-toxicity of engineered nano-particles (ENPs) in aquatic and terrestrial organisms. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 50, 2523–2581.
- Abbott, D.A., Suir, E., Duong, G.-H., de Hulster, E., Pronk, J.T., van Maris, A.J., 2009. Catalase overexpression reduces lactic acid-induced oxidative stress in *Saccharomyces cerevisiae*. *Applied and environmental microbiology* 75, 2320–2325.
- Abdelhalim, M.A.K., Moussa, S.A.A., 2013. The gold nanoparticle size and exposure duration effect on the liver and kidney function of rats: In vivo. *Saudi journal of biological sciences* 20, 177–181.
- Abdel-Shafy, H.I., Mansour, M.S., 2016. A review on polycyclic aromatic hydrocarbons: source, environmental impact, effect on human health and remediation. *Egyptian journal of petroleum* 25, 107–123.
- Absollhi, M., 2014. *Encyclopedia of toxicology*. Elsevier.
- Acosta-Sánchez, A., Soto-Garita, C., Masís-Mora, M., Cambronero-Heinrichs, J.C., Rodríguez-Rodríguez, C.E., 2020. Impaired pesticide removal and detoxification by biomixtures during the simulated pesticide application cycle of a tropical agricultural system. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 195, 110460.
- Adochite, C., Andronic, L., 2021. Toxicity of a Binary Mixture of TiO₂ and Imidacloprid Applied to *Chlorella vulgaris*. *International journal of environmental research and public health* 18, 7785.
- Adolfsson-Erici, M., Pettersson, M., Parkkonen, J., Sturve, J., 2002. Triclosan, a commonly used bactericide found in human milk and in the aquatic environment in Sweden. *Chemosphere* 46, 1485–1489.
- Adolfsson-Erici, M., Pettersson, M., Parkkonen, J., Sturve, J., 2002. Triclosan, a commonly used bactericide found in human milk and in the aquatic environment in Sweden. *Chemosphere* 46, 1485–1489.
- Advait, B., SHANTA, S., 2013. Bioaccumulation kinetics and bioconcentration factors for polycyclic aromatic hydrocarbons in tissues of *Rasbora daniconius*. *Int. J. Chem. Phys. Sci* 2, 82–94.
- Aebi, H., 1984. [13] Catalase in vitro, in: *Methods in Enzymology*. Elsevier, pp. 121–126.
- Aeenjan, F., Javanbakht, V., 2018. Methylene blue removal from aqueous solution by magnetic clinoptilolite/chitosan/EDTA nanocomposite. *Research on Chemical Intermediates* 44, 1459–1483.
- Ahn, K.C., Zhao, B., Chen, J., Cherednichenko, G., Sanmarti, E., Denison, M.S., Lasley, B., Pessah, I.N., Kültz, D., Chang, D.P., 2008. In vitro biologic activities of the antimicrobials triclocarban, its analogs, and triclosan in bioassay screens: receptor-based bioassay screens. *Environmental health perspectives* 116, 1203–1210.
- Ahn, K.-S., Deutsch, T., Yan, Y., Jiang, C.-S., Perkins, C.L., Turner, J., Al-Jassim, M., 2007. Synthesis of band-gap-reduced p-type ZnO films by Cu incorporation. *Journal of Applied Physics* 102, 023517.
- Aitken, R.J., Chaudhry, M.Q., Boxall, A.B.A., Hull, M., 2006. Manufacture and use of nanomaterials: current status in the UK and global trends. *Occupational medicine* 56, 300–

- Akcha, F., Izuel, C., Venier, P., Budzinski, H., Burgeot, T., Narbonne, J.F., 2000. Enzymatic biomarker measurement and study of DNA adduct formation in benzo [a] pyrene-contaminated mussels, *Mytilus galloprovincialis*. *Aquatic Toxicology* 49, 269–287.
- Akrami, H., Mirjalili, B.F., Khoobi, M., Nadri, H., Moradi, A., Sakhteman, A., Emami, S., Foroumadi, A., Shafiee, A., 2014. Indolinone-based acetylcholinesterase inhibitors: synthesis, biological activity and molecular modeling. *European Journal of Medicinal Chemistry* 84, 375–381.
- Akter, M., Sikder, M.T., Rahman, M.M., Ullah, A.A., Hossain, K.F.B., Banik, S., Hosokawa, T., Saito, T., Kurasaki, M., 2018. A systematic review on silver nanoparticles-induced cytotoxicity: Physicochemical properties and perspectives. *Journal of advanced research* 9, 1–16.
- Alamdari, S., Sasani Ghamsari, M., Lee, C., Han, W., Park, H.-H., Tafreshi, M.J., Afarideh, H., Ara, M.H.M., 2020. Preparation and characterization of zinc oxide nanoparticles using leaf extract of *Sambucus ebulus*. *Applied Sciences* 10, 3620.
- Alazemi, B.M., Lewis, J.W., Andrews, E.B., 1996. Gill damage in the freshwater fish *Gnathonemus petersii* (family: Mormyridae) exposed to selected pollutants: an ultrastructural study. *Environmental Technology* 17, 225–238.
- Alexander, D.E., Fairbridge, R.W., 1999. *Encyclopedia of environmental science*. Springer Science & Business Media.
- Ali, D., Alarifi, S., Kumar, S., Ahamed, M., Siddiqui, M.A., 2012. Oxidative stress and genotoxic effect of zinc oxide nanoparticles in freshwater snail *Lymnaea luteola* L. *Aquatic Toxicology* 124, 83–90.
- Ali, N., 2019. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in indoor air and dust samples of different Saudi microenvironments; health and carcinogenic risk assessment for the general population. *Science of the Total Environment* 696, 133995.
- Ali, N., Rajeh, N., Wang, W., Abualnaja, K.O., Kumosani, T.A., Albar, H.M.S., Eqani, S.A.M.A.S., Ismail, I.M., 2016. Organohalogenated contaminants in type 2 diabetic serum from Jeddah, Saudi Arabia. *Environmental Pollution* 213, 206–212.
- Alleva, R., Manzella, N., Gaetani, S., Bacchetti, T., Bracci, M., Ciarapica, V., Monaco, F., Borghi, B., Amati, M., Ferretti, G., 2018. Mechanism underlying the effect of long-term exposure to low dose of pesticides on DNA integrity. *Environmental toxicology* 33, 476–487.
- Allmyr, M., Harden, F., Toms, L.-M.L., Mueller, J.F., McLachlan, M.S., Adolfsson-Erici, M., Sandborgh-Englund, G., 2008. The influence of age and gender on triclosan concentrations in Australian human blood serum. *Science of the total environment* 393, 162–167.
- Almeda, R., Wambaugh, Z., Wang, Z., Hyatt, C., Liu, Z., Buskey, E.J., 2013. Interactions between zooplankton and crude oil: toxic effects and bioaccumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *PloS one* 8, e67212.
- Amanulla, A.M., Sundaram, R., 2019. Green synthesis of TiO₂ nanoparticles using orange peel extract for antibacterial, cytotoxicity and humidity sensor applications. *Materials Today: Proceedings* 8, 323–331.
- Amde, M., Liu, J., Tan, Z.-Q., Bekana, D., 2017. Transformation and bioavailability of metal oxide nanoparticles in aquatic and terrestrial environments. A review. *Environmental pollution* 230, 250–267.
- Amiard-Triquet, C., 2009. Behavioral disturbances: the missing link between sub-organismal and supra-organismal responses to stress? Prospects based on aquatic research. *Human and Ecological Risk Assessment* 15, 87–110.

- Anbuselvan, N., Sridharan, M., 2018. Heavy metal assessment in surface sediments off Coromandel Coast of India: Implication on marine pollution. *Marine Pollution Bulletin* 131, 712–726.
- Andersson, J.T., Achten, C., 2015. Time to say goodbye to the 16 EPA PAHs? Toward an up-to-date use of PACs for environmental purposes. *Polycyclic aromatic compounds* 35, 330–354.
- Andral, B., Galgani, F., Tomasino, C., Bouchoucha, M., Blottiere, C., Scarpato, A., Benedicto, J., Deudero, S., Calvo, M., Cento, A., 2011. Chemical contamination baseline in the Western basin of the Mediterranean sea based on transplanted mussels. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 61, 261–271.
- Ansara-Ross, T.M., Wepener, V., Van den Brink, P.J., Ross, M.J., 2012. Pesticides in South African fresh waters. *African Journal of Aquatic Science* 37, 1–16.
- Antonio, M.T., Corredor, L., Leret, M.L., 2003. Study of the activity of several brain enzymes like markers of the neurotoxicity induced by perinatal exposure to lead and/or cadmium. *Toxicology letters* 143, 331–340.
- Anwar, M., Kayani, Z.N., Hassan, A., 2021. An insight of physical and antibacterial properties of Au-doped ZnO dip coated thin films. *Optical Materials* 118, 111276.
- Anyakora, C., Ogbeche, A., Palmer, P., Coker, H., 2005. Determination of polynuclear aromatic hydrocarbons in marine samples of Siokolo Fishing Settlement. *Journal of chromatography A* 1073, 323–330.
- Apeti, D.A., Lauenstein, G.G., Christensen, J.D., Kimbrough, K., Johnson, W.E., Kennedy, M., Grant, K.G., 2010. A historical assessment of coastal contamination in Birch Harbor, Maine based on the analysis of mussels collected in the 1940s and the Mussel Watch Program. *Marine Pollution Bulletin* 60, 732–742.
- Aragones, L.V., Lawler, I.R., Foley, W.J., Marsh, H., 2006. Dugong grazing and turtle cropping: grazing optimization in tropical seagrass systems? *Oecologia* 149, 635–647.
- Arbabi, M., Hashemzadeh-Chaleshtori, M., Mardani, G., Sadeghi, M., Najafi-Chaleshtori, A., Shakeri, K., 2015. Survey of the residual polycyclic aromatic hydrocarbons in petroleum contaminated soils in Shahrekord in 2013. *Journal of Shahrekord Uuniversity of Medical Sciences* 17.
- Arif, Z., Sethy, N.K., Kumari, L., Mishra, P.K., Verma, B., 2019. Green synthesis of TiO₂ nanoparticles using *Cajanus cajan* extract and their use in controlling the fouling of ultrafiltration PVDF membranes. *Korean Journal of Chemical Engineering* 36, 1148–1156.
- Arnot, J.A., Gobas, F.A., 2006. A review of bioconcentration factor (BCF) and bioaccumulation factor (BAF) assessments for organic chemicals in aquatic organisms. *Environmental Reviews* 14, 257–297.
- Arya, A., Chahal, R., Rao, R., Rahman, M., Kaushik, D., Akhtar, M.F., Saleem, A., Khalifa, S., El-Seedi, H.R., Kamel, M., 2021. Acetylcholinesterase inhibitory potential of various sesquiterpene analogues for Alzheimer's disease therapy. *Biomolecules* 11, 350.
- Aryal, R.K., Furumai, H., Nakajima, F., Boller, M., 2006. Characteristics of particle-associated PAHs in a first flush of a highway runoff. *Water science and technology* 53, 245–251.
- Axelman, J., Næs, K., Näf, C., Broman, D., 1999. Accumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons in semipermeable membrane devices and caged mussels (*Mytilus edulis* L.) in relation to water column phase distribution. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal* 18, 2454–2461.
- Ayala, A., Muñoz, M.F., Argüelles, S., 2014. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative medicine*

- and cellular longevity 2014.
- Azizi, G., Akodad, M., Baghour, M., Layachi, M., Moumen, A., 2018. The use of *Mytilus* spp. mussels as bioindicators of heavy metal pollution in the coastal environment. A review. *J Mater Environ Sci* 9, 1170–1181.
- Babaranti, O., Horn, S., Jowett, T., Frew, R., 2019. Isotopic signatures in *Mytilus galloprovincialis* and *Ulva latuca* as bioindicators for assessing discharged sewage effluent in coastal waters along Otago Peninsula, New Zealand. *Geology, Ecology, and Landscapes* 3, 53–64.
- Bahşi, Z.B., Oral, A.Y., 2007. Effects of Mn and Cu doping on the microstructures and optical properties of sol–gel derived ZnO thin films. *Optical Materials* 29, 672–678.
- Bakand, S., Hayes, A., Dechsakulthorn, F., 2012. Nanoparticles: a review of particle toxicology following inhalation exposure. *Inhalation toxicology* 24, 125–135.
- Baker, T.J., Tyler, C.R., Galloway, T.S., 2014. Impacts of metal and metal oxide nanoparticles on marine organisms. *Environmental pollution* 186, 257–271.
- Balcioğlu, E.B., 2016. Potential effects of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in marine foods on human health: a critical review. *Toxin Reviews* 35, 98–105.
- Balcioğlu, E.B., Aksu, A., Balkis, N., Öztürk, B., Billur, E., Glu, B., 2017. Polycyclic Aromatic Compounds Origin and Distribution of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Mediterranean Mussels (*Mytilus Galloprovincialis*, Lamarck, 1819) of the Turkish Straits System Origin and Distribution of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *Polycycl. Aromat. Compd* 6638, 1–11.
- Balmer, J.E., Morris, A.D., Hung, H., Jantunen, L., Vorkamp, K., Rigét, F., Evans, M., Houde, M., Muir, D.C., 2019. Levels and trends of current-use pesticides (CUPs) in the arctic: An updated review, 2010–2018. *Emerging contaminants* 5, 70–88.
- Bandowe, B.A.M., Bigalke, M., Boamah, L., Nyarko, E., Saalia, F.K., Wilcke, W., 2014. Polycyclic aromatic compounds (PAHs and oxygenated PAHs) and trace metals in fish species from Ghana (West Africa): bioaccumulation and health risk assessment. *Environment international* 65, 135–146.
- Banni, M., Negri, A., Dagnino, A., Jebali, J., Ameer, S., Boussetta, H., 2010. Acute effects of benzo [a] pyrene on digestive gland enzymatic biomarkers and DNA damage on mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 73, 842–848.
- Bao, K., Zacccone, C., Tao, Y., Wang, J., Shen, J., Zhang, Y., 2020. Source apportionment of priority PAHs in 11 lake sediment cores from Songnen Plain, Northeast China. *Water Research* 168, 115158.
- Barata, C., Baird, D.J., Nogueira, A.J.A., Soares, A., Riva, M.C., 2006. Toxicity of binary mixtures of metals and pyrethroid insecticides to *Daphnia magna* Straus. Implications for multi-substance risks assessment. *Aquatic Toxicology* 78, 1–14.
- Barata, C., Varo, I., Navarro, J.C., Arun, S., Porte, C., 2005. Antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in the freshwater cladoceran *Daphnia magna* exposed to redox cycling compounds. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* 140, 175–186.
- Barboza, L.G.A., Vieira, L.R., Branco, V., Carvalho, C., Guilhermino, L., 2018. Microplastics increase mercury bioconcentration in gills and bioaccumulation in the liver, and cause oxidative stress and damage in *Dicentrarchus labrax* juveniles. *Scientific reports* 8, 1–9.
- Barmo, C., Ciacci, C., Canonico, B., Fabbri, R., Cortese, K., Balbi, T., Marcomini, A., Pojana, G., Gallo, G., Canesi, L., 2013. In vivo effects of n-TiO₂ on digestive gland and immune function of the marine bivalve *Mytilus galloprovincialis*. *Aquatic toxicology* 132, 9–18.
- Barron, M.G., 2012. Ecological impacts of the Deepwater Horizon oil spill: implications for

- immunotoxicity. *Toxicologic pathology* 40, 315–320.
- Barsotti, G., Meluzzi, C., 1968. Osservazioni su *Mytilus edulis* L. e *Mytilus galloprovincialis* Lamarck. *Conchiglie* 4, 50–58.
- Bartels, D., 2001. Targeting detoxification pathways: an efficient approach to obtain plants with multiple stress tolerance? *Trends in plant science* 6, 284–286.
- Barynin, V.V., Whittaker, M.M., Antonyuk, S.V., Lamzin, V.S., Harrison, P.M., Artymiuk, P.J., Whittaker, J.W., 2001. Crystal structure of manganese catalase from *Lactobacillus plantarum*. *Structure* 9, 725–738.
- Basti, L., Nagai, S., Watanabe, S., Oda, T., Tanaka, Y., 2016. Neuroenzymatic activity and physiological energetics in Manila clam, *Ruditapes philippinarum*, during short-term sublethal exposure to harmful alga, *Heterocapsa circularisquama*. *Aquatic Toxicology* 176, 76–87.
- Bat, L., 2019. Concentrations of toxic elements in mussels *Mytilus galloprovincialis* as bio-indicator of coastal pollution, in: *International Biodiversity & Ecology Sciences Symposium*. E-book on 22.10. 2019.
- Batley, G.E., Kirby, J.K., McLaughlin, M.J., 2013. Fate and risks of nanomaterials in aquatic and terrestrial environments. *Accounts of chemical research* 46, 854–862.
- Baumard, P., Budzinski, H., Michon, Q., Garrigues, P., Burgeot, T., Bellocq, J., 1998. Origin and bioavailability of PAHs in the Mediterranean Sea from mussel and sediment records. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 47, 77–90.
- Bayne, B.L., Moore, M.N., Widdows, J., Livingstone, D.R., Salkeld, P., 1979. Measurement of the responses of individuals to environmental stress and pollution: studies with bivalve molluscs. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. B, Biological Sciences* 286, 563–581.
- Beaumont, A.R., 1991. Genetic studies of laboratory reared mussels, *Mytilus edulis*: heterozygote deficiencies, heterozygosity and growth. *Biological Journal of the Linnean Society* 44, 273–285.
- Beers, R.F., Sizer, I.W., 1952. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. *J Biol chem* 195, 133–140.
- Behera, B.K., Das, A., Sarkar, D.J., Weerathunge, P., Parida, P.K., Das, B.K., Thavamani, P., Ramanathan, R., Bansal, V., 2018. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in inland aquatic ecosystems: Perils and remedies through biosensors and bioremediation. *Environmental pollution* 241, 212–233.
- Beketov, M.A., Kefford, B.J., Schäfer, R.B., Liess, M., 2013. Pesticides reduce regional biodiversity of stream invertebrates. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 110, 11039–11043.
- Bekki, K., Takigami, H., Suzuki, G., Tang, N., Hayakawa, K., 2009. Evaluation of toxic activities of polycyclic aromatic hydrocarbon derivatives using in vitro bioassays. *Journal of Health Science* 55, 601–610.
- Beliaeff, B., Burgeot, T., 2002. Integrated biomarker response: a useful tool for ecological risk assessment. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal* 21, 1316–1322.
- Bellas, J., Saco-Álvarez, L., Nieto, Ó., Beiras, R., 2008. Ecotoxicological evaluation of polycyclic aromatic hydrocarbons using marine invertebrate embryo–larval bioassays. *Marine Pollution Bulletin* 57, 493–502.
- Beluci, N. de C.L., Dos Santos, T.R.T., Marcuzzo, J.S., Bergamasco, R., 2021. Facile filtration system to remove Diuron in aqueous solutions. *Journal of Hazardous Materials* 404,

