République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université 8 Mai 1945 Guelma

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Science de la Terre de l'Univers
Département d'Ecologie et Génie de l'Environnement
Laboratoire de domiciliation Laboratoire de Biologie, Eau et Environnement (LBEE)

THÈSE

En Vue de l'Obtention du Diplôme de Doctorat en Troisième Cycle

Domaine : **Sciences de la nature et de la vie** Filière : **Ecologie - Environnement**
Spécialité : **Eco-éthologie**
Présentée par

CHORFI Amira

Intitulée

Étude du comportement de *Daphniidae* en présence de contaminants émergents

Soutenue le : 07/07/2025 Devant le Jury composé de :

Nom et Prénom	Grade		
Mr ATOUSSI Sadek	Prof	Univ. de Guelma	Président
Mme BENSOLTANE Samira	Prof	Univ.d' Annaba	Encadreur
Mr ZEBSA Rabah	MCA	Univ. de Guelma	Co-encadreur
Mme BENBOUZID Houneida	Prof	Univ. d'Annaba	Examinatrice
Mme GRARA Nedjoud	Prof	Univ. de Guelma	Examinatrice
Mme BOUSSADIA Meriem Imen	MCA	Univ. de Guelma	Examinatrice

Année Universitaire : 2024/2025

Dédicaces

À cet agréable événement, je dédie ce modeste travail

À la mémoire de ***mon grand-père****, qui m'a toujours été une source d'inspiration.*

À la mémoire de mon Directeur de thèse, le ***Pr DJEKOUN Mohamed****, dont l'encadrement a été précieux.*

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à ***mes chers parents****, qui m'ont soutenu avec tous les moyens possibles et ont consenti de nombreux sacrifices pour m'accompagner tout au long de mon parcours. Que Dieu, le Tout-Puissant, les préserve et leur accorde santé et longue vie.*

Je n'oublie pas ***mes chers frères, Mohammed Amir et Mohssen Adem****, qui ont toujours été à mes côtés.*

Enfin, une dédicace spéciale à ***Monsieur ZABSA Rabah et Madame BENSAKHRI Zinette*** *pour leur générosité, leur temps et leurs conseils précieux qui m'ont accompagné tout au long de mon travail.*

Remerciements

Je remercie **ALLAH** tout puissant et miséricordieux de m'avoir donné la force et la capacité d'effectuer ce travail.

Je tiens à cette occasion pour exprimer ma profonde gratitude à ma directrices de thèse M^me^ **DJEKOUN-BENSOLTANE Samira**. Professeur en Biologie, Faculté de médecine Université Badji Mokhtar, Annaba pour avoir accepté de supervisée ma these, votre expertise dans le domaine a été une source d'apprentissage précieux pour moi. Merci pour avoir toujours été disponible pour m'avoir guidé.

Ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu voir le jour sans l'aide de mon Co-Directeur de thèse **Mr. ZEBSA Rabah**. Maitre de Conférence « A » à l'Université de 8 mai 1945 Guelma. Je vous remercie pour votre patience, votre rigueur et votre disponibilité durant la préparation de ce travail. Votre disponibilité et votre volonté de partager vos connaissances ont grandement contribué à mon développement académique et professionnel.

J'exprime mes vifs remerciements à Monsieur **ATOUSSI Sadek**. Professeur en Biologie Université du 8 Mai 1945 Guelma, pour l'honneur qu'il nous 'a fait en présidant le jury de soutenance, nous tenons à lui exprimer notre profonde reconnaissance.

Mes sincères remerciements vont à Mme **GRARA Nedjoud** Professeur et à Mme à l'Université de 8 mai 1945 Guelma et a Mme **BOUSSADIA Meriem Imen**. Maîtres de conférences « A » à l'Université de 8 mai 1945 Guelma, pour m'avoir fait l'honneur d'accepter d'être membres du jury et de bien vouloir juger ce travail. Qu'elles trouvent ici l'expression de ma reconnaissance et de mon profond respect.

Je suis honoré par la présence de Mme **BENBOUZID Houneida**, Pr au département de biochimie de l'université Badji Mokhtar, Annaba qui a bien voulu accepter d'être membre du jury et de juger ce travail, qu'elle soit assuré de mon respect et de ma parfaite gratitude

Je remercie sincèrement le Professeur **HOUHAMDI Moussa** de m'avoir accueilli dans son laboratoire (LBEE). Il s'est toujours surpassé pour m'apporter son soutien et ses conseils prestigieux.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude envers Dr. **AMARI Hichem**, Dr. **Bensakhri Zinette**, Dr. **BENSOUILAH Soufyane**, Dr. **BOUDALIA Sofiane,** Dr. **BOUDEBBOUZ Ali,** Dr. **ZOUAIMIA Abdelheq**, Dr. **AYED Hayet, Dr. AOUISSI Hani Amir,** ainsi que Mr. **KHELIFA Rassim,** Professeur adjoint à l'Université Concordia au Canada. Je les remercie pour leur soutien et leurs précieuses propositions. Votre collaboration a été essentielle à la réalisation de ce projet. Sans vous, cette thèse n'aurait pas aboutie. Votre engagement et votre disponibilité ont grandement facilité mon travail.

Mes remerciements les plus sincères vont également à tous les professeurs, les chercheurs, le personnel de la Faculté des Sciences Naturelles, de la Terre et de l'Univers de l'Université de Guelma, je tiens tout particulièrement à remercier Monsieur le doyen Professeur **GUEROUI Yassine**, qui ont contribué à mon cheminement académique.

Je souhaite exprimer ma reconnaissance la plus sincère à ma famille. Vous avez toujours été à mes côtés, tant dans les moments de doute que dans ceux de réussite. Vos encouragements m'ont donné la force de continuer à avancer. Je vous suis reconnaissante pour votre amour inconditionnel et votre soutien indéfectible.

Je souhaite également adresser mes remerciements à mes amis, qui m'ont accompagné tout au long de ce parcours. Vos mots d'encouragement et votre présence ont été d'un grand soutien. Merci d'avoir partagé avec moi les moments difficiles et d'avoir célébré ensemble mes réussites.

Résumés

Les cosmétiques, les produits pharmaceutiques et les surfactants (agents de surface) contiennent souvent du dioxyde de titane (TiO_2) et de l'oxyde de fer (Fe_2O_3). Cependant, leur présence dans l'environnement peut nuire aux organismes aquatiques, notamment aux crustacés comme *Ceriodaphnia dubia* et *Daphnia magna*. Des batteries de tests ont été réalisées pour évaluer les effets de ces nanoparticules (NPs) sur la survie, la croissance, la reproduction et l'âge de la première progéniture sur une période de 21 jours. Les résultats montrent que l'exposition aux NP de TiO_2 et de Fe_2O_3 perturbe significativement les traits de vie de *C.dubia*, affectant la reproduction et le comportement de manière dose-dépendante, même à des concentrations faibles. La mortalité dans le groupe témoin est nettement inférieure à celle des groupes exposés dont les diminutions de la durée de vie atteint 63,5 % pour le TiO_2 et 62,6 % pour le Fe_2O_3. De plus, le nombre d'œufs de la première couvée a diminué de 34 et 35 % respectivement pour les concentrations C1 de TiO_2 et Fe_2O_3. Les performances de nage ont également été altérées. La fréquence cardiaque a augmenté d'environ 4 %. Concernant *D.magna*, l'exposition à un mélange de TiO_2 et Fe_2O_3 a également montré des effets néfastes significatifs sur le développement, la mortalité et les performances en nage, les perturbations sont doses-dépendantes comparées au groupe témoin.En conclusion, l'impact du mélange des deux contaminants sous la forme de nanoparticules peut amplifier les effets toxiques, ce qui soulève des préoccupations importantes pour l'évaluation des impacts écotoxicologique des polluants émergents. En conséquence, il est crucial de mener des recherches approfondies afin de mieux comprendre ces effets et protéger les écosystèmes aquatiques et terrestres, sans perdre de vue que l'Homme est au sommet de la chaine alimentaire et que cette pollution porte préjudice a sa propre survie. Les résultats de cette étude pourraient également contribuer à l'élaboration de réglementations environnementales plus rigoureuses et cohérentes avec les polluants émergents.

Mots-clés : *Ceriodaphnia dubia*, *Daphnia magna*, nanoparticules d'oxyde de fer ($NanoFe_2O_3$), nanoparticules de dioxyde de titane ($NanoTiO_2$), écotoxicité, croissance, reproduction, comportement.

Abstract

Cosmetics, pharmaceuticals, and surfactants often contain titanium dioxide (TiO_2) and iron oxide (Fe_2O_3). However, their presence in the environment can harm aquatic organisms, particularly crustaceans such as *Ceriodaphnia dubia* and *Daphnia magna*. Chronic toxicity tests have been conducted to assess the effects of these nanoparticles (NPs) on survival, growth, reproduction, and the age of the first offspring over 21 days. The results indicate that exposure to TiO_2 and Fe_2O_3 NPs significantly disrupts the life traits of *C.dubia*, affecting reproduction and behaviour in a dose-dependent manner, even at low concentrations. The mortality rate in the control group was significantly lower than that of the exposed groups, with a decrease in lifespan of 63.5% for TiO_2 and 62.6% for Fe_2O_3. Furthermore, the number of eggs in the first brood decreased by 34% and 35% for the C1 concentrations of TiO_2 and Fe_2O_3, respectively. Swimming performance was also impaired, with reductions of 15.78% for TiO_2 and 14.75% for Fe_2O_3. The heart rate increased by 4% and 3.9% following exposure to these nanoparticles compared to the control group. Regarding *D.magna*, exposure to a mixture of TiO_2 and Fe_2O_3 also demonstrated significant effects on development, mortality, and swimming performance, with similar results regarding dose dependence. The mortality rate in the control group was considerably lower than that of the experimental group. In conclusion, the interaction of binary mixtures of nanoparticles can exacerbate toxicological effects, raising important concerns for the assessment of the Eco-toxicological impacts of emerging pollutants. It is crucial to conduct thorough research to better understand these effects and protect aquatic ecosystems while mitigating risks to human health. The findings of this study may also contribute to the development of more effective environmental policies.

Keywords: *Ceriodaphnia dubia*, *Daphnia magna*, iron oxide nanoparticles (Fe_2O_3), titanium dioxide nanoparticles (TiO_2), ecotoxicity, growth, reproduction, behaviour.

ملخص

تحتوي مستحضرات التجميل والمنتجات الصيدلانية والمركبات السطحية، بالإضافة إلى العديد من الصناعات التي تعتمد على تقنية النانو، على جسيمات ثنائي أكسيد التيتانيوم النانوية وجسيمات أكسيد الحديد النانوية. ورغم الفوائد التي تقدمها هذه المواد، إلا أن وجودها في البيئة، وخاصة في البيئات المائية، قد يشكل تهديدًا للكائنات الحية التي تعيش فيها. يهدف هذا البحث إلى تقييم سمية هذه المواد على العوامل الفيزيولوجية والسلوكية لدى برغوث الماء ماجنا وبرغوث الماء سيريودافنيا دوبيا. تم إجراء اختبارات سمية مزمنة لمدة 21 يومًا لتقييم آثار هذه الجسيمات النانوية على البقاء والتكاثر وعمر النسل الأول. أظهرت النتائج أن التعرض المزمن لجسيمات ثنائي أكسيد التيتانيوم النانوية وجسيمات أكسيد الحديد النانوية تسبب في اضطراب كبير في سمات حياة برغوث الماء سيريودافنيا دوبيا، مما أثر على التكاثر والسلوك بطريقة تعتمد على الجرعة، حتى عند التركيزات المنخفضة.

كان معدل الوفيات في المجموعة الشاهدة أقل بكثير من المجموعات التجريبية، حيث انخفض العمر الافتراضي بنسبة 63.5% لجسيمات ثنائي أكسيد التيتانيوم النانوية و62.6% لجسيمات أكسيد الحديد. علاوة على ذلك، انخفض عدد البيض في المجموعة الأولى بنسبة 34% و35% على التوالي بالنسبة للتركيز الأول من جسيمات ثنائي أكسيد التيتانيوم النانوية وجسيمات أكسيد الحديد النانوية. كما تأثر أداء السباحة، حيث انخفض بنسبة 15.78% لجسيمات ثنائي أكسيد التيتانيوم النانوية و14.75% لجسيمات أكسيد الحديد. وارتفع معدل ضربات القلب بنسبة 4% و3.9% لهذه الجسيمات النانوية مقارنة بالمجموعة الشاهدة.

بالنسبة لبرغوث ماجنا، أظهر التعرض لمزيج من جسيمات ثنائي أكسيد التيتانيوم النانوية وجسيمات أكسيد الحديد النانوية تأثيرات كبيرة على النمو والوفيات وأداء السباحة، مع نتائج مماثلة من حيث تأثير الجرعة، بينما كان معدل الوفيات في المجموعة الشاهدة أقل بكثير من المجموعات التجريبية.

في الختام، يمكن أن يؤدي التفاعل بين الخلائط الثنائية للأجسام النانوية إلى تفاقم السمية البيئية، مما يثير مخاوف كبيرة بشأن تقييم التأثيرات السمية الناجمة عن الملوثات الناشئة. يعد البحث المعمق أمرًا حاسمًا لفهم هذه التأثيرات بشكل أفضل وحماية النظم البيئية المائية، مع تقليل المخاطر على صحة الإنسان. كما يمكن أن تساهم نتائج هذه الدراسة في وضع سياسات بيئية أكثر فعالية.

الكلمات المفتاحية: برغوث الماء سيريودافنيا دوبيا، برغوث ماجنا، وجسيمات أكسيد الحديد النانوية، من جسيمات ثنائي أكسيد التيتانيوم النانوية، السمية البيئية، والنمو، والتكاثر، والسلوك.

Sommaire

DEDICACES

REMERCIEMENTS

RESUMES

SOMMAIRE

LISTE DES TABLEAUX

LISTES DES FIGURES

LISTES DES SYMBOLES ET ABREVIATIONS

INTRODUCTION GENERALE

Introduction générale 1

CHAPITRE 1 :ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Les Polluants Émergents (PE) 8

1. Les Nanoparticules : aspects généraux 8

1-1- Apparition des nanomatériaux et des nanotechnologies 8

1.2- Une nanoparticule : qu'est-ce que c'est ? 9

1.3-Sources des Nanoparticules (NPs) 10

1.3.1-Sources naturelles de nanoparticules 10

1.3.2-Sources anthropiques de nanoparticules produites de manière non intentionnell.. 10

1-3-3-Sources anthropiques de nanoparticules intentionnelles : 10

1.4- Approche de synthèse des nanoparticules 10

1.4.1- L'approche de haut en bas 10

1.4.2- L'approche ascendante 11

1.5- Classification des nanoparticules 11

1.6- Impacts toxicologiques des nanoparticules 12

1.6.1- Modes de transport des Nanoparticules à travers les systèmes aquatiques 12

2. Cas des nanoparticules d'oxyde de titane (NPs TiO_2). 16

2.1- Définition 16

2.2-Origine du TiO_2 16

2-3- Méthodes de synthèse du TiO_2 17

2-3-1- Méthodes de synthèse physique 17

2-3-1- Méthode de synthèse chimique 17
2.3.1- Méthode de synthèse biologiques 18
2.3.1.1- Synthèse à partir d'extraits de plantes vertes 18
2.3.1.2- Synthèse à partir d'extraits bactériens et fongiques 18
2.3.1.3- Synthèse à partir d'autres sources biologiques 18
2.4- Propriétés physico-chimiques 18
2.4.1- Propriétés physiques des NanoTiO₂ 18
2.4.2- Propriétés chimiques des Nps deTiO₂ 19
2.5- Application des NPs de TiO₂ 19
2.6- Toxicité des nanoparticules de TiO₂ 20
2.6.1- L'effet néfaste des NPs de dioxyde de titane (TiO₂) sur la santé humaine. 20
2.6.2- L'impact environnementale du NanoTiO₂ 21
3. Cas des nanoparticules d'oxyde de fer (NanoFe₂O₃). 22
3.1- Structure des NanoFe₂O₃ 22
3-2- Synthèses des NPs d'oxyde de fer 23
3.3- Propriétés des nanoparticules d'oxyde de fer 24
3.4- Champs d'application des NPs d'oxydes de fer 24
4-Mécanismes de toxicité des nanoparticules deTiO₂, Fe₃O₄ 25
II- Daphnia magna et Ceriodaphnia dubia comme modèles biologiques 27
1. Ceriodaphnia dubia 27
1.1-Morphologies 27
1.2- Cycle de vie de Ceriodaphnia dubia 27
2. Daphnia magna 28
2.1- Description 28
2.2- Morphologie 28
2.3-Anatomies 28
2.4- Développement de la daphnie 30
2.5- Cycle de vie et reproduction de la daphnie 31
3. Ecologie 32
3.1- Écologie générale 32
3.2- Alimentation des daphnies 33
3.3- Locomotion et mobilité 33
3.4- Rôle des daphnies dans l'écosystème 33
3.5- Exigences physico-chimiques 34
3.5.1-Température 34

3.5.2- Salinité 34
3.5.3- Oxygène dissous..... 35
3.5.3- pH et azote..... 35
3.6-Comportement..... 35

CHAPITRE 2 : MATERIELS ET METHODES

1-Matériel 38
1.1- Matériel biologique..... 38
1.1.3- Utilité du choix de Ceriodaphnia dubia et Daphnia magna comme modèles biologiques 39
2. Matériels chimique 40
3- Méthode de travail .....
3.1- Prélèvement des échantillons 41
3.2- Identification des espèces 42
3.2.1-Identification de la famille 42
3.2.2-Identification du genre Ceriodaphnia 42
3.2.3-Identification de l'espèce Ceriodaphnia dubia 42
3.2.4-Identification du genre Daphnia..... 42
3.2.5- Identification de l'espèce Daphnia magna 43
3.4. Méthode d'élevage des daphnies 46
3.5. Tests écotoxicologique 46
4- Présentation générales des travaux 47
4.1- Revue systématique et de la littérature sur l'effet toxique des NPs de TiO_2 et Fe_2O_3 sur divers paramètres physiologiques et comportementaux chez la famille des Daphniïda 47
4.1.1- Procédure de recherche..... ……..47
4.1.1.1- Formulation de la question de la recherche..... 47
4.1.1.2- Recherche et sélection des informations 47
41.1-3- Extraction des donnés 48
4.1.1-3-1- Critères inclusion et exclusion 48
4.1.2.4-Analyse du graphique des bosses 49
4.2- Réponses physiologiques et comportementales de Ceriodaphnia dubia aux nanoparticules de dioxyde de titane et d'oxyde de fer 50
4.2.1- Méthode de culture de C.dubia 50
4.2.2- Protocole expérimentale du test de toxicité chronique 50
3.2.3- Exposition chronique aux NPs TiO_2 et Fe_2O_3 sur les paramètres physiologiques 53

4.2.3.1- Croissance *53*
4.2.3.2- Durée de vie et mortalité *53*
4.2.3.3- Maturation et reproduction *53*
4.2.3.4-Maturation et reproduction de la première génération F1 ..... *54*
4.2.4- Exposition chronique aux nanoparticules TiO_2 et Fe_2O_3 sur les paramètres comportementaux de C. dubia *54*
4.2.4.1-Performance de nage *55*
4.2.4.2- Fréquence cardiaque *55*
4.3-Impact des mixtures de NanoTiO_2 et NanoFe_2O_3 sur le développement de Daphnia magna. *55*
3.3.1- Culture de Daphnia magna *55*
3.3.2-Test d'immobilisation *56*
3.3.3-Design expérimentale (test chronique). *56*
3.3.4- Exposition chronique au mélange TiO_2+Fe_2O_3 sur les paramètres physiologique de D.magna *59*
4.3.4.1- Effet de l'exposition chronique au mélange sur la croissance de D.magna *59*
4.3.4.2- Effet de l'exposition chronique au mélange sur la durée de vie et la mortalité chez D.magna *59*
4.3.4.3- Effet de l'exposition chronique au mélange sur la maturation et la reproduction chez D.magna *59*
4.3.5.1- Performance de nage chez D.magna *60*
4.3.5.2- Rythme cardiaque *60*
5- Analyse statistique *61*

CHAPITRE 3 :RESULTATS

Partie 1 : Revue systématique de la littérature sur l'effet toxique des NPs de TiO_2 et Fe_2O_3 sur divers paramètres physiologiques et comportementaux des Daphniidae. *63*
1- Caractérisation des études évaluées *63*
2. Analyse des graphiques de bosses (Epic Epoch) *65*
3- Nanoparticles de TiO_2 ..... *66*
4- Nanoparticules de Fe_2O_3 ..... *69*
Partie 2 : Partie 2 : Réponse physiologique et comportementale de Ceriodaphnia dubia à l'exposition aux NanoTiO_2 et NanoFe_2O_3 ..... *78*
1- Impact de l'exposition chronique aux NPs de TiO_2 et Fe_2O_3 sur les paramètres physiologiques *78*
1.1- Impact sur la croissance *78*

1.2- Impact sur la durée de vie et mortalité 80
1.3- Impact sur la maturation et reproduction 80
2-Impact de l'exposition chronique au TiO_2 sur la reproduction de F1 C.dubia (Âge de maturation et première génération). 85
3-3- Impact de l'exposition chronique aux TiO_2 et Fe_2O_3 sur les paramètres comportementaux de C.dubia. 87
3.1- Performance de nage et fréquence cardiaque 87
4-Matériel Supplémentaire (Réponses physiologiques et comportementales de Ceriodaphnia dubia aux nanoparticules de dioxyde de titane et d'oxyde de fer. 89
Partie 3 : Impact des mixtures de $NanoTiO_2$ et $NanoFe_2O_3$ sur le développement de Daphnia magna 96
1- Exposition chronique des mixtures de $NanoTiO_2$+ $NanoFe_2O_3$ sur les paramètres physiologique de D.magna 96
1.1- Impact de l'exposition chronique aux mixtures sur la croissance de D.magna 96
1.2- Impact de l'exposition chronique aux mixtures $NanoTiO_2$ + $NanoFe_2O_3$ sur la durée de vie et la mortalité chez D.magna. 97
1.3- Impact de l'exposition chronique aux mixtures $NanoTiO_2$ + $NanoFe_2O_3$ sur la maturation et la reproduction chez D.magna 98
2- Impact de l'exposition chronique aux mixtures $NanoTiO_2$ + $NanoFe_2O_3$ sur le comportement (performance de nage et rythme cardiaque) chez D.magna 103
2.1- Impact de l'exposition chronique aux mixtures $NanoTiO_2$ + $NanoFe_2O_3$ sur les performances en natation. 103
2.1- Impact de l'exposition chronique aux mixtures $NanoTiO_2$ + $NanoFe_2O_3$ sur le rythme cardiaque. 103
3-Matériel Supplémentaire (Impact des mixtures de $nanoTiO_2$ et $nanoFe_2O_3$ sur le développement de Daphnia magna). 105

CHAPITRE 4 : DISCUSSION GENERALE

1-Ceriodaphnia dubia 110
1.1- Réponses physiologiques et comportementales de Ceriodaphnia dubia aux nanoparticules de dioxyde de titane et d'oxyde de fer. 110
2-Daphnia magna 114
2-1.Impact toxique des mélanges de $NanoTiO_2$ et de $NanoFe_2O_3$ sur le développement de Daphnia magna. 114

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Conclusion et perspectives 118

Bibliographies

Article scientipique

les Annexes.

Liste des figures

Figure 1. Comparions de la taille des nanoparticules avec les principales structures chimiques et biologiques [1]. 9

Figure 2. L'approche descendante et l'approche ascendante. 11

Figure 3. Destin, transport et toxicité des Nanoparticules : Leur Impact sur les organismes vivants et les écosystèmes (Mishra & Sundaram, 2023)..... 14

Figure 4. Formule structurelle du dioxyde de Le dioxyde de titane (TiO_2)..... 16

Figure 5. Visualisation graphique de deux formes cristallines de dioxyde de titane (Gaffet et al., 2018) 19

Figure 6. Diagramme représentant les domaines d'application des NanoTiO_2..... 20

Figure 7. Structure de α-Fe_2O_3 (Hématite) (Pourmadadi et al., 2022). 23

Figure 8. Diagramme représentant la méthode de synthèse des NanoFe_2O_3 23

Figure 9. Différentes applications des nanoparticules d'oxyde de fer (Fe_2O_3)..... 25

Figure 10. Diagramme illustrent l'anatomie de D. magna. A : Tractus digestif – B : Cœur – C : Chambre d'incubation – D : Antennes – E : Œil – F : Pattes – G : Carapace [2].. 30

Figure 11. Le cycle de vie de la daphnie. Le cycle de vie est illustré par les étapes (soulignées en rouge) auxquelles l'épigénome est sensible aux signaux environnementaux qui contrôlent la détermination du sexe, l'utilisation du casque et la reproduction sexuelle (Harris et al., 2012). 31

Figure 12. D.magna, ephippium. Les œufs dormants de D.magna apparaissent peu après le décapsulage. L'ephippium (A), la membrane interne de l'œuf (B) et les œufs dormants (C) sont représentés. Échelle: 500 µm (Cambronero & Orsini, 2018). 32

Figure 13. Photo de C.dubia sous microscope (Photo prise par : Amira Chorfi). 38

Figure 14. Photo de D.magna sous microscope intégré (Photo prise par : Amira Chorfi). 39

Figure 15. Les nanoparticules sous forme cristalline. 41

Figure 16. Échantillonnage et transport des daphnies (A), (B), (C) respectivement. 41

Figure 17. Identification de l'espèce C. dubia (Amoros, 1984). 44

Figure 18. Identification de l'espèce D.magna (Amoros, 1984). 45

Figure 19. Dispositif d'élevage des Daphnies……46

Figure 20. Diagramme représentant la procédure de réalisation d'une revue systématique. 47

Figure 21. Design expérimental de l'exposition chronique des NPs TiO_2 et Fe_2O_3 sur les paramètres physiologiques et comportementaux sur C.dubia. 52

Figure 22. Exposition chronique aux nanoparticules de Fe_2O_3 (A) et de TiO_2(B) des femelles de la génération F0 et suivi de la reproduction.. 53

Figure 23. Exposition aux NanoTiO_2 des femelles de la génération F1 et suivi de la reproduction 54

Figure 24. Design expérimental des mixtures de nanoTiO_2+ nanoFe_2O_3 sur les paramètres physiologiques et comportementaux de D.magna. 58

Figure 25. Protocole du Test de toxicité chronique. 59

Figure 26. Microscope couplé à un ordinateur pour la mesure du rythme cardiaque de D.magna. 60

Figure 27. Organigramme du processus de sélection des études selon les normes PRISMA (preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses). 64

Figure 28. Graphique« Epic Epoch » illustrant les mots-clés les plus utilisés dans les articles Scientifiques de 2010 à 2023. 66

Figure 29. Taux de croissance des individus dans les différents groupes pendant la période d'exposition de 21 jours aux NanoTiO_2 et NanoFe_2O_3 aux quatre concentrations testées 79

Figure 30. Effets des différentes concentrations de nano TiO_2 et Fe_2O_3 sur les paramètres individuelles après 21 jours de traitement.. 84

Figure 31. Effets des différentes concentrations de NanoTiO_2 et Fe_2O_3 sur les paramètres individuelles après 21 jours de traitement a) Âge à la maturation, b) Nombre d'œufs lors de la première portée. Les barres d'erreur représentent l'erreur standard. Les moyennes qui sont indiquées par des lettres différentes (a et b) indiquent une différence significative entre les différents traitements, les mêmes lettres désignent une non-significativité (test post-hoc de Tukey, $p < 0,05$)..... 86

Figure 32. Accumulation du Nano-oxyde de fer du nano-oxyde de titane dans le tube digestif de C.dubia. 86

Figure 33. Réponses individuelles à 10 jours d'exposition aux NanoTiO$_2$ et NanoFe$_2$O$_3$ aux quatre concentrations testées. a) Vitesse de nage (mm/min), b) Battements de cœur/min. Les barres d'erreur représentent l'erreur standard. Les moyennes qui sont désignées par des lettres différentes (a, b, c et d) indiquent une différence significative entre les différents traitements, tandis que les mêmes lettres indiquent une non-significativité. 88

Figure 34. Taux de croissance des différents groupes suite au traitement de 21 jours aux mixtures de NanoTiO$_2$ + NanoFe$_2$O$_3$). Les barres d'erreur représentent l'erreur standard. Les moyennes (a, b, c et d) indiquent une différence significative entre les différents traitements les mêmes lettres désignent une non-significativité (test post-hoc de Tukey, p < 0,05) (voir : Matériel supplémentaire, tableau S1)..... 97

Figure 35. Réponses des différents lots de D. magna traités pendant 21 jours aux mixtures de NanoTiO$_2$ et NanoFe$_2$O$_3$. a) Longévité (jours), b) Mortalité, c) Âge à la maturation, d) Nombre d'œufs lors de la première portée. Les barres d'erreur représentent l'erreur standard. Les moyennes sont désignées par des lettres a, b, c et d indiquent une différence significative entre les différents traitements, les mêmes lettres indiquent une non-significativité (test post-hoc de Tukey, p < 0,05)..... 100

Figure 36. Impact du mélange des NPS (TiO$_2$ + Fe$_2$O$_3$) aux différentes concentrations étudiées au 16ème jour d'exposition sur le nombre d'œufs et également sur l'âge de maturation des femelles. 101

Figure 37. Changements de coloration du tube digestif chez D.magna exposés à NanoTiO$_2$ + NanoFe$_2$O$_3$ aux quatre concentrations (C1, C2, C3, C4). 102

Figure 38. Impact des mixtures de NanoTiO$_2$ et NanoFe$_2$O$_3$ aux quatre concentrations sur la vitesse de nage (mm/min),a) vitesse de nage ; b) Battements de cœur/min. Les barres d'erreur représentent l'erreur standard. Les moyennes a, b, c et d indiquent une différence significative entre les différents traitements, Les mêmes lettres indiquent une non-significativité (test post-hoc de Tukey, p < 0,05) (voir : Matériel supplémentaire, tableaux S6, S7)..... 103

Listes des tableaux

Tableau 1. Effet écotoxicologique des nanoparticules sur divers organismes aquatiques d'après (Shanmugam *et al.*, 2024).. 15

Tableau 2: Propriétés physiques et chimiques du Fe_2O_3 (Yassa et Tarzout, 2021) 24

Tableau 3: Les caractéristiques magnétiques des nanoparticules d'oxyde de fer en fonction de leur taille (Yassa et Tarzout, 2021).. 24

Tableau 4: représente les Mécanismes et les effets toxiques des nanoparticules de (TiO_2, Fe_3O_4). 26

Tableau 5 : Informations bibliométriques des revues sélectionnées.. 65

Tableau 6: Effet des nanoparticules de dioxyde de titane TiO_2 et d'oxyde de fer Fe_2O_3 sur les paramètres physiologiques, comportementales et biochimique chez la familles des *Daphniidae* signalés dans des articles de recherche publiés depuis 2000 .....Erreur ! Signet non défini.**71**

Tableau 7: Effet des concentrations de nanoTiO_2 et nanoFe_2O_3 sur le taux de croissance de *C.dubia* évaluée par le modèle mixte linéaire.. 79

Tableau 8 : Effet des concentrations de nanoparticules de TiO_2 et de Fe_2O_3 sur la durée de vie, la mortalité, l'âge de maturation et la reproduction de *C.dubia.* (Modèle à effets mixtes linéaires). 82

Tableau 9: Effet des concentrations des nanoTiO_2 et de nanoFe_2O_3 sur la reproduction (Âge de maturation et première génération F1 de *C. dubia*) (Modèle à effets mixtes linéaires). 85

Liste des Tableau du Matériel Supplémentaire (Réponses physiologiques et comportementales de Ceriodaphnia dubia aux nanoparticules de dioxyde de titane et d'oxyde de fer)

Tableau S1: Statistiques récapitulatives des comparaisons par paires du test de Tukey entre les effets de différentes concentrations de deux nanoparticules TiO_2 et Fe_2O_3 sur le taux de croissance de la longueur corporelle *de C. dubia*.. 89

Tableau S2 : Statistiques récapitulatives des comparaisons par paires entre les effets de différentes concentrations de nanoparticules (TiO_2 et Fe_2O_3) sur la durée de vie de *C. dubia* par le test de Tukey. 90

Tableau S3 : Statistiques récapitulatives des comparaisons par paires entre les effets de différentes concentrations de nanoparticules (TiO_2 et Fe_2O_3) sur le taux de mortalité de *C. dubia* par le test de Tukey..... 91

Tableau S4 : Statistiques récapitulatives des comparaisons par paires entre les effets de différentes concentrations de nanoparticules TiO_2 et Fe_2O_3 sur l'âge à la maturation de *C. dubia* par le test de Tukey..... 91

Tableau S5: Statistiques récapitulatives des comparaisons par paires entre les effets de différentes concentrations de nanoparticules TiO_2 et Fe_2O_3 sur le nombre d'œufs lors de la première portée de *C. dubia* par le test de Tukey.. 92

Tableau S6: Statistiques récapitulatives des comparaisons par paires entre les effets de différentes concentrations de nanoparticules TiO_2 et Fe_2O_3 sur la performance de nage de *C. dubia* par le test de Tukey..... 93

Tableau S7 : Statistiques récapitulatives des comparaisons par paires entre les effets de différentes concentrations de nanoparticules (TiO_2 et Fe_2O_3) sur la fréquence cardiaque de *C. dubia* par le test de Tukey. 94

Tableau S8 : comparaisons par paires entre les effets des différentes concentrations de NPs (TiO_2) sur l'âge de maturation de *C. dubia* F1 par le test de Tukey.. Erreur ! Signet non défini.**95**

Tableau S9: Statistiques récapitulatives des comparaisons par paires entre les effets de différentes concentrations de nanoparticules (TiO_2) sur le nombre d'œufs de *C. dubia* F1 par le test de Tukey. 95

Tableau 10 : Impact des concentrations de (nanoparticules mixtes) sur le taux de croissance de la longueur *de D. magna*... 96

Tableau 11: Impact des concentrations de nanoparticules mixtes sur la durée de vie, la mortalité, l'âge de maturation et la reproduction de D. magna (modèle à effets mixtes linéaires généralisés).. 98

Liste des Tableau du Matériel Supplémentaire (Impact des mixtures de NanoTiO$_2$ et NanoFeO$_3$ sur le développement de Daphnia magna).

Tableau S1 : Impact des différentes concentrations de NPs sur le taux de croissance de la longueur corporelle de *D. magna* calculé par le test de Tukey..... 105

Tableau S2 : Statistiques récapitulatives des comparaisons par paires entre les effets de différentes concentrations de deux nanoparticules TiO_2 et Fe_2O_3 sur la durée de vie de *C. dubia* par le test de Tukey. 105

Tableau S3: Statistiques récapitulatives des comparaisons par paires du test de Tukey entre les effets des différentes concentrations de NPs sur le taux de mortalité de *D.magna*.. 106

Tableau S4: Statistiques récapitulatives des comparaisons par paires du test de Tukey entre les effets des différentes concentrations de NPs sur l'âge de maturation de *D.magna*. 106

Tableau S5: Statistiques récapitulatives des comparaisons par paires du test de Tukey entre les effets des différentes concentrations de NPs sur le nombre d'œufs lors de la première portée de *D.magna*. 107

Tableau S6: Statistiques récapitulatives des comparaisons par paire du test de Tukey entre les différentes concentrations d'effets des NP sur les performances de nage de *D.magna*.. 107

Tableau S7 : Statistiques récapitulatives des comparaisons par paires du test de Tukey entre les effets des différentes concentrations de NPs sur le rythme cardiaque de *D.magna* 108

Listes des symboles et abréviations

*** indique une probabilité significative

*** $p < 0.001$.

** $p < 0.01$.

* $p \leq 0.05$.

Ag NPs : Nanoparticules d'argent.

Ag: Argent.

Ag+ : Ion d'argent.

Al_2O_3- NPs : Nanoparticules d'Oxyde d'aluminium.

ANOVA : Analyse de la variance.

As NPs : Nanoparticles arsenic.

BPCO : Bronchopneumopathie chronique obstructive.

***C.dubia*:** *Ceriodaphnia dubia*.

CL50 : Concentration létale 50.

Cu: cuivre.

D.magna *: Daphnia magna.*

DL 50 : Dose létale 50.

EC50 : Concentration efficace médiane.

Fe_3O_4: Magnetite.

GLMER : Modèles linéaires mixtes généralisés

IARC : Centre international de recherche sur le cancer.

IRM : imagerie par résonance magnétique.

L : litre.

LBEE : Laboratoire de Biologie, Eau et Environnement.

LC : longueur corporelle.

LMER : Modèle Linéaire Mixte.

Mg/l : milligramme par litre.

ml : millilitre.

mm : millimètre.

nm : nanomètre.

NPs : Nanoparticles.

NPs-OxFe : Les nanoparticules d'oxyde de fer.

NanoTiO_2 : nanoparticules de dioxyde de titane

NanoFe_2O_3 : nanoparticules d'oxyde de fer

O : Oxygène.

OCDE : Organisation de coopération et de développement économiques.

PE : Pollutants émergents.

pH : Potential hydrogène.

PRISMA: éléments de rapport préférés pour les revues systématiques et les méta-analyses.

PUF : particules ultrafines.

ROS : *reactive oxygen species* (espèces réactives de l'oxygène ou en français ERO).

SE : erreur standard.

SAMNs : nanoparticules de surface modifiée.

T(C°) : Température.

Ti: Titanium.

$TiFeO_3$: Ilmenite

TiO_2: Dioxyde de titane

tr/min ou tr min^{-1} : est une unité pour mesurer une vitesse de rotation.

ZnO : Oxyde de zinc.

α-Fe_2O_3 : hématite.

γ-Fe_2O_3: maghémite.

Introduction générale

Introduction générale :

Le développement des activités humaines, en particulier dans les secteurs industriel et agricole, ainsi que la croissance démographique, entraînent une utilisation croissante de produits chimiques. Un nombre important de ces substances, connues sous le nom de « polluants émergents », ont été détectées dans diverses matrices environnementales, telles que l'air, l'eau et le sol (Mboula, 2012). Le terme « polluant émergent » fait référence à des substances chimiques ou biologiques qui ne font pas l'objet d'une réglementation spécifique et qui se caractérisent par un manque d'informations ou de données. Cette catégorie englobe les stéroïdes, les médicaments, les produits de dégradation, les détergents, les désinfectants, les phthalates, les retardateurs de flamme, les antioxydants et les nanoparticules. Ces composés sont susceptibles de perturber les systèmes endocriniens et ont été associés à des effets néfastes sur la santé humaine et les écosystèmes (Baran *et al.*, 2013).

Les nanotechnologies annoncent une nouvelle révolution susceptible de transformer une multitude de domaines, notamment l'ingénierie mécanique, la médecine et l'industrie alimentaire (Chellaram *et al.*, 2014). Les nanotechnologies sont un domaine interdisciplinaire qui englobe une gamme variée de techniques et d'outils permettant d'étudier et de traiter les phénomènes à l'échelle nanométrique. L'objectif de ce domaine scientifique et technique est de concevoir, fabriquer et utiliser des matériaux, des structures, des dispositifs et des systèmes en exploitant ces phénomènes (Chellaram *et al.*, 2014). Le concept de nanotechnologie a été introduit pour la première fois par le physicien Richard Feynman en 1959 lors d'une conférence consacrée à la production d'objets atomiques et moléculaires. Elles sont largement considérées comme l'une des technologies les plus prometteuses du XXI ème siècle, avec des applications dans la recherche médicale et le potentiel de stimuler la croissance économique, de créer des emplois et de renforcer la capacité industrielle. En outre, elles jouent un rôle crucial dans le bien-être de la société et pourraient transformer profondément notre vie quotidienne (Haleem *et al.*, 2023).

Le domaine des nanotechnologies porte sur l'analyse et la manipulation de la matière à l'échelle atomique et moléculaire. L'accent est mis sur les matériaux dont les dimensions sont comprises entre 1 et 100 nanomètres (Archana *et al.*, 2013).

Les nanoparticules sont considérées comme des entités autonomes dotées de propriétés spécifiques et d'activités chimiques et biologiques optimisées. Les

nanomatériaux sont classés en fonction de leur taille, de leur structure et de leurs caractéristiques, et présentent des propriétés physicochimiques exceptionnelles (Sahoon *et al.*, 2021).

L'utilisation de nanoparticules manufacturées est répandue dans de nombreux produits à travers le monde. Cependant, les impacts de ces nanoparticules sur les organismes vivants et l'environnement restent peu connus (Gökçe *et al.*, 2018). Le dioxyde de titane (TiO_2) et l'oxyde de fer (Fe_2O_3) font partie des nanoparticules métalliques fréquemment utilisées dans divers domaines.

Les nanoparticules d'oxyde de titane (TiO_2) sont largement utilisées en raison de leurs propriétés thermiques, optiques, électriques et magnétiques. Cette poudre blanche, stable, opaque et hydrophobe est très appréciée comme matériau semi-conducteur en raison de son prix abordable et de sa stabilité chimique. On les trouve dans une variété de produits, y compris le dentifrice, les peintures et les plastiques. En outre, les nanoparticules de TiO_2 s'avèrent efficaces en tant que capteurs solaires et photo catalyseurs, contribuant à la production d'hydrogène et à la dégradation des composés chimiques nuisibles dans l'eau (Verma *et al.*, 2022). L'émission et l'accumulation de nanoparticules de TiO_2 provenant de divers produits, notamment des peintures, des cosmétiques, des écrans solaires et des additifs alimentaires, dans l'environnement, en particulier dans les écosystèmes aquatiques, peuvent avoir des effets néfastes sur ces écosystèmes et les organismes qui y vivent. (Chorfi *et al.*, 2024), Cela peut également affecter les algues (Wang *et al.*, 2016) ; les bactéries d'eau douce (Farkas *et al.*, 2015) ; le poisson-zèbre (Jafari *et al.*, 2022) et les puces d'eau (Lucca *et al.*, 2018) (Galhano *et al.*, 2022) (Tan *et al.*, 2016), (Hu *et al.*, 2012)

Les nanoparticules d'oxyde de fer, notamment la maghémite (Fe_2O_3) et la magnétite (Fe_3O_4), ont une multitude d'applications dans divers domaines tels que le stockage magnétique, l'industrie chimique, les processus de purification de l'eau et la médecine. Ils sont particulièrement appréciés comme agents de contraste dans l'imagerie par résonance magnétique (IRM) en raison de leur biocompatibilité et de leurs propriétés magnétiques. Toutefois, leur utilisation suscite des inquiétudes en matière de biocompatibilité et de biosécurité. Il est donc impératif de tenir compte de ces aspects lors de leur application dans divers contextes (Besnaci *et al.*, 2016).

L'état actuel des connaissances concernant la toxicité des nanoparticules (NPs) en constante évolution grâce à des avancées significatives dans la recherche scientifique. C'est dans ce sens qu'un certain nombre d'études ont indiqué que l'exposition à ces particules peut avoir des effets néfastes sur la santé humaine et animale, ainsi que sur l'environnement. À l'heure actuelle, il n'existe aucune réglementation régissant leur utilisation ou évaluant leur impact à long terme. Il est donc impératif de réaliser des tests d'écotoxicité afin d'évaluer les risques associés aux NPs dans les différents compartiments de l'environnement, notamment l'air, le sol et l'eau(Besnaci, 2016).

Bien que la toxicité des nanomatériaux individuels soit connue, celle des composants mixtures et mélanges n'est pas bien comprise. Il est important d'évaluer la toxicité pour déterminer s'il est possible de prédire leur comportement et leur toxicité en se basant sur leurs composants individuels ou s'ils présentent un schéma de toxicité différent en raison de leurs interactions potentielles avec les compartiments biotiques, ainsi les notions de synergie, d'effet additif ou antagoniste doivent être explorés (Azevedo *et al.*, 2017).

Les nanoparticules exercent aussi une influence significative sur la dynamique des populations aquatiques en modifiant des facteurs essentiels tels que la mortalité, la durée de vie, la reproduction et les comportements des organismes. L'analyse de ces différentes phases de vie est fondamentale pour prédire la croissance des populations et anticiper leur évolution future. Les *daphnies*, en tant que consommateurs primaires, se révèlent particulièrement sensibles aux polluants, occupant ainsi une position cruciale au sein des écosystèmes aquatiques (Schindler, 1987).