- 124163.
- Benn, T.M., Westerhoff, P., 2008. Nanoparticle silver released into water from commercially available sock fabrics. *Environmental science & technology* 42, 4133–4139.
- Berne, B.J., Pecora, R., 2000. *Dynamic light scattering: with applications to chemistry, biology, and physics*. Courier Corporation.
- Best, G.A., Ruthven, A.D., 1995. *Pesticides: Developments, Impacts and Controls*. Elsevier.
- Bester, K., 2003. Triclosan in a sewage treatment process—balances and monitoring data. *Water research* 37, 3891–3896.
- Bester, K., 2005. Fate of triclosan and triclosan-methyl in sewage treatment plants and surface waters. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 49, 9–17.
- Beyer, J., Petersen, K., Song, Y., Ruus, A., Grung, M., Bakke, T., Tollefsen, K.E., 2014. Environmental risk assessment of combined effects in aquatic ecotoxicology: a discussion paper. *Marine environmental research* 96, 81–91.
- Bhagat, J., Nishimura, N., Shimada, Y., 2021. Toxicological interactions of microplastics/nanoplastics and environmental contaminants: Current knowledge and future perspectives. *Journal of hazardous materials* 405, 123913.
- Bharat, T.C., Mondal, S., Gupta, H.S., Singh, P.K., Das, A.K., 2019. Synthesis of doped zinc oxide nanoparticles: a review. *Materials Today: Proceedings* 11, 767–775.
- Bi, Y., Zaikova, T., Schoepf, J., Herckes, P., Hutchison, J.E., Westerhoff, P., 2017. The efficacy and environmental implications of engineered TiO₂ nanoparticles in a commercial floor coating. *Environmental Science: Nano* 4, 2030–2042.
- Bignell, J.P., Stentiford, G.D., Taylor, N.G.H., Lyons, B.P., 2011. Histopathology of mussels (*Mytilus* sp.) from the Tamar estuary, UK. *Marine environmental research* 72, 25–32.
- Biswas, J.K., Sarkar, D., 2019. Nanopollution in the aquatic environment and ecotoxicity: No nano issue! *Current Pollution Reports* 5, 4–7.
- Björk, M., Gilek, M., 1997. Bioaccumulation kinetics of PCB 31, 49 and 153 in the blue mussel, *Mytilus edulis* L. as a function of algal food concentration. *Aquatic Toxicology* 38, 101–123.
- Bock, M., Lyndall, J., Barber, T., Fuchsman, P., Perruchon, E., Capdevielle, M., 2010. Probabilistic application of a fugacity model to predict triclosan fate during wastewater treatment. *Integrated environmental assessment and management* 6, 393–404.
- Boehmer, W., Ruedel, H., Wenzel, A., Schroeter-Kermani, C., 2004. Retrospective monitoring of triclosan and methyl-triclosan in fish. Results from the German Environmental Specimen Bank.
- Boffetta, P., Desai, V., 2018. Exposure to permethrin and cancer risk: a systematic review. *Critical reviews in toxicology* 48, 433–442.
- Bondarenko, O., Juganson, K., Ivask, A., Kasemets, K., Mortimer, M., Kahru, A., 2013. Toxicity of Ag, CuO and ZnO nanoparticles to selected environmentally relevant test organisms and mammalian cells in vitro: a critical review. *Archives of toxicology* 87, 1181–1200.
- Bonsignore, M., Manta, D.S., Sharif, E.A.A.-T., D'Agostino, F., Traina, A., Quinci, E.M., Giaramita, L., Monastero, C., Benothman, M., Sprovieri, M., 2018. Marine pollution in the Libyan coastal area: Environmental and risk assessment. *Marine pollution bulletin* 128, 340–352.
- Booij, K., Zegers, B.N., Boon, J.P., 2002. Levels of some polybrominated diphenyl ether (PBDE) flame retardants along the Dutch coast as derived from their accumulation in SPMDs and blue mussels (*Mytilus edulis*). *Chemosphere* 46, 683–688.
- Bouloubassi, I., Fillaux, J., Saliot, A., 2001. Hydrocarbons in surface sediments from the

- Changjiang (Yangtze river) estuary, East China Sea. *Marine Pollution Bulletin* 42, 1335–1346.
- Bouzidi, I., Sellami, B., Mezni, A., Hedfi, A., Almalki, M., Pacioglu, O., Boufahja, F., Mougin, K., Beyrem, H., 2021. Nanoparticles influence the herbicide diuron mediated toxicity on marine mussel *Mytilus galloprovincialis*: single and mixture exposure study. *Materials Research Express* 8, 085005.
- Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry* 72, 248–254.
- Brandt, M., Einhenkel-Arle, D., 2016. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons—Harmful to the Environment! Toxic! Inevitable. *German Environ. Agency* 1–24.
- Brannock, P.M., Wethey, D.S., Hilbish, T.J., 2009. Extensive hybridization with minimal introgression in *Mytilus galloprovincialis* and *M. trossulus* in Hokkaido, Japan. *Marine Ecology Progress Series* 383, 161–171.
- Brayner, R., Dahoumane, S.A., Yéprémian, C., Djediat, C., Meyer, M., Couté, A., Fiévet, F., 2010. ZnO nanoparticles: synthesis, characterization, and ecotoxicological studies. *Langmuir* 26, 6522–6528.
- Brodie, J., Waterhouse, J., 2012. A critical review of environmental management of the ‘not so Great’ Barrier Reef. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 104, 1–22.
- Brown, R.J., Galloway, T.S., Lowe, D., Browne, M.A., Dissanayake, A., Jones, M.B., Depledge, M.H., 2004. Differential sensitivity of three marine invertebrates to copper assessed using multiple biomarkers. *Aquatic toxicology* 66, 267–278.
- Buth, J.M., Steen, P.O., Sueper, C., Blumentritt, D., Vikesland, P.J., Arnold, W.A., McNeill, K., 2010. Dioxin photoproducts of triclosan and its chlorinated derivatives in sediment cores. *Environmental science & technology* 44, 4545–4551.
- Caliani, I., Porcelloni, S., Mori, G., Frenzilli, G., Ferraro, M., Marsili, L., Casini, S., Fossi, M.C., 2009. Genotoxic effects of produced waters in mosquito fish (*Gambusia affinis*). *Ecotoxicology* 18, 75–80.
- Calisi, A., Lionetto, M.G., Caricato, R., Giordano, M.E., Schettino, T., 2008. Morphometric alterations in *Mytilus galloprovincialis* granulocytes: a new biomarker. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal* 27, 1435–1441.
- Campos-Garcia, J., Martinez, D.S.T., Alves, O.L., Leonardo, A.F.G., Barbieri, E., 2015. Ecotoxicological effects of carbofuran and oxidised multiwalled carbon nanotubes on the freshwater fish Nile tilapia: Nanotubes enhance pesticide ecotoxicity. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 111, 131–137.
- Cancer, I.A. for R. on, 1983. Polynuclear aromatic compounds, part 1, chemical, environmental, and experimental data. *IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Man*, IARC Scientific Publications 32, 33–451.
- Candioti, J.V., Natale, G.S., Soloneski, S., Ronco, A.E., Larramendy, M.L., 2010. Sublethal and lethal effects on *Rhinella arenarum* (Anura, Bufonidae) tadpoles exerted by the pirimicarb-containing technical formulation insecticide Aficida®. *Chemosphere* 78, 249–255.
- Canesi, L., Ciacci, C., Lorusso, L.C., Betti, M., Gallo, G., Pojana, G., Marcomini, A., 2007. Effects of Triclosan on *Mytilus galloprovincialis* hemocyte function and digestive gland enzyme activities: possible modes of action on non target organisms. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* 145, 464–472.
- Canesi, L., Fabbri, R., Gallo, G., Vallotto, D., Marcomini, A., Pojana, G., 2010. Biomarkers in *Mytilus galloprovincialis* exposed to suspensions of selected nanoparticles (Nano carbon

- black, C60 fullerene, Nano-TiO₂, Nano-SiO₂). *Aquatic Toxicology* 100, 168–177.
- Canesi, L., Viarengo, A., Leonzio, C., Filippelli, M., Gallo, G., 1999. Heavy metals and glutathione metabolism in mussel tissues. *Aquatic Toxicology* 46, 67–76.
- Cantin, N.E., Negri, A.P., Willis, B.L., 2007. Photoinhibition from chronic herbicide exposure reduces reproductive output of reef-building corals. *Marine Ecology Progress Series* 344, 81–93.
- Capoferri, D., Della Pelle, F., Del Carlo, M., Compagnone, D., 2018. Affinity sensing strategies for the detection of pesticides in food. *Foods* 7, 148.
- Cappello, T., Maisano, M., Giannetto, A., Natalotto, A., Parrino, V., Mauceri, A., Spanò, N., 2019. Pen shell *Pinna nobilis* L.(Mollusca: Bivalvia) from different peculiar environments: adaptive mechanisms of osmoregulation and neurotransmission. *The European Zoological Journal* 86, 333–342.
- Carls, M.G., Holland, L., Larsen, M., Collier, T.K., Scholz, N.L., Incardona, J.P., 2008. Fish embryos are damaged by dissolved PAHs, not oil particles. *Aquatic toxicology* 88, 121–127.
- Caron-Beaudoin, É., Viau, R., Sanderson, J.T., 2018. Effects of neonicotinoid pesticides on promoter-specific aromatase (CYP19) expression in Hs578t breast cancer cells and the role of the VEGF pathway. *Environmental Health Perspectives* 126, 047014.
- Cedergreen, N., 2014. Quantifying synergy: a systematic review of mixture toxicity studies within environmental toxicology. *PloS one* 9, e96580.
- Cesar-Ribeiro, C., Rosa, H.C., Rocha, D.O., Dos Reis, C.G.B., Prado, T.S., Muniz, D.H.C., Carrasco, R., Silva, F.M., Martinelli-Filho, J.E., Palanch-Hans, M.F., 2017. Light-stick: A problem of marine pollution in Brazil. *Marine Pollution Bulletin* 117, 118–123.
- Chalew, T.E., Halden, R.U., 2009. Environmental exposure of aquatic and terrestrial biota to triclosan and triclocarban 1. *JAWRA Journal of the American Water Resources Association* 45, 4–13.
- Chang, M.-C.O., Chow, J.C., Watson, J.G., Hopke, P.K., Yi, S.-M., England, G.C., 2004. Measurement of ultrafine particle size distributions from coal-, oil-, and gas-fired stationary combustion sources. *Journal of the Air & Waste Management Association* 54, 1494–1505.
- Chang, Y., Huynh, C.T.T., Bastin, K.M., Rivera, B.N., Siddens, L.K., Tilton, S.C., 2020. Classifying polycyclic aromatic hydrocarbons by carcinogenic potency using in vitro biosignatures. *Toxicology in Vitro* 69, 104991.
- Chedik, L., Mias-Lucquin, D., Bruyere, A., Fardel, O., 2017. In silico prediction for intestinal absorption and brain penetration of chemical pesticides in humans. *International journal of environmental research and public health* 14, 708.
- Chen, L., Batjikh, I., Hurh, J., Han, Y., Huo, Y., Ali, H., Li, J.F., Rupa, E.J., Ahn, J.C., Mathiyalagan, R., 2019. Green synthesis of zinc oxide nanoparticles from root extract of *Scutellaria baicalensis* and its photocatalytic degradation activity using methylene blue. *Optik* 184, 324–329.
- Cheng, D., Yang, J., Zhao, Y., 2004. Antibacterial materials of silver nanoparticles application in medical appliances and appliances for daily use. *Chin. Med. Equip. J* 4.
- Cheung, C.C.C., Siu, W.H.L., Richardson, B.J., De Luca-Abbott, S.B., Lam, P.K.S., 2004. Antioxidant responses to benzo [a] pyrene and Aroclor 1254 exposure in the green-lipped mussel, *Perna viridis*. *Environmental pollution* 128, 393–403.
- Cheung, C.C.C., Zheng, G.J., Li, A.M.Y., Richardson, B.J., Lam, P.K.S., 2001. Relationships between tissue concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons and antioxidative responses of marine mussels, *Perna viridis*. *Aquatic toxicology* 52, 189–203.

- Chiu, Y.H., Afeiche, M.C., Gaskins, A.J., Williams, P.L., Petrozza, J.C., Tanrikut, C., Hauser, R., Chavarro, J.E., 2015. Fruit and vegetable intake and their pesticide residues in relation to semen quality among men from a fertility clinic. *Human Reproduction* 30, 1342–1351.
- Chizhova, T., Hayakawa, K., Tishchenko, P., Nakase, H., Koudryashova, Y., 2013. Distribution of PAHs in the northwestern part of the Japan Sea. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography* 86, 19–24.
- Cho, E.C., Xie, J., Wurm, P.A., Xia, Y., 2009. Understanding the role of surface charges in cellular adsorption versus internalization by selectively removing gold nanoparticles on the cell surface with a I2/KI etchant. *Nano letters* 9, 1080–1084.
- Chole, R.H., Patil, R.N., Basak, A., Palandurkar, K., Bhowate, R., 2010. Estimation of serum malondialdehyde in oral cancer and precancer and its association with healthy individuals, gender, alcohol, and tobacco abuse. *Journal of cancer research and therapeutics* 6, 487.
- Christian, F.A., Tate, T.M., 1983. Toxicity of fluometuron and diuron on the intermediate snail host (*Lymnea* spp.) of *Fasciola hepatica*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 30, 628–631.
- Christiansen, J.S., George, S.G., 1995. Contamination of food by crude oil affects food selection and growth performance, but not appetite, in an Arctic fish, the polar cod (*Boreogadus saida*). *Polar biology* 15, 277–281.
- Ciba, S.C., 2001. General information on chemical, physical and microbial properties of Irgasan DP300. Irgacare MP and Irgacide LP10, Basel.
- Clar, J.G., Platten III, W.E., Baumann, E., Remsen, A., Harmon, S.M., Rodgers, K., Thomas, T.A., Matheson, J., Luxton, T.P., 2019. Release and transformation of ZnO nanoparticles used in outdoor surface coatings for UV protection. *Science of the total environment* 670, 78–86.
- Clark, R.D., 2018. Predicting mammalian metabolism and toxicity of pesticides in silico. *Pest management science* 74, 1992–2003.
- Cohen, J.E., Small, C., Mellinger, A., Gallup, J., Sachs, J., 1997. Estimates of coastal populations. *Science* 278, 1209–1213.
- Colletier, J.-P., Fournier, D., Greenblatt, H.M., Stojan, J., Sussman, J.L., Zaccai, G., Silman, I., Weik, M., 2006. Structural insights into substrate traffic and inhibition in acetylcholinesterase. *The EMBO journal* 25, 2746–2756.
- Comesana, A.S., Posada, D., Sanjuan, A., 1998. *Mytilus galloprovincialis* Lmk. in northern Africa. *Journal of experimental marine biology and ecology* 223, 271–283.
- Coogan, M.A., Edziyie, R.E., La Point, T.W., Venables, B.J., 2007. Algal bioaccumulation of triclocarban, triclosan, and methyl-triclosan in a North Texas wastewater treatment plant receiving stream. *Chemosphere* 67, 1911–1918.
- Cooper, N.L., Bidwell, J.R., 2006. Cholinesterase inhibition and impacts on behavior of the Asian clam, *Corbicula fluminea*, after exposure to an organophosphate insecticide. *Aquatic Toxicology* 76, 258–267.
- Cossu, C., Doyotte, A., Babut, M., Exinger, A., Vasseur, P., 2000. Antioxidant biomarkers in freshwater bivalves, *Unio tumidus*, in response to different contamination profiles of aquatic sediments. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 45, 106–121.
- Coughlan, J., 1969. The estimation of filtering rate from the clearance of suspensions. *Marine biology* 2, 356–358.
- Craft, J.A., Gilbert, J.A., Temperton, B., Dempsey, K.E., Ashelford, K., Tiwari, B., Hutchinson, T.H., Chipman, J.K., 2010. Pyrosequencing of *Mytilus galloprovincialis* cDNAs: tissue-specific expression patterns. *PLoS one* 5, e8875.
- Cranford, P.J., Ward, J.E., Shumway, S.E., 2011. Bivalve filter feeding: variability and limits of

- the aquaculture biofilter. *Shellfish aquaculture and the environment* 81–124.
- Cretu, V., Postica, V., Mishra, A.K., Hoppe, M., Tiginyanu, I., Mishra, Y.K., Chow, L., De Leeuw, N.H., Adelung, R., Lupan, O., 2016. Synthesis, characterization and DFT studies of zinc-doped copper oxide nanocrystals for gas sensing applications. *Journal of Materials Chemistry A* 4, 6527–6539.
- Culbertson, J.B., Valiela, I., Olsen, Y.S., Reddy, C.M., 2008. Effect of field exposure to 38-year-old residual petroleum hydrocarbons on growth, condition index, and filtration rate of the ribbed mussel, *Geukensia demissa*. *Environmental Pollution* 154, 312–319.
- Damalas, C.A., Eleftherohorinos, I.G., 2011. Pesticide exposure, safety issues, and risk assessment indicators. *International journal of environmental research and public health* 8, 1402–1419.
- Damiati, S., Scheberl, A., Zayni, S., Damiati, S.A., Schuster, B., Kompella, U.B., 2019. Albumin-bound nanodiscs as delivery vehicle candidates: Development and characterization. *Biophysical Chemistry* 251, 106178.
- Dann, A.B., Hontela, A., 2011. Triclosan: environmental exposure, toxicity and mechanisms of action. *Journal of applied toxicology* 31, 285–311.
- Das, S.K., Dickinson, C., Lafir, F., Brougham, D.F., Marsili, E., 2012. Synthesis, characterization and catalytic activity of gold nanoparticles biosynthesized with *Rhizopus oryzae* protein extract. *Green Chemistry* 14, 1322–1334.
- Dasgupta, S., Meisner, C., 2005. Health effects and pesticide perception as determinants of pesticide use: evidence from Bangladesh. *World Bank Publications*.
- Dat, N.-D., Chang, M.B., 2017. Review on characteristics of PAHs in atmosphere, anthropogenic sources and control technologies. *Science of the total environment* 609, 682–693.
- Davie-Martin, C.L., Stratton, K.G., Teeguarden, J.G., Waters, K.M., Simonich, S.L.M., 2017. Implications of bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbon-contaminated soils for human health and cancer risk. *Environmental science & technology* 51, 9458–9468.
- Davies, I.M., Vethaak, A.D., 2012. Integrated Marine Environmental Monitoring of Chemicals and Their Effects. ICES Cooperative Research Report No. 315.
- Davis, A.M., Thorburn, P.J., Lewis, S.E., Bainbridge, Z.T., Attard, S.J., Milla, R., Brodie, J.E., 2013. Environmental impacts of irrigated sugarcane production: herbicide run-off dynamics from farms and associated drainage systems. *Agriculture, ecosystems & environment* 180, 123–135.
- de Almeida, E.A., Bairy, A.C.D., de Melo Loureiro, A.P., Martinez, G.R., Miyamoto, S., Onuki, J., Barbosa, L.F., Garcia, C.C.M., Prado, F.M., Ronsein, G.E., 2007. Oxidative stress in *Perna perna* and other bivalves as indicators of environmental stress in the Brazilian marine environment: antioxidants, lipid peroxidation and DNA damage. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* 146, 588–600.
- De Vos, R.H., Van Dokkum, W., Schouten, A., de Jong-Berkhout, P., 1990. Polycyclic aromatic hydrocarbons in Dutch total diet samples (1984–1986). *Food and Chemical Toxicology* 28, 263–268.
- De, A., Bose, R., Kumar, A., Mozumdar, S., 2014. Targeted delivery of pesticides using biodegradable polymeric nanoparticles. *Springer*.
- Deelman, W., Pongpiachan, S., Tipmanee, D., Choochuay, C., Iadtem, N., Suttinun, O., Wang, Q., Xing, L., Li, G., Han, Y., 2020. Source identification of polycyclic aromatic hydrocarbons in terrestrial soils in Chile. *Journal of South American Earth Sciences* 99, 102514.
- del Pilar Navarrete-Meneses, M., Pérez-Vera, P., 2019. Pyrethroid pesticide exposure and hematological cancer: epidemiological, biological and molecular evidence. *Reviews on*