Dans ce travail de recherche, nous avons recherché les effets des NPs d'oxyde de titane et d'oxyde de fer, en tant que substance isolée et en combinaison, sur les paramètres physiologiques et comportementaux de deux petits crustacés d'eau douce, *Ceriodaphnia dubia* et *Daphnia magna*. Ces espèces sont couramment utilisées dans les études éco toxicologiques pour évaluer les risques écologiques associés à la contamination de l'eau, y compris ceux liés aux métaux lourds, aux pesticides, aux herbicides, aux produits pharmaceutiques et aux nanoparticules (Handy *et al.*,2008). Le genre *Daphnia* est très recommandé par les scientifiques pour effectuer rapidement des tests de toxicité sur plusieurs générations en raison de:

a) son cycle de vie court ;

b) sa sensibilité ;

c) sa facilité d'utilisation et

d) sa pertinence écologique,

Qui en font un outil précieux pour évaluer les effets des contaminants sur les écosystèmes aquatiques. Les données sur la toxicité des *daphnies* sont utilisées dans les évaluations des risques environnementaux et les processus décisionnels et réglementaires qui en découlent (Ahmed, 2023).

L'objectif de ce travail de thèse vise :

1. En premier lieu, à la réalisation d'une revue de la littérature sur l'effet des NPs de TiO_2 et de Fe_2O_3 sur la survie des *Daphniidae* à travers divers paramètres physiologiques, tels que la mortalité, l'immobilisation, la croissance, la reproduction, les facteurs de bioaccumulation et la capacité d'absorption. Cette revue examinera également des paramètres comportementaux, comme la performance de la nage ainsi que d'autres paramètres métaboliques, tels que la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) chez les *Daphniidae*.

2. En deuxième lieu, l'étude porte sur l'effet à long terme des nanoparticules d'oxyde de titane (TiO_2) et d'oxyde de fer (Fe_2O_3) sur le cycle de vie du crustacé d'eau douce *Ceriodaphnia dubia*, afin de déterminer leur effet toxique sur les paramètres physiologiques (mortalité, durée de vie, croissance et reproduction : âge de maturation et nombre d'œufs) ainsi que sur les paramètres comportementaux.

3. En troisième lieu, nous avons réalisé une évaluation de la toxicité des nanoparticules d'oxyde de titane (TiO_2) sur les paramètres de reproduction de la première génération (F1) chez *C. dubia*.

4. Enfin, la quatrième partie du travail est consacrée à l'évaluation à court et à long terme d'un mélange de deux nanoparticules ($TiO_2 + Fe_2O_3$) sur le crustacé d'eau douce *Daphnia magna*, afin de déterminer les concentrations critiques et d'évaluer la toxicité des mélanges sur les paramètres physiologiques (mortalité, durée de vie, croissance et reproduction : âge de maturation et nombre d'œufs) ainsi que sur les paramètres comportementaux (performance de nage et fréquence cardiaque).

Ce document comporte quatre chapitres.

Le premier chapitre du manuscrit constitue d'une analyse bibliographique intégrant

1- Des généralités sur les nanoparticules en particulier les NPs de TiO_2 et les NPs de Fe_2O_3 leur origine, leur utilisation et leur effet toxicologique sur les organismes aquatiques.

2- La biologie et l'écologie des modèle biologiques : *Daphnia magna* et *Ceriodaphnia dubia.*

Le deuxième chapitre décrit les matériaux et méthodes utilisés dans cette recherche. Cette section détaille les travaux réalisés, notamment :

1- Revue systématique de littérature sur l'effet toxique des NPs de TiO_2 et Fe_2O_3 sur divers paramètres physiologiques et comportementaux chez la famille des *Daphniidae*.

2- Réponses physiologiques et comportementales de *Ceriodaphnia dubia* aux nanoparticules de dioxyde de titane et d'oxyde de fer.

3- Effets sur le développement de *Daphnia magna* induits par des mélanges de dioxyde de titane et d'oxyde de fer.

Le troisième chapitre : les résultats qui sont eux même regroupés en trois parties :

- La première partie consacrée à l'analyse el l'interprétation de la revue de la littérature sur l'effet de nanoTiO_2 et de nanoFe_2O_3 sur divers paramètres physiologiques et comportementales des *daphnéidées*.

- La deuxième est destiné à déterminer les effets TiO_2 et de Fe_2O_3 à long terme sur le paramètre physiologique et comportementale de *Ceriodaphnia dubia.* En fin, une évaluation à cours et à long terme des effets toxicologique d'un mélange binaire des deux NPs (TiO_2 +Fe_2O_3), sur les paramètres physiologique et comportementale de *D.magna.*

-En fin, le chapitre quatre est consacré à, une discussion générale suivie de la conclusion générale et les perspectives de l'étude.

Chapitre 1 :
Analyse bibliographique

I. Les Polluants Émergents (PE)

Les polluants émergents (PE) sont des composés qui sont soit fabriqués chimiquement, soit présents naturellement dans l'environnement, mais qui ont le potentiel de le contaminer et de créer des impacts néfastes, inconnus ou suspectés, sur la santé écologique et (ou) humaine. Les émissions de polluants dans l'environnement peuvent avoir eu lieu depuis un certain temps dans certaines circonstances, mais elles n'ont peut-être pas été détectées jusqu'à l'adoption de technologies de détection améliorées. Dans d'autres cas, de nouvelles sources de pollution peuvent émerger en raison de la synthèse de nouveaux composés chimiques, ainsi que de changements dans l'utilisation et l'élimination des substances chimiques existantes (Geissen *et al.*, 2015). Les nanoparticules sont l'un des polluants émergents les plus préoccupants qui sont devenus une préoccupation mondiale.

1. Les Nanoparticules : aspects généraux

1-1- Apparition des nanomatériaux et des nanotechnologies

L'application des nanomatériaux a une longue histoire, les humains les ayant utilisés sans le savoir à diverses fins. Par exemple, il y a environ 4 500 ans, les humains employaient des nanofibers d'amiante pour renforcer des mélanges céramiques (Heiligtag et Niederberger, 2013) De plus, il y a environ 4 000 ans, les anciens Égyptiens étaient conscients des nanoparticules de PbS et les incorporaient dans une formulation ancienne de teinture capillaire (Walter *et al.*, 2006).

En 1914, Richard Adolf Zsigmondy a introduit le terme « nanomètre » lors de son discours à la conférence annuelle de la Société américaine de physique. En 1959, le physicien américain et lauréat du prix Nobel Richard Feynman a établi le concept particulier de la nanotechnologie, qui est considéré comme la première discussion académique sur le sujet (Santamaria, 2012).

Le terme « nanotechnologie » a probablement été introduit pour la première fois par Norio Taniguchi en 1974. Taniguchi a défini la nanotechnologie comme étant « principalement concernée par le traitement, la séparation, la consolidation et la déformation des matériaux en utilisant alternativement un atome ou une molécule. » (Singh *et al.*, 2008).

La nanotechnologie est un excellent exemple d'une technologie émergente ayant la capacité de produire des nanomatériaux techniques qui ont le potentiel d'améliorer de manière significative la qualité des produits. La possibilité de produire des biens avec des performances nettement supérieures est l'un des principaux avantages de cette technologie. Actuellement, les nanomatériaux jouent un rôle commercial dans les peintures anti-rayures, les revêtements de surface, l'électronique, les cosmétiques, la dépollution environnementale, les équipements sportifs, les capteurs et les dispositifs de stockage d'énergie (Baig *et al.*, 2021).

1.2- Une nanoparticule : qu'est-ce que c'est ?

Une nanoparticule est généralement définie par sa taille, qui doit être comprise entre 1 et 100 nm dans les trois dimensions. La définition plus précise du décret n° 2012-232 du 17 février 2012 (http://www.legifrance.gouv) considère une substance sous forme nano particulaire comme étant « une substance telle que définie à l'article 3 du règlement (CE) n° 1907/2006, intentionnellement fabriquée à l'échelle nanométrique, contenant des particules, non liées ou sous forme d'agrégats ou d'agglomérats, dont une proportion minimale des particules, dans la distribution par taille numérique, présente une ou plusieurs dimensions externes comprises entre 1 et 100 nm » (Verry *et al.*, 2019).

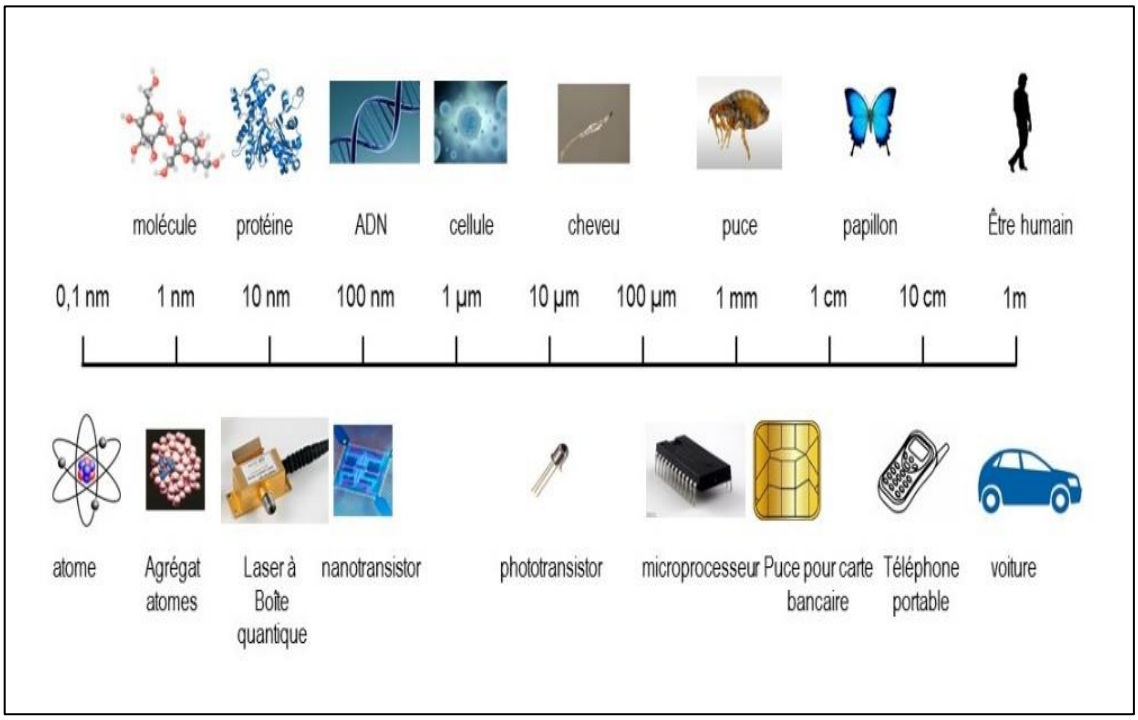


Figure 1. Comparions de la taille des nanoparticules avec les principales structures chimiques et biologiques [1].

1.3-Sources des Nanoparticules (NPs)

Selon Gigault (2017) ,les nanoparticules sont naturellement présentes dans l'environnement (fumée des volcans, par exemple), mais elles sont également fabriquées et utilisées dans de nombreux domaines. Il existe trois types, en fonction de leur origine :

1.3.1-Sources naturelles de nanoparticules :

La majorité de ces nanoparticules sont produites par la nucléation et la condensation de gaz et de vapeurs dans l'atmosphère, ce qui peut se produire à la suite de phénomènes naturels tels que les incendies et les éruptions volcaniques.

1.3.2-Sources anthropiques de nanoparticules produites de manière non intentionnelle :

Les particules ultrafines (PUF) constituent une préoccupation croissante en matière de santé publique, en particulier dans les environnements urbains, et résultent de processus thermiques tels que le soudage ou la combustion des moteurs (pollution, émissions de diesel, diverses combustions, etc.). La composition de ces particules, riches en suie fine, a été liée à une augmentation des problèmes de santé cardio-respiratoire, notamment l'asthme et la Broncho pneumopathie obstructive chronique « BPCO ». Cela est considéré comme étant dû à leurs effets inflammatoires et pro-thrombotiques.

1-3-3-Sources anthropiques de nanoparticules intentionnelles :

L'avènement des nanotechnologies a précipité une augmentation de la fabrication de nanoparticules métalliques (NPM), qui présentent des propriétés distinctives. Cela a donné lieu à un phénomène mondial, accompagné d'une augmentation concomitante des investissements dans ce domaine. Il est crucial de distinguer entre les nanoparticules et les particules ultrafines (PUF), car les premières ont une taille et une composition chimique définies, contrairement aux PUF, qui présentent une large distribution de taille et une composition complexe. Cette catégorie de nanoparticules est produite par l'industrie ou dans des laboratoires de recherche.

1.4- Approche de synthèse des nanoparticules

Il existe deux approches utilisées pour synthétiser des nanoparticules :

1.4.1- L'approche de haut en bas :

Cette méthode est capable de convertir des quantités substantielles de matière en vrac en particules de dimensions nanométriques. Malgré la simplicité des approches descendantes, elles ne conviennent pas à la production de formes irrégulières, ainsi que de formes à la fois irrégulières et extrêmement petites. Le principal inconvénient de cette méthode est la difficulté d'obtenir des données précises concernant la taille et la forme des particules (Abid *et al.*,2022).

1.4.2- L'approche ascendante :

Le terme « approche ascendante » est également utilisé pour décrire une méthode constructive, qui est l'inverse de l'approche descendante. Cette méthode est utilisée pour créer des nanoparticules à partir de substances relativement simples. Les exemples suivants illustrent les méthodes ascendantes : dépôt chimique en phase vapeur (CVD), sol-gel, rotation, pyrolyse et synthèse biologique (Ijaz *et al.*, 2020).

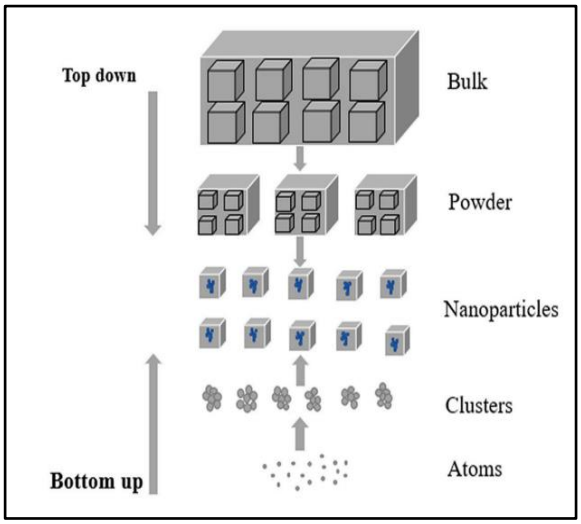


Figure 2. L'approche descendante et l'approche ascendante.

1.5- Classification des nanoparticules.

Selon l'étude de Davies (2007),D'un point de vue chimique, les NPs peuvent être classées en quatre catégories principales :

- **Matériaux à base de métaux :** Matériaux contenant un élément métallique chimique. Exemple : points quantiques ; nanoparticules d'or/argent NPs d'oxyde métallique (dioxyde de zinc, cérium ou titane).
- **Matériaux à base de carbone** : ayant une forme sphérique ou tubulaire. Exemple : fullerènes ; nanotubes de carbone à paroi unique ; nanotubes de carbone à parois multiples.

- **Dendrimères :** Polymères ramifiés avec des cavités internes vides. Exemple : des nanocomposites d'argent ont été créés en chargeant des nanoparticules d'argent (Ag NPs) dans des dendrimères de poly-amido amine de basse génération.
- **Matériaux composites** matériaux obtenus par la combinaison de nanoparticules (NPs) avec d'autres matériaux à l'échelle nanométrique, comme des nanoparticules de silice mésoporeuse associées au gadolinium ou au manganèse, utilisés dans des applications d'imagerie par résonance magnétique.

1.6- Impacts toxicologiques des nanoparticules

L'évaluation des risques associés aux nanomatériaux a historiquement été fondée sur des données toxicologiques provenant de matériaux de plus grande taille, tels que le dioxyde de titane en poudre, sans tenir compte des différences potentielles de toxicité liées à la taille des particules. Par ailleurs, la méthode de production descendante des nanomatériaux présente des limitations en ce qui concerne le contrôle de la taille et de la morphologie des particules. Il est donc impératif de réaliser des évaluations spécifiques des risques pour la santé humaine et l'environnement, en intégrant les caractéristiques distinctives des nanomatériaux (Yuan *et al.,* 1999). Néanmoins, la communauté scientifique ainsi que les organisations environnementales plaident en faveur d'un moratoire sur les nanotechnologies en raison des risques toxicologiques non identifiés associés aux nanomatériaux. Il est impératif d'évaluer les dangers potentiels que ces matériaux peuvent représenter pour la santé humaine et l'environnement, à mesure que les avancées en nanotechnologie se poursuivent (Perreault, 2012).

1.6.1- Modes de transport des Nanoparticules à travers les systèmes aquatiques

Les nanoparticules pénètrent dans les systèmes aquatiques par divers mécanismes, notamment par dépôts atmosphériques, effluents, décharges, ruissellement, ainsi que par le biais de systèmes fluviaux. Leur comportement dans ces milieux est conditionné par leur état, qu'il soit dissous (colloïdal) ou sous forme particulaire, résultant de processus tels que la floculation ou l'adsorption. En raison de leur taille réduite et de leur capacité à interagir avec l'environnement, les nanoparticules présentent une réactivité élevée face aux variations des conditions environnementales, telles que la salinité, le potentiel redox et l'exposition à la lumière (Schäfer *et al.,*2014). Cependant, en raison d'un déficit d'observations, la réactivité environnementale des nanoparticules et les effets qui en

découlent restent largement méconnus. Selon un rapport de L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail de l'Anses (2014) , seulement 6 à 8 % des publications scientifiques sur les nanoparticules manufacturées traitent de leur impact environnemental potentiel.

1.6.2-Comportement et sort environnemental des nanoparticules.

Le développement des nanotechnologies entraîne une augmentation de la présence de nanomatériaux dans l'environnement, ce qui rend impérative l'évaluation de leurs impacts écologiques. Il est crucial d'analyser divers facteurs, tels que les sources d'émission, le transfert, le stockage, les espèces cibles et leurs interactions, ainsi que les effets sur les populations exposées. Une attention particulière doit être accordée au cycle de vie des nanomatériaux afin d'évaluer de manière fiable les risques environnementaux, car leur libération est étroitement liée à leur stade dans ce cycle (TALEB, 2020) .Comme le démontre la recherche de (Navarro *et al.,* 2008) des quantités substantielles de nanoparticules de dioxyde de titane sont transportées des peintures de façade extérieures vers les eaux de surface. Cela s'est produit dans des conditions météorologiques naturelles. De plus, il a été estimé que le fait de prendre une douche ou de nager libère 75 à 95 % des nanomatériaux contenus dans les cosmétiques et les écrans solaires (tels que le TiO_2 et le ZnO) dans l'environnement. Les exemples mentionnés ci-dessus illustrent que la libération involontaire de nanomatériaux dans l'environnement peut entraîner leur dispersion dans divers compartiments, certains s'accumulent et peuvent potentiellement exposer la population générale.

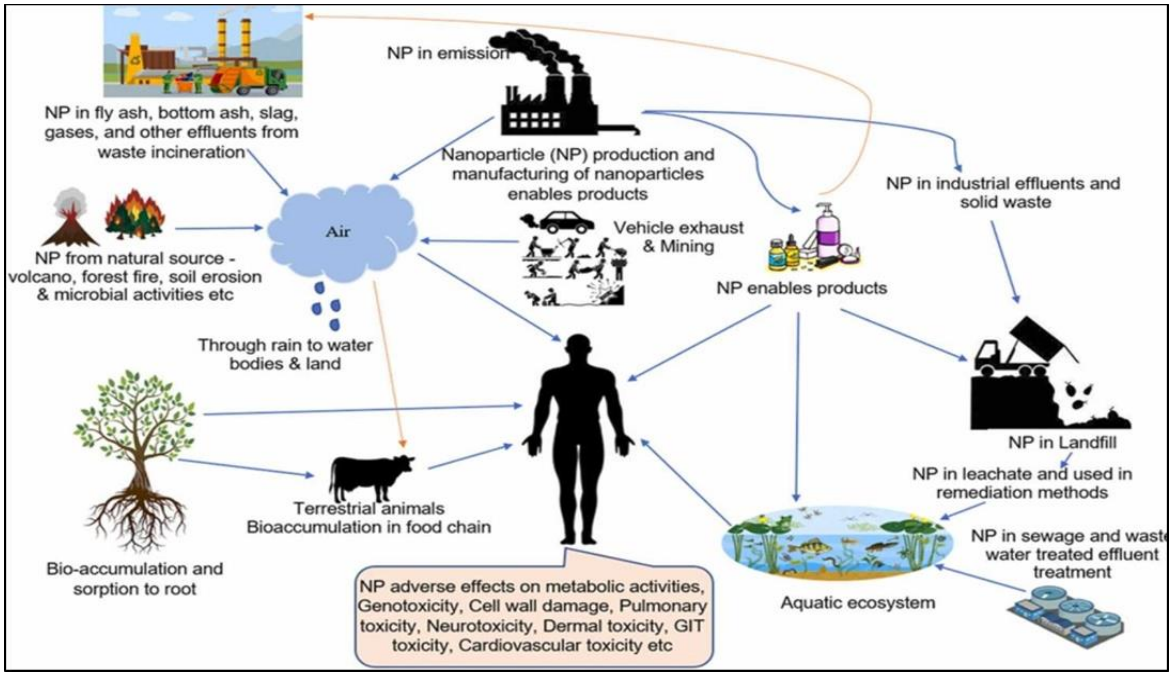


Figure 3. Destin, transport et toxicité des Nanoparticules : Leur Impact sur les organismes vivants et les écosystèmes (Mishra et Sundaram, 2023).

1.6.3-Risque de contamination des organismes vivants

La toxicologie des nanoparticules (NPs) dans les environnements aquatiques est un phénomène complexe. Tout d'abord, la stabilité et la biodisponibilité des NPs dans l'environnement sont significativement influencées par la taille, la forme et la chimie des particules, ainsi que par la présence d'agents de blocage. Les principales méthodes de contamination des organismes aquatiques sont les suivantes :

- Adsorption de surface (cellule, organe, corps)
- Internalisation cellulaire
- Dissolution des NPs en leurs versions ioniques
- Effets nano-mécaniques.

La capacité d'agrégation NPs les rend directement accessibles à la macrofaune, mais leur capacité d'adsorption permet aux microorganismes de contaminer des organismes plus grands. Selon des études menées sur des mésocosmes simples, les bivalves et les biofilms sont les principaux accumulateurs de NPs. Cependant, des recherches effectuées au Québec ont montré que les nanoparticules de certains métaux sont moins nocives que leurs formes ioniques (Schäfer *et al.*,2014)

Tableau 01 . Effet écotoxicologique des nanoparticules sur divers organismes aquatiques d'après (Shanmugam *et al.*, 2024).