- environmental health 34, 197–210.
- Delcour, I., Spanoghe, P., Uyttendaele, M., 2015. Literature review: Impact of climate change on pesticide use. *Food Research International* 68, 7–15.
- Delgado, Á.V., González-Caballero, F., Hunter, R.J., Koopal, L.K., Lyklema, J., 2007. Measurement and interpretation of electrokinetic phenomena. *Journal of colloid and interface science* 309, 194–224.
- Della Torre, C., Balbi, T., Grassi, G., Frenzilli, G., Bernardeschi, M., Smerilli, A., Guidi, P., Canesi, L., Nigro, M., Monaci, F., 2015. Titanium dioxide nanoparticles modulate the toxicological response to cadmium in the gills of *Mytilus galloprovincialis*. *Journal of hazardous materials* 297, 92–100.
- DeLorenzo, M.E., Keller, J.M., Arthur, C.D., Finnegan, M.C., Harper, H.E., Winder, V.L., Zdankiewicz, D.L., 2008. Toxicity of the antimicrobial compound triclosan and formation of the metabolite methyl-triclosan in estuarine systems. *Environmental Toxicology: An International Journal* 23, 224–232.
- Depree, C., Ahrens, M., 2008. Polycyclic aromatic hydrocarbons in Auckland's aquatic environment: sources, concentrations and potential environmental risks. Auckland Regional Council.
- Deshmukh, S.P., Patil, S.M., Mullani, S.B., Delekar, S.D., 2019. Silver nanoparticles as an effective disinfectant: A review. *Materials Science and Engineering: C* 97, 954–965.
- Dhillon, G.S., Kaur, S., Pulicharla, R., Brar, S.K., Cledón, M., Verma, M., Surampalli, R.Y., 2015. Triclosan: current status, occurrence, environmental risks and bioaccumulation potential. *International journal of environmental research and public health* 12, 5657–5684.
- Dhull, V., Gahlaut, A., Dilbaghi, N., Hooda, V., 2013. Acetylcholinesterase biosensors for electrochemical detection of organophosphorus compounds: a review. *Biochemistry research international* 2013.
- Diggs, D.L., Huderson, A.C., Harris, K.L., Myers, J.N., Banks, L.D., Rekhadevi, P.V., Niaz, M.S., Ramesh, A., 2011. Polycyclic aromatic hydrocarbons and digestive tract cancers: a perspective. *Journal of environmental science and health, part c* 29, 324–357.
- Dinesh, R., Anandaraj, M., Srinivasan, V., Hamza, S., 2012. Engineered nanoparticles in the soil and their potential implications to microbial activity. *Geoderma* 173, 19–27.
- Dobaradaran, S., Schmidt, T.C., Lorenzo-Parodi, N., Kaziur-Cegla, W., Jochmann, M.A., Nabipour, I., Lutze, H.V., Telgheder, U., 2020. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) leachates from cigarette butts into water. *Environmental Pollution* 259, 113916.
- Dobson, J., 2006. Magnetic nanoparticles for drug delivery. *Drug development research* 67, 55–60.
- Dokianakis, S.N., Kornaros, M., Lyberatos, G., 2006. Impact of five selected xenobiotics on isolated ammonium oxidizers and on nitrifying activated sludge. *Environmental Toxicology: An International Journal* 21, 310–316.
- Donkin, P., Widdows, J., Evans, S.V., Staff, F.J., Yan, T., 1997. Effect of neurotoxic pesticides on the feeding rate of marine mussels (*Mytilus edulis*). *Pesticide Science* 49, 196–209.
- Douglas, I., Alam, K., Maghenda, M., McDonnell, Y., McLean, L., Campbell, J., 2008. Unjust waters: climate change, flooding and the urban poor in Africa. *Environment and urbanization* 20, 187–205.
- Dvir, H., Silman, I., Harel, M., Rosenberry, T.L., Sussman, J.L., 2010. Acetylcholinesterase: from 3D structure to function. *Chemico-biological interactions* 187, 10–22.
- Elliott, J., Holmes, K., Chambers, R., Leon, K., Wimberger, P., 2008. Differences in morphology and habitat use among the native mussel *Mytilus trossulus*, the non-native M.

- galloprovincialis, and their hybrids in Puget Sound, Washington. *Marine Biology* 156, 39–53.
- Ema, M., Gamo, M., Honda, K., 2017. A review of toxicity studies on graphene-based nanomaterials in laboratory animals. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 85, 7–24.
- Enzminger, J.D., Ahlert, R.C., 1987. Environmental fate of polynuclear aromatic hydrocarbons in coal tar. *Environmental Technology* 8, 269–278.
- Fang, F., Kennedy, J., Manikandan, E., Futter, J., Markwitz, A., 2012. Morphology and characterization of TiO₂ nanoparticles synthesized by arc discharge. *Chemical Physics Letters* 521, 86–90.
- Fang, G.-C., Wu, Y.-S., Fu, P.P.-C., Yang, I.-L., Chen, M.-H., 2004. Polycyclic aromatic hydrocarbons in the ambient air of suburban and industrial regions of central Taiwan. *Chemosphere* 54, 443–452.
- Faraday, M., 1857. On the relations of gold and other metals to light. *Proceedings of the Royal Society of London* 356–361.
- Faraji, N., Ulrich, C., Wolff, N., Kienle, L., Adelung, R., Mishra, Y.K., Seidel, J., 2016. Visible-light driven nanoscale photoconductivity of grain boundaries in self-supported ZnO nano- and microstructured platelets. *Advanced Electronic Materials* 2, 1600138.
- Farkas, J., Bergum, S., Nilsen, E.W., Olsen, A.J., Salaberria, I., Ciesielski, T.M., Bączek, T., Konieczna, L., Salvenmoser, W., Jenssen, B.M., 2015. The impact of TiO₂ nanoparticles on uptake and toxicity of benzo (a) pyrene in the blue mussel (*Mytilus edulis*). *Science of the Total Environment* 511, 469–476.
- Farré, M., Asperger, D., Kantiani, L., González, S., Petrovic, M., Barceló, D., 2008a. Assessment of the acute toxicity of triclosan and methyl triclosan in wastewater based on the bioluminescence inhibition of *Vibrio fischeri*. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 390, 1999–2007.
- Farré, M., Gajda-Schranz, K., Kantiani, L., Barceló, D., 2009. Ecotoxicity and analysis of nanomaterials in the aquatic environment. *Analytical and bioanalytical chemistry* 393, 81–95.
- Farrell, P., Nelson, K., 2013. Trophic level transfer of microplastic: *Mytilus edulis* (L.) to *Carcinus maenas* (L.). *Environmental Pollution* 177, 1–3.
- Farrington, J.W., Tripp, B.W., Tanabe, S., Subramanian, A., Sericano, J.L., Wade, T.L., Knap, A.H., 2016. Edward D. Goldberg’s proposal of “the mussel watch”: reflections after 40 years. *Marine Pollution Bulletin* 110, 501–510.
- Fayaz, A.M., Balaji, K., Girilal, M., Yadav, R., Kalaichelvan, P.T., Venketesan, R., 2010. Biogenic synthesis of silver nanoparticles and their synergistic effect with antibiotics: a study against gram-positive and gram-negative bacteria. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine* 6, 103–109.
- Felício, A.A., Freitas, J.S., Scarin, J.B., de Souza Onde, L., Teresa, F.B., Schlenk, D., de Almeida, E.A., 2018. Isolated and mixed effects of diuron and its metabolites on biotransformation enzymes and oxidative stress response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Ecotoxicology and environmental safety* 149, 248–256.
- Feng, J., Guo, X., Chen, Y., Lu, D., Niu, Z., Tou, F., Hou, L., Xu, J., Liu, M., Yang, Y., 2020. Time-dependent effects of ZnO nanoparticles on bacteria in an estuarine aquatic environment. *Science of The Total Environment* 698, 134298.
- Ferhat, M., Zaoui, A., Ahuja, R., 2009. Magnetism and band gap narrowing in Cu-doped ZnO. *Applied Physics Letters* 94, 142502.
- Ferrucio, B., Franchi, C.A. da S., Boldrin, N.F., Oliveira, M.L.C.S. de, Camargo, J.L.V. de, 2010.

- Evaluation of Diuron (3-[3, 4-dichlorophenyl]-1, 1-dimethyl urea) in a Two-stage Mouse Skin Carcinogenesis Assay. *Toxicologic pathology* 38, 756–764.
- Fita, I., Rossmann, M.G., 1985. The active center of catalase. *Journal of molecular biology* 185, 21–37.
- Fkiri, A., Santacruz, M.R., Mezni, A., Smiri, L.-S., Keller, V., Keller, N., 2017. One-pot synthesis of lightly doped Zn_{1-x}Cu_xO and Au–Zn_{1-x}Cu_xO with solar light photocatalytic activity in liquid phase. *Environmental Science and Pollution Research* 24, 15622–15633.
- Fly, E.K., Hilbish, T.J., Wetthey, D.S., Rognstad, R.L., 2015. Physiology and biogeography: the response of European mussels (*Mytilus* spp.) to climate change. *American Malacological Bulletin* 33, 136–149.
- Folt, C.L., Chen, C.Y., Moore, M.V., Burnaford, J., 1999. Synergism and antagonism among multiple stressors. *Limnology and oceanography* 44, 864–877.
- Foran, C.M., Bennett, E.R., Benson, W.H., 2000. Developmental evaluation of a potential non-steroidal estrogen: triclosan. *Marine environmental research* 50, 153–156.
- Fraceto, L.F., Grillo, R., de Medeiros, G.A., Scognamiglio, V., Rea, G., Bartolucci, C., 2016. Nanotechnology in agriculture: which innovation potential does it have? *Frontiers in Environmental Science* 4, 20.
- Franz, S., Altenburger, R., Heilmeier, H., Schmitt-Jansen, M., 2008. What contributes to the sensitivity of microalgae to triclosan? *Aquatic Toxicology* 90, 102–108.
- Freixa, A., Acuña, V., Gutierrez, M., Sanchís, J., Santos, L.H., Rodriguez-Mozaz, S., Farré, M., Barceló, D., Sabater, S., 2018. Fullerenes influence the toxicity of organic micro-contaminants to river biofilms. *Frontiers in microbiology* 9, 1426.
- Fuchsman, P., Lyndall, J., Bock, M., Lauren, D., Barber, T., Leigh, K., Perruchon, E., Capdevielle, M., 2010. Terrestrial ecological risk evaluation for triclosan in land-applied biosolids. *Integrated Environmental Assessment and Management* 6, 405–418.
- Fuhrmann, S., Klánová, J., Přibylková, P., Kohoutek, J., Dalvie, M.A., Rössli, M., Degrendele, C., 2020. Qualitative assessment of 27 current-use pesticides in air at 20 sampling sites across Africa. *Chemosphere* 258, 127333.
- Fulton, M.H., Key, P.B., 2001. Acetylcholinesterase inhibition in estuarine fish and invertebrates as an indicator of organophosphorus insecticide exposure and effects. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal* 20, 37–45.
- Gallen, C., Thai, P., Paxman, C., Prasad, P., Elisei, G., Reeks, T., Eaglesham, G., Yeh, R., Tracey, D., Grant, S., 2019. Marine Monitoring Program: Annual report for inshore pesticide monitoring 2017-18.
- Gangemi, S., Gofita, E., Costa, C., Teodoro, M., Briguglio, G., Nikitovic, D., Tzanakakis, G., Tsatsakis, A.M., Wilks, M.F., Spandidos, D.A., 2016. Occupational and environmental exposure to pesticides and cytokine pathways in chronic diseases. *International journal of molecular medicine* 38, 1012–1020.
- Gao, D., Wu, M., Wang, C., Wang, Y., Zuo, Z., 2015. Chronic exposure to low benzo [a] pyrene level causes neurodegenerative disease-like syndromes in zebrafish (*Danio rerio*). *Aquatic toxicology* 167, 200–208.
- Garcia, L.M., Castro, B., Ribeiro, R., Guilhermino, L., 2000. Characterization of cholinesterase from guppy (*Poecilia reticulata*) muscle and its in vitro inhibition by environmental contaminants. *Biomarkers* 5, 274–284.
- GARDNER, J.P., Thompson, R.J., 2009. Influence of genotype and geography on shell shape and morphometric trait variation among North Atlantic blue mussel (*Mytilus* spp.) populations. *Biological Journal of the Linnean Society* 96, 875–897.

- Genuis, S.J., Lane, K., Birkholz, D., 2016. Human elimination of organochlorine pesticides: blood, urine, and sweat study. *BioMed Research International* 2016.
- Gerhardt, L.-C., Jell, G.M.R., Boccaccini, A.R., 2007. Titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles filled poly (D, L lactid acid)(PDLLA) matrix composites for bone tissue engineering. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 18, 1287–1298.
- Giacomazzi, S., Cochet, N., 2004a. Environmental impact of diuron transformation: a review. *Chemosphere* 56, 1021–1032.
- Giannapas, M., Karnis, L., Dailianis, S., 2012. Generation of free radicals in haemocytes of mussels after exposure to low molecular weight PAH components: immune activation, oxidative and genotoxic effects. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* 155, 182–189.
- Gioda, C.R., Loro, V.L., Pretto, A., Salbego, J., Dressler, V., Flores, E.M., 2013. Sublethal zinc and copper exposure affect acetylcholinesterase activity and accumulation in different tissues of *Leporinus obtusidens*. *Bulletin of environmental contamination and toxicology* 90, 12–16.
- Gobas, F.A., Wilcockson, J.B., Russell, R.W., Haffner, G.D., 1999. Mechanism of biomagnification in fish under laboratory and field conditions. *Environmental science & technology* 33, 133–141.
- Goldberg, E.D., 1980. The International Mussel Watch. Report of a Workshop Sponsored by the Environmental Studies Board. Commission on Natural Resources. National Research Council. National Academy of Sciences. Washington, DC.
- Gomes, T., Chora, S., Pereira, C.G., Cardoso, C., Bebianno, M.J., 2014. Proteomic response of mussels *Mytilus galloprovincialis* exposed to CuO NPs and Cu²⁺: An exploratory biomarker discovery. *Aquatic Toxicology* 155, 327–336.
- Gornati, R., Longo, A., Rossi, F., Maisano, M., Sabatino, G., Mauceri, A., Bernardini, G., Fasulo, S., 2016. Effects of titanium dioxide nanoparticle exposure in *Mytilus galloprovincialis* gills and digestive gland. *Nanotoxicology* 10, 807–817.
- Gosling, E., 1992. Systematics and geographic distribution of *Mytilus*. *The Mussel Mytilus*.
- Gottschalk, F., Sonderer, T., Scholz, R.W., Nowack, B., 2009. Modeled environmental concentrations of engineered nanomaterials (TiO₂, ZnO, Ag, CNT, fullerenes) for different regions. *Environmental science & technology* 43, 9216–9222.
- Goudarzi, G., Idani, E., Alavi, N., Salmanzadeh, S., Babaei, A.A., Geravandi, S., Mohammadi, M.J., Mahboubi, M., Moradi, M., 2017. Association of polycyclic aromatic hydrocarbons of the outdoor air in Ahvaz, southwest Iran during warm-cold season. *Toxin reviews* 36, 282–289.
- Grant, W.S., Cherry, M.I., 1985. *Mytilus galloprovincialis* Lmk. in southern Africa. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 90, 179–191.
- Gravato, C., Oliveira, M., Santos, M.A., 2005. Oxidative stress and genotoxic responses to resin acids in Mediterranean mussels. *Ecotoxicology and environmental safety* 61, 221–229.
- Grillo, R., De Jesus, M.B., Fraceto, L.F., 2018. Environmental impact of nanotechnology: analyzing the present for building the future. *Frontiers in Environmental Science* 6, 34.
- Grimmer, G., 2018. Environmental carcinogens: polycyclic aromatic hydrocarbons.
- Guan, X., Shi, W., Zha, S., Rong, J., Su, W., Liu, G., 2018. Neurotoxic impact of acute TiO₂ nanoparticle exposure on a benthic marine bivalve mollusk, *Tegillarca granosa*. *Aquatic Toxicology* 200, 241–246.
- Gubbins, M., Roose, P., Davies, I.M., Vethaak, D., 2012. 28 Technical annex: recommended packages of chemical and biological methods for monitoring on a determinant basis.

- Integrated marine environmental monitoring of chemicals and their effects 197.
- Guha, T., Gopal, G., Kundu, R., Mukherjee, A., 2020. Nanocomposites for delivering agrochemicals: A comprehensive review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 68, 3691–3702.
- Guidi, P., Frenzilli, G., Benedetti, M., Bernardeschi, M., Falleni, A., Fattorini, D., Regoli, F., Scarcelli, V., Nigro, M., 2010. Antioxidant, genotoxic and lysosomal biomarkers in the freshwater bivalve (*Unio pictorum*) transplanted in a metal polluted river basin. *Aquatic Toxicology* 100, 75–83.
- Gupta, S.K., Singh, J., 2011. Evaluation of mollusc as sensitive indicator of heavy metal pollution in aquatic system: a review. *IIOAB J* 2, 49–57.
- Gustafsson, O., Krusa, M., Zencak, Z., Sheesley, R.J., Granat, L., Engstrom, E., Praveen, P.S., Rao, P.S.P., Leck, C., Rodhe, H., 2009. Brown clouds over South Asia: biomass or fossil fuel combustion? *Science* 323, 495–498.
- Häder, D.-P., Banaszak, A.T., Villafañe, V.E., Narvarte, M.A., González, R.A., Helbling, E.W., 2020. Anthropogenic pollution of aquatic ecosystems: Emerging problems with global implications. *Science of the Total environment* 713, 136586.
- Halden, R.U., Paull, D.H., 2005. Co-occurrence of triclocarban and triclosan in US water resources. *Environmental science & technology* 39, 1420–1426.
- Hannam, M.L., Bamber, S.D., Galloway, T.S., Moody, A.J., Jones, M.B., 2010. Effects of the model PAH phenanthrene on immune function and oxidative stress in the haemolymph of the temperate scallop *Pecten maximus*. *Chemosphere* 78, 779–784.
- Haque, M.N., Eom, H.-J., Nam, S.-E., Shin, Y.K., Rhee, J.-S., 2019. Chlorothalonil induces oxidative stress and reduces enzymatic activities of Na⁺/K⁺-ATPase and acetylcholinesterase in gill tissues of marine bivalves. *PLoS One* 14, e0214236.
- Hartmann, N.I.B., Skjolding, L.M., Hansen, S.F., Baun, A., Kjølholt, J., Gottschalk, F., 2014. Environmental fate and behaviour of nanomaterials: new knowledge on important transformation processes.
- Hashim, P.W., Nia, J.K., Han, G., Ratner, D., 2020. Nanoparticles in dermatologic surgery. *Journal of the American Academy of Dermatology* 83, 1144–1149.
- Hassanen, E.I., Morsy, E.A., Hussien, A.M., Ibrahim, M.A., Farroh, K.Y., 2020. The effect of different concentrations of gold nanoparticles on growth performance, toxicopathological and immunological parameters of broiler chickens. *Bioscience Reports* 40.
- Haukås, M., Ruus, A., Hylland, K., Berge, J.A., Mariussen, E., 2010. Bioavailability of hexabromocyclododecane to the polychaete *Hediste diversicolor*: exposure through sediment and food from a contaminated fjord. *Environmental Toxicology and Chemistry* 29, 1709–1715.
- Hayakawa, K., 2018. Oil spills and polycyclic aromatic hydrocarbons, in: *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons*. Springer, pp. 213–223.
- Hayes, W.J., 1982. Pesticides studied in man.
- Haynes, D., Ralph, P., Prange, J., Dennison, B., 2000. The impact of the herbicide diuron on photosynthesis in three species of tropical seagrass. *Marine pollution bulletin* 41, 288–293.
- He, S.-B., Wu, G.-W., Deng, H.-H., Liu, A.-L., Lin, X.-H., Xia, X.-H., Chen, W., 2014. Choline and acetylcholine detection based on peroxidase-like activity and protein antifouling property of platinum nanoparticles in bovine serum albumin scaffold. *Biosensors and Bioelectronics* 62, 331–336.
- Hellou, J., Law, R.J., 2003. Stress on stress response of wild mussels, *Mytilus edulis* and *Mytilus trossulus*, as an indicator of ecosystem health. *Environmental Pollution* 126, 407–416.