Types de NPs	**Organismes aquatiques**	**Noms communs des espèces**	**Effet éco toxicologique sur les organismes aquatiques**	**Références**
As-NPs	*Labeo rohita*	*Labéo Roho*	Lésions du foie, des branchies et des reins	(Raza *et al.*, 2021)
TiO_2	Bacterium *Bacillus thuringiensis.*	DiPel et Thuricide	Viabilité, génération de ROS, activité enzymatique, absorption/augmentation de Cu	(Li *et al.*, 2022)
	Zebrafish larvae	Le Poisson-zèbre ou Petit danio	Mortalité, taux de malformation, aucun effet ; locomotion / diminution ; bioaccumulation et d'épuration.	(Chen *et al.*, 2019)
	Water fleas, Daphnia magna, Tegillarca granola	Puces d'eau, *Daphnia magna*, palourde de granola	Bioaccumulation et stress oxydatif/Augmentation. Dommages intestinaux importants.	(Liu *et al.*, 2019)
	Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*)	Le tilapia du Mozambique O	Les NPs de TiO_2 étaient neurotoxiques pour la palourde, comme l'indiquent les concentrations accrues de neurotransmetteurs, ainsi que l'expression régulée à la baisse des gènes liés aux neurotransmetteurs.	(Guan *et al.*,2018)
	Oreochromis mossambicus	Le tilapia du Mozambique O	Génotoxicité stimulée par les TiO_2-NPs	(Shahzad *et al.*, 2022)
Al_2O_3-NPs	*Nile tilapia, Oreochromis niloticus*	Tilapia du Nil	Modification des paramètres de stress oxydatif, des protéines de stress et des paramètres de génotoxicité.	(Temiz et Kargın, 2022)
Ag	N-related microbial community	Communauté microbienne liée à l'azote	Des activités enzymatiques perturbées ont été observées après l'application de NPs d'Ag.	(Huang *et al.*, 2019)

ZnO	*Oreochromatis niloticus*	Le tilapia du Nil	Il peut affecter les fonctions rénales et hépatiques	(Chupani *et al.*, 2018)
Cu	*Rutilusrutilus caspicus*	Rougeau du Caspien	Changements histologiques dans les reins et le foie	(irkarimi *et al.*, 2017)

2. Cas des nanoparticules d'oxyde de titane (NPs TiO_2).

2.1- Définition

Le dioxyde de titane (TiO_2), composé d'oxygène et de titane, se présente naturellement sous forme minérale et nécessite un processus chimique pour sa purification. Classé parmi les oxydes de métaux de transition, il est principalement utilisé comme pigment blanc dans une variété de produits, notamment les peintures, les plastiques et les papiers, ainsi que comme additif dans les aliments et les médicaments. Découvert en 1791, il est l'un des oxydes de titane les plus répandus sur la planète. Ses propriétés photo catalytiques, reconnues depuis 1956, ont été mises en évidence par Fuji Hima en 1969. Actuellement, plus de 10 000 publications scientifiques sur le dioxyde de titane sont publiées chaque année, en raison de ses nombreux avantages, tels que son faible coût, sa stabilité chimique et sa biocompatibilité (Bouteraa, 2023).

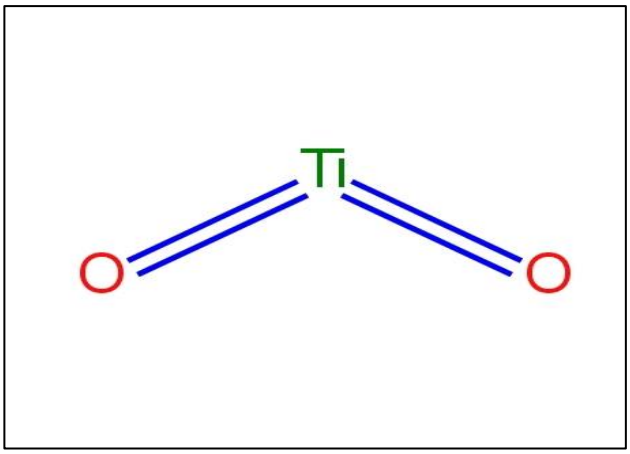


Figure 4. Formule structurelle du dioxyde de Le dioxyde de titane (TiO_2).

2.2-Origine du TiO_2

Le dioxyde de titane (TiO_2) (numéro CAS 13463-67-7) est l'oxyde de titane naturel (Ti), qui est le neuvième élément chimique le plus abondant dans la croûte terrestre, après l'hydrogène et le magnésium, avec un pourcentage de 0,6 %. Le TiO_2 est utilisé dans une

variété d'applications industrielles et est extrait de dépôts comprenant différentes formes minérales de titane. Un composé hautement inerte peut être extrait des minerais par le biais de traitements à base de chlorure ou d'acide sulfurique. Bien que le rutile soit un minéral relativement rare, il contient la plus forte proportion de TiO_2 de tous les minerais, soit 85-90 %. Le $TiFeO_3$, communément désigné sous le nom de limonite, est un minéral que l'on trouve dans les roches dures ainsi que dans le sable de plage. Bien que le rutile, qui renferme entre 85 et 90 % de TiO_2, soit relativement rare, le dioxyde de titane utilisé dans les produits de consommation provient principalement d'autres minerais plus abondants, tels que la leucoxène et l'ilménite, dans lesquels le TiO_2 résulte de processus de dégradation naturelle. Les principales réserves mondiales de titane est d'ilménite, se trouve principalement en Afrique du Sud, en Australie et au Canada. La majorité (95 %) du pigment TiO_2 utilisé aujourd'hui provient de ce minéral, par rapport à 13 % qui est extrait directement du rutile (Dorier, 2016) .

2-3- Méthodes de synthèse du TiO_2

Les nanoparticules de dioxyde de titane ($NanoTiO_2$) présentent un polymorphisme, affichant trois structures cristallines principales : l'anatase (indice de réfraction 2,49), la brookite (2,58) et le rutile (2,61). La synthèse peut être réalisée par le biais d'une gamme de techniques physiques, chimiques et biologiques (Alabdallah *et al.*, 2024).

2-3-1- Méthodes de synthèse physique :

Le procédé de synthèse des nanoparticules de TiO_2 repose sur une diversité de techniques physiques. Les méthodes dites « top-down » englobent des procédés tels que la lithographie, l'ablation laser, le dépôt par pulvérisation et la gravure électrochimique, ainsi que des techniques novatrices comme le broyage à haute énergie et la pyrolyse par pulvérisation ultrasonique. En revanche, les approches « bottom-up » se concentrent sur la fabrication de nanomatériaux à partir d'atomes ou de molécules, en recourant à des techniques telles que le broyage à billes et la lithographie (Alabdallah *et al.*,2024).

2-3-1- Méthode de synthèse chimique :

Les méthodes de synthèse des $NanoTiO_2$ comprennent le sol-gel, la solvo-thermique, la co-précipitation et l'hydrothermale. Les méthodes chimiques permettent un contrôle précis des caractéristiques, mais sont coûteuses et présentent des risques d'écotoxicité. La méthode sol-gel, en revanche, est plus simple, économique et implique des étapes

d'hydrolyse, de condensation, de séchage et de traitement thermique (Alabdallah *et al.,*2024).

2.3.1- Méthode de synthèse biologiques

2.3.1.1- Synthèse à partir d'extraits de plantes vertes : La synthèse des nanoparticules de TiO_2 nécessite l'utilisation d'extraits de poudre de cannelle et de feuilles de *Syzygium cumini*. Cette méthode est simple, économique et respectueuse de l'environnement (Pantidos et Horsfall, 2014).

2.3.1.2- Synthèse à partir d'extraits bactériens et fongiques : NanoTiO_2 ont été bio synthétisées à partir d'extraits bactériens et fongiques, en mettant particulièrement l'accent sur le microorganisme *Streptomyces sp*. Cette méthode a permis la production de NanoTiO_2 présentant des propriétés antimicrobiennes et anti-biofilm efficaces (Ağçeli, *et al.,* 2020).

2.3.1.3- Synthèse à partir d'autres sources biologiques : L'utilisation de sources biologiques telles que l'amidon et les coquilles d'œufs permet de produire du TiO_2 avec d'excellentes propriétés photo catalytiques. Ces méthodes biomimétiques favorisent la synthèse de NanoTiO_2, qui se distingue par leur grande porosité et leur surface élevée, tout en étant des solutions économiques et durables pour l'environnement.

2.4- Propriétés physico-chimiques

2.4.1- Propriétés physiques des NanoTiO_2

Le dioxyde de titane, un solide naturel, existe principalement sous deux formes cristallines : le rutile et l'anatase, utilisées dans l'industrie. Il se décline en deux tailles de particules : le TiO_2 fin (0,1 à 0,4 µm) et le TiO_2 ultrafin (moins de 100 nm). La surface spécifique du NanoTiO_2 fin est de 5-15 m^2/g, tandis que celle du nanoTiO_2 ultrafin varie de 10 à 300 m^2/g. Les particules tendent à former des agglomérats et des agrégats de tailles diverses, allant de 0,1 à plusieurs dizaines de micromètres (Gaffet *et al.,* 2018).

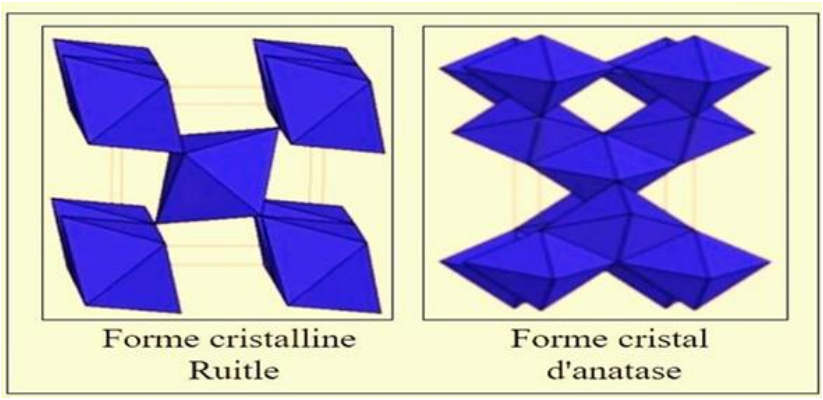


Figure 5. Visualisation graphique de deux formes cristallines de dioxyde de titane (Gaffet *et al.*,2018) .

2.4.2- Propriétés chimiques des Nps deTiO_2

Le nanoTiO_2 non ultrafin est caractérisé par une grande réactivité. La formation d'acide fluor titanique à partir d'acides sulfurique et hydro-fluorique concentrés entraîne une réaction différente de celle observée avec les acides chlorhydrique ou nitrique. De plus, des bases concentrées peuvent également l'attaquer. Le dioxyde de titane peut être réduit avec divers degrés d'incandescence par le lithium, le magnésium et le zinc. En raison de sa surface spécifique plus élevée, le dioxyde de titane présent des propriétés photo catalytiques améliorées par rapport aux particules plus grandes. Suite à une exposition à la lumière ultraviolette et à une réaction avec l'eau ou l'oxygène, il est susceptible de générer des espèces réactives de l'oxygène (radicaux hydroxyles, radicaux super oxyde) (Jahan *et al.*, 2022).

2.5- Application des NPs de TiO_2

Les NPs deTiO_2 sont largement utilisées dans divers domaines en raison de leurs propriétés exceptionnelles, notamment leur grande surface spécifique, leur stabilité chimique et leur activité photo catalytique.

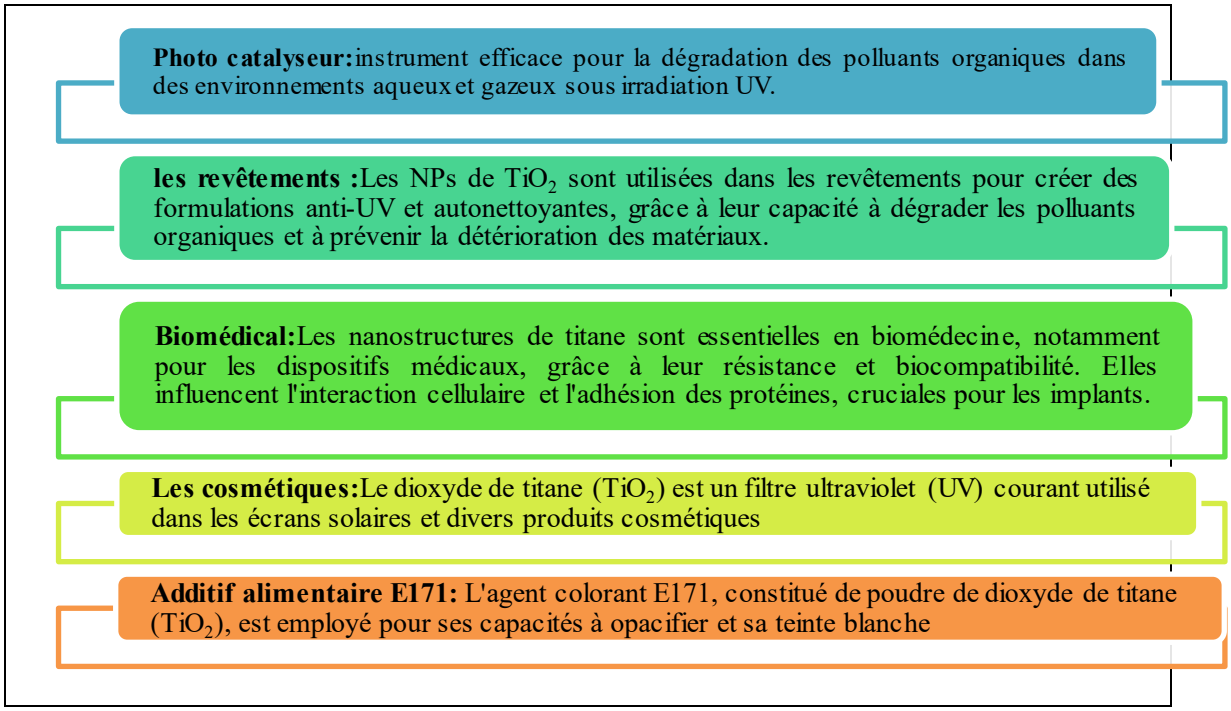


Figure 6. Diagramme représentant les domaines d'application des NanoTiO_2.

2.6- Toxicité des nanoparticules de TiO_2.

2.6.1- L'effet néfaste des NPs de dioxyde de titane (TiO_2) sur la santé humaine.

Comme indique Edouard (2021) l'Agence internationale de recherche sur le cancer a classé le TIO_2 comme un carcinogène de groupe 2B désigne une substance ou un agent qui est considéré comme "peut-être cancérogène pour l'homme". Cela signifie qu'il existe des preuves limitées de son potentiel cancérogène chez l'homme, mais des preuves suffisantes chez les animaux de laboratoire, alors qu'il était auparavant jugé inoffensif. Il pénètre dans l'organisme principalement par inhalation, notamment chez les travailleurs qui le manipulent, mais aussi par ingestion pour les consommateurs. Les NanoTiO_2, plus dangereuses en combinaison, peuvent être absorbées par différentes voies, y compris intranasale, et se retrouvent dans les reins, le foie et les ganglions lymphatiques. Elles peuvent également traverser la barrière hémato-encéphalique. Une étude a révélé qu'après 18 mois d'exposition à des doses de 10 mg/m^3, la demi-vie pulmonaire des NPs était de 550 jours, soulignant les risques d'une exposition à long terme.

- **Toxicité aiguë**

Le contact avec la poussière de dioxyde de titane dans un contexte aigu a été démontré comme induisant une irritation dermique et oculaire, se manifestant par des larmoiements

et un inconfort transitoire. Néanmoins, l'ingestion de poussière de TiO_2 ne constitue pas une menace immédiate pour la santé

- **Éffet chronique**

Un certain nombre d'études ont indiqué qu'il existe un lien entre l'exposition au dioxyde de titane et une inflammation accrue des poumons, une prolifération cellulaire et des altérations de la structure tissulaire. Les effets sont plus significatifs avec des particules de plus petite taille et sous forme d'anatase, qui peut former des espèces réactives de l'oxygène. En 2015, une étude particulière a révélé que l'exposition professionnelle à différentes concentrations de dioxyde de titane pendant 28 jours avait des effets dépendants de la dose sur les poumons. Récemment, les nanoparticules de dioxyde de titane ont été classées comme « possiblement cancérogènes pour l'homme » par l'Agence internationale de recherche sur le cancer (IARC).

2.6.2- L'impact environnementale du NanoTiO_2

Les principales sources de contamination environnementale sont les eaux usées, les boues d'épuration et les déchets solides. L'utilisation de crèmes solaires contenant des nanocomposites de dioxyde de titane a été associée à la libération de nanoparticules de dioxyde de titane et de résidus associés dans l'environnement. De tels déchets s'accumulent fréquemment et sont ensuite relâchés dans l'environnement environnant. Bien que les concentrations de TiO_2 à l'échelle nanométrique soient faibles dans l'atmosphère, elles sont plus élevées dans l'eau, en particulier dans les sédiments, les effluents et les boues des stations d'épuration. Les concentrations dans le sol sont également relativement faibles, bien que cela puisse changer à mesure que les produits contenant ces nanoparticules sont utilisés et recyclés. Le mouvement des NanoTiO_2 dans le sol dépend d'un certain nombre de facteurs, notamment la force ionique, la matière organique, les cations divalents et d'autres variables (Boutalbi, 2013).

Il est regrettable qu'il n'existe pas de méthodes établies pour mesurer toutes les propriétés des NPs. De plus, il y a une pénurie d'informations disponibles sur les limitations des différentes méthodes de mesure actuellement en usage. En outre, il est à noter que bien que le dioxyde de titane soit généralement considéré comme sûr, certaines études ont indiqué qu'il pourrait avoir des effets indésirables, tels que la formation de tumeurs pulmonaires chez des rats exposés au dioxyde de titane pendant de longues périodes (Hext *et al.*,2005). Des études montrent que l'exposition aux NanoTiO_2 peut

entraîner une inflammation pulmonaire, un stress oxydatif et affecter divers organes. L'élimination complète du TiO_2 dans des organismes comme *Daphnia magna* n'est pas possible même après une exposition prolongée, ce qui indique des effets à long terme. Des recherches sur des poissons ont révélé une accumulation de nano-TiO_2 dans les reins, sans dommages significatifs à la fonction rénale. (Clemente *et al.*, 2012).

3. Cas des nanoparticules d'oxyde de fer (NanoFe_2O_3).

3.1- Structure des NanoFe_2O_3

Une variété de matériaux à base de Fe_2O_3et de Fe_2O_3 avec des dimensions et des morphologies diverses (y compris des nanoparticules, des nanotubes, des nanorods, des épingles, des structures creuses et des nanostructures poreuses) sont préparées par le biais d'une gamme de techniques, notamment l'hydrothermal, la précipitation chimique, le sol-gel, l'anodisation et la décomposition thermique. La méthode hydrothermale est une approche très souhaitable car elle offre un contrôle efficace de la taille, de la morphologie et de l'agglomération, tout en réduisant simultanément le nombre d'impuretés présentes dans le produit hydrolysé. De plus, le processus bénéficie d'une température de réaction relativement basse, d'un rapport coût-efficacité et d'une compatibilité environnementale. En outre, le Fe_2O_3 présente deux formes cristallines distinctes, désignées comme α-Fe_2O_3et γ-Fe_2O_3qui sont interchangeables. La structure de l'α-Fe_2O_3 est illustrée dans la Figure 7. À des températures élevées, le γ-Fe_2O_3 (maghémite) est capable de subir une transformation de phase en α-Fe_2O_3 (hématite), étant donné que l'α-Fe_2O_3 représente la phase la plus stable sur le plan thermodynamique. La transition de l'α-Fe_2O_3au γ-Fe_2O_3nécessite l'utilisation d'une atmosphère azotée avec une régulation optimale de la température ou la mise en œuvre d'un agent réducteur. La morphologie reste inchangée par la transition entre l'α-Fe_2O_3 et le γ-Fe_2O_3, ce qui pourrait constituer une approche applicable pour fournir une préparation contrôlable de Fe_2O_3 avec une structure cristalline modulée. Une variété de phénomènes magnétiques est observée dans l'α- Fe_2O_3, ce qui peut être attribué à l'effet de biais d'échange et aux effets de mémoire. De plus, dans les nanoparticules de Fe_2O_3 d'un diamètre inférieur à 10 nm, un comportement super paramagnétique et des propriétés de verre de spin sont observés (Pourmadadi *et al.*, 2022).

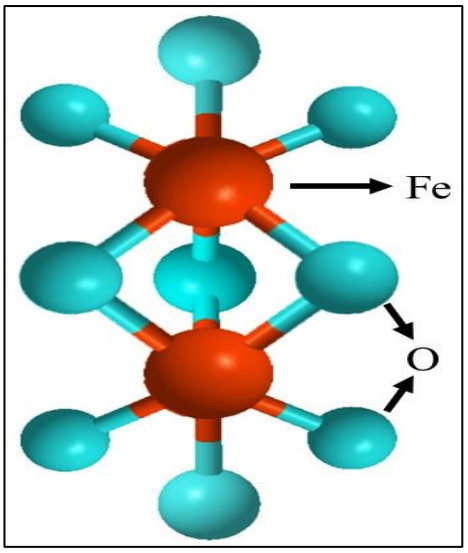


Figure 7. Structure de α-Fe_2O_3 (Hématite) (Pourmadadi *et al.*, 2022).

3-2- Synthèses des NPs d'oxyde de fer

Comme le souligne l'étude réalisée par Ali *et al.*, (2016), les nanoparticules d'oxyde de fer peuvent être synthétisées par trois méthodes principales : physique, chimique et biologique. Les approches mentionnées ci-dessus sont illustrées dans le diagramme suivant.

Méthode de synthèse des nanoparticules d'oxyde de fer.

Les méthodes physiques: en question se distinguent par leur complexité inhérente et la difficulté intrinsèque à contrôler la taille des particules dans la plage du nanomètre.

Méthodes chimiques : se caractérisent par leur simplicité, leur facilité de gestion et leur efficacité, facilitant ainsi la manipulation de la taille, de la composition et même de la forme des nanoparticules. La synthèse de l'oxyde de fer peut être réalisée par co-précipitation de Fe^{2+} et Fe^{3+} avec l'ajout d'une base, les caractéristiques des nanoparticules dépendant du type de sel utilisé, du rapport Fe^{2+}/Fe^{3+}, du pH et de la force ionique.