- Hernández, A.F., Parrón, T., Tsatsakis, A.M., Requena, M., Alarcón, R., López-Guarnido, O., 2013. Toxic effects of pesticide mixtures at a molecular level: their relevance to human health. *Toxicology* 307, 136–145.
- Hernández-Carrillo, M.A., Torres-Ricárdez, R., García-Mendoza, M.F., Ramírez-Morales, E., Rojas-Blanco, L., Díaz-Flores, L.L., Sepúlveda-Palacios, G.E., Paraguay-Delgado, F., Pérez-Hernández, G., 2020. Eu-modified ZnO nanoparticles for applications in photocatalysis. *Catalysis Today* 349, 191–197.
- Hickman, R.W., 1992. Mussel cultivation. The mussel *Mytilus*: ecology, physiology, genetics and culture. *Development in aquaculture and fisheries science* 465–510.
- Hilbish, T.J., Mullinax, A., Dolven, S.I., Meyer, A., Koehn, R.K., Rawson, P.D., 2000. Origin of the antitropical distribution pattern in marine mussels (*Mytilus* spp.): routes and timing of transequatorial migration. *Marine Biology* 136, 69–77.
- Hildemann, L.M., Markowski, G.R., Jones, M.C., Cass, G.R., 1991. Submicrometer aerosol mass distributions of emissions from boilers, fireplaces, automobiles, diesel trucks, and meat-cooking operations. *Aerosol Science and Technology* 14, 138–152.
- Hofelt, C.S., Shea, D., 1996. Accumulation of organochlorine pesticides and PCBs by semipermeable membrane devices and *Mytilus edulis* in New Bedford Harbor. *Environmental Science & Technology* 31, 154–159.
- Hogan, C.J., Lee, M.-H., Biswas, P., 2004. Capture of viral particles in soft X-ray-enhanced corona systems: charge distribution and transport characteristics. *Aerosol science and technology* 38, 475–486.
- Holas, O., Musilek, K., Pohanka, M., Kuca, K., 2012. The progress in the cholinesterase quantification methods. *Expert opinion on drug discovery* 7, 1207–1223.
- Honda, K., Mizukami, M., Ueda, Y., Hamada, N., Seike, N., 2007. Residue level of polycyclic aromatic hydrocarbons in Japanese paddy soils from 1959 to 2002. *Chemosphere* 68, 1763–1771.
- Honda, M., Suzuki, N., 2020. Toxicities of polycyclic aromatic hydrocarbons for aquatic animals. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 17, 1363.
- Hooker, E.P., Fulcher, K.G., Gibb, H.J., 2014. Aldrin and Dieldrin: A Reevaluation of the Cancer and Noncancer Dose-Response Assessments. *Risk analysis* 34, 865–878.
- Hosseinpour, A., Haliloglu, K., Tolga Cinisli, K., Ozkan, G., Ozturk, H.I., Pour-Aboughadareh, A., Pocza, P., 2020. Application of zinc oxide nanoparticles and plant growth promoting bacteria reduces genetic impairment under salt stress in tomato (*Solanum lycopersicum* L. 'Linda'). *Agriculture* 10, 521.
- HSDB (Hazardous Substances Data Bank). (2005) Fluoranthene. National Library of Medicine, National Toxicology Program, Bethesda, MD. Last revision dated June 23, 2005. Available online at <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB>.
- Hua, N.-P., Kobayashi, F., Iwasaka, Y., Shi, G.-Y., Naganuma, T., 2007. Detailed identification of desert-originated bacteria carried by Asian dust storms to Japan. *Aerobiologia* 23, 291–298.
- Huang, B., Yan, D., Wang, Xiaoning, Wang, Xianli, Fang, W., Zhang, D., Ouyang, C., Wang, Q., Cao, A., 2019. Soil fumigation alters adsorption and degradation behavior of pesticides in soil. *Environmental Pollution* 246, 264–273.
- Huang, H., Hu, H., Qiao, S., Bai, L., Han, M., Liu, Y., Kang, Z., 2015. Carbon quantum dot/CuS x nanocomposites towards highly efficient lubrication and metal wear repair. *Nanoscale* 7, 11321–11327.
- Huang, X., Liu, Z., Xie, Z., Dupont, S., Huang, W., Wu, F., Kong, H., Liu, L., Sui, Y., Lin, D., 2018. Oxidative stress induced by titanium dioxide nanoparticles increases under seawater

- acidification in the thick shell mussel *Mytilus coruscus*. *Marine environmental research* 137, 49–59.
- Hull, M.S., Chaurand, P., Rose, J., Auffan, M., Bottero, J.-Y., Jones, J.C., Schultz, I.R., Vikesland, P.J., 2011. Filter-feeding bivalves store and biodeposit colloiddally stable gold nanoparticles. *Environmental science & technology* 45, 6592–6599.
- Hylland, K., 2006. Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) ecotoxicology in marine ecosystems. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A* 69, 109–123.
- ICON, 2001. Pollutants in Urban Waste Water and Sewage Sludge. Available online: http://ec.europa.eu/environment/waste/sludge/sludge_pollutants.pdf (accessed on 14 May 2015).
- Ikenaka, Y., Sakamoto, M., Nagata, T., Takahashi, H., Miyabara, Y., Hanazato, T., Ishizuka, M., Isobe, T., Kim, J.-W., Chang, K.-H., 2013. Effects of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) on an aquatic ecosystem: acute toxicity and community-level toxic impact tests of benzo [a] pyrene using lake zooplankton community. *The journal of toxicological sciences* 38, 131–136.
- Inshakova, E., Inshakov, O., 2017. World market for nanomaterials: structure and trends, in: MATEC Web of Conferences. EDP Sciences, p. 02013.
- Islam, M.S., Tanaka, M., 2004. Impacts of pollution on coastal and marine ecosystems including coastal and marine fisheries and approach for management: a review and synthesis. *Marine pollution bulletin* 48, 624–649.
- ISSG, 2019. Global Invasive Species Database (GISD). In: Global Invasive Species Database (GISD) : Invasive Species Specialist Group of the IUCN Species Survival Commission. <http://www.issg.org/database/welcome/>
- Iversen, T.-G., Skotland, T., Sandvig, K., 2011. Endocytosis and intracellular transport of nanoparticles: Present knowledge and need for future studies. *Nano today* 6, 176–185.
- Iwafune, T., 2018. Studies on the behavior and ecotoxicity of pesticides and their transformation products in a river. *Journal of Pesticide Science* J18–01.
- Jackson, M.C., Woodford, D.J., Weyl, O.L., 2016. Linking key environmental stressors with the delivery of provisioning ecosystem services in the freshwaters of southern Africa. *Geo: Geography and Environment* 3, e00026.
- Jafarabadi, A.R., Bakhtiari, A.R., Hedouin, L., Toosi, A.S., Cappello, T., 2018. Spatio-temporal variability, distribution and sources of n-alkanes and polycyclic aromatic hydrocarbons in reef surface sediments of Kharg and Lark coral reefs, Persian Gulf, Iran. *Ecotoxicology and environmental safety* 163, 307–322.
- Jafari, S.M., Esfanjani, A.F., Katouzian, I., Assadpour, E., 2017. Release, characterization, and safety of nanoencapsulated food ingredients. *Nanoencapsulation of food bioactive ingredients* 401–453.
- Jamdagni, P., Khatri, P., Rana, J.S., 2018. Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using flower extract of *Nyctanthes arbor-tristis* and their antifungal activity. *Journal of King Saud University-Science* 30, 168–175.
- Jasbi, N.E., Dorrnian, D., 2017. Dependence of laser ablation produced TiO₂ nanoparticles on the ablation environment temperature. *Optical and Quantum Electronics* 49, 1–13.
- Javid, A., Kumar, M., Yoon, S., Lee, J.H., Han, J.G., 2017. Size-controlled growth and antibacterial mechanism for Cu: C nanocomposite thin films. *Physical Chemistry Chemical Physics* 19, 237–244.
- Jayachandran, A., Aswathy, T.R., Nair, A.S., 2021. Green synthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles using *Cayratia pedata* leaf extract. *Biochemistry and Biophysics*

Reports 26, 100995.

- Jayappa, M.D., Ramaiah, C.K., Kumar, M.A.P., Suresh, D., Prabhu, A., Devasya, R.P., Sheikh, S., 2020. Green synthesis of zinc oxide nanoparticles from the leaf, stem and in vitro grown callus of *Mussaenda frondosa* L.: characterization and their applications. *Applied nanoscience* 10, 3057–3074.
- Jeong, C.-B., Kang, H.-M., Lee, Y.H., Kim, M.-S., Lee, Jin-Sol, Seo, J.S., Wang, M., Lee, Jae-Seong, 2018. Nanoplastic ingestion enhances toxicity of persistent organic pollutants (POPs) in the monogonont rotifer *Brachionus koreanus* via multixenobiotic resistance (MXR) disruption. *Environmental science & technology* 52, 11411–11418.
- Jia, G., Wang, H., Yan, L., Wang, X., Pei, R., Yan, T., Zhao, Y., Guo, X., 2005. Cytotoxicity of carbon nanomaterials: single-wall nanotube, multi-wall nanotube, and fullerene. *Environmental science & technology* 39, 1378–1383.
- Jiang, W., Fang, Jianguang, Gao, Y., Du, M., Fang, Jinghui, Wang, X., Li, F., Lin, F., Jiang, Z., 2019. Biomarkers responses in Manila clam, *Ruditapes philippinarum* after single and combined exposure to mercury and benzo [a] pyrene. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* 220, 1–8.
- Jiang, Y., Chen, X., Yang, G., Wang, Q., Wang, J., Xiong, W., Yuan, J., 2013. BaP-induced DNA damage initiated p53-independent necroptosis via the mitochondrial pathway involving Bax and Bcl-2. *Human & experimental toxicology* 32, 1245–1257.
- Jones, D.P., Eklöw, L., Thor, H., Orrenius, S., 1981. Metabolism of hydrogen peroxide in isolated hepatocytes: relative contributions of catalase and glutathione peroxidase in decomposition of endogenously generated H₂O₂. *Archives of biochemistry and biophysics* 210, 505–516.
- Jones, R.J., Muller, J., Haynes, D., Schreiber, U., 2003. Effects of herbicides diuron and atrazine on corals of the Great Barrier Reef, Australia. *Marine Ecology Progress Series* 251, 153–167.
- Jørgensen, A., Giessing, A.M., Rasmussen, L.J., Andersen, O., 2008. Biotransformation of polycyclic aromatic hydrocarbons in marine polychaetes. *Marine Environmental Research* 65, 171–186.
- Junqueira, V.B., 2004. Barros SB, Chan SS, Rodrigues L, Giavarotti L, Abud RL, and Deucher GP. Aging and oxidative stress. *Mol Aspects Med* 25, 5–16.
- Jürgens, M.D., Crosse, J., Hamilton, P.B., Johnson, A.C., Jones, K.C., 2016. The long shadow of our chemical past—high DDT concentrations in fish near a former agrochemicals factory in England. *Chemosphere* 162, 333–344.
- Kaloyianni, M., Dailianis, S., Chrisikopoulou, E., Zannou, A., Koutsogiannaki, S., Alamdari, D.H., Koliakos, G., Dimitriadis, V.K., 2009. Oxidative effects of inorganic and organic contaminants on haemolymph of mussels. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* 149, 631–639.
- Kalyabina, V.P., Esimbekova, E.N., Kopylova, K.V., Kratasyuk, V.A., 2021. Pesticides: formulants, distribution pathways and effects on human health—a review. *Toxicology reports* 8, 1179–1192.
- Kamal, H.M., Kadhim, M.J., Jawad, R.K.M., 2020. Investigate the colloidal nano-zinc oxide addition on the strength acceleration of G-sand cement mortar, in: *AIP Conference Proceedings*. AIP Publishing LLC, p. 020148.
- Kannan, K., Johnson-Restrepo, B., Yohn, S.S., Giesy, J.P., Long, D.T., 2005. Spatial and temporal distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments from Michigan inland lakes. *Environmental science & technology* 39, 4700–4706.
- Karacik, B., Okay, O.S., Henkelmann, B., Bernhöft, S., Schramm, K.-W., 2009. Polycyclic

- aromatic hydrocarbons and effects on marine organisms in the Istanbul Strait. *Environment international* 35, 599–606.
- Kashale, A.A., Gattu, K.P., Ghule, K., Ingole, V.H., Dhanayat, S., Sharma, R., Chang, J.-Y., Ghule, A.V., 2016. Biomediated green synthesis of TiO₂ nanoparticles for lithium ion battery application. *Composites Part B: Engineering* 99, 297–304.
- Katagi, T., 2013. Soil column leaching of pesticides. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology Volume 221* 1–105.
- Katalay, S., Yavasoglu, A., Yigitturk, G., Oltulu, F., Sari, G., Yavasoglu, N., Karabay, U., 2016. Histological effects of pollution on gill and hepatopancreas tissues of black mussels (*M. galloprovincialis* L.) from Izmir Bay of Turkey. *Fresenius Environmental Bulletin* 25, 1461–1467.
- Kegel, J., Povey, I.M., Pemble, M.E., 2018. Zinc oxide for solar water splitting: A brief review of the material's challenges and associated opportunities. *Nano energy* 54, 409–428.
- Keith, L., Telliard, W., 1979. ES&T special report: priority pollutants: Ia perspective view. *Environmental science & technology* 13, 416–423.
- Kennedy, C.B., Scott, S.D., Ferris, F.G., 2004. Hydrothermal phase stabilization of 2-line ferrihydrite by bacteria. *Chemical Geology* 212, 269–277.
- Kerr, S.R., 1971. Analysis of laboratory experiments on growth efficiency of fishes. *Journal of the Fisheries Board of Canada* 28, 801–808.
- Khalid, S., Shahid, M., Murtaza, B., Bibi, I., Naeem, M.A., Niazi, N.K., 2020. A critical review of different factors governing the fate of pesticides in soil under biochar application. *Science of the Total Environment* 711, 134645.
- Khan, Ibrahim, Saeed, K., Khan, Idrees, 2019. Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. *Arabian journal of chemistry* 12, 908–931.
- Khan, N.S., Dixit, A.K., Mehta, R., 2016. Nanoparticle toxicity in water, soil, microbes, plant and animals, in: *Nanoscience in Food and Agriculture 2*. Springer, pp. 277–309.
- Kim, K.-H., Jahan, S.A., Kabir, E., Brown, R.J., 2013. A review of airborne polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and their human health effects. *Environment international* 60, 71–80.
- Kim, K.-H., Kabir, E., Jahan, S.A., 2017b. Exposure to pesticides and the associated human health effects. *Science of the total environment* 575, 525–535.
- Kinney, C.A., Furlong, E.T., Kolpin, D.W., Burkhardt, M.R., Zaugg, S.D., Werner, S.L., Bossio, J.P., Benotti, M.J., 2008. Bioaccumulation of pharmaceuticals and other anthropogenic waste indicators in earthworms from agricultural soil amended with biosolid or swine manure. *Environmental Science & Technology* 42, 1863–1870.
- Kittelson, D.B., 1998. Engines and nanoparticles: a review. *Journal of aerosol science* 29, 575–588.
- Klaine, S.J., Alvarez, P.J., Batley, G.E., Fernandes, T.F., Handy, R.D., Lyon, D.Y., Mahendra, S., McLaughlin, M.J., Lead, J.R., 2008. Nanomaterials in the environment: behavior, fate, bioavailability, and effects. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal* 27, 1825–1851.
- Klingshirn, C., 2007. ZnO: From basics towards applications. *physica status solidi (b)* 244, 3027–3073.
- Knauer, K., Homazava, N., Junghans, M., Werner, I., 2017. The influence of particles on bioavailability and toxicity of pesticides in surface water. *Integrated environmental assessment and management* 13, 585–600.
- Kontopoulou, I., Angelopoulou, A., Bouropoulos, N., 2016. ZnO spherical porous nanostructures