Méthodes biologiques : Dans le domaine de la nanotechnologie, des méthodes biologiques sont utilisées pour la synthèse de nanoparticules métalliques par l'action de microbes.

Figure 8. Diagramme représentant la méthode de synthèse des NanoFe_2O_3

.

3.3- Propriétés des nanoparticules d'oxyde de fer

Tableau 02: Propriétés physiques et chimiques du Fe_2O_3 (Yassa et Tarzout, 2021).

Oxyde de fer	Couleur	Masse molaire ($g.mol^{-1}$)	Fusion T(°C)	Masse volumique ($Kg.m^3$)
Hematite	Red to black	160	1350	5260
Magnetite	Black	232	1583	5180
Maghemite	Brown	160	1597	4870

Tableau 03: Les caractéristiques magnétiques des nanoparticules d'oxyde de fer en fonction de leur taille (Yassa et Tarzout, 2021).

Propriétés magnétiques	Taille des nanoparticules	Stabilité du moment magnétique à température physiologique
Super paramagnétique	< 20nm	Instable
Ferromagnétique	>20nm	Stable
Multi-domaines	=80nm	Not very stable

Les NanoFe_2O_3 possèdent des propriétés uniques liées à leur taille, morphologie et composition. La méthode de synthèse, qu'elle soit chimique, physique ou biologique, influence ces caractéristiques, notamment la distribution de taille, l'agrégation, la forme, la chimie et la cristallinité. Ces facteurs sont cruciaux pour comprendre leur comportement environnemental et leur toxicité (Mounier, 2023).

3.4- Champs d'application des NPs d'oxydes de fer

Les NanoFe_2O_3 sont largement utilisées dans divers domaines, notamment la biologie, la médecine et l'environnement, comme le montre la figure 09.

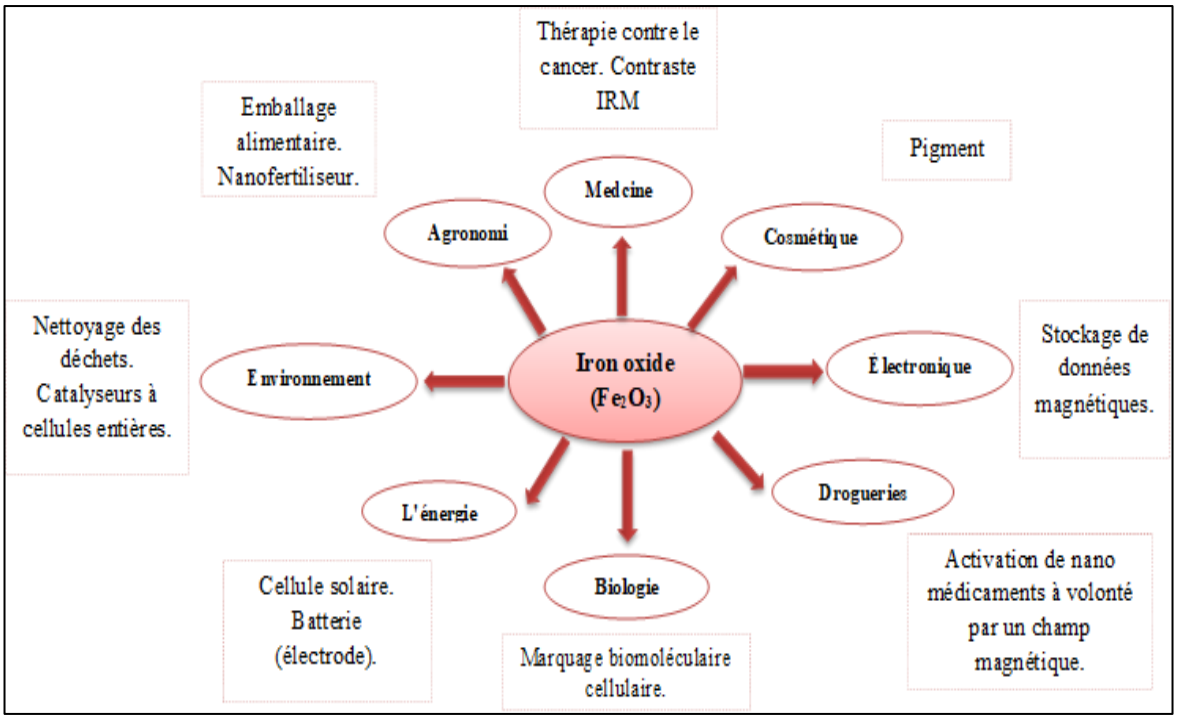


Figure 9. Différentes applications des nanoparticules d'oxyde de fer (Fe_2O_3).

3.5- Toxicité du Nano Fe_2O_3

Les Nano Fe_2O_3 sont utilisées dans plusieurs domaines, notamment la biomédecine, l'oncologie et l'imagerie par résonance magnétique (IRM), où elles sont employées en tant qu'agents théranostiques et de contraste. Alors que la production et l'utilisation de ces nanoparticules de fer continuent d'augmenter, il existe un risque évident d'exposition humaine et environnementale à celles-ci (Askri, 2018). Peu d'études ont été menées sur la toxicité des particules d'oxyde de fer à l'échelle nanométrique et submicrométriques. Des recherches sur des rats ont montré que ces particules provoquent une inflammation pulmonaire prolongée et une fibrose, sans affecter significativement le tissu pulmonaire. Les nanoparticules de Fe_2O_3 induisent une inflammation plus forte que les particules submicrométriques, tandis que les particules de Fe_3O_4 ont l'effet inverse. Ces résultats indiquent que la toxicité des nanoparticules dépend de leur taille et de leur surface spécifique, ce qui souligne la nécessité d'évaluer chaque type individuellement (Boutalbi, 2013).

4-Mécanismes de toxicité des nanoparticules deTiO_2, Fe_3O_4

Depuis les années 2000, la recherche sur la toxicité des nanoparticules telles que le TiO_2 et le Fe_3O_4 a constitué un domaine de croissance significatif au sein de la communauté scientifique. Les principaux mécanismes de toxicité incluent l'inflammation, le stress

oxydatif, la génotoxicité et la cancérogénicité, Ces effets sont résumés dans le tableau suivant (Bouteraa, 2023).

Tableau 04 : représente les Mécanismes et les effets toxiques des NPs de TiO_2, Fe_3O_4.

Mécanismes	Effet toxique des nanoparticules de TiO_2 et Fe_3O_4
Inflammation	Les recherches sur la toxicité de nanoTiO_2 et de nano Fe_3O_4 montrent que leur exposition entraîne souvent une inflammation. Ces nanoparticules provoquent une réponse inflammatoire plus forte que les particules de taille micrométrique, en raison de leur surface spécifique plus élevée et de leur difficulté à être phagocytées par les macrophages alvéolaires. Cela favorise leur pénétration dans les membranes cellulaires et la circulation lymphatique. Des études *in vivo* et *in vitro* ont également révélé des modifications dans l'expression des gènes et des protéines liés aux réponses inflammatoires (Rossano, 2014).
Stress oxydation	Les nanoparticules de TiO_2 ont démontré leur capacité à induire un stress oxydatif considérable au sein de l'organisme, ce qui peut entraîner des dommages à l'ADN et le déclenchement de réponses inflammatoires. Ce stress se manifeste par une augmentation des espèces réactives de l'oxygène, une diminution des antioxydants cellulaires et l'oxydation des composants biologiques. Il a été prouvé que le rutile produit des radicaux hydroxyles, tandis que l'anatase a été observée comme générant des espèces réactives de l'oxygène, y compris le peroxyde d'hydrogène et des radicaux peroxyles (Nzengue, 2008).
Génotoxicité	La génotoxicité des nanomatériaux sur le génome est un sujet qui a fait l'objet de débats et de recherches considérables. Bien que les nanoparticules de TiO_2 aient été associées à des effets positifs en matière de génotoxicité, certaines études ont également démontré des effets négatifs. Les résultats des études *in vitro* semblent être plus favorables que ceux des études *in vivo*, ce qui suggère un biais potentiel dans la méthodologie par laquelle elles ont été réalisées (Rossano, 2014).
Cancérogénicité	L'étude de (S. Kim et Ryu, 2013) indique que les nanoparticules de TiO_2 et de Fe_3O_4 pourraient potentiellement posséder des propriétés cancérogènes. Cependant, il est important de noter que plusieurs étapes sont nécessaires avant qu'une tumeur ne se développe. Les études épidémiologiques chez l'homme n'indiquent aucun risque accru de cancer associé aux particules de TiO_2. Toutefois, l'interprétation de ces études est complexe en raison du nombre limité d'études et de l'absence de

	caractérisation précise des niveaux d'exposition professionnelle. Certaines études *in vivo* ont démontré le développement de tumeurs pulmonaires chez des animaux exposés à des doses élevées de nano de TiO_2 par inhalation.

II- *Daphnia magna* et *Ceriodaphnia dubia* comme modèles biologiques

1. Ceriodaphnia dubia

1.1-Morphologies

Selon L'étude de Kier *et al.,*(1986), *Ceriodaphnia* est morphologiquement similaire à *Daphnia magna*, mais de taille plus petite et un temps de génération plus court (Manar, 2008). La femelle adulte de cette espèce se distingue par sa petite taille (longueur maximale de 0,9 mm) et sa forme caractéristique (hauteur égale à 0,6 fois la longueur). Son post-abdomen est modérément allongé et large, avec un léger point d'inflexion à mi-longueur et sept ou huit denticules anaux. La griffe post-abdominale est légèrement courbée et les trois segments des setules latérales sont de longueur similaire (Berner, 1986).

1.2- Cycle de vie de *Ceriodaphnia dubia*

Le cycle de vie de *Ceriodaphnia* est influencé par la température ainsi que par les conditions environnementales. La survie de cette espèce est favorisée à des températures plus basses, avec une durée de vie d'environ 30 jours à 25 °C et pouvant atteindre 50 jours à 20 °C. Les femelles de *C.dubia* produisent généralement entre 4 et 10 œufs, bien qu'elles soient capables de pondre jusqu'à 20 œufs dans des conditions optimales. Les œufs éclosent au sein de la poche de reproduction, et les jeunes individus sont libérés après une période d'incubation d'environ 38 heures. La production de juvéniles atteint son optimum entre 18 et 25 °C, tandis qu'elle diminue significativement en dessous de 18 °C. La maturation de *C.dubia* s'effectue en 3 à 5 jours, en fonction de la taille des individus et des conditions environnementales rencontrées (Shuba et Costa, 1972). Les œufs non développés subissent un avortement après une période de 12 heures. Les organismes présentent une croissance rapide durant les stades juvéniles, doublant de taille à chaque stade de développement et à chaque mue. La maturation se déroule de manière accélérée, avec un unique stade dédié au développement des œufs au sein des ovaires. Le nombre de jeunes par portée est influencé par la disponibilité alimentaire ainsi que par les conditions environnementales. *C.dubia* est capable de produire jusqu'à 25 jeunes, bien

que la moyenne se situe généralement entre 6 et 10. Le nombre de descendants atteint un maximum lors de la quatrième portée, puis diminue progressivement par la suite (Manar, 2008).

2. Daphnia magna

2.1- Description

Daphnia magna (Straus, 1820) est une espèce de micro-crustacé d'eau douce qui joue un rôle essentiel dans les écosystèmes aquatiques. Elle est un consommateur primaire d'algues phytoplanctoniques et d'autres organismes microscopiques, tout en étant également proie pour les poissons et d'autres animaux prédateurs. Étant donné son importance, cette espèce est souvent utilisée comme organisme modèle dans les études écologiques, de bio-surveillance et toxicologiques (Parisot, 2015).

2.2- Morphologie

Les *daphnies* adultes mesurent entre 3 et 5 millimètres. Le corps est divisé en deux parties distinctes : la tête et le corps.

- **La tête :** Elle possède une tête avec un œil composé, une bouche et deux antennes sensibles au mouvement. Les embryons de daphnies ont deux yeux en développement, qui fusionnent en un seul œil composé à l'âge adulte. Cet œil plus grand est utilisé pour l'orientation. Le système nerveux des daphnies comprend un ganglion cérébral situé entre l'œil et le système digestif (Amoros, 1984).
- **Le corps** : Le corps de la daphnie est recouvert d'une carapace transparente qui se régénère à chaque mue. Pendant la mue, l'organisme double soudainement de taille en une minute en raison de l'afflux soudain d'eau. La taille de l'épine caudale de la carapace varie (Amoros, 1984).

2.3-Anatomies

- **Thorax :**

Le thorax est équipé de six appendices thoraciques, qui servent à filtrer l'eau à travers des soies, facilitant ainsi le transport de la nourriture et de l'oxygène vers la bouche et les branchies de l'organisme. Les particules alimentaires sont retenues dans une gouttière de nourrissage ventrale avant d'être dirigées vers la bouche (Chevalier, 2014).

- **Le tractus digestif :** traverse l'ensemble du corps de la, se terminant par la pince post-abdominale.
- **La *Daphnie* partie ventrale :** est dotée d'appendices filtrants pour le phytoplancton.
- **La partie dorsale :** contient une cavité qui sert de chambre de maturation pour les œufs. Les ovaires sont situés de part et d'autre de l'intestin (Manar, 2008).
- **Système nerveux :**

D'après Chevalier (2014),le système nerveux de la *Daphnie* se compose du cerveau et des nerfs ventraux, qui relient le cerveau aux appendices et au corps de l'organisme. Le cerveau est divisé en trois parties

- ✓ Le Protocérébrum : qui est responsable des yeux et de l'optique.
- ✓ Le Deutocérébron : qui est responsable des antennes sensorielles.
- ✓ Le Tritocérébrum : qui est responsable des antennes sensorielles et des intestins.

- **Système circulatoire:** Le système circulatoire de la *Daphnie* est lacunaire et repose sur l'hémoglobine pour le transport de l'oxygène (Manar, 2008).
- **Le cœur :** Est un organe musculaire qui pompe le sang à travers le corps. Il est situé dans la région dorsale du thorax antérieur (Chevalier, 2014). C'est un petit sac musculaire dépourvu de vaisseaux sanguins, permettant ainsi une circulation du sang sans entrave entre les organes. Le nombre de battements cardiaques par minute varie entre les mâles et les femelles, et peut être influencé par des facteurs tels que la température, la privation alimentaire et le manque d'oxygène (Green, 1956).
- Les spécimens mâles et femelles peuvent être distingués par un certain nombre de caractéristiques. Les mâles sont généralement de taille plus petite, possèdent des antennules plus larges et leurs premières pattes ont été modifiées avec un crochet pour faciliter leur prise sur les femelles. Les embryons se caractérisent par la présence de deux yeux brunâtres, qui subissent un processus de fusion au cours du développement, entraînant la formation d'un seul œil composé chez les juvéniles et les adultes. L'œil est utilisé par l'animal pour déterminer sa position lors de la nage (Toumi, 2013).

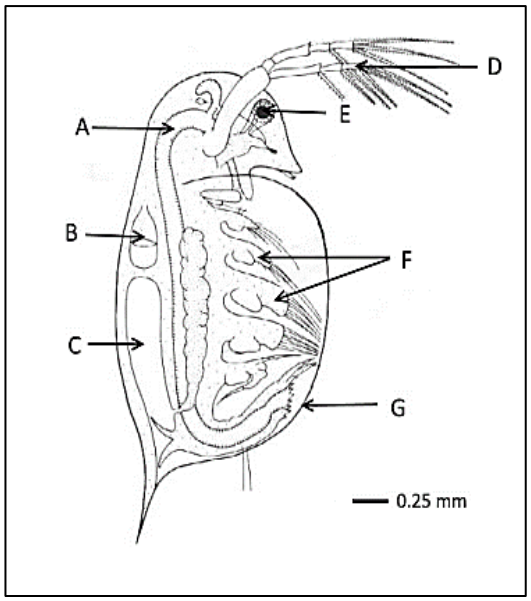


Figure 10. Diagramme illustrent l'anatomie de *D. magna*. A : Tractus digestif – B : Cœur – C : Chambre d'incubation – D : Antennes – E : Œil – F : Pattes – G : Carapace [2].

2.4- Développement de la *daphnie*

Selon Hutcheson (2001); L'embryon résultant de la reproduction parthénogénétique passe par six stades de développement distincts, tous situés dans l'espace de maturation de l'oocyte

- **Stage 1 :** dure de 0 à 15 heures : L'embryon est sphérique.
- **Stade 2 :** correspond à la gastrulation et dure entre 15 et 25 heures. L'embryon devient asymétrique, avec un blastocyste en raison du début de la différenciation cellulaire.
- **Stade 3 :** est connu sous le nom de maturation embryonnaire précoce et se produit entre 25 et 35 heures, avec la différenciation de la tête et des antennes.
- **Stade 4 :** également connu sous le nom de stade embryonnaire intermédiaire, se produit entre 35 et 45 heures et correspond à l'apparition de l'œil pigmenté et au développement des antennes, qui sont encore enfermées dans la membrane embryonnaire.
- **Stade 5 :** correspond à la maturation embryonnaire tardive, qui se produit entre 45 et 50 heures. La membrane embryonnaire a rompu et les antennes sont partiellement étendues, tandis que la colonne caudale reste repliée contre la carapace.

- **Stade 6 :** est le stade final. Il correspond au développement complet de l'embryon et dure entre 50 et 72 heures. À ce stade, les antennes sont entièrement développées et la colonne caudale est libérée, préparant l'embryon au mouvement

2.5- Cycle de vie et reproduction de la *daphnie*

Le cycle de vie de la *Daphnie* comprend la reproduction asexuée et sexuée qui se produit en réponse aux conditions environnementales. Les œufs, issus des cellules souches de l'ovaire, peuvent être fécondés pour donner des œufs sexuels, qui se transforment en ephippia pour survivre à des conditions difficiles. Les œufs parthénogénétiques se développent dans une poche incubatrice et sont libérés sous forme de miniatures adultes, passant par plusieurs stades larvaires avant d'atteindre la maturité reproductive (Figure 11) (Harris *et al.*, 2012).

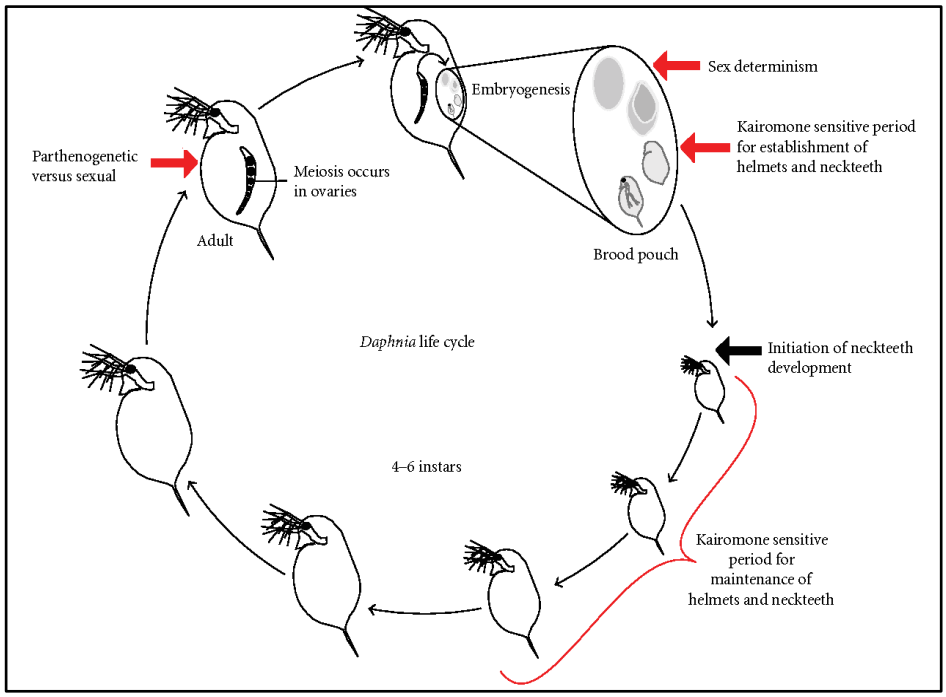


Figure 11. Le cycle de vie de la daphnie. Le cycle de vie est illustré par les étapes (soulignées en rouge) auxquelles l'épigénome est sensible aux signaux environnementaux qui contrôlent la détermination du sexe, l'utilisation du casque et la reproduction sexuelle (Harris *et al.*, 2012).

- **La reproduction a sexuée:**

La reproduction asexuée des daphnies engendre des clones génétiquement identiques à la mère. Dans des conditions favorables, les femelles adultes donnent naissance à des jeunes femelles à partir d'œufs non fécondés. Après une période de trois jours, les juvéniles sont expulsés, et les femelles subissent une mue avant de procéder à une

nouvelle ponte, tant que les conditions environnementales restent propices (Toumi, 2013).

- **La reproduction sexuée:**

Dans des conditions défavorables, les femelles adultes de daphnie produisent des œufs asexués qui se développent en mâles. Elles peuvent également produire des œufs nécessitant une fécondation par des mâles. Les œufs fécondés sont placés dans une coquille protectrice, appelée ephippia, où ils subissent une diapause. Lorsque les conditions redeviennent normales, les œufs éclosent, mais la population résultante est génétiquement distincte de la daphnie parentale (Chèvre, 2000).

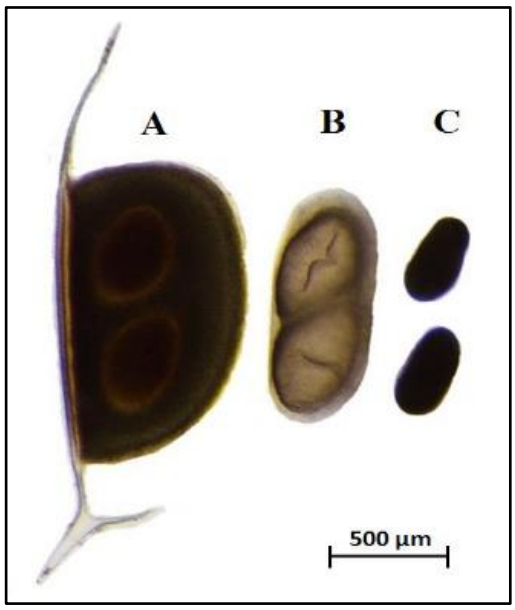


Figure 12. *D.magna,* ephippium. Les œufs dormants de *D.magna* apparaissent peu après le décapsulage. L'ephippium (A), la membrane interne de l'œuf (B) et les œufs dormants (C) sont représentés. Échelle: 500 µm (Cambronero et Orsini, 2018).