- obtained by thermal decomposition of zinc palmitate. *Materials Letters* 165, 87–90.
- Kopecka-Pilarczyk, J., Correia, A.D., 2009. Biochemical response in gilthead seabream (*Sparus aurata*) to in vivo exposure to pyrene and fluorene. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 372, 49–57.
- Köprücü, K., Yonar, S.M., Şeker, E., 2010. Effects of cypermethrin on antioxidant status, oxidative stress biomarkers, behavior, and mortality in the freshwater mussel *Unio elongatulus eucirrus*. *Fisheries science* 76, 1007–1013.
- Kotin, P., Falk, H.L., Busser, R., 1959. Distribution, retention, and elimination of C14-3, 4-benzpyrene after administration to mice and rats. *Journal of the National Cancer Institute* 23, 541–555.
- Krauss, M., Wilcke, W., Martius, C., Bandeira, A.G., Garcia, M.V., Amelung, W., 2005. Atmospheric versus biological sources of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in a tropical rain forest environment. *Environmental Pollution* 135, 143–154.
- Kravets, V.G., Kabashin, A.V., Barnes, W.L., Grigorenko, A.N., 2018. Plasmonic surface lattice resonances: a review of properties and applications. *Chemical reviews* 118, 5912–5951.
- Kumar, P., Al-Dabbous, A.N., 2016. Emission, transformation and fate of nanoparticles in the atmosphere. in *Engineered Nanoparticles and the Environment: Biophysicochemical Processes and Biototoxicity*, N. Senesi, Ed 4.
- Kumar, Rahul, Sankhla, M.S., Kumar, Rajeev, Sonone, S.S., 2021. Impact of pesticide toxicity in aquatic environment. *Biointerface Research in Applied Chemistry* 11, 10131–10140.
- Kumari, S., Kumari, P., Panda, P.K., Patel, P., Jha, E., Mallick, M.A., Verma, S.K., 2020. Biocompatible biogenic silver nanoparticles interact with caspases on an atomic level to elicit apoptosis. *Nanomedicine* 15, 2119–2132.
- Langston, W.J., O'Hara, S., Pope, N.D., Davey, M., Shortridge, E., Imamura, M., Harino, H., Kim, A., Vane, C.H., 2012. Bioaccumulation surveillance in milford haven waterway. *Environmental monitoring and assessment* 184, 289–311.
- Lankadurai, B.P., Nagato, E.G., Simpson, M.J., 2013. Environmental metabolomics: an emerging approach to study organism responses to environmental stressors. *Environmental Reviews* 21, 180–205.
- Larsen, L.-H., Sagerup, K., Ramsvatn, S., 2016. The mussel path—Using the contaminant tracer, Ecotracer, in Ecopath to model the spread of pollutants in an Arctic marine food web. *Ecological modelling* 331, 77–85.
- Larson, S.J., Capel, P.D., Majewski, M.S., 2019. *Pesticides in surface waters: Distribution, trends, and governing factors*. CRC Press.
- Latch, D.E., Packer, J.L., Arnold, W.A., McNeill, K., 2003a. Photochemical conversion of triclosan to 2, 8-dichlorodibenzo-p-dioxin in aqueous solution. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 158, 63–66.
- Law, K.S., Roiger, A., Thomas, J.L., Marelle, L., Raut, J.-C., Dalsøren, S., Fuglestedt, J., Tuccella, P., Weinzierl, B., Schlager, H., 2017. Local Arctic air pollution: Sources and impacts. *Ambio* 46, 453–463.
- Le Bris, H., Pouliquen, H., 2004. Experimental study on the bioaccumulation of oxytetracycline and oxolinic acid by the blue mussel (*Mytilus edulis*). An evaluation of its ability to bio-monitor antibiotics in the marine environment. *Marine Pollution Bulletin* 48, 434–440.
- Lead, J.R., Batley, G.E., Alvarez, P.J., Croteau, M.-N., Handy, R.D., McLaughlin, M.J., Judy, J.D., Schirmer, K., 2018. Nanomaterials in the environment: behavior, fate, bioavailability, and effects—an updated review. *Environmental toxicology and chemistry* 37, 2029–2063.
- Lee, J.-H., Jun, Y., Yeon, S.-I., Shin, J.-S., Cheon, J., 2006. Dual-mode nanoparticle probes for

- high-performance magnetic resonance and fluorescence imaging of neuroblastoma. *Angewandte Chemie International Edition* 45, 8160–8162.
- Lee, S.Y., Morton, B., 1985. The introduction of the Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis* into Hong Kong. *Malacological Review* 18, 107–109.
- Leite, C., Coppola, F., Monteiro, R., Russo, T., Polese, G., Lourenço, M.A., Silva, M.R., Ferreira, P., Soares, A.M., Freitas, R., 2020. Biochemical and histopathological impacts of rutile and anatase (TiO₂ forms) in *Mytilus galloprovincialis*. *Science of the Total Environment* 719, 134886.
- León-Silva, S., Fernández-Luqueño, F., López-Valdez, F., 2016. Silver nanoparticles (AgNP) in the environment: a review of potential risks on human and environmental health. *Water, Air, & Soil Pollution* 227, 1–20.
- Li, F., Jiang, L., Zhang, T., Qiu, J., Lv, D., Su, T., Li, W., Xu, J., Wang, H., 2021. Combined effects of seawater acidification and benzo (a) pyrene on the physiological performance of the marine bloom-forming diatom *Skeletonema costatum*. *Marine Environmental Research* 169, 105396.
- Li, J., Lusher, A.L., Rotchell, J.M., Deudero, S., Turra, A., Bråte, I.L.N., Sun, C., Hossain, M.S., Li, Q., Kolandhasamy, P., 2019. Using mussel as a global bioindicator of coastal microplastic pollution. *Environmental pollution* 244, 522–533.
- Li, J., Yang, D., Li, L., Jabeen, K., Shi, H., 2015. Microplastics in commercial bivalves from China. *Environmental pollution* 207, 190–195.
- Li, J., Zhang, Z., Lang, J., Wang, Jiaying, Zhang, Q., Wang, Jingshu, Han, Q., Yang, J., 2018. Tuning red emission and photocatalytic properties of highly active ZnO nanosheets by Eu addition. *Journal of Luminescence* 204, 573–580.
- Li, P., Li, Juan, Wu, C., Wu, Q., Li, Jian, 2005. Synergistic antibacterial effects of β -lactam antibiotic combined with silver nanoparticles. *Nanotechnology* 16, 1912.
- Li, W., Gu, J., Zhong, Z., Yang, C., Hou, J., Tao, H., Du, J., Li, X., Xu, L., Wan, S., 2020. Carrier transport improvement in ZnO/MgZnO multiple-quantum-well ultraviolet light-emitting diodes by energy band modification on MgZnO barriers. *Optics Communications* 459, 124978.
- Li, Y., Sun, H., Chen, Z., Xu, H., Bu, G., Zheng, H., 2016. Implications of GABAergic neurotransmission in Alzheimer's disease. *Frontiers in aging neuroscience* 8, 31.
- Li, Y., Wang, C., Zou, X., Feng, Z., Yao, Y., Wang, T., Zhang, C., 2019. Occurrence of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in coral reef fish from the South China Sea. *Marine pollution bulletin* 139, 339–345.
- Li, Z., Hu, M., Song, H., Lin, D., Wang, Y., 2021. Toxic effects of nano-TiO₂ in bivalves—A synthesis of meta-analysis and bibliometric analysis. *Journal of Environmental Sciences* 104, 188–203.
- Li, Z., Wang, X., Ma, B., Wang, S., Zheng, D., She, Z., Guo, L., Zhao, Y., Xu, Q., Jin, C., 2017. Long-term impacts of titanium dioxide nanoparticles (TiO₂ NPs) on performance and microbial community of activated sludge. *Bioresource technology* 238, 361–368.
- Lin, L., Xu, M., Mu, H., Wang, W., Sun, J., He, J., Qiu, J.-W., Luan, T., 2019. Quantitative proteomic analysis to understand the mechanisms of zinc oxide nanoparticle toxicity to *Daphnia pulex* (Crustacea: Daphniidae): comparing with bulk zinc oxide and zinc salt. *Environmental science & technology* 53, 5436–5444.
- Lin, S., Ren, A., Wang, L., Santos, C., Huang, Y., Jin, L., Li, Z., Greene, N.D., 2019. Aberrant methylation of Pax3 gene and neural tube defects in association with exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons. *Clinical epigenetics* 11, 1–13.

- Lin, T., Hu, L., Guo, Z., Zhang, G., Yang, Z., 2013. Deposition fluxes and fate of polycyclic aromatic hydrocarbons in the Yangtze River estuarine-inner shelf in the East China Sea. *Global biogeochemical cycles* 27, 77–87.
- Lin, Z., Monteiro-Riviere, N.A., Kannan, R., Riviere, J.E., 2016. A computational framework for interspecies pharmacokinetics, exposure and toxicity assessment of gold nanoparticles. *Nanomedicine* 11, 107–119.
- Liu, J., Li, Y., Arumugam, S., Tudor, J., Beeby, S., 2018. Investigation of low temperature processed titanium dioxide (TiO₂) films for printed dye sensitized solar cells (DSSCs) for large area flexible applications. *Materials Today: Proceedings* 5, 13846–13854.
- Liu, L., Tang, J., Zhong, G., Zhen, X., Pan, X., Tian, C., 2018. Spatial distribution and seasonal variation of four current-use pesticides (CUPS) in air and surface water of the Bohai Sea, China. *Science of the Total Environment* 621, 516–523.
- Livingstone, D.R., 2001. Contaminant-stimulated reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms. *Marine pollution bulletin* 42, 656–666.
- Loewen, P.C., Villanueva, J., Switala, J., Donald, L.J., Ivancich, A., 2015. Unprecedented access of phenolic substrates to the heme active site of a catalase: Substrate binding and peroxidase-like reactivity of *Bacillus pumilus* catalase monitored by X-ray crystallography and EPR spectroscopy. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics* 83, 853–866.
- Lopez-Chaves, C., Soto-Alvaredo, J., Montes-Bayon, M., Bettmer, J., Llopis, J., Sanchez-Gonzalez, C., 2018. Gold nanoparticles: distribution, bioaccumulation and toxicity. In vitro and in vivo studies. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine* 14, 1–12.
- Lowry, G.V., Gregory, K.B., Apte, S.C., Lead, J.R., 2012. Transformations of nanomaterials in the environment.
- Lü, J.-M., Lin, P.H., Yao, Q., Chen, C., 2010. Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: experimental approaches and model systems. *Journal of cellular and molecular medicine* 14, 840–860.
- Lu, P.J., Fang, S.W., Cheng, W.L., Huang, S.C., Huang, M.C., Cheng, H.F., 2018. Characterization of titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles in sunscreen powder by comparing different measurement methods. *Journal of food and drug analysis* 26, 1192–1200.
- Lu, Q., Chen, K., Long, Y., Liang, X., He, B., Yu, L., Ye, J., 2019. Benzo (a) pyrene degradation by cytochrome P450 hydroxylase and the functional metabolism network of *Bacillus thuringiensis*. *Journal of hazardous materials* 366, 329–337.
- Lu, R.X.Z., Radisic, M., 2021. Organ-on-a-chip platforms for evaluation of environmental nanoparticle toxicity. *Bioactive Materials* 6, 2801–2819.
- Lu, S., Liao, Q., Qi, J., Liu, S., Liu, Y., Liang, Q., Zhang, G., Zhang, Y., 2016. The enhanced performance of piezoelectric nanogenerator via suppressing screening effect with Au particles/ZnO nanoarrays Schottky junction. *Nano Research* 9, 372–379.
- Lübeck, J.S., Poulsen, K.G., Knudsen, S.B., Soleimani, M., Furbo, S., Tomasi, G., Christensen, J.H., 2016. Source apportionment of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in sediments from Khuzestan province, Iran. *Marine Pollution Bulletin* 110, 584–590.
- Lundebye, A.-K., Curtis, T.M., Braven, J., Depledge, M.H., 1997. Effects of the organophosphorous pesticide, dimethoate, on cardiac and acetylcholinesterase (AChE) activity in the shore crab *Carcinus maenas*. *Aquatic Toxicology* 40, 23–36.
- Luo, Z., Wang, Z., Li, Q., Pan, Q., Yan, C., Liu, F., 2011. Spatial distribution, electron microscopy analysis of titanium and its correlation to heavy metals: occurrence and sources of titanium nanomaterials in surface sediments from Xiamen Bay, China. *Journal of Environmental Monitoring* 13, 1046–1052.

- Luoma, S.N., Rainbow, P.S., 2005. Why is metal bioaccumulation so variable? *Biodynamics as a unifying concept. Environmental Science & Technology* 39, 1921–1931.
- Lushchak, V.I., 2011. Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. *Aquatic toxicology* 101, 13–30.
- Lushchak, V.I., Matviishyn, T.M., Husak, V.V., Storey, J.M., Storey, K.B., 2018. Pesticide toxicity: a mechanistic approach. *EXCLI journal* 17, 1101.
- MacDonald, G.Z., Hogan, N.S., Köllner, B., Thorpe, K.L., Phalen, L.J., Wagner, B.D., Van Den Heuvel, M.R., 2013. Immunotoxic effects of oil sands-derived naphthenic acids to rainbow trout. *Aquatic toxicology* 126, 95–103.
- Macharia, I., 2015. Pesticides and health in vegetable production in Kenya. *BioMed Research International* 2015.
- Mahboob, S., Ahmad, L., Sultana, S., Alghanim, K., Al-Misned, F., Ahmad, Z., 2014. Fish cholinesterases as biomarkers of sublethal effects of organophosphorus and carbamates in tissues of *Labeo rohita*. *Journal of biochemical and molecular toxicology* 28, 137–142.
- Mahmood, I., Imadi, S.R., Shazadi, K., Gul, A., Hakeem, K.R., 2016. Effects of pesticides on environment, in: *Plant, Soil and Microbes*. Springer, pp. 253–269.
- MAK-Collection Part I: Occupational Toxicants, 2012. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) Vol. 27. 223–241,
- Malato, S., Blanco, J., Cáceres, J., Fernández-Alba, A.R., Agüera, A., Rodríguez, A., 2002. Photocatalytic treatment of water-soluble pesticides by photo-Fenton and TiO₂ using solar energy. *Catalysis Today* 76, 209–220.
- Manduzio, H., Monsinjon, T., Galap, C., Leboulenger, F., Rocher, B., 2004. Seasonal variations in antioxidant defences in blue mussels *Mytilus edulis* collected from a polluted area: major contributions in gills of an inducible isoform of Cu/Zn-superoxide dismutase and of glutathione S-transferase. *Aquatic Toxicology* 70, 83–93.
- Manduzio, H., Monsinjon, T., Rocher, B., Leboulenger, F., Galap, C., 2003. Characterization of an inducible isoform of the Cu/Zn superoxide dismutase in the blue mussel *Mytilus edulis*. *Aquatic toxicology* 64, 73–83.
- Marquardt, C., Fritsch-Decker, S., Al-Rawi, M., Diabaté, S., Weiss, C., 2017. Autophagy induced by silica nanoparticles protects RAW264. 7 macrophages from cell death. *Toxicology* 379, 40–47.
- McAvoy, D.C., Schatowitz, B., Jacob, M., Hauk, A., Eckhoff, W.S., 2002. Measurement of triclosan in wastewater treatment systems. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal* 21, 1323–1329.
- McBain, A.J., Rickard, A.H., Gilbert, P., 2002. Possible implications of biocide accumulation in the environment on the prevalence of bacterial antibiotic resistance. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 29, 326–330.
- McCord, J.M., Fridovich, I., 1969. The utility of superoxide dismutase in studying free radical reactions: I. Radicals generated by the interaction of sulfite, dimethyl sulfoxide, and oxygen. *Journal of Biological Chemistry* 244, 6056–6063.
- McDonald, J.H., Koehn, R.K., 1988. The mussels *Mytilus galloprovincialis* and *M. trossulus* on the Pacific coast of North America. *Marine Biology* 99, 111–118.
- McDonald, J.H., Seed, R., Koehn, R.K., 1991. Allozymes and morphometric characters of three species of *Mytilus* in the Northern and Southern Hemispheres. *Marine Biology* 111, 323–333.
- McEnulty, F.R., Bax, N.J., Schaffelke, B., Campbell, M.L., 2001. A review of rapid response options for the control of ABWMAC listed introduced marine pest species and related taxa

- in Australian waters. Centre for Research on Introduced Marine Pests Technical Report 23, 1–99.
- McMurry, P.H., Shan Woo, K., Weber, R., Chen, D.-R., Pui, D.Y., 2000. Size distributions of 3–10 nm atmospheric particles: Implications for nucleation mechanisms. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences* 358, 2625–2642.
- Meador, J.P., Sommers, F.C., Ylitalo, G.M., Sloan, C.A., 2006. Altered growth and related physiological responses in juvenile Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) from dietary exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 63, 2364–2376.
- Medina-Pérez, G., Fernández-Luqueño, F., Campos-Montiel, R.G., Sánchez-López, K.B., Afanador-Barajas, L.N., Prince, L., 2019. Nanotechnology in crop protection: Status and future trends, in: *Nano-Biopesticides Today and Future Perspectives*. Elsevier, pp. 17–45.
- Meesters, J.A., Veltman, K., Hendriks, A.J., van de Meent, D., 2013. Environmental exposure assessment of engineered nanoparticles: why REACH needs adjustment. *Integrated environmental assessment and management* 9, e15–e26.
- Mensah, P.K., Palmer, C.G., Muller, W.J., 2014. Lethal and sublethal effects of pesticides on aquatic organisms: the case of a freshwater shrimp exposure to Roundup®. *Pesticides: Toxic Aspects*, InTech Publications, Rijeka, Croatia 163–185.
- Merdzhanova, A., Dobрева, D.A., Georgieva, S., 2016. Nutritional evaluation of aquaculture mussels (*M. galloprovincialis*) from the Black Sea, Bulgaria. *Ovidius University Annals of Chemistry* 27, 1–7.
- Metz, J.G., Pakrasi, H.B., Seibert, M., Arntzer, C.J., 1986. Evidence for a dual function of the herbicide-binding D1 protein in photosystem II. *FEBS letters* 205, 269–274.
- Mezni, A., Dammak, T., Fkiri, A., Mlayah, A., Abid, Y., Smiri, L.S., 2014a. Photochemistry at the surface of gold nanoprisms from surface-enhanced raman scattering blinking. *The Journal of Physical Chemistry C* 118, 17956–17967.
- Mezni, A., Mlayah, A., Serin, V., Smiri, L.S., 2014b. Synthesis of hybrid AueZnO nanoparticles using a one pot polyol process. *Mater Chem Phys* 30, 1–8.
- Mezni, A., Saber, N.B., Ibrahim, M.M., El-Kemary, M., Aldalbahi, A., Feng, P., Smiri, L.S., Altalhi, T., 2017. Facile synthesis of highly thermally stable TiO₂ photocatalysts. *New Journal of Chemistry* 41, 5021–5027.
- Mezni, A., Saber, N.B., Ibrahim, M.M., Hamdaoui, N., Alrooqi, A., Mlayah, A., 2019. Photocatalytic activity of hybrid gold-titania nanocomposites. *Materials chemistry and physics* 221, 118–124.
- Mihranyan, A., Ferraz, N., Strømme, M., 2012. Current status and future prospects of nanotechnology in cosmetics. *Progress in materials science* 57, 875–910.
- Mishra, Y.K., Modi, G., Cretu, V., Postica, V., Lupan, O., Reimer, T., Paulowicz, I., Hrkac, V., Benecke, W., Kienle, L., 2015. Direct growth of freestanding ZnO tetrapod networks for multifunctional applications in photocatalysis, UV photodetection, and gas sensing. *ACS applied materials & interfaces* 7, 14303–14316.
- Mitrano, D.M., Limpiteprakan, P., Babel, S., Nowack, B., 2016. Durability of nano-enhanced textiles through the life cycle: releases from landfilling after washing. *Environmental Science: Nano* 3, 375–387.
- Mlouka, R., Cachot, J., Boukadida, K., Clérandeau, C., Gourves, P.-Y., Banni, M., 2019. Compared responses to copper and increased temperatures of hybrid and pure offspring of two mussel species. *Science of the Total Environment* 685, 795–805.