3. Ecologie

3.1- Écologie générale

Au cours de l'hiver et au début du printemps, les populations de *Daphnia* sont relativement rares. Cependant, elles connaissent une augmentation significative avec l'élévation des températures de l'eau, atteignant des densités comprises entre 200 et 500 individus par litre. En été, une diminution marquée de leur nombre est observée, suivie d'une seconde baisse à l'automne, qui se termine par un effondrement des populations durant l'hiver (Pennak, 1989). Les *daphnies*, principalement constituées de femelles se reproduisant par parthénogenèse, présentent une augmentation de la proportion de mâles

au printemps et à l'automne, en réponse à divers facteurs environnementaux. Les mâles, qui sont plus petits et morphologiquement distincts, émergent sous des conditions spécifiques. Suite à la fécondation, les femelles produisent des œufs résistants, désignés sous le terme d'ephippia, marquant ainsi une transition vers la reproduction sexuelle en réaction à une diminution de leur activité métabolique. L'espèce *Daphnia magna* est particulièrement sensible aux variations environnementales en ce qui concerne la détermination du sexe (Barker et Hebert, 1986). L'écologie de *Ceriodaphnia* est comparable à celle d'autres *daphniidae*. Cependant, Les informations détaillées sur son écologie sont rares. Néanmoins, il est connu que *Ceriodaphnia* habite des étangs et des lacs côtiers. Elle est particulièrement répandue dans les eaux chaudes, telles que celles que l'on trouve dans les effluents de réacteurs nucléaires ou dans des lacs oligotrophes chauds (Manar, 2008).

3.2- Alimentation des *daphnies*

Les *daphnies* sont des organismes filtreurs qui se nourrissent de matière organique et de bactéries, prospérant dans des eaux riches en matière organique et peu polluées. Ils utilisent leurs pattes thoraciques foliées pour collecter leur nourriture, ce qui impacte leur succès reproductif et la dynamique de leurs populations. Leur sensibilité aux substances toxiques est également influencée par la qualité et la quantité de leur alimentation (Chebboubi, 2022).

3.3- Locomotion et mobilité

La *daphnie* utilise un mode de locomotion par saut, employant deux grandes antennes bifurquées qui se déplacent rapidement d'avant en arrière. Chaque coup est propulsé vers l'arrière par ces robustes rames, permettant au corps de se déplacer en avant et vers le haut à un angle avant de replonger. Ce processus se répète de manière continue. Par conséquent, le mouvement de l'animal peut être décrit comme un rythme en zigzag. La direction du mouvement dépend de la force des coups et de la durée des pauses, permettant à l'animal de se déplacer obliquement vers le haut, vers le bas ou horizontalement. Certaines espèces, comme celles qui habitent des environnements boueux, ont évolué un mode de déplacement spécifique. Cependant, il existe certaines espèces qui diffèrent quelque peu de ce schéma général (Erard, 1998).

3.4- Rôle des daphnies dans l'écosystème :

Les espèces de *Daphnia* jouent un rôle central dans les écosystèmes aquatiques d'eau douce, notamment en tant que source de nourriture pour d'autres organismes aquatiques.

- Elles constituent une source alimentaire pour les poissons, car elles sont riches en protéines et en acides aminés et sont facilement digestibles pour ces derniers ; elles représentent également une source de nourriture pour d'autres espèces aquatiques et semi-aquatiques (DORIS, 2021).
- Cette espèce sert d'hôte à une diversité de bactéries, de champignons, de nématodes, d'amibes et de ténias, dont certains ont le potentiel de provoquer des maladies des cellules graisseuses blanches (Ebert, 2005).
- De plus, elles agissent comme un régulateur efficace du phytoplancton, à condition que les nutriments ne soient pas en excès.
- Les *Daphnies* jouent également un rôle significatif dans les cycles des nitrates et des phosphates dans l'eau, ce qui contribue à l'auto-purification des eaux stagnantes (Chebboubi, 2022).
- Les *Daphnies* sont de plus en plus utilisées comme indicateurs de la qualité de l'eau et bio-indicateurs (Ebert, 2005).

3.5- Exigences physico-chimiques :

Les *daphnies* sont des organismes aquatiques que l'on trouve principalement dans des habitats d'eau douce. Cependant, certaines souches ont également été observées dans des eaux légèrement saumâtres.

3.5.1-Température :

Les études de (Chebboubi, 2022) et (Toumi, 2013), indiquent que la plage de température qui n'affecte pas le cycle de vie des *Daphnies* est importante, avec une plage de 0 °C à 30 °C selon les espèces. En conséquence, la plage de température optimale pour *Daphnia magna* se situe entre 18 et 22 degrés Celsius. Le genre *Moina* est également capable de tolérer et de résister à des variations de température quotidiennes comprises entre 5 et 31 degrés Celsius. La température optimale pour ces organismes se situe entre 24 et 63,1 °C.

3.5.2- Salinité :

Les *Daphnies* sont essentiellement des organismes d'eau douce, bien que certains puissent également survivre dans des eaux saumâtres. Certaines espèces sont même capables de survivre dans des rivières à forte salinité(Boutalbi, 2013).

3.5.3- Oxygène dissous :

En raison de leur capacité à produire de l'hémoglobine, elles sont capables de survivre dans des eaux à faible teneur en oxygène (de 0,6 mg/l à saturation), les *daphnies* étant sont capables de s'ajuster à des variations soudaines des niveaux d'oxygène dissous. De plus, l'études de Fox (1948) suggèrent que la production d'hémoglobine est influencée par des facteurs environnementaux tels que la température et la densité de *Daphnia* (Boutalbi, 2013).

3.5.3- pH et azote :

Le pH de *Daphnia magna* a été observé fluctuer entre 6,5 et 9,5. Bien que la reproduction soit considérablement altérée par des niveaux élevés de pH et d'azote, cela n'a pas d'impact sur la santé actuelle des animaux eux-mêmes (Boutalbi, 2013).

3.5.4-Sels minéraux :

Les *Daphnies*, démontrent une tolérance aux faibles niveaux d'oxygène mais présentent une sensibilité aux altérations ioniques de leur milieu environnant. L'ajout de sels entraîne une mortalité. À faibles concentrations, le phosphore stimule la reproduction ; cependant, il est létal à des concentrations élevées. Elles sont également sensibles aux effets des métaux, des pesticides, des détergents et d'autres toxines dissoutes (Boutalbi, 2013); Semsari et Haït-Amar, 2001)

3.6-Comportement

Depuis les années 1980, les scientifiques se sont engagés dans l'étude du comportement de nage des poissons dans le but d'évaluer l'impact environnemental des substances toxiques, y compris les métaux (Scherer et McNicol, 1998) les pesticides (Denton *et al.,* 2003) et les produits pharmaceutiques (Painter *et al.,*2009). Des prolongements de ces études ont également été réalisés sur d'autres espèces aquatiques, y compris les invertébrés, qui montrent également des changements de comportement en réponse au stress. De telles modifications de la mobilité ont le potentiel d'influencer la survie des organismes et la viabilité à long terme des populations. Les effets subletaux des substances toxiques, qui se produisent à des concentrations inférieures à celles qui

causent la mort, restent mal compris dans un contexte écologique réel. L'étude menée par (Reynaldi *et al.*,2011) démontre qu'une augmentation de la vitesse moyenne des organismes les rend plus visibles aux prédateurs, augmentant ainsi leur risque. À l'inverse, une réduction de la vitesse moyenne des daphnies peut avoir un impact néfaste sur leurs perspectives de survie, car cela diminue leur capacité à éviter les dangers et à chercher de la nourriture, les rendant ainsi plus susceptibles à la prédation. En revanche, la réponse d'évitement est une réponse comportementale avantageuse pour les organismes colloïdales, leur permettant de se protéger des zones contaminées ou des prédateurs en accélérant leur vitesse de nage. Cela peut entraîner une réduction des dépenses énergétiques par réallocation de l'énergie vers les mécanismes de détoxification. Néanmoins, des augmentations excessives de la vitesse de nage peuvent entraîner une surconsommation d'énergie et avoir un impact sur d'autres fonctions corporelles vitales. L'exposition de certaines espèces sensibles aux produits chimiques sur le lieu de travail peut avoir des effets néfastes sur l'équilibre écologique de l'écosystème, avec des conséquences notables pour *Daphnia magna*, une espèce clé, et des effets indirects sur d'autres organismes (Chevalier, 2014).

Chapitre 2 : Matériel et méthodes

1-Matériel

1.1- Matériel biologique

En écotoxicologie, la *daphnie* constitue un modèle biologique largement utilisé pour l'étude et l'évaluation des risques éco toxicologiques et sanitaires associés aux substances chimiques et aux échantillons d'eau. Des tests de toxicité aiguë (durée de 24 à 72 heures) ainsi que des tests chroniques (durée de 21 jours) sont couramment réalisés. Dans le cadre de cette étude, nous avons sélectionné deux espèces de *daphnies* : *Ceriodaphnia dubia* (Richard, 1894) et *Daphnia magna* (Straus , 1820).

✓ **Classification de *Ceriodaphnia dubia***

Selon Richard, en 1894, *Ceriodaphnia dubia* est classée comme suit :

Embranchement : Arthropodes

Classe : Crustacea

Sous-classe : Brachiopoda

Ordre : Cladocera

Famille : *Daphniidae*

Genre : *Ceriodaphnia*

Espèces : *Ceriodaphnia dubia (Richard, 1894)*

Figure 13. Photo de *C.dubia* sous microscope (Photo prise par : Amira Chorfi).

- ✓ ***Classification de Daphnia magna***

Embranchement : Arthropoda

Sous- Embranchement : Crustacea

Classe : Branchiopoda

Sous-ordre : Cladocera

Famille : *Daphniidae*

Genre : *Daphnia*

Espèces : *Daphnia magna* Straus, 1820.

Figure 14. Photo de *D.magna* sous microscope intégré (Photo prise par : Amira Chorfi).

1.1.3- Utilité du choix de *Ceriodaphnia dubia* et *Daphnia magna* comme modèles biologiques.

Les *daphnies* sont utilisées comme organismes modèles dans la recherche biologique en raison de leur sensibilité aux facteurs environnementaux et chimiques. Elles sont employées comme biomarqueurs pour étudier la plasticité phénotypique, la toxicologie et l'évolution du cycle de vie, en plus d'autres domaines de recherche tels que la biologie du vieillissement, l'écologie, l'écotoxicologie, l'évolution et la biologie reproductive (Tkaczyk *et al.*, 2021). En raison de leur importance éco- toxicologique :

- ✓ Les espèces démontrent une sensibilité aux contaminants.

- ✓ Elles se prêtent facilement à la culture en laboratoire, en raison de leur cycle de vie relativement court et de leur forte fécondité.
- ✓ La nature transparente de la carapace des *daphnies* facilite l'observation des organes internes, permettant ainsi des mesures précises.
- ✓ Le potentiel de développement de biomarqueurs est élevé (Ebert, 2005).

Daphnia magna est une espèce fréquemment utilisée dans les tests de toxicité en raison de sa grande sensibilité. Elle est employée comme test de dépistage préliminaire avant de réaliser des essais sur des rats. De plus, *Daphnia similis* (Rodgher *et al.,* 2010) peut être utilisée comme alternative à *D.magna*, compte tenu de sa distribution géographique disparate, de sa petite taille et de son taux de reproduction élevé. *Moina* sp (Iwai *et al.,* 2011) est également un organisme de test idéal en raison de sa large répartition, de son cycle de vie court, de son uniformité génétique et de sa facilité de culture en laboratoire. Par ailleurs, une étude antérieure a démontré que le génome de *Daphnia pulex* présente la plus grande similarité avec le génome humain parmi les crustacés (Colbourne *et al.,* 2011).

2. Matériels chimique

Les NPs de TiO_2 et Fe_2O_3 ont été obtenus du laboratoire de chimie de l'Université de Guelma, Algérie, sous forme de poudre exempte de métaux et d'impuretés organiques.

Les NanoTiO_2 (numéro de produit : 637254, taille des particules : 25 nm, pureté des métaux traces : 99,7 %), ont été utilisées sous forme cristalline (sous forme de poudre blanche).

Les nanoparticules de Fe_2O_3 ont été préparées dans le même laboratoire, avec une taille de particules de 26 nm. Les nanoparticules α-Fe_2O_3 ont été préparées par broyage mécanique de la poudre d'hématite élémentaire. Le broyage a été effectué dans un broyeur planétaire Pulverising 7 (Fritsch, Idar-Oberstein, Allemagne) en utilisant deux bols en acier inoxydable de 45 ml. Le mélange (perles et poudres) a été préparé dans une boîte à gants sous une atmosphère d'argon. Le rapport massique entre les perles et les poudres était d'environ 1/20, et la vitesse de broyage était de 500 tr/min. Afin de minimiser les effets de surchauffe à l'intérieur des jarres, le broyage a été réalisé par séquences de 30 minutes, suivies d'une pause de 15 minutes, pendant une période totale de 3 heures. Les nanoparticules de Fe_2O_3 sont utilisées sous forme cristalline (en poudre marron foncé-ocre). Avant les expériences d'exposition, les solutions mères de (TiO_2, Fe_2O_3 et mélange

de TiO_2 + Fe_2O_3) ont été soniquées pendant 30 minutes (50 W L^{-1} à 40 kHz) et diluées avec de l'eau ultra pure.

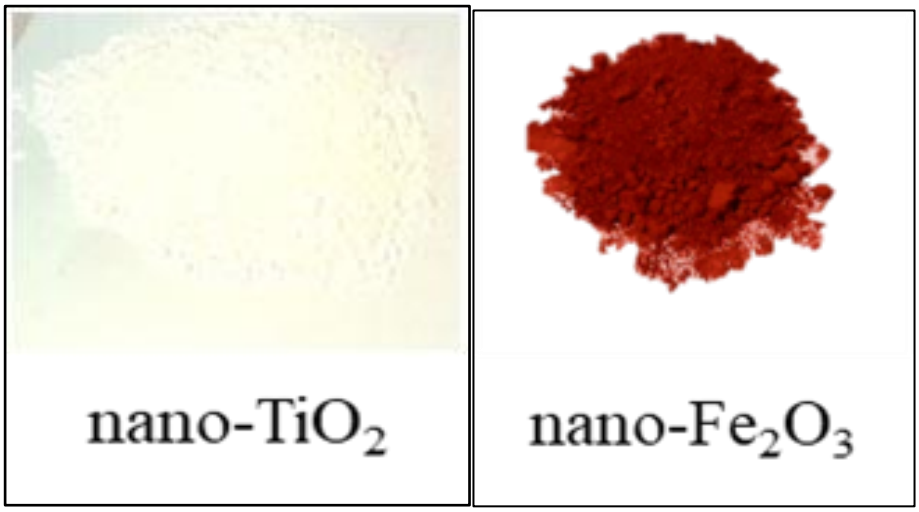


Figure 15. Les nanoparticules sous forme cristalline.

2- Méthode de travail

2.1- Prélèvement des échantillons

Les échantillons ont été prélevés dans les marais de la Mekhada, situés dans la Wilaya d'El Tarf, au nord-est de l'Algérie (coordonnées : 36°44'29.3"N, 07°59'51.7"E) pour *C.dubia*. Concernant le second modèle biologique, *D.magna*, les échantillons ont été collectés dans le jardin d'essais **El Hamma**, à Alger (coordonnées : 36°44′53″N, 3°04′34″E). Le prélèvement a été réalisé de manière aléatoire à l'aide d'une épuisette dotée d'une maille de 2 cm. Les individus collectés ont ensuite été transférés au laboratoire pour identification et élevage.

A **B** **C**

Figure 16. Échantillonnage et transport des daphnies (A), (B), (C) respectivement.

3.2.2- Identification des espèces

L'identification des espèces a été réalisée au laboratoire de recherche « Biologie, Eau et Environnement » (LBEE) à l'université 8 Mai 1945 Guelma. À l'aide d'un microscope optique et de clés d'identification (Introduction pratique à la systématique des organismes des eaux continentales françaises) (Amoros, 1984).

3.2.2.1-Identification de la famille

La famille des *Daphniidae*, crustacés d'eau douce, se caractérise par une morphologie comprenant un corps généralement transparent et aplati, recouvert par une carapace bivalve. La tête est bien individualisée et les antennules sont très courtes (sauf chez les mâles), formées d'un seul article portant des soies. Les antennes, quant à elles, sont puissamment développées, avec un exopodite composé de quatre articles et un autre de trois articles.

3.2.2.2-Identification du genre *Ceriodaphnia*

Selon Amoros (1984),le genre *Ceriodaphnia* se distingue par sa petite taille et l'absence de rostre. Le front est proéminent et épouse les contours de l'œil composé. La carapace bivalve est relativement globuleuse, et l'angle dorsal postérieur des valves présente parfois l'apparence d'une petite épine caudale.

3.2.2.3-Identification de l'espèce *Ceriodaphnia dubia* :

Chez *Ceriodaphnia dubia*, la griffe distale du post-abdomen porte deux séries de soies : une série s'étendant sur toute la longueur de la griffe et une autre série limitée à la moitié proximale, formée de soies légèrement plus robustes. Le post-abdomen est parallèle, avec une très faible convexité du bord dorsal. La taille des femelles varie de 0,7 à 1,4 mm.

2.2.4-Identification du genre *Daphnia* :

Le genre *Daphnia* se caractérise par un corps comprimé latéralement, une tête relativement grande dotée d'une crête, un rostre bien développé, ainsi qu'une carapace bivalve avec une carène dorsale et des bords ventraux convexes. De plus, il présente une épine caudale de longueur variable située à l'angle dorsal postérieur des valves. La forme générale du corps, en particulier le développement de la crête céphalique et la longueur de l'épine caudale, varie considérablement en fonction des phénomènes de

cyclomorphose. Cette variabilité morphologique peut parfois rendre la détermination au niveau spécifique délicate (Smith, 1963). (Fig.18).

3.2.2.5- Identification de l'espèce *Daphnia magna* :

L'espèce *Daphnia magna* se distingue par une longueur de corps variant entre 1,5 et 5 mm. Le bord dorsal du post-abdomen présente une échancrure juste après l'anus, cette échancrure séparant les épines anales en deux séries. L'épine caudale a une longueur variable et on observe également une carène latérale sur les valves [2]. (fig. 19).

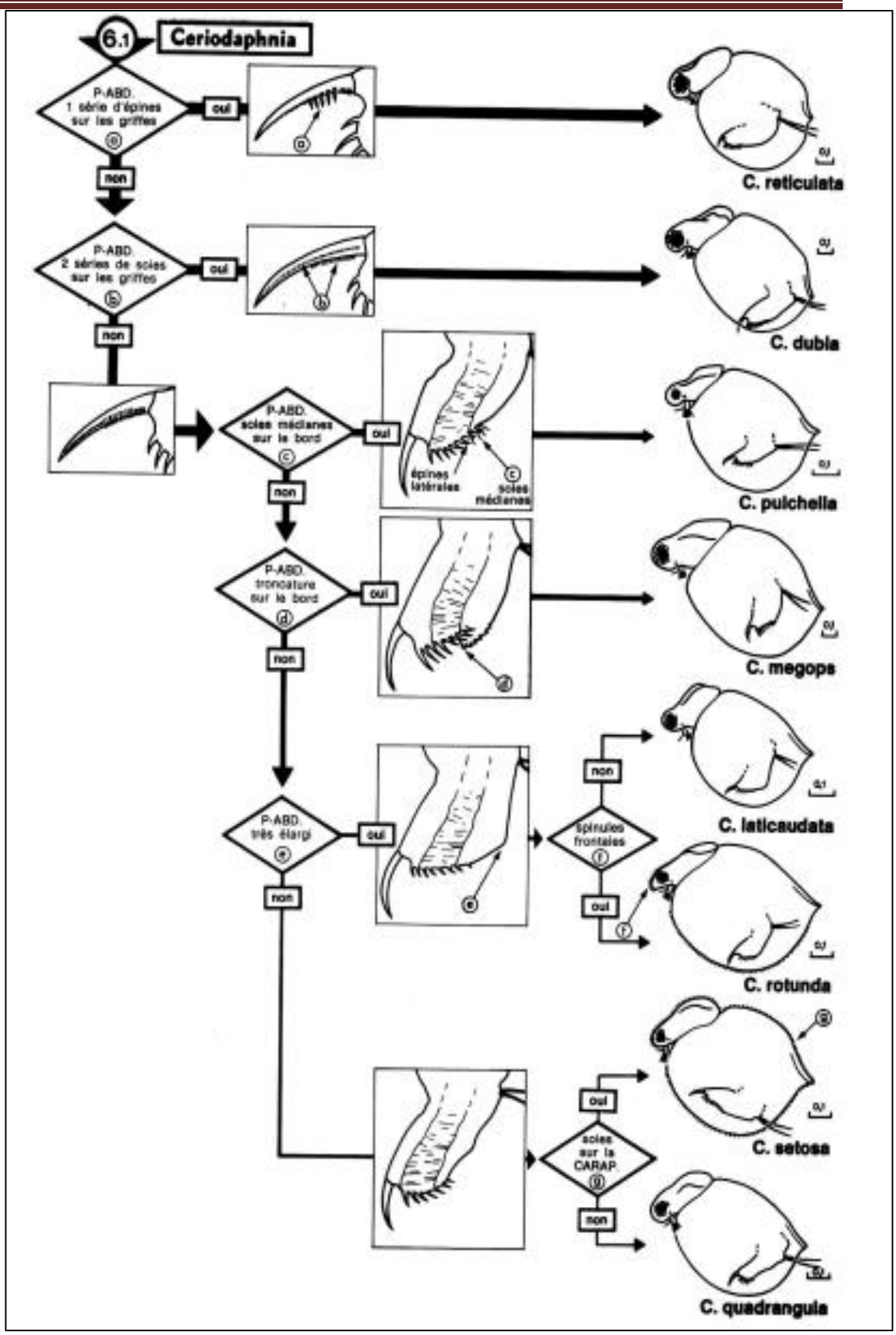


Figure 17. Identification de l'espèce *C. dubia* (Amoros, 1984).

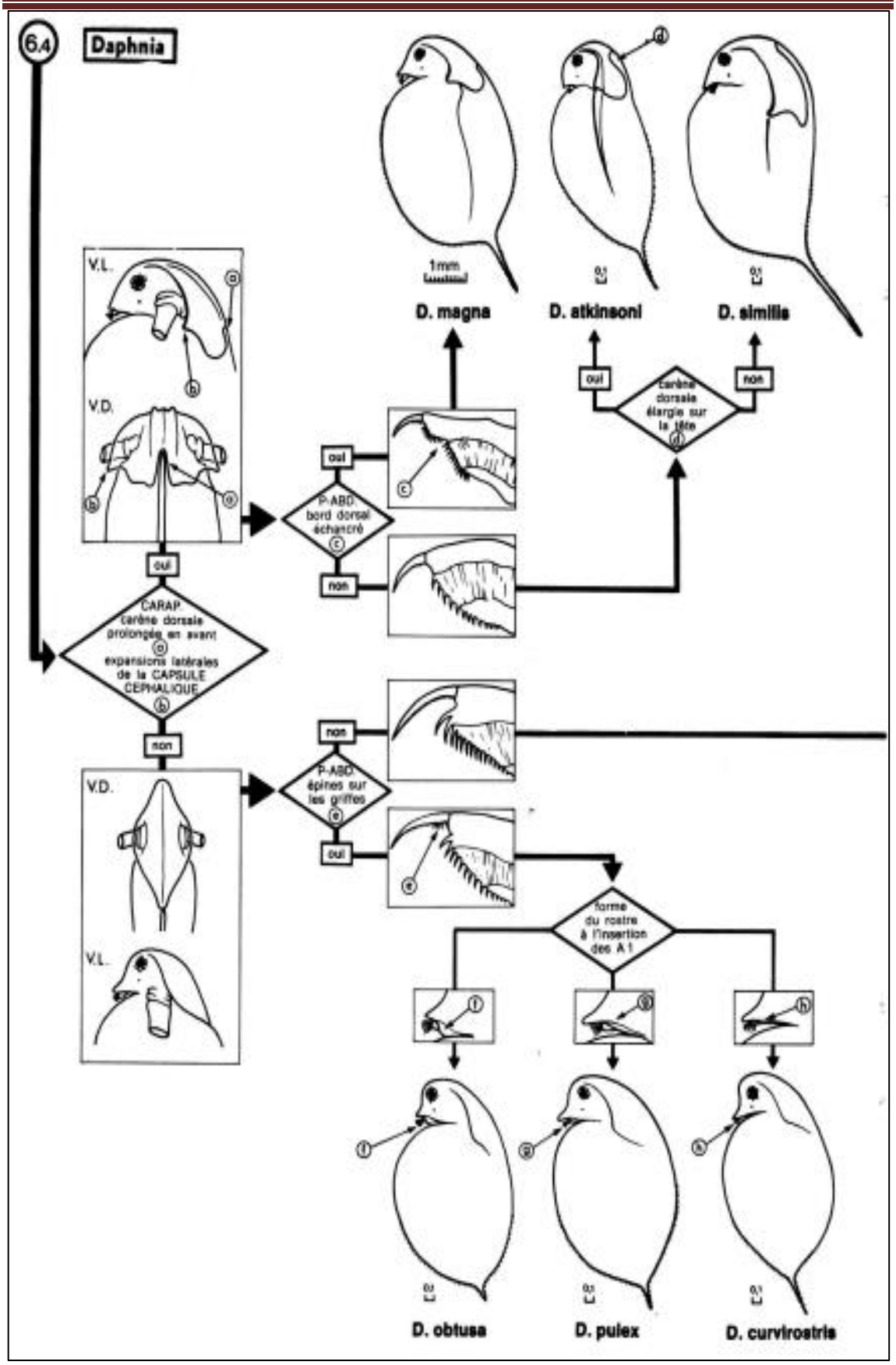


Figure.18 Identification de l'espèce *D.magna* (*Amoros, 1984*).

3.3. Méthode d'élevage des *daphnies*

Les individus ont été élevés dans de grands conteneurs en plastique d'une capacité de 10 litres, en utilisant de l'eau naturelle non polluée. La température de l'eau a été maintenue entre 20 °C et 22 °C pour *Daphnia magna* et à une température constante de 25 ± 1 °C pour *Daphnia dubia*.

- ✓ Les *daphnies* ont été nourries avec une solution de l'algue *Raphidocelis subcapitata.*
- ✓ Elles ont survécu sans montrer de signes de stress tout au long de la période d'élevage, comme en témoigne l'absence d'œufs de résistance.
- ✓ Elles ont été élevées pendant quatre semaines avant le début des expériences, afin d'éviter toute variabilité génétique.

Figure 19. Dispositif d'élevage des *Daphnies*.

3.4. Tests écotoxicologique

Les tests écotoxicologique sont divisés en deux catégories en fonction de la durée d'exposition au polluant : l'exposition aiguë et l'exposition chronique.

- ✓ **Test de toxicité aiguë (48 heures)** : utilisé pour déterminer la dose/concentration létale d'une substance qui provoque la mort de 50 % de la population testée (DL/CL50) lors d'une exposition à court terme.

- ✓ **Test de toxicité chronique (21 jours) :** concerne les études dans lesquelles le xénobiotique est administré de manière répétée ou continue sur une période prolongée, dépassant 1/10 de la durée de vie de l'animal.

4- Présentation générales des travaux

3.1- Revue systématique et de la littérature sur l'effet toxique des NPs de TiO_2 et Fe_2O_3 sur divers paramètres physiologiques et comportementaux chez la famille des *Daphniidae*.

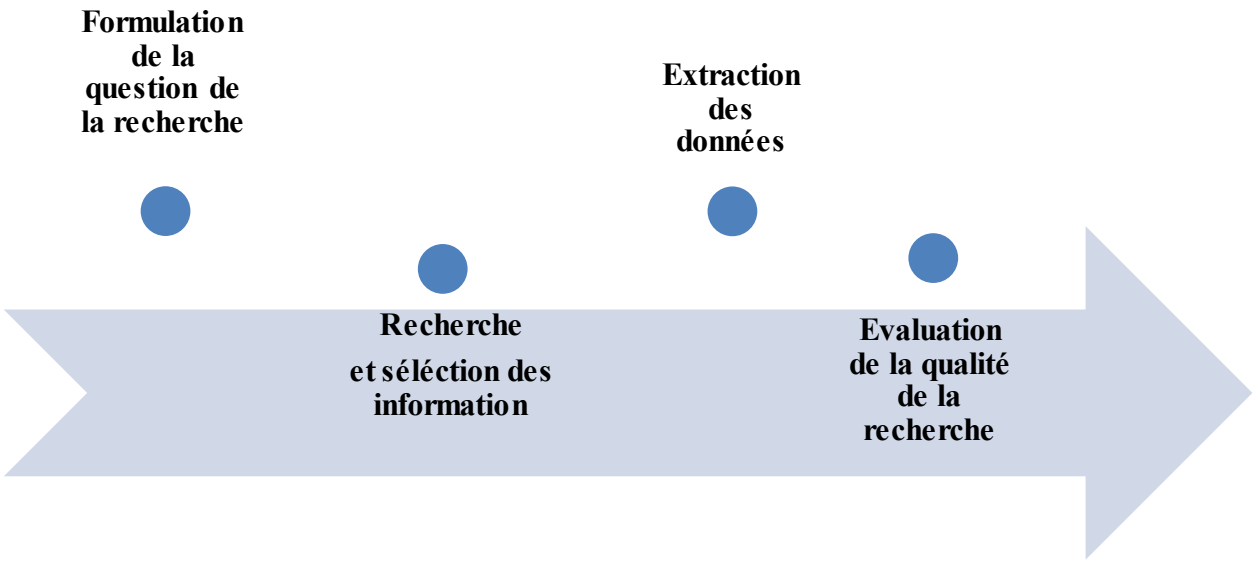


Figure 20. Diagramme représentant la procédure de réalisation d'une revue systématique.

4.1.1- Procédure de recherche

4.1.1.1- Formulation de la question de la recherche

Étant donné l'augmentation de l'utilisation des NPs dans divers domaines, il est crucial de comprendre leur impact, en particulier celui des NPs de TiO_2 et de Fe_2O_3, sur les écosystèmes aquatiques. Nous nous concentrons sur les *daphnies* en tant qu'organismes modèles. Ce travail soulève des questions concernant l'effet de ces nanoparticules sur la survie, le comportement et la physiologie des daphnies dans des conditions contrôlées, ainsi que sur les variations des effets toxiques en termes de mortalité et de reproduction.

4.1.1. 2- Recherche et sélection des informations

Comme le montre le digramme du flux PRISMA, la recherche des publications et la sélection des articles ont été réalisées selon les directives PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analysis) (Moher *et al.*, 2015). Nous avons mené une recherche systématique sur les articles publiés entre 2000 et 2023, portant sur l'évaluation des effets des nanoparticules d'oxyde de fer (Fe_2O_3) et de dioxyde de titane (TiO_2) sur les paramètres du cycle de vie de la famille des *Daphniidae*, des crustacés branchiopodes de l'ordre des Diplostraca, communément appelés "*Daphnies*". Cette recherche a été effectuée à l'aide de trois bases de données scientifiques : Science Direct, Google Scholar et Scopus. Nous avons identifié des mots-clés pertinents pour notre étude, tels que "*Daphnia magna*", "*Daphniidae*", "nanoparticules" (abrégé en "Nps"), "nanoparticules d'oxyde de fer" et "nanoparticules de dioxyde de titane". Ces termes ont été utilisés pour optimiser la pertinence des résultats obtenus.
Au cours de la phase d'identification, nous avons effectué des recherches en utilisant différentes combinaisons de mots-clés, par exemple : - *"Daphnia magna* Nps" - "*Daphniidae* Nps de titane" - "Nanoparticules d'oxyde de fer *Daphnia*" - "Nanoparticules d'oxyde de titane *Daphnia*", en les combinant avec des opérateurs de recherche "OR" et/ou "AND". La requête de recherches a été faite en anglais. Le logiciel End note X (version 5, Thomson ISI ResearchSoft, Philadelphie, USA) a été utilisé pour importer les références trouvées. De plus, nous avons vérifié la section des références des articles importés afin de découvrir d'autres études pertinentes, même dans d'autres bases de données comme pub Med et Reaschgate. Les doublons ont été éliminés et seuls les articles contenant des informations supplémentaires ont été conservés.

4.1.1-3- Extraction des donnés

4.1.1-3-1- Critères inclusion et exclusion

Nous avons procédé à une évaluation indépendante des études présentées dans les articles, sans prendre en considération les sources des publications. Nous avons ensuite téléchargé les textes intégraux des articles éligibles à l'analyse qui répond aux critères suivants :

1. Disponibilité du texte intégral en langue anglaise.
2. Sélection exclusive d'articles de recherche.

3. Études examinant les impacts de la toxicité des nanoparticules de dioxyde de titane (TiO_2) ainsi que des nanoparticules d'oxyde de fer (Fe_2O_3) sur les traits du cycle de vie et les paramètres physiologiques des espèces de la famille des *Daphniidae*.

Nous avons exclu les articles en fonction des critères suivants :

1. Ceux qui ont évalué les impacts de la toxicité des nanoparticules de TiO_2 et de Fe_2O_3 sur d'autres modèles biologiques, tels que les algues ou les poissons, ainsi que les études portant sur deux modèles biologiques, notamment les *Daphniidae* et d'autres espèces Les études ayant examiné l'effet toxique d'autres types de nanoparticules sur les paramètres des *Daphniidae.*

2. Les travaux ayant analysé l'effet toxique d'autres produits chimiques, tels que les pesticides, les insecticides, les produits pharmaceutiques, les nano plastiques et les métaux lourds, en utilisant différentes espèces du genre *Daphnia* comme modèles biologiques.

3. Les études qui ont examiné l'effet de mélanges ou de nanoparticules uniques de TiO_2 et de Fe_2O_3 en combinaison avec d'autres types de nanoparticules sur les stades du cycle de vie des *Daphniidae*.

4. Enfin, les articles de revue n'ont pas été inclus dans cette analyse.

4.1.2.4-Analyse du graphique des bosses

Dans le domaine de la recherche académique, la compréhension des sujets traités dans les articles publiés est cruciale pour identifier les tendances et les évolutions des connaissances. Afin de mieux visualiser ces thématiques, une méthode systématique a été mise en place pour extraire les mots-clés pertinents de chaque article présélectionné. Pour ce faire, un logiciel de recherche, CorTexT Manager, a été utilisé, offrant une interface en ligne intuitive pour faciliter cette extraction. De plus, en suivant la procédure établie par (Testoni *et al.*,2021), un script Epic Epoch a été élaboré pour analyser l'évolution temporelle de ces mots-clés entre 2000et 2023. Cette approche permet non seulement de cartographier les sujets de recherche, mais aussi de mettre en lumière les changements et les tendances qui ont marqué cette période, offrant ainsi une perspective enrichissante sur l'évolution des connaissances dans le domaine étudié.

4.2- Réponses physiologiques et comportementales de *Ceriodaphnia dubia* aux nanoparticules de dioxyde de titane et d'oxyde de fer

4.2.1- Méthode de culture de *C.dubia*

Le crustacé d'eau douce *C.dubia* utilisé dans cette expérience a été collecté dans les étangs de Mikada El Taref (extrême nord-est de l'Algérie) (36°44'29.3"N, 07°59'51.7"E). Le *C.dubia* a été maintenu dans de l'eau naturelle non polluée à une température constante de 25 ± 1 °C avec une photopériode de 16h : 8h (lumière-obscurité). L'intensité lumineuse était de 10-20 µE/m²/s. Les cycles jour/nuit prévalent dans la plupart des laboratoires ont fourni un éclairage adéquat pour une croissance et une reproduction normales (EPA, 2002) à l'Université de Guelma, en Algérie. Le milieu de culture a été renouvelé toutes les 48 heures, et les *Daphnies* ont été nourries quotidiennement avec *Raphidocelis subcapitata à* une concentration de 3×10^5 cellules/ml. Pour minimiser la variation entre les clones, l'expérience a débuté après la quatrième génération. Des néonates (âgés de 24 heures) provenant de la même femelle ont été collectés, et des néonates individuels de taille similaire ont été exposés à des concentrations variées de deux types de nanoparticules : TiO_2 (0, 0.1, 0.5, 1 et 5 mg/L pour le contrôle, C1, C2, C3 et C4, respectivement) et Fe_2O_3(0, 5, 15, 25 et 50 mg/L pour le contrôle, C1, C2, C3 et C4, respectivement).

4.2.2- Protocole expérimentale du test de toxicité chronique

Les concentrations nominales de TiO_2 et de Fe_2O_3ont été choisies en fonction de leurs valeurs concentration qui immobilise 50 % des *Daphnies* après 24/48h d'exposition(EC_{50})issues d'études publiées antérieurement sur TiO_2 (Zhu *et al.,* 2010) et Fe_2O_3 (Hu *et al.,* 2012). La toxicité à long terme des nanoparticules (NPs) de TiO_2 et de Fe_2O_3 a été évaluée selon les protocoles standardisés de (OECD, 1998) et (Hu *et al.,* 2012). Des néonates âgés de ≤ 24 heures ont été exposés pendant 21 jours à une gamme de concentrations de deux types de NPs : TiO_2 à 0,1, 0,5, 1 et 5 mg/L, et Fe_2O_3 à 0, 5, 15, 25 et 50 mg/L. Dans cette expérience, huit néonates (âgés de 6 à 24 heures) ont été placés dans chaque bécher en verre contenant 50 mL de solution test. Seize répliquât par concentration ont été distribués de manière aléatoire. Les contenants de test ont été surveillés toutes les 24 heures pour enregistrer les décès ou toute anomalie. Les *daphnies* ont été nourries quotidiennement avec *R. subcapitata* à une concentration de 3×10^5 cellules/mL. Chaque adulte (et toute descendance, le cas échéant) a été soigneusement

séparé du bécher, et les solutions de test ont été remplacées tous les trois jours. L'incubation a été réalisée à une température de 25 ± 1 °C, sous les mêmes conditions de photopériode que celles utilisées dans l'expérience de culture. Les points d'effet chronique enregistrés ont été utilisés pour évaluer la reproduction de *C. dubia*, y compris l'âge de maturation et le nombre d'œufs par femelle. Le taux de mortalité des adultes dans chaque traitement a été enregistré pendant la période d'exposition, ainsi que la durée de vie.

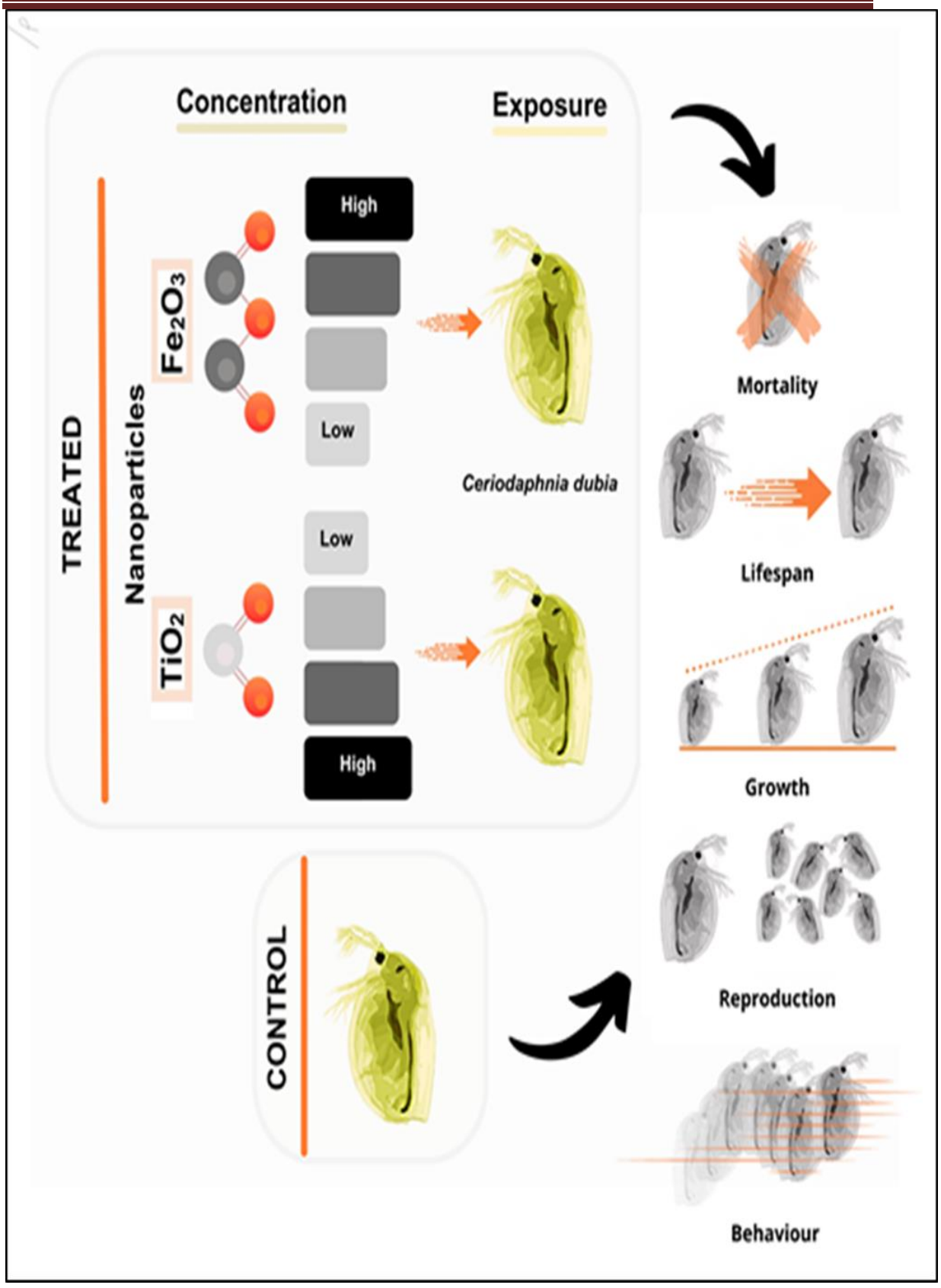


Figure 21. Design expérimental de l'exposition chronique des NPs TiO_2 et Fe_2O_3 sur les paramètres physiologiques et comportementaux sur *C.dubia.*

4.2.3- Exposition chronique aux NPs TiO_2 et Fe_2O_3 sur les paramètres physiologiques

4.2.3.1- Croissance

Pour étudier les effets toxiques des nanoparticules de TiO_2et de Fe_2O_3 sur le taux de croissance de *C. dubia*, la longueur corporelle des individus survivants (8 individus par mesure dans chaque récipient) a été mesurée quotidiennement, du premier jour jusqu'à l'étape de maturité. La longueur corporelle (LC) a été mesurée de la partie antérieure de la tête à la queue. Les individus ont été photographiés et leurs mesures ont été traitées à l'aide du logiciel ImageJ (Toumi, 2013) .

4.2.3.2- Durée de vie et mortalité

Le taux de mortalité, qui correspond au nombre d'individus décédés à un moment donné, a été calculé comme la pente du nombre d'individus mourant en fonction du temps sur la durée de 21 jours de l'étude. En revanche, la durée de vie a été définie comme le nombre de jours de la vie de chaque individu dans chaque récipient tout au long de l'expérience.

4.2.3.3- Maturation et reproduction

Les femelles matures ont été placées individuellement dans des récipients séparés, avec une femelle par récipient, tout au long des expériences. La concentration de la solution, la température et l'alimentation quotidienne ont été maintenues. Nous avons documenté la date de l'éclosion de la première portée ainsi que le nombre d'œufs.

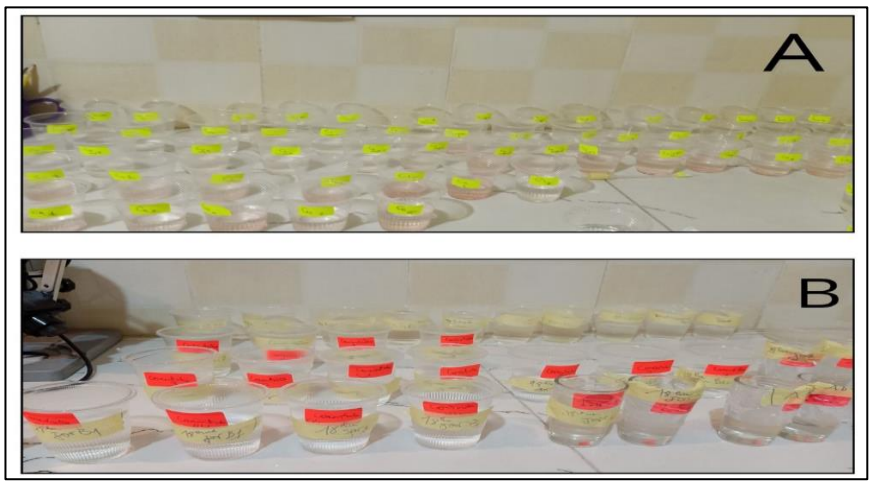


Figure 22. Exposition chronique aux nanoparticules de Fe_2O_3 (A) et de TiO_2(B) des femelles de la génération F0 et suivi de la reproduction..