- Moatamed, E.R., Hussein, A.A., El-Desoky, M.M., Khayat, Z.E., 2019. Comparative study of zinc oxide nanoparticles and its bulk form on liver function of Wistar rat. *Toxicology and Industrial Health* 35, 627–637.
- Mohammed, A.M., Huovinen, M., Vähäkangas, K.H., 2020. Toxicity of diuron metabolites in human cells. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 78, 103409.
- Molnár, Á., Rónavári, A., Béltéky, P., Sz\Holl\Hosi, R., Valyon, E., Oláh, D., Rázga, Z., Ördög, A., Kónya, Z., Kolbert, Z., 2020. ZnO nanoparticles induce cell wall remodeling and modify ROS/RNS signalling in roots of Brassica seedlings. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 206, 111158.
- Moore, M.N., 1991. Lysosomal changes in the response of molluscan hepatopancreatic cells to extracellular signals. *The Histochemical Journal* 23, 495–500.
- Moradnia, F., Fardood, S.T., Ramazani, A., Min, B., Joo, S.W., Varma, R.S., 2021. Magnetic MgO. 5ZnO. 5FeMnO4 nanoparticles: green sol-gel synthesis, characterization, and photocatalytic applications. *Journal of Cleaner Production* 288, 125632.
- Moretto, J.A.S., Furlan, J.P.R., Fernandes, A.F.T., Bauermeister, A., Lopes, N.P., Stehling, E.G., 2019. Alternative biodegradation pathway of the herbicide diuron. *International Biodeterioration & Biodegradation* 143, 104716.
- Mostafalou, S., Abdollahi, M., 2013. Pesticides and human chronic diseases: evidences, mechanisms, and perspectives. *Toxicology and applied pharmacology* 268, 157–177.
- Movafeghi, A., Khataee, A., Abedi, M., Tarrahi, R., Dadpour, M., Vafaei, F., 2018. Effects of TiO₂ nanoparticles on the aquatic plant Spirodela polyrrhiza: Evaluation of growth parameters, pigment contents and antioxidant enzyme activities. *Journal of Environmental Sciences* 64, 130–138.
- Moy, F.E., Walday, M., 1996. Accumulation and depuration of organic micro-pollutants in marine hard bottom organisms. *Marine pollution bulletin* 33, 56–63.
- Muhammad, Z., Inayat, N., Majeed, A., 2020. Application of nanoparticles in agriculture as fertilizers and pesticides: challenges and opportunities, in: *New Frontiers in Stress Management for Durable Agriculture*. Springer, pp. 281–293.
- Muir, D.C., Teixeira, C., Wania, F., 2004. Empirical and modeling evidence of regional atmospheric transport of current-use pesticides. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal* 23, 2421–2432.
- Murali, A., Sohn, H.Y., 2018. Photocatalytic properties of plasma-synthesized zinc oxide and tin-doped zinc oxide (TZO) nanopowders and their applications as transparent conducting films. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics* 29, 14945–14959.
- Murray, A.P., Richardson, B.J., Gibbs, C.F., 1991. Bioconcentration factors for petroleum hydrocarbons, PAHs, LABs and biogenic hydrocarbons in the blue mussel. *Marine Pollution Bulletin* 22, 595–603.
- Naasz, S., Altenburger, R., Kühnel, D., 2018. Environmental mixtures of nanomaterials and chemicals: The Trojan-horse phenomenon and its relevance for ecotoxicity. *Science of the Total Environment* 635, 1170–1181.
- Nabi, G., Raza, W., Tahir, M.B., 2020. Green synthesis of TiO₂ nanoparticle using cinnamon powder extract and the study of optical properties. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials* 30, 1425–1429.
- Naik, E.I., Naik, H.B., Swamy, B.K., Viswanath, R., Gowda, I.S., Prabhakara, M.C., Chetankumar, K., 2021. Influence of Cu doping on ZnO nanoparticles for improved structural, optical, electrochemical properties and their applications in efficient detection of latent fingerprints. *Chemical Data Collections* 33, 100671.

- Naseer, M., Aslam, U., Khalid, B., Chen, B., 2020. Green route to synthesize Zinc Oxide Nanoparticles using leaf extracts of *Cassia fistula* and *Melia azadarach* and their antibacterial potential. *Scientific Reports* 10, 1–10.
- Navarro, E., Baun, A., Behra, R., Hartmann, N.B., Filser, J., Miao, A.-J., Quigg, A., Santschi, P.H., Sigg, L., 2008. Environmental behavior and ecotoxicity of engineered nanoparticles to algae, plants, and fungi. *Ecotoxicology* 17, 372–386.
- Nebeker, A.V., Schuytema, G.S., 1998. Chronic effects of the herbicide diuron on freshwater cladocerans, amphipods, midges, minnows, worms, and snails. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 35, 441–446.
- Neff, J.M., Stout, S.A., Gunster, D.G., 2005. Ecological risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments: identifying sources and ecological hazard. *Integrated Environmental Assessment and Management: An International Journal* 1, 22–33.
- Negri, A.P., Flores, F., Mercurio, P., Mueller, J.F., Collier, C.J., 2015. Lethal and sub-lethal chronic effects of the herbicide diuron on seagrass. *Aquatic Toxicology* 165, 73–83.
- Nguyen, T.C., Loganathan, P., Nguyen, T.V., Vigneswaran, S., Kandasamy, J., Slee, D., Stevenson, G., Naidu, R., 2014. Polycyclic aromatic hydrocarbons in road-deposited sediments, water sediments, and soils in Sydney, Australia: comparisons of concentration distribution, sources and potential toxicity. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 104, 339–348.
- Ni, J., Wu, Z., Stoka, V., Meng, J., Hayashi, Y., Peters, C., Qing, H., Turk, V., Nakanishi, H., 2019. Increased expression and altered subcellular distribution of cathepsin B in microglia induce cognitive impairment through oxidative stress and inflammatory response in mice. *Aging cell* 18, e12856.
- Niedernhofer, L.J., Daniels, J.S., Rouzer, C.A., Greene, R.E., Marnett, L.J., 2003. Malondialdehyde, a product of lipid peroxidation, is mutagenic in human cells. *Journal of Biological Chemistry* 278, 31426–31433.
- Noël, J.-M., Vieira, M.M., Brasiliense, V., Lemineur, J.-F., Combellas, C., Kanoufi, F., 2020. Effect of the driving force on nanoparticles growth and shape: an opto-electrochemical study. *Nanoscale* 12, 3227–3235.
- Nunes, B., Carvalho, F., Guilhermino, L., 2005. Characterization and use of the total head soluble cholinesterases from mosquitofish (*Gambusia holbrooki*) for screening of anticholinesterase activity. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* 20, 369–376.
- Nunes, M.E., Müller, T.E., Murussi, C., do Amaral, A.M., Gomes, J.L., Marins, A.T., Leitemperger, J., Rodrigues, C.C., Fiuza, T.L., Costa, M.D., 2018. Oxidative effects of the acute exposure to a pesticide mixture of cypermethrin and chlorpyrifos on carp and zebrafish—a comparative study. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* 206, 48–53.
- Nwaichi, E.O., Ntorgbo, S.A., 2016. Assessment of PAHs levels in some fish and seafood from different coastal waters in the Niger Delta. *Toxicology reports* 3, 167–172.
- Nyarko, E., Klubi, B.E., 2011. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) levels in two commercially important fish species from the coastal waters of Ghana and their carcinogenic health risks. *West African Journal of Applied Ecology* 19.
- Oberdörster, E., 2004. Manufactured nanomaterials (fullerenes, C60) induce oxidative stress in the brain of juvenile largemouth bass. *Environmental health perspectives* 112, 1058–1062.
- Okamura, H., Aoyama, I., Ono, Y., Nishida, T., 2003. Antifouling herbicides in the coastal waters of western Japan. *Marine Pollution Bulletin* 47, 59–67.

- Orbea, A., Ortiz-Zarragoitia, M., Solé, M., Porte, C., Cajaraville, M.P., 2002. Antioxidant enzymes and peroxisome proliferation in relation to contaminant body burdens of PAHs and PCBs in bivalve molluscs, crabs and fish from the Urdaibai and Plentzia estuaries (Bay of Biscay). *Aquatic toxicology* 58, 75–98.
- Ortiz-Hernández, M.L., Sánchez-Salinas, E., Dantán-González, E., Castrejón-Godínez, M.L., 2013. Pesticide biodegradation: mechanisms, genetics and strategies to enhance the process. *Biodegradation-life of Science* 251–287.
- Orvos, D.R., Versteeg, D.J., Inauen, J., Capdevielle, M., Rothenstein, A., Cunningham, V., 2002. Aquatic toxicity of triclosan. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal* 21, 1338–1349.
- Ostroumov, S., 2004. A new insight into ecosystem services was provided in the article titled: On the biotic self-purification of aquatic ecosystems: elements of the theory. Article., in: *Doklady Biological Sciences*. pp. 206–211.
- Othman, N., Hussain, N., Abdul-Talib, S., 2010. Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbon by pure strain isolated from municipal sludge: synergistic and cometabolism phenomena, in: *International Conference on Environment*. pp. 86–90.
- Otles, S., Yalcin, B., 2016. Food chemistry and nanoscience. *Journal of Nanomaterials & Molecular Nanotechnology* 2013.
- Ouarez, L., Chelouche, A., Touam, T., Mahiou, R., Djouadi, D., Potdevin, A., 2018. Au-doped ZnO sol-gel thin films: an experimental investigation on physical and photoluminescence properties. *Journal of Luminescence* 203, 222–229.
- Pacheco, A., Martins, A., Guilhermino, L., 2018. Toxicological interactions induced by chronic exposure to gold nanoparticles and microplastics mixtures in *Daphnia magna*. *Science of the total environment* 628, 474–483.
- Page, A., Liu, S., Gunnell, D., Astell-Burt, T., Feng, X., Wang, L., Zhou, M., 2017. Suicide by pesticide poisoning remains a priority for suicide prevention in China: analysis of national mortality trends 2006–2013. *Journal of affective disorders* 208, 418–423.
- Palmberg, C., Dernis, H., Miguet, C., 2009. Nanotechnology: an overview based on indicators and statistics.
- Pampanin, D.M., Camus, L., Gomiero, A., Marangon, I., Volpato, E., Nasci, C., 2005. Susceptibility to oxidative stress of mussels (*Mytilus galloprovincialis*) in the Venice Lagoon (Italy). *Marine Pollution Bulletin* 50, 1548–1557.
- Pan, L., Ren, J., Liu, J., 2005. Effects of benzo (k) fluoranthene exposure on the biomarkers of scallop *Chlamys farreri*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* 141, 248–256.
- Panzarini, E., Mariano, S., Carata, E., Mura, F., Rossi, M., Dini, L., 2018. Intracellular transport of silver and gold nanoparticles and biological responses: An update. *International journal of molecular sciences* 19, 1305.
- Peng, C., Zhang, W., Gao, H., Li, Y., Tong, X., Li, K., Zhu, X., Wang, Y., Chen, Y., 2017. Behavior and potential impacts of metal-based engineered nanoparticles in aquatic environments. *Nanomaterials* 7, 21.
- Pereira, B.V., Silva-Zacarin, E.C., Costa, M.J., Dos Santos, A.C.A., do Carmo, J.B., Nunes, B., 2019. Cholinesterases characterization of three tropical fish species, and their sensitivity towards specific contaminants. *Ecotoxicology and environmental safety* 173, 482–493.
- Perron, M.M., Ho, K.T., Cantwell, M.G., Burgess, R.M., Pelletier, M.C., 2012. Effects of triclosan on marine benthic and epibenthic organisms. *Environmental toxicology and chemistry* 31, 1861–1866.

- Phillips, P.J., Bode, R.W., 2004. Pesticides in surface water runoff in south-eastern New York State, USA: seasonal and stormflow effects on concentrations. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science* 60, 531–543.
- Piazza, R.S., Trevisan, R., Flores-Nunes, F., Toledo-Silva, G., Wendt, N., Mattos, J.J., Lima, D., Taniguchi, S., Sasaki, S.T., Mello, Á.C., 2016. Exposure to phenanthrene and depuration: changes on gene transcription, enzymatic activity and lipid peroxidation in gill of scallops *Nodipecten nodosus*. *Aquatic Toxicology* 177, 146–155.
- Picó, Y., Alvarez-Ruiz, R., Alfarhan, A.H., El-Sheikh, M.A., Alshahrani, H.O., Barceló, D., 2020. Pharmaceuticals, pesticides, personal care products and microplastics contamination assessment of Al-Hassa irrigation network (Saudi Arabia) and its shallow lakes. *Science of The Total Environment* 701, 135021.
- Piggott, J.J., Lange, K., Townsend, C.R., Matthaei, C.D., 2012. *Multiple Stressors in Agricultural Streams: A Mesocosm Study of Interactions among Raised*.
- Pisa, L.W., Amaral-Rogers, V., Belzunces, L.P., Bonmatin, J.-M., Downs, C.A., Goulson, D., Kreutzweiser, D.P., Krupke, C., Liess, M., McField, M., 2015. Effects of neonicotinoids and fipronil on non-target invertebrates. *Environmental Science and Pollution Research* 22, 68–102.
- Pokhrel, B., Gong, P., Wang, X., Chen, M., Wang, C., Gao, S., 2018. Distribution, sources, and air–soil exchange of OCPs, PCBs and PAHs in urban soils of Nepal. *Chemosphere* 200, 532–541.
- Poornaprakash, B., Chalapathi, U., Sekhar, M.C., Rajendar, V., Vattikuti, S.P., Reddy, M.S.P., Suh, Y., Park, S.-H., 2018. Effect of Eu³⁺ on the morphology, structural, optical, magnetic, and photocatalytic properties of ZnO nanoparticles. *Superlattices and Microstructures* 123, 154–163.
- Pope, C.N., Brimijoin, S., 2018. Cholinesterases and the fine line between poison and remedy. *Biochemical pharmacology* 153, 205–216.
- Porte, C., Sole, M., Albaiges, J., Livingstone, D.R., 1991. Responses of mixed-function oxygenase and antioxidant enzyme system of *Mytilus* sp. to organic pollution. *Comparative biochemistry and physiology. C, Comparative pharmacology and toxicology* 100, 183–186.
- Prasad, N., Karthikeyan, B., 2017. Cu-doping and annealing effect on the optical properties and enhanced photocatalytic activity of ZnO nanoparticles. *Vacuum* 146, 501–508.
- Prasad, N., VM M, S., Swaminathan, H., Thangaraj, P., Ramalinga Viswanathan, M., Balasubramanian, K., 2016. Microstress, strain, band gap tuning and photocatalytic properties of thermally annealed and Cu-doped ZnO nanoparticles. *Applied Physics A* 122, 1–12.
- Pretty, J., Bharucha, Z.P., 2015. Integrated pest management for sustainable intensification of agriculture in Asia and Africa. *Insects* 6, 152–182.
- Pullagurala, V.L.R., Rawat, S., Adisa, I.O., Hernandez-Viezcas, J.A., Peralta-Videa, J.R., Gardea-Torresdey, J.L., 2018. Plant uptake and translocation of contaminants of emerging concern in soil. *Science of the Total Environment* 636, 1585–1596.
- Qi, Y.Z., Quan, H.H., Xu, W.X., Li, Q.R., Zhou, H., 2020. Effect of benzo (a) pyrene on dopaminergic neurons and α -synuclein in brain and its mechanism involved. *Beijing da xue yi xue ban= Journal of Peking University. Health Sciences* 52, 438–443.
- Qu, C., Albanese, S., Lima, A., Hope, D., Pond, P., Fortelli, A., Romano, N., Cerino, P., Pizzolante, A., De Vivo, B., 2019. The occurrence of OCPs, PCBs, and PAHs in the soil, air, and bulk deposition of the Naples metropolitan area, southern Italy: implications for sources and environmental processes. *Environment international* 124, 89–97.

- Rai, M., Gupta, I., Ingle, A.P., Biswas, J.K., Sinitsyna, O.V., 2018. Nanomaterials: What Are They, Why They Cause Ecotoxicity, and How This Can Be Dealt With?, in: *Nanomaterials: Ecotoxicity, Safety, and Public Perception*. Springer, pp. 3–18.
- Rajput, V.D., Minkina, T.M., Behal, A., Sushkova, S.N., Mandzhieva, S., Singh, R., Gorovtsov, A., Tsitsuashvili, V.S., Purvis, W.O., Ghazaryan, K.A., 2018. Effects of zinc-oxide nanoparticles on soil, plants, animals and soil organisms: A review. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management* 9, 76–84.
- Rand, G.M., 1995. *Fundamentals of aquatic toxicology: effects, environmental fate and risk assessment*. CRC press.
- Ranjan, A., Rajput, V.D., Minkina, T., Bauer, T., Chauhan, A., Jindal, T., 2021. Nanoparticles induced stress and toxicity in plants. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management* 15, 100457.
- Raschke, A.M., Burger, A.E.C., 1997. Risk assessment as a management tool used to assess the effect of pesticide use in an irrigation system, situated in a semi-desert region. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 32, 42–49.
- Ratchford, D.C., Dunkelberger, A.D., Vurgaftman, I., Owrutsky, J.C., Pehrsson, P.E., 2017. Quantification of efficient plasmonic hot-electron injection in gold nanoparticle–TiO₂ films. *Nano letters* 17, 6047–6055.
- Rawson, P.D., Hilbish, T.J., 1995. Evolutionary relationships among the male and female mitochondrial DNA lineages in the *Mytilus edulis* species complex. *Molecular Biology and Evolution* 12, 893–901.
- Ray, A., Gautam, A., Das, Santanu, Pal, K., Das, Subhadeep, Karmakar, P., Ray, M., Ray, S., 2020. Effects of copper oxide nanoparticle on gill filtration rate, respiration rate, hemocyte associated immune parameters and oxidative status of an Indian freshwater mussel. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* 237, 108855.
- Regoli, F., Giuliani, M.E., 2014. Oxidative pathways of chemical toxicity and oxidative stress biomarkers in marine organisms. *Marine environmental research* 93, 106–117.
- Reimer, T., Paulowicz, I., Roder, R., Kaps, S., Lupan, O., Chemnitz, S., Benecke, W., Ronning, C., Adelung, R., Mishra, Y.K., 2014. Single step integration of ZnO nano- and microneedles in Si trenches by novel flame transport approach: whispering gallery modes and photocatalytic properties. *ACS applied materials & interfaces* 6, 7806–7815.
- Reiss, R., Mackay, N., Habig, C., Griffin, J., 2002. An ecological risk assessment for triclosan in lotic systems following discharge from wastewater treatment plants in the United States. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal* 21, 2483–2492.
- Remédios, C., Rosário, F., Bastos, V., 2012. Environmental nanoparticles interactions with plants: morphological, physiological, and genotoxic aspects. *Journal of Botany* 2012.
- Renault, S., Baudrimont, M., Mesmer-Dudons, N., Gonzalez, P.M., Mornet, S., Brisson, A., 2008. Impacts of gold nanoparticle exposure on two freshwater species: a phytoplanktonic alga (*Scenedesmus subspicatus*) and a benthic bivalve (*Corbicula fluminea*). *Gold bulletin* 41, 116–126.
- Rengarajan, T., Rajendran, Peramaiyan, Nandakumar, N., Lokeshkumar, B., Rajendran, Palaniswami, Nishigaki, I., 2015. Exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons with special focus on cancer. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 5, 182–189.
- Ricart, M., Guasch, H., Alberch, M., Barceló, D., Bonnineau, C., Geiszinger, A., Ferrer, J., Ricciardi, F., Romani, A.M., Morin, S., 2010. Triclosan persistence through wastewater treatment plants and its potential toxic effects on river biofilms. *Aquatic Toxicology* 100,

- 346–353.
- Ricciardi, K.L., Poynton, H.C., Duphily, B.J., Blalock, B.J., Robinson, W.E., 2016. Bioconcentration and depuration of ¹⁴C-labeled 17 α -ethinyl estradiol and 4-nonylphenol in individual organs of the marine bivalve *Mytilus edulis* L. *Environmental Toxicology and Chemistry* 35, 863–873.
- Riisgård, H.U., Larsen, P.S., 2015. Physiologically regulated valve-closure makes mussels long-term starvation survivors: test of hypothesis. *Journal of Molluscan Studies* 81, 303–307.
- Rocha, A.C., Palma, C., 2019. Source identification of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil sediments: Application of different methods. *Science of the Total Environment* 652, 1077–1089.
- Röder, J., Dickmeis, C., Fischer, R., Commandeur, U., 2018. Systemic infection of *Nicotiana benthamiana* with Potato virus X nanoparticles presenting a fluorescent iLOV polypeptide fused directly to the coat protein. *BioMed Research International* 2018.
- Rodricks, J.V., Swenberg, J.A., Borzelleca, J.F., Maronpot, R.R., Shipp, A.M., 2010. Triclosan: a critical review of the experimental data and development of margins of safety for consumer products. *Critical reviews in toxicology* 40, 422–484.
- Rodriguez-Garraus, A., Azqueta, A., Vettorazzi, A., López de Cerain, A., 2020. Genotoxicity of silver nanoparticles. *Nanomaterials* 10: 251.
- Roma, J., Matos, A.R., Vinagre, C., Duarte, B., 2020. Engineered metal nanoparticles in the marine environment: A review of the effects on marine fauna. *Marine Environmental Research* 161, 105110.
- Roman, P., Cardona, D., Sempere, L., Carvajal, F., 2019. Microbiota and organophosphates. *Neurotoxicology* 75, 200–208.
- Romero-Ruiz, A., Amezcua, O., Rodríguez-Ortega, M.J., Muñoz, J.L., Alhama, J., Rodríguez-Ariza, A., Gómez-Ariza, J.L., López-Barea, J., 2003. Oxidative stress biomarkers in bivalves transplanted to the Guadalquivir estuary after Aznalcollar spill. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal* 22, 92–100.
- Rosi, H., Kalyanasundaram, S., 2018. Synthesis, characterization, structural and optical properties of titanium-dioxide nanoparticles using *Glycosmis cochinchinensis* Leaf extract and its photocatalytic evaluation and antimicrobial properties. *World News of Natural Sciences* 17.
- Sabaliunas, D., Webb, S.F., Hauk, A., Jacob, M., Eckhoff, W.S., 2003. Environmental fate of triclosan in the River Aire Basin, UK. *Water research* 37, 3145–3154.
- Saglio, P., Olsén, K.H., Bretaud, S., 2001. Behavioral and olfactory responses to prochloraz, bentazone, and nicosulfuron-contaminated flows in goldfish. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 41, 192–200.
- Saglio, P., Trijasse, S., 1998. Behavioral responses to atrazine and diuron in goldfish. *Archives of environmental contamination and toxicology* 35, 484–491.
- Saidani, W., Sellami, B., Khazri, A., Mezni, A., Dellali, M., Joubert, O., Sheehan, D., Beyrem, H., 2019. Metal accumulation, biochemical and behavioral responses on the Mediterranean clams *Ruditapes decussatus* exposed to two photocatalyst nanocomposites (TiO₂ NPs and AuTiO₂NPs). *Aquatic toxicology* 208, 71–79.
- Sajid, M., Ilyas, M., Basheer, C., Tariq, M., Daud, M., Baig, N., Shehzad, F., 2015. Impact of nanoparticles on human and environment: review of toxicity factors, exposures, control strategies, and future prospects. *Environmental Science and Pollution Research* 22, 4122–4143.
- Sakshi, Singh, S.K., Haritash, A.K., 2020. Evolutionary relationship of polycyclic aromatic

- hydrocarbons degrading bacteria with strains isolated from petroleum contaminated soil based on 16S rRNA diversity. *Polycyclic Aromatic Compounds* 1–14.
- Sanchez-Hernandez, J.C., Walker, C.H., 2000. In vitro and in vivo cholinesterase inhibition in lacertides by phosphonate-and phosphorothioate-type organophosphates. *Pesticide Biochemistry and physiology* 67, 1–12.
- Sandrini, J.Z., Rola, R.C., Lopes, F.M., Buffon, H.F., Freitas, M.M., Martins, C. de M.G., da Rosa, C.E., 2013. Effects of glyphosate on cholinesterase activity of the mussel *Perna perna* and the fish *Danio rerio* and *Jenynsia multidentata*: in vitro studies. *Aquatic Toxicology* 130, 171–173.
- Santhoshkumar, J., Kumar, S.V., Rajeshkumar, S., 2017. Synthesis of zinc oxide nanoparticles using plant leaf extract against urinary tract infection pathogen. *Resource-Efficient Technologies* 3, 459–465.
- Santonicola, S., De Felice, A., Cobellis, L., Passariello, N., Peluso, A., Murru, N., Ferrante, M.C., Mercogliano, R., 2017. Comparative study on the occurrence of polycyclic aromatic hydrocarbons in breast milk and infant formula and risk assessment. *Chemosphere* 175, 383–390.
- Santos, L.H., Freixa, A., Insa, S., Acuña, V., Sanchís, J., Farré, M., Sabater, S., Barceló, D., Rodríguez-Mozaz, S., 2019. Impact of fullerenes in the bioaccumulation and biotransformation of venlafaxine, diuron and triclosan in river biofilms. *Environmental research* 169, 377–386.
- Saravanan, R., Gracia, F., Stephen, A., 2017. Basic principles, mechanism, and challenges of photocatalysis, in: *Nanocomposites for Visible Light-Induced Photocatalysis*. Springer, pp. 19–40.
- Sarkar, S., Sarkar, R., 2021. Synthesis, characterization and tribological study of zinc oxide nanoparticles. *Materials Today: Proceedings* 44, 3606–3612.
- Sau, T.K., Rogach, A.L., Jäckel, F., Klar, T.A., Feldmann, J., 2010. Properties and applications of colloidal nonspherical noble metal nanoparticles. *Advanced Materials* 22, 1805–1825.
- Sawulski, P., Clipson, N., Doyle, E., 2014. Effects of polycyclic aromatic hydrocarbons on microbial community structure and PAH ring hydroxylating dioxygenase gene abundance in soil. *Biodegradation* 25, 835–847.
- Saxena, P.N., Chauhan, L.K.S., Chandra, S., Gupta, S.K., 2004. Genotoxic effects of diuron contaminated soil on the root meristem cells of *Allium sativum*: a possible mechanism of chromosome damage. *Toxicology mechanisms and methods* 14, 281–286.
- Sayed, A.E.-D.H., Abd-Elkareem, M., Abou Khalil, N.S., 2019. Immunotoxic effects of 4-nonylphenol on *Clarias gariepinus*: cytopathological changes in hepatic melanomacrophages. *Aquatic Toxicology* 207, 83–90.
- Schäfer, R.B., Pettigrove, V., Rose, G., Allinson, G., Wightwick, A., Von Der Ohe, P.C., Shimeta, J., Kühne, R., Kefford, B.J., 2011. Effects of pesticides monitored with three sampling methods in 24 sites on macroinvertebrates and microorganisms. *Environmental science & technology* 45, 1665–1672.
- Schäfer, R.B., von der Ohe, P.C., Rasmussen, J., Kefford, B.J., Beketov, M.A., Schulz, R., Liess, M., 2012. Thresholds for the effects of pesticides on invertebrate communities and leaf breakdown in stream ecosystems. *Environmental science & technology* 46, 5134–5142.
- Schallreuter, K.U., Elwary, S.M., Gibbons, N.C., Rokos, H., Wood, J.M., 2004. Activation/deactivation of acetylcholinesterase by H₂O₂: more evidence for oxidative stress in vitiligo. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 315, 502–508.
- Schallreuter, K.U., Gibbons, N.C., Elwary, S.M., Parkin, S.M., Wood, J.M., 2007. Calcium-

- activated butyrylcholinesterase in human skin protects acetylcholinesterase against suicide inhibition by neurotoxic organophosphates. *Biochemical and biophysical research communications* 355, 1069–1074.
- Schallreuter, K.U., Gibbons, N.C., Zothner, C., Elwary, S.M., Rokos, H., Wood, J.M., 2006. Butyrylcholinesterase is present in the human epidermis and is regulated by H₂O₂: more evidence for oxidative stress in vitiligo. *Biochemical and biophysical research communications* 349, 931–938.
- Schmid, G., Kreyling, W.G., Simon, U., 2017. Toxic effects and biodistribution of ultrasmall gold nanoparticles. *Archives of toxicology* 91, 3011–3037.
- Schoeny, R., Cody, T., Warshawsky, D., Radike, M., 1988. Metabolism of mutagenic polycyclic aromatic hydrocarbons by photosynthetic algal species. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 197, 289–302.
- Schrand, A.M., Rahman, M.F., Hussain, S.M., Schlager, J.J., Smith, D.A., Syed, A.F., 2010. Metal-based nanoparticles and their toxicity assessment. *Wiley interdisciplinary reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology* 2, 544–568.
- Schuytema, G.S., Nebeker, A.V., 1998. Comparative toxicity of diuron on survival and growth of Pacific treefrog, bullfrog, red-legged frog, and African clawed frog embryos and tadpoles. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 34, 370–376.
- Schweizer, H.P., 2001a. Triclosan: a widely used biocide and its link to antibiotics. *FEMS microbiology letters* 202, 1–7.
- Seger, B., Kamat, P.V., 2009. Fuel cell geared in reverse: photocatalytic hydrogen production using a TiO₂/Nafion/Pt membrane assembly with no applied bias. *The Journal of Physical Chemistry C* 113, 18946–18952.
- Sellami, B., Khazri, A., Louati, H., Dellali, M., Driss, M.R., Aïssa, P., Mahmoudi, E., Hamouda, B., Coelho, A.V., Sheehan, D., 2015. Effects of anthracene on filtration rates, antioxidant defense system, and redox proteomics in the Mediterranean clam *Ruditapes decussatus* (Mollusca: Bivalvia). *Environmental Science and Pollution Research* 22, 10956–10968.
- Sellami, B., Mezni, A., Khazri, A., Bouzidi, I., Saidani, W., Sheehan, D., Beyrem, H., 2017. Toxicity assessment of ZnO-decorated Au nanoparticles in the Mediterranean clam *Ruditapes decussatus*. *Aquatic Toxicology* 188, 10–19.
- Semenikhina, O.Y., Kolotukhina, N.K., Evseev, G.A., 2008. Morphology of larvae of the family Mytilidae (Bivalvia) from the north-western part of the Sea of Japan. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 88, 331–339.
- Sendra, M., Moreno, I., Blasco, J., 2019. Toxicity of metal and metal oxide engineered nanoparticles to phytoplankton. *Ecotoxicology of Nanoparticles in Aquatic Systems*. CRC, Boca Raton, FL, USA 1–37.
- Serafim, A., Lopes, B., Cravo, A., Gomes, T., Sousa, V., Bebianno, M.J., 2011. A multi-biomarker approach in cross-transplanted mussels *Mytilus galloprovincialis*. *Ecotoxicology* 20, 1959–1974.
- Serpone, N., Dondi, D., Albini, A., 2007. Inorganic and organic UV filters: Their role and efficacy in sunscreens and suncare products. *Inorganica chimica acta* 360, 794–802.
- Shamsollahi, Z., Partovinia, A., 2019. Recent advances on pollutants removal by rice husk as a bio-based adsorbent: A critical review. *Journal of environmental management* 246, 314–323.
- Sharma, A., Kumar, V., Shahzad, B., Tanveer, M., Sidhu, G.P.S., Handa, N., Kohli, S.K., Yadav, P., Bali, A.S., Parihar, R.D., 2019. Worldwide pesticide usage and its impacts on ecosystem. *SN Applied Sciences* 1, 1–16.
- Shaw, M., Furnas, M.J., Fabricius, K., Haynes, D., Carter, S., Eaglesham, G., Mueller, J.F., 2010.

- Monitoring pesticides in the great barrier reef. *Marine pollution bulletin* 60, 113–122.
- Shen, X., Meng, H., Shen, Y., Ding, J., Zhou, H., Cong, H., Li, L., 2022. A comprehensive assessment on bioavailability, leaching characteristics and potential risk of polycyclic aromatic hydrocarbons in biochars produced by a continuous pyrolysis system. *Chemosphere* 287, 132116.
- Sheng, L., Wang, L., Su, M., Zhao, X., Hu, R., Yu, X., Hong, J., Liu, D., Xu, B., Zhu, Y., 2016. Mechanism of TiO₂ nanoparticle-induced neurotoxicity in zebrafish (*Danio rerio*). *Environmental toxicology* 31, 163–175.
- Shi, J., Zheng, G.J.-S., Wong, M.-H., Liang, H., Li, Y., Wu, Y., Li, P., Liu, W., 2016. Health risks of polycyclic aromatic hydrocarbons via fish consumption in Haimen bay (China), downstream of an e-waste recycling site (Guiyu). *Environmental research* 147, 233–240.
- Shimada, T., Inoue, K., Suzuki, Y., Kawai, T., Azuma, E., Nakajima, T., Shindo, M., Kurose, K., Sugie, A., Yamagishi, Y., 2002. Arylhydrocarbon receptor-dependent induction of liver and lung cytochromes P450 1A1, 1A2, and 1B1 by polycyclic aromatic hydrocarbons and polychlorinated biphenyls in genetically engineered C57BL/6J mice. *Carcinogenesis* 23, 1199–1207.
- Sigmund, G., Jiang, C., Hofmann, T., Chen, W., 2018. Environmental transformation of natural and engineered carbon nanoparticles and implications for the fate of organic contaminants. *Environmental Science: Nano* 5, 2500–2518.
- Simoneit, B.R., 2002. Biomass burning—a review of organic tracers for smoke from incomplete combustion. *Applied Geochemistry* 17, 129–162.
- Singer, H., Müller, S., Tixier, C., Pillonel, L., 2002. Triclosan: occurrence and fate of a widely used biocide in the aquatic environment: field measurements in wastewater treatment plants, surface waters, and lake sediments. *Environmental science & technology* 36, 4998–5004.
- Singh, B., Mandal, K., 2013. Environmental impact of pesticides belonging to newer chemistry. *Integrated pest management* 152–190.
- Singh, P., Nanda, A., 2014. Enhanced sun protection of nano-sized metal oxide particles over conventional metal oxide particles: An in vitro comparative study. *International journal of cosmetic science* 36, 273–283.
- Smita, S., Gupta, S.K., Bartonova, A., Dusinska, M., Gutleb, A.C., Rahman, Q., 2012. Nanoparticles in the environment: assessment using the causal diagram approach. *Environmental Health* 11, 1–11.
- Snyder, S.M., Pulster, E.L., Wetzel, D.L., Murawski, S.A., 2015. PAH exposure in Gulf of Mexico demersal fishes, post-Deepwater Horizon. *Environmental science & technology* 49, 8786–8795.
- Socorro, J., Durand, A., Temime-Roussel, B., Gligorovski, S., Wortham, H., Quivet, E., 2016. The persistence of pesticides in atmospheric particulate phase: An emerging air quality issue. *Scientific Reports* 6, 1–7.
- Soldatov, A.A., Gostyukhina, O.L., Golovina, I.V., 2007. Antioxidant enzyme complex of tissues of the bivalve *Mytilus galloprovincialis* Lam. under normal and oxidative-stress conditions: a review. *Applied Biochemistry and Microbiology* 43, 556–562.
- Soleimani, F., Madaah Hosseini, H.R., Ordikhani, F., Mokhtari-Dizaji, M., 2016. Enhancing sonocatalytic properties of TiO₂ nanocatalysts by controlling the surface conditions: effect of particle size and PVA modification. *Desalination and Water Treatment* 57, 28378–28385.
- Souza, I. da C., Arrivabene, H.P., Craig, C.-A., Midwood, A.J., Thornton, B., Matsumoto, S.T., Elliott, M., Wunderlin, D.A., Monferrán, M.V., Fernandes, M.N., 2018. Interrogating

- pollution sources in a mangrove food web using multiple stable isotopes. *Science of the Total Environment* 640, 501–511.
- Souza, I. da C., Mendes, V.A., Duarte, I.D., Rocha, L.D., Azevedo, V.C., Matsumoto, S.T., Elliott, M., Wunderlin, D.A., Monferrán, M.V., Fernandes, M.N., 2019. Nanoparticle transport and sequestration: Intracellular titanium dioxide nanoparticles in a neotropical fish. *Science of The Total Environment* 658, 798–808.
- Srinivasan, M., Venkatesan, M., Arumugam, V., Natesan, G., Saravanan, N., Murugesan, S., Ramachandran, S., Ayyasamy, R., Pugazhendhi, A., 2019. Green synthesis and characterization of titanium dioxide nanoparticles (TiO₂ NPs) using *Sesbania grandiflora* and evaluation of toxicity in zebrafish embryos. *Process Biochemistry* 80, 197–202.
- Sruthi, S., Ashtami, J., Mohanan, P.V., 2018. Biomedical application and hidden toxicity of Zinc oxide nanoparticles. *Materials today chemistry* 10, 175–186.
- Staal, Y.C., van Herwijnen, M.H., Pushparajah, D.S., Umachandran, M., Ioannides, C., van Schooten, F.J., van Delft, J.H., 2007. Modulation of gene expression and DNA-adduct formation in precision-cut liver slices exposed to polycyclic aromatic hydrocarbons of different carcinogenic potency. *Mutagenesis* 22, 55–62.
- Stara, A., Pagano, M., Capillo, G., Fabrello, J., Sandova, M., Vazzana, I., Zuskova, E., Velisek, J., Matozzo, V., Faggio, C., 2020. Assessing the effects of neonicotinoid insecticide on the bivalve mollusc *Mytilus galloprovincialis*. *Science of the total environment* 700, 134914.
- Stegeman, J.J., Teal, J.M., 1973. Accumulation, release and retention of petroleum hydrocarbons by the oyster *Crassostrea virginica*. *Marine Biology* 22, 37–44.
- Sun, K., Song, Y., He, F., Jing, M., Tang, J., Liu, R., 2021. A review of human and animals exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons: Health risk and adverse effects, photo-induced toxicity and regulating effect of microplastics. *Science of The Total Environment* 773, 145403.
- Sun, R.-X., Lin, Q., Ke, C.-L., Du, F.-Y., Gu, Y.-G., Cao, K., Luo, X.-J., Mai, B.-X., 2016. Polycyclic aromatic hydrocarbons in surface sediments and marine organisms from the Daya Bay, South China. *Marine pollution bulletin* 103, 325–332.
- Supraja, N., Prasad, T., Gandhi, A.D., Anbumani, D., Kavitha, P., Babujanarthanam, R., 2018. Synthesis, characterization and evaluation of antimicrobial efficacy and brine shrimp lethality assay of *Alstonia scholaris* stem bark extract mediated ZnONPs. *Biochemistry and biophysics reports* 14, 69–77.
- Suwanboon, S., Amornpitoksuk, P., Sukolrat, A., Muensit, N., 2013. Optical and photocatalytic properties of La-doped ZnO nanoparticles prepared via precipitation and mechanical milling method. *Ceramics International* 39, 2811–2819.
- Tainer, J.A., Getzoff, E.D., Richardson, J.S., Richardson, D.C., 1983. Structure and mechanism of copper, zinc superoxide dismutase. *Nature* 306, 284–287.
- Takano, H., Zou, Y., Hasegawa, H., Akazawa, H., Nagai, T., Komuro, I., 2003. Oxidative stress-induced signal transduction pathways in cardiac myocytes: involvement of ROS in heart diseases. *Antioxidants and Redox Signaling* 5, 789–794.
- Tamamura, S., Sato, T., Ota, Y., Wang, X., Tang, N., Hayakawa, K., 2007. Long-range transport of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) from the eastern Asian continent to Kanazawa, Japan with Asian dust. *Atmospheric Environment* 41, 2580–2593.
- Tang, B., Riisgård, H.U., 2018. Relationship between oxygen concentration, respiration and filtration rate in blue mussel *Mytilus edulis*. *Journal of Oceanology and Limnology* 36, 395–404.
- Tang, H., Wang, D., Ge, X., 2004. Environmental nano-pollutants (ENP) and micro-interfacial

- processes. *Water Science and Technology* 50, 103–109.
- Tatagar, A.M., Moodi, J.I., Abbar, J.C., Phaniband, M.A., 2022. Photocatalytic activity and antimicrobial application of synthesized Zinc oxide nanoparticles (ZnO Nps) towards remediation of hospital waste water (HWW). *Materials Today: Proceedings* 49, 699–702.
- Tatarazako, N., Ishibashi, H., Teshima, K., Kishi, K., Arizono, K., 2004. Effects of triclosan on various aquatic organisms. *Environmental sciences: an international journal of environmental physiology and toxicology* 11, 133–140.
- Tavazzi, B., Di Pierro, D., Amorini, A.M., Fazzina, G., Tuttobene, M., Giardina, B., Lazzarino, G., 2000. Energy metabolism and lipid peroxidation of human erythrocytes as a function of increased oxidative stress. *European Journal of Biochemistry* 267, 684–689.
- Tekin, Z., Er, E.Ö., Günkara, Ö.T., Bakirdere, S., 2020. A novel determination method for diuron in seaweed samples: combination of quadruple isotope dilution strategy with liquid chromatography-quadrupole time of flight-tandem mass spectrometry for superior accuracy and precision. *Journal of Chromatography A* 1611, 460612.
- Thang, H.V., Pacchioni, G., 2019. Electronic structure of Al, Ga, in and Cu doped ZnO/Cu (111) bilayer films. *Physical Chemistry Chemical Physics* 21, 369–377.
- Thompson, W.A., Perier, C., Maroto-Valer, M.M., 2018. Systematic study of sol-gel parameters on TiO₂ coating for CO₂ photoreduction. *Applied Catalysis B: Environmental* 238, 136–146.
- Thorsen, W.A., Cope, W.G., Shea, D., 2004. Bioavailability of PAHs: Effects of soot carbon and PAH source. *Environmental science & technology* 38, 2029–2037.
- Thurman, E.M., Bastian, K.C., Mollhagen, T., 2000. Occurrence of cotton herbicides and insecticides in playa lakes of the High Plains of West Texas. *Science of the Total Environment* 248, 189–200.
- Tixier, C., Sancelme, M., Sancelme, M., Bonnemoy, F., Cuer, A., Veschambre, H., 2001. Degradation products of a phenylurea herbicide, diuron: synthesis, ecotoxicity, and biotransformation. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal* 20, 1381–1389.
- Tomanek, L., 2014. Proteomics to study adaptations in marine organisms to environmental stress. *Journal of proteomics* 105, 92–106.
- Tomaszewski, J.E., McLeod, P.B., Luthy, R.G., 2008. Measuring and modeling reduction of DDT availability to the water column and mussels following activated carbon amendment of contaminated sediment. *Water Research* 42, 4348–4356.
- Toumi, H., Burga-Perez, K.F., Ferard, J.-F., 2016. Acute and chronic ecotoxicity of carbaryl with a battery of aquatic bioassays Part B Pesticides, food contaminants, and agricultural wastes.
- Townsend, C.R., Uhlmann, S.S., Matthaei, C.D., 2008. Individual and combined responses of stream ecosystems to multiple stressors. *Journal of Applied Ecology* 45, 1810–1819.
- Trivić, S., Leskovac, V., 1994. Kinetic mechanism of yeast alcohol dehydrogenase with primary aliphatic alcohols and aldehydes. *Biochemistry and molecular biology international* 32, 399–407.
- Tsangaris, C., Papathanasiou, E., Cotou, E., 2007. Assessment of the impact of heavy metal pollution from a ferro-nickel smelting plant using biomarkers. *Ecotoxicology and environmental safety* 66, 232–243.
- Turan, N.B., Erkan, H.S., Engin, G.O., Bilgili, M.S., 2019. Nanoparticles in the aquatic environment: Usage, properties, transformation and toxicity—A review. *Process safety and environmental protection* 130, 238–249.
- Uno, S., Kokushi, E., Añasco, N.C., Iwai, T., Ito, K., Koyama, J., 2017. Oil spill off the coast of

- Guimaras Island, Philippines: Distributions and changes of polycyclic aromatic hydrocarbons in shellfish. *Marine pollution bulletin* 124, 962–973.
- Uno, S., Koyama, J., Kokushi, E., Monteclaro, H., Santander, S., Cheikyula, J.O., Miki, S., Añasco, N., Pahila, I.G., Taberna, H.S., 2010. Monitoring of PAHs and alkylated PAHs in aquatic organisms after 1 month from the Solar I oil spill off the coast of Guimaras Island, Philippines. *Environmental monitoring and assessment* 165, 501–515.
- Urban-Malinga, B., Wodzinowski, T., Witalis, B., Zalewski, M., Radtke, K., Grygiel, W., 2018. Marine litter on the seafloor of the southern Baltic. *Marine pollution bulletin* 127, 612–617.
- Valko, M., Morris, H., Cronin, M.T.D., 2005. Metals, toxicity and oxidative stress. *Current medicinal chemistry* 12, 1161–1208.
- Van Cauwenberghe, L., Janssen, C.R., 2014. Microplastics in bivalves cultured for human consumption. *Environmental pollution* 193, 65–70.
- Van der Oost, R., Beyer, J., Vermeulen, N.P., 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environmental toxicology and pharmacology* 13, 57–149.
- van der Oost, R., Heida, H., Opperhuizen, A., Vermeulen, N.P., 1991. Bioaccumulation of organic micropollutants in different aquatic organisms. Sublethal toxic effects on fish. ASTM Special Technical Publication 166–180.
- Van Haren, R.J.F., Kooijman, S., 1993. Application of a dynamic energy budget model to *Mytilus edulis* (L.). *Netherlands Journal of Sea Research* 31, 119–133.
- Vargas, V.M.F., Guidobono, R.R., 1991. Genotoxicity of plant extracts. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz: an International Journal of Biological and Biomedical Research*. Rio de Janeiro.
- Veldhoen, N., Ikonou, M.G., Helbing, C.C., 2012. Molecular profiling of marine fauna: integration of omics with environmental assessment of the world's oceans. *Ecotoxicology and environmental safety* 76, 23–38.
- Veldhoen, N., Skirrow, R.C., Osachoff, H., Wigmore, H., Clapson, D.J., Gunderson, M.P., Van Aggelen, G., Helbing, C.C., 2006. The bactericidal agent triclosan modulates thyroid hormone-associated gene expression and disrupts postembryonic anuran development. *Aquatic toxicology* 80, 217–227.
- Viarengo, A., Canesi, L., Pertica, M., Poli, G., Moore, M.N., Orunesu, M., 1990. Heavy metal effects on lipid peroxidation in the tissues of *mytilus galloprovincialis* lam. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology* 97, 37–42.
- Viarengo, A., Lowe, D., Bolognesi, C., Fabbri, E., Koehler, A., 2007. The use of biomarkers in biomonitoring: a 2-tier approach assessing the level of pollutant-induced stress syndrome in sentinel organisms. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* 146, 281–300.
- Vieira, L.R., Sousa, A., Frasco, M.F., Lima, I., Morgado, F., Guilhermino, L., 2008. Acute effects of Benzo [a] pyrene, anthracene and a fuel oil on biomarkers of the common goby *Pomatoschistus microps* (Teleostei, Gobiidae). *Science of the total environment* 395, 87–100.
- Ville, M.P.C., Marigómez, J.A., Díez, G., Angulo, E., 1992. Comparative effects of the water accommodated fraction of three oils on mussels—2. Quantitative alterations in the structure of the digestive tubules. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology* 102, 113–123.
- Vincent, J.H., Clement, C.F., 2000. Ultrafine particles in workplace atmospheres, in: *Ultrafine Particles In The Atmosphere*. World Scientific, pp. 141–154.

- Vinoditha, U., Sarojini, B.K., Sandeep, K.M., Narayana, B., Maidur, S.R., Patil, P.S., Balakrishna, K.M., 2019. Defects-induced nonlinear saturable absorption mechanism in europium-doped ZnO nanoparticles synthesized by facile hydrothermal method. *Applied Physics A* 125, 1–11.
- Vithiya, K., Sen, S., 2011. Biosynthesis of nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* 2, 2781.
- Walker, S.A., Whitten, L.B., Seals, G.B., Lee, W.E., Archibong, A.E., Ramesh, A., 2006. Interspecies comparison of liver and small intestinal microsomal metabolism of fluoranthene. *Food and chemical toxicology* 44, 380–387.
- Wang, C., Zou, X., Gao, J., Zhao, Y., Yu, W., Li, Y., Song, Q., 2016. Pollution status of polycyclic aromatic hydrocarbons in surface sediments from the Yangtze River Estuary and its adjacent coastal zone. *Chemosphere* 162, 80–90.
- Wang, C., Zou, X., Li, Y., Zhao, Y., Song, Q., Yu, W., 2017. Pollution levels and risks of polycyclic aromatic hydrocarbons in surface sediments from two typical estuaries in China. *Marine Pollution Bulletin* 114, 917–925.
- Wang, D., Lin, Z., Wang, T., Yao, Z., Qin, M., Zheng, S., Lu, W., 2016. Where does the toxicity of metal oxide nanoparticles come from: the nanoparticles, the ions, or a combination of both? *Journal of hazardous materials* 308, 328–334.
- Wang, J.-Z., Guan, Y.-F., Ni, H.-G., Luo, X.-L., Zeng, E.Y., 2007. Polycyclic aromatic hydrocarbons in riverine runoff of the Pearl River Delta (China): concentrations, fluxes, and fate. *Environmental science & technology* 41, 5614–5619.
- Wang, Shengsen, Zhao, M., Zhou, M., Li, Y.C., Wang, J., Gao, B., Sato, S., Feng, K., Yin, W., Igalavithana, A.D., 2019. Biochar-supported nZVI (nZVI/BC) for contaminant removal from soil and water: a critical review. *Journal of hazardous materials* 373, 820–834.
- Wang, Shunhao, Shao, J., Li, Z., Ren, Q., Yu, X.-F., Liu, S., 2019. Black phosphorus-based multimodal nanoagent: showing targeted combinatory therapeutics against cancer metastasis. *Nano Letters* 19, 5587–5594.
- Ward, J.E., Shumway, S.E., 2004. Separating the grain from the chaff: particle selection in suspension-and deposit-feeding bivalves. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 300, 83–130.
- Ware, B.R., 1983. DD Haas in *Fast Methods in Physical Biochemistry and Cell Biology*.
- Weis, L.M., Rummel, A.M., Masten, S.J., Trosko, J.E., Upham, B.L., 1998. Bay or baylike regions of polycyclic aromatic hydrocarbons were potent inhibitors of Gap junctional intercellular communication. *Environmental health perspectives* 106, 17–22.
- Wen, L., Kumar, M., Sahu, B.B., Jin, S.B., Sawangrat, C., Leksakul, K., Han, J.G., 2015. Advantage of dual-confined plasmas over conventional and facing-target plasmas for improving transparent-conductive properties in Al doped ZnO thin films. *Surface and Coatings Technology* 284, 85–89.
- Wheater, H., Evans, E., 2009. Land use, water management and future flood risk. *Land use policy* 26, S251–S264.
- Wilkins, N.P., Fujino, K., Gosling, E.M., 1983. The mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis* Lmk. in Japan. *Biological Journal of the Linnean Society* 20, 365–374.
- Williams, P., Sorribas, A., Howes, M.-J.R., 2011. Natural products as a source of Alzheimer's drug leads. *Natural product reports* 28, 48–77.
- Willkommen, S., Pfannerstill, M., Ulrich, U., Guse, B., Fohrer, N., 2019. How weather conditions and physico-chemical properties control the leaching of flufenacet, diflufenican, and pendimethalin in a tile-drained landscape. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 278,

107–116.

- Wilson, B., Chen, R.F., Cantwell, M., Gontz, A., Zhu, J., Olsen, C.R., 2009. The partitioning of triclosan between aqueous and particulate bound phases in the Hudson River Estuary. *Marine pollution bulletin* 59, 207–212.
- Winston, G.W., 1991. Oxidants and antioxidants in aquatic animals. *Comparative biochemistry and physiology. C, Comparative pharmacology and toxicology* 100, 173–176.
- Winston, G.W., Di Giulio, R.T., 1991. Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms. *Aquatic toxicology* 19, 137–161.
- Wonham, M.J., 2004. Mini-review: distribution of the Mediterranean mussel, *Mytilus galloprovincialis* (Bivalvia: Mytilidae), and hybrids in the northeast Pacific. *Journal of Shellfish Research* 23, 535–544.
- Woodrow, J.E., Gibson, K.A., Seiber, J.N., 2018. Pesticides and related toxicants in the atmosphere. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology Volume 247* 147–196.
- Xia, B., Zhu, L., Han, Q., Sun, X., Chen, B., Qu, K., 2017. Effects of TiO₂ nanoparticles at predicted environmental relevant concentration on the marine scallop *Chlamys farreri*: an integrated biomarker approach. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 50, 128–135.
- Xia, K., Hagood, G., Childers, C., Atkins, J., Rogers, B., Ware, L., Armbrust, K., Jewell, J., Diaz, D., Gatian, N., 2012. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Mississippi seafood from areas affected by the Deepwater Horizon oil spill. *Environmental Science & Technology* 46, 5310–5318.
- Xu, R., 2008. Progress in nanoparticles characterization: Sizing and zeta potential measurement. *Particuology* 6, 112–115.
- Xu, W., Qi, Y., Gao, Y., Quan, H., Li, Q., Zhou, H., Huang, J., 2021. Benzo (a) pyrene exposure in utero exacerbates Parkinson's Disease (PD)-like α -synucleinopathy in A53T human alpha-synuclein transgenic mice. *Toxicology and Applied Pharmacology* 427, 115658.
- Yan, J., Wang, L., Fu, P.P., Yu, H., 2004. Photomutagenicity of 16 polycyclic aromatic hydrocarbons from the US EPA priority pollutant list. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 557, 99–108.
- Yasui, K., Baba, A., 2006. Therapeutic potential of superoxide dismutase (SOD) for resolution of inflammation. *Inflammation Research* 55, 359–363.
- Youn, H.-D., Kim, E.-J., Roe, J.-H., HAH, Y.C., KANG, S.-O., 1996. A novel nickel-containing superoxide dismutase from *Streptomyces* spp. *Biochemical Journal* 318, 889–896.
- Yu, S., Zhang, H., Lin, C., Bian, M., 2019. The enhancement of humidity sensing performance based on Eu-doped ZnO. *Current Applied Physics* 19, 82–88.
- Yu, Y., Wang, Xilong, Wang, B., Tao, S., Liu, W., Wang, Xuejun, Cao, J., Li, B., Lu, X., Wong, M.H., 2011. Polycyclic aromatic hydrocarbon residues in human milk, placenta, and umbilical cord blood in Beijing, China. *Environmental science & technology* 45, 10235–10242.
- Zaki, A.G., El-Sayed, E.-S.R., Abd Elkodous, M., El-Sayyad, G.S., 2020. Microbial acetylcholinesterase inhibitors for Alzheimer's therapy: recent trends on extraction, detection, irradiation-assisted production improvement and nano-structured drug delivery. *Applied Microbiology and Biotechnology* 104, 4717–4735.
- Zeng, J., Li, Y., Dai, Y., Wu, Y., Lin, X., 2021. Effects of polycyclic aromatic hydrocarbon structure on PAH mineralization and toxicity to soil microorganisms after oxidative bioremediation by laccase. *Environmental Pollution* 287, 117581.

- Zhan, J., Liang, Y., Liu, D., Ma, X., Li, P., Liu, C., Liu, X., Wang, P., Zhou, Z., 2018. Antibiotics may increase triazine herbicide exposure risk via disturbing gut microbiota. *Microbiome* 6, 1–13.
- Zhang, C., Li, Y., Wang, C., Feng, Z., Hao, Z., Yu, W., Wang, T., Zou, X., 2020. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in marine organisms from two fishing grounds, South Yellow Sea, China: bioaccumulation and human health risk assessment. *Marine Pollution Bulletin* 153, 110995.
- Zhang, H., Zhu, Z., Wang, Y., Fei, Z., Cao, J., 2018. Changing the activities and structures of bovine serum albumin bound to graphene oxide. *Applied Surface Science* 427, 1019–1029.
- Zhang, M., Zhang, X., Shi, Y., Liu, Z., Zhan, J., 2016. Surface enhanced Raman spectroscopy hyphenated with surface microextraction for in-situ detection of polycyclic aromatic hydrocarbons on food contact materials. *Talanta* 158, 322–329.
- Zhang, Q., Qu, Q., Lu, T., Ke, M., Zhu, Y., Zhang, M., Zhang, Z., Du, B., Pan, X., Sun, L., 2018. The combined toxicity effect of nanoplastics and glyphosate on *Microcystis aeruginosa* growth. *Environmental pollution* 243, 1106–1112.
- Zhao, L., Lu, L., Wang, A., Zhang, H., Huang, M., Wu, H., Xing, B., Wang, Z., Ji, R., 2020. Nanobiotechnology in agriculture: use of nanomaterials to promote plant growth and stress tolerance. *Journal of agricultural and food chemistry* 68, 1935–1947.
- Zhong, J., Yang, X., Wu, Z., Liang, B., Huang, Y., Zhang, T., 2020. State of the art and perspectives in heterogeneous catalysis of CO₂ hydrogenation to methanol. *Chemical Society Reviews* 49, 1385–1413.
- Zhu, L., Lu, H., Chen, S., Amagai, T., 2009. Pollution level, phase distribution and source analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in residential air in Hangzhou, China. *Journal of Hazardous Materials* 162, 1165–1170.
- Zhu, Z., Cai, H., Sun, D.-W., 2018. Titanium dioxide (TiO₂) photocatalysis technology for nonthermal inactivation of microorganisms in foods. *Trends in Food Science & Technology* 75, 23–35.
- Zou, L.Y., Zhang, W., Atkison, S., 2003. The characterisation of polycyclic aromatic hydrocarbons emissions from burning of different firewood species in Australia. *Environmental Pollution* 124, 283–289.
- Zuykov, M., Pelletier, E., Harper, D.A., 2013. Bivalve mollusks in metal pollution studies: from bioaccumulation to biomonitoring. *Chemosphere* 93, 201–208.