4.2.3.4-Maturation et reproduction de la première génération F1

Les femelles matures de la génération F1 ont été sélectionnées et placées dans des récipients individuels contenant la même concentration que celle des parents, tout en étant maintenues dans des conditions de température (généralement entre 20 et 25 °C) et de photopériode identiques à celles de l'élevage. Un renouvellement régulier du milieu a été effectué pour éviter l'accumulation de déchets, et une alimentation quotidienne a été assurée. L'observation quotidienne des individus a permis de documenter la date de la première ponte (Age de maturation) ainsi que le nombre d'œufs produits par chaque femelle.

Figure 23. Exposition aux NanoTiO_2 des femelles de la génération F1 et suivi de la reproduction

4.2.4- Exposition chronique aux nanoparticules TiO_2 et Fe_2O_3 sur les paramètres comportementaux de *C. dubia*

Pour évaluer les changements dans l'activité comportementale, tels que la performance de nage et la fréquence cardiaque, induits par l'exposition aux nanoparticules de TiO_2 et de Fe_2O_3, des femelles non gestantes de 10 jours de *C. dubia* ont été sélectionnées au hasard dans chaque groupe de concentration ainsi que dans le groupe témoin pour les NPs de TiO_2 et de Fe_2O_3. Pendant le test, les animaux n'ont pas été nourris(Kertész *et al.*, 2020).

4.2.4.1-Performance de nage

Pour la performance de nage, après 10 jours d'exposition, cinq individus ont été sélectionnés au hasard dans chaque groupe de concentration, avec un traitement témoin pour chaque expérience. Les individus ont été transférés séparément dans des gobelets gradués transparents de 100 ml (1 femelle par gobelet) dans des conditions similaires à celles de l'expérience. Après stabilisation, la distance de nage a été mesurée à l'aide de papier millimétré toutes les 10 minutes, selon la méthode décrite par (Chorfi *et al.,* 2024; Kim *et al.,* 2021).

4.2.4.2- Fréquence cardiaque

Pour étudier le nombre de battements de cœur dans chaque condition d'exposition, cinq néonates ont été sélectionnés au hasard dans le groupe témoin et dans chaque groupe de concentration après 10 jours d'exposition. La fréquence cardiaque a été enregistrée sous forme de fichier vidéo pendant une minute à l'aide d'un microscope à lumière intégré à un ordinateur à un grossissement de 4× (microscopes Optika, Italie). Les valeurs moyennes de chaque échantillon ont été utilisées pour la comparaison, et la fréquence cardiaque a été comptée manuellement à l'aide d'une lecture à faible vitesse (×0,3) et répétée trois fois (Chorfi *et al.,* 2024; Kim *et al.,* 2021).

4.3-Impact des mixtures de $NanoTiO_2$ et $NanoFe_2O_3$ sur le développement de *Daphnia magna*.

4.3.1- Culture de *Daphnia magna*

Le crustacé d'eau douce *D.magna* utilisé dans cette étude a été collecté dans un étang du parc algérien (Jardin d'essai du Hamma, Alger ; 36° 44′ 53″ Nord, 3° 04′ 34″ Est). *D.magna* a été maintenu dans de l'eau naturelle non polluée à une température constante de 23,5 °C avec une photopériode de 16 :8 h (lumière-obscurité) à l'Université de Guelma, en Algérie. Les cultures de *D.magna* étaient maintenues dans des béchers en verre de 1 l (20 individus/bécher). Le milieu de culture était renouvelé toutes les 48 h, et les daphnies étaient nourries quotidiennement avec *Raphidocelis subcapitata* à une concentration de (3×10^{-5} cellules/mL). Des néonates de troisième ou quatrième génération (<24 h) provenant de la même femelle ont été collectés pour éliminer la variation entre les clones. Des néonates individuels de taille similaire ont été exposés à différentes concentrations de NPs. Dans le test d'immobilisation, diverses concentrations de TiO_2 + Fe_2O_3 dans un

rapport fixe de 1:1 (v/v), à savoir 0, 2,55, 7,75, 13 et 27,5 mg l−1, ont été utilisées. Ces concentrations étaient respectivement représentées comme contrôle, C1, C2, C3 et C4. Pour le test chronique, des concentrations de 50 % $nTiO_2$ + nFe_2O_3 ont été employées dans un rapport fixe de 1/2:1/2 (v/v), spécifiquement 0, 1,27, 3,87, 6,5 et 13,75 mg l−1, correspondant respectivement à contrôle, C1, C2, C3 et C4.

4.3.2-Test d'immobilisation

le test d'immobilisation a été réalisés conformément à la directive 202 de l'OCDE (O. Oecd, 2004). Le test a été effectué en utilisant seize répliques aléatoires par concentration et un contrôle négatif, avec huit néonates de moins de 24 heures par réplique exposés dans des béchers en verre de 50 ml. Les tests ont été maintenus à une température ambiante de 20 ± 1 °C et à un photopériode de lumière : obscurité de 16:8 h, et les *daphnies* n'ont pas été nourries pendant toute la durée de l'expérience. Après 12, 24 et 48 heures, l'immobilisation (c'est-à-dire l'incapacité de nager dans les 15 secondes suivant une agitation douce du bécher) et la mortalité ont été évaluées à l'aide d'un microscope équipé d'une caméra numérique (Leica, Wetzlar, Allemagne) et ensuite enregistrées (Ozmen, *et al.*, 2023). La concentration ayant entraîné l'immobilisation de 50 % des néonates (CL50) a été calculée. Les concentrations nominales des expositions uniques de $NanoTiO_2$ et $NanoFe_2O_3$ étaient respectivement de (0,1 ; 0,5 ; 1 et 5 mg L−1) et (5 ; 15 ; 25 et 50 mg L−1), choisies en fonction de leurs valeurs CE50 et d'études publiées antérieures modifiées. Les concentrations des mélanges à 100 % $nTiO_2$ + n Fe_2O_3 utilisées étaient de (0 ; 2,55 ; 7,75 ; 13 et 27,5 mg L−1) pour (témoin ; C1 ; C2 ; C3 ; C4), respectivement. Ces concentrations ont été choisies en fonction de leurs valeurs EC50 issues des expositions uniques pour chaque configuration expérimentale.

4.3.3-Design expérimentale (test chronique).

La toxicité chronique du mélange de NPs TiO_2 + Fe_2O_3 a été évaluée selon un protocole standard de l'OCDE (OECD 211, 1998) avec des modifications. Sur la base des résultats de toxicité aiguë, des néonates (âgés de 6 à 24 heures) ont été exposés pendant 21 jours aux concentrations suivantes, choisies en fonction du test aigu : 50 % TiO_2 + Fe_2O_3 (témoin) ; 1,27 ; 3,87 ; 6,5 et 13,75 mg L^{-1}. Dans cette expérience, huit néonates (âgés de 6 à 24 heures) ont été placés dans chaque bécher en verre contenant 50 ml de solution de test. Seize répliques placées aléatoirement de chaque concentration ont été utilisées. Les conteneurs de test ont été surveillés toutes les 24 heures pour enregistrer la

mort ou toute anomalie. Les *daphnies* ont été nourries quotidiennement avec *Raphidocelis subcapitata* à une concentration appropriée. Chaque adulte (et sa descendance, si présente) a été soigneusement séparé du bécher et les solutions de test ont été remplacées tous les trois jours. L'incubation a été réalisée à une température de 23 °C, sous les mêmes conditions de photopériode que celles utilisées dans l'expérience de culture. Les points d'évaluation des effets chroniques enregistrés ont été utilisés pour évaluer la reproduction de *D.magna*, y compris l'âge de maturation et le nombre d'œufs par femelle. Le nombre de mortalité des adultes dans chaque traitement a été enregistré pendant la période d'exposition et la durée de vie.

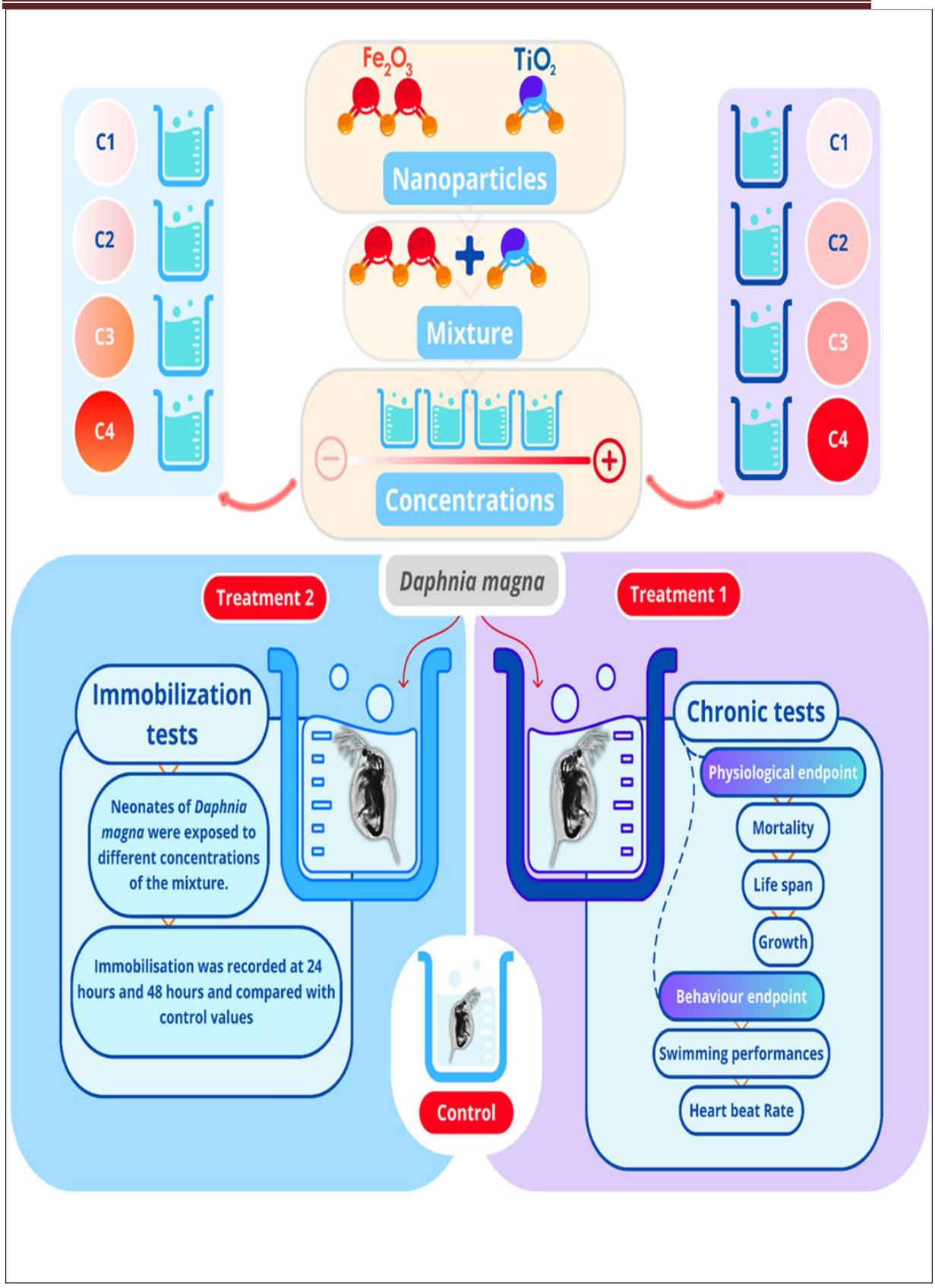


Figure 24. Design expérimental des mixtures de nanoTiO_2+ nanoFe_2O_3 sur les paramètres physiologiques et comportementaux de *D.magna*.

4.3.4- Exposition chronique au mélange TiO_2+Fe_2O_3 sur les paramètres physiologiques de *D.magna*

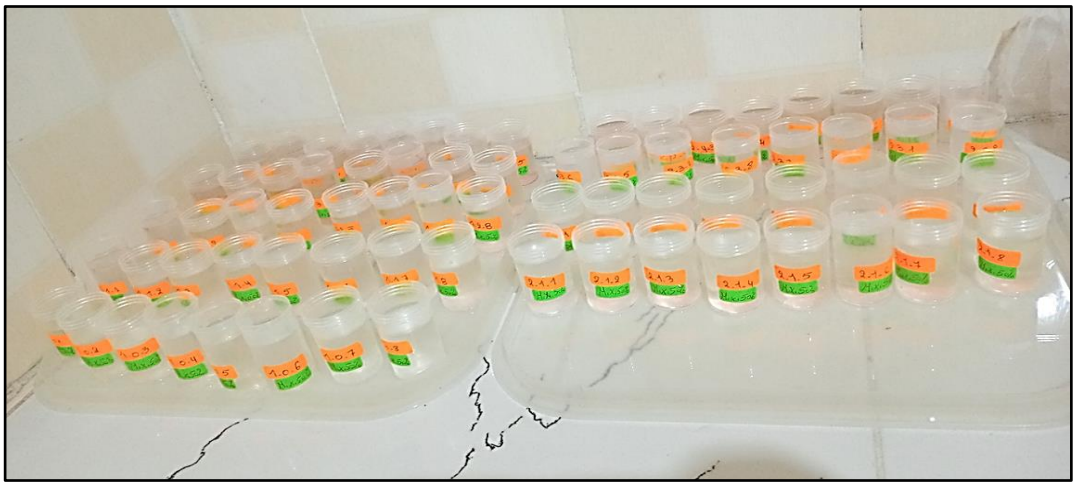


Figure 25. Protocole du Test de toxicité chronique.

4.3.4.1- Effet de l'exposition chronique au mélange sur la croissance de *D.magna*

Le taux de croissance a été défini par l'augmentation moyenne de la longueur corporelle des individus (8 individus de *D.magna*) à chaque mesure pour chaque bécher, depuis le début de l'expérience jusqu'à 21 jours. La longueur corporelle a été mesurée de la partie antérieure de la tête jusqu'à l'extrémité du corps, en excluant l'épine caudale. Elle a été calculée à partir de photos prises tous les cinq jours à l'aide d'un logiciel de traitement d'images, Image J (Toumi, 2013).

4.3.4.2- Effet de l'exposition chronique au mélange sur la durée de vie et la mortalité chez *D.magna.*

Le taux de mortalité (c'est-à-dire le nombre d'individus décédant à un moment donné) a été déterminé comme la pente du nombre d'individus décédant en fonction du temps sur la durée de 21 jours de l'étude. Cependant, la durée de vie a été définie par le nombre de jours de la vie de chaque individu dans chaque bécher tout au long de l'expérience.

4.3.4.3- Effet de l'exposition chronique au mélange sur la maturation et la reproduction chez *D.magna.*

Tout au long de l'expérience, les femelles matures ont été placées individuellement dans des gobelets séparés, avec une femelle par gobelet. Ces gobelets ont maintenu sous les mêmes conditions en ce qui concerne la concentration de la solution, la température

et l'alimentation quotidienne avec *Raphidocelis subcapitata*. Lorsque les œufs ont éclos, nous avons enregistré la date de la première portée ainsi que le nombre d'œufs.

4.3.5- Effet du mélange sur le comportement (performance de nage et rythme cardiaque) chez *D.magna*

4.3.5.1- Performance de nage chez *D.magna*

Après 48 heures d'exposition, nous avons sélectionné au hasard huit individus de chaque groupe de concentration, y compris le groupe témoin, au sein des mélanges de nanoparticules contenant diverses concentrations de TiO_2 + Fe_2O_3. Cette sélection a été effectuée pour évaluer leur vitesse de nage. Les individus ont été transférés séparément dans des gobelets transparents gradués de 100 ml, dans des conditions environnementales similaires à celles de l'expérience. Après stabilisation, la distance de nage a été mesurée chaque minute pendant 10 minutes, à l'aide d'un papier millimétré. Cette méthode a été modifiée à partir du protocole utilisé par (Kim *et al.*, 2021).

4.3.5.2- Rythme cardiaque

Après le test d'immobilisation, cinq néonates ont été sélectionnés au hasard de chaque groupe de concentration ainsi que dans le groupe témoin afin d'examiner le nombre de battements de cœur dans chaque condition d'exposition. La fréquence cardiaque a été enregistrée sous forme de fichier vidéo pendant une minute à l'aide d'un microscope à lumière intégré à ordinateur avec un grossissement de 4× (microscopes Optika, Italie). La fréquence cardiaque a été comptée manuellement en utilisant une lecture à faible vitesse (×0,3) et répétée trois fois, avec les valeurs moyennes de chaque échantillon utilisées pour la comparaison. (Kim *et al.*, 2021).

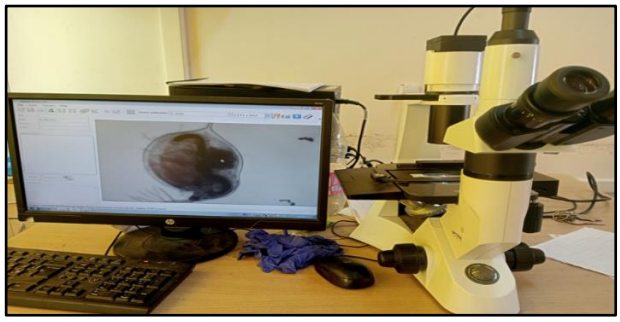


Figure 26. Microscope couplé à un ordinateur pour la mesure du rythme cardiaque de *D.magna*.

5- Analyse statistique

Les analyses statistiques ont été réalisées avec R 4.0.2 (R Core Team, 2021). Les hypothèses de normalité, d'homogénéité et les motifs résiduels dans les données ont été vérifiés (Zuur *et al.,* 2007). Le taux de croissance de l'espèce a été comparé entre les traitements de concentration à l'aide d'un modèle linéaire à effets mixtes. Le modèle incluait les traitements de concentration comme effet fixe et les gobelets comme intercept aléatoire. Pour identifier les différences potentielles dans le taux de croissance entre les différents traitements, le test post hoc de Tukey avec la fonction glut a été appliqué en utilisant le package multcomp (Hothorn *et al.,* 2008). Pour évaluer les différences dans tous les traits : la durée de vie (le nombre de jours de vie de chaque individu dans chaque gobelet), l'âge à la maturation (le temps en jours jusqu'à la première portée de chaque individu), le nombre d'œufs à la première portée, et la mortalité de l'espèce entre les concentrations des traitements, un modèle linéaire généralisé distinct à effets mixtes avec distribution d'erreur de Poisson et fonction de lien logarithmique a été utilisé. Cela a été suivi par des analyses post hoc de Tukey pour la comparaison par paires des différentes expositions aux concentrations de nanoparticules. Les modèles incorporaient le trait comme variable de réponse, un effet fixe des concentrations de traitement, et un effet aléatoire de l'identifiant des femelles ou des contenants (pour tenir compte de la surdispersion). Tous les modèles ont été ajustés en utilisant le package R lme4 (Bates *et al.,* 2015). Pour déterminer l'impact des traitements de concentration de nanoparticules sur la performance de nage et le comptage des battements de cœur, des analyses ANOVA ont été réalisées. De plus, nous avons effectué des tests par paires de Tukey pour évaluer les niveaux de traitement de nanoparticules qui différaient. Les données ont été présentées sous forme de moyenne ± erreur standard (SE). Le seuil minimum de signification maintenu est $p < 0,05$.

Chapitre 3 : Résultats

Partie 1 : Revue systématique de la littérature sur l'effet toxique des NPs de TiO_2 et Fe_2O_3 sur divers paramètres physiologiques et comportementaux des *Daphniidae*.

1- Caractérisation des études évaluées

Les résultats de la recherche informatisée à travers les bases de données, à savoir Science Direct, Google Scholar et Scopus, ont permis de collecter un total de 2780 documents scientifiques en texte intégral en langue anglaise. Parmi ceux-ci, 270 documents en double ont été écartés. Les documents ne répondant pas aux critères de sélection ont été éliminés ; en effet, si une seule condition était absente, le document était directement exclu. D'autres documents ont également été supprimés après une évaluation approfondie des titres et des résumés. En fin de compte, nous avons sélectionné 31 articles de recherche qui répondent à nos objectifs. La figure ci-dessus représente un organigramme illustrant le processus de sélection des études retenues. Les études sélectionnées ont utilisé la *daphnie* comme modèle biologique pour évaluer les effets toxicologiques des nanoparticules TiO_2 et Fe_2O_3. Les espèces les plus couramment utilisées sont *Daphnia magna* (*D.magna*) et *Ceriodaphnia dubia* (*C.dubia*). Ces deux espèces, ainsi que d'autres daphnies telles que *Daphnia similis*, sont également largement reconnues pour les protocoles standardisés des tests de toxicité sur les organismes vivants, tels que ceux établis par OCDE (O. Oecd, 2004) et l'EPA (EPA, 2002) . Cela s'explique par leurs caractéristiques spécifiques, notamment : un cycle de vie court, une reproduction parthénogénétique et une fécondité élevée, qui permettent d'obtenir rapidement un grand nombre d'organismes nécessaires aux tests ; une manipulation facile in vitro ; et une sensibilité à une large gamme de polluants. Parmi les études sélectionnées, 61 % (19 études) ont utilisé des tests de toxicité aiguë, notamment le test d'immobilisation, tandis que 12 % (4 études) ont opté pour des tests de toxicité chronique. Enfin, 22 % (7 études) ont adopté les deux types de tests simultanément. Ces tests visent à mesurer et évaluer l'effet toxique des nanoparticules de TiO_2 et de Fe_2O_3 sur divers paramètres physiologiques, tels que la mortalité, l'immobilisation, la croissance, la reproduction, les facteurs de bioaccumulation et la capacité d'absorption. Ils examinent également des paramètres comportementaux, comme la performance de la nage, ainsi que d'autres paramètres métaboliques, tels que la production de ROS (espèces réactives de l'oxygène) et le stress oxydatif, chez les espèces de *daphnies* étudiées, à savoir *Daphnia magna*,

Ceriodaphnia dubia et *Daphnia similis*. L'étude de ces paramètres permet d'observer les effets subletaux induits par des concentrations plus faibles de nanoparticules.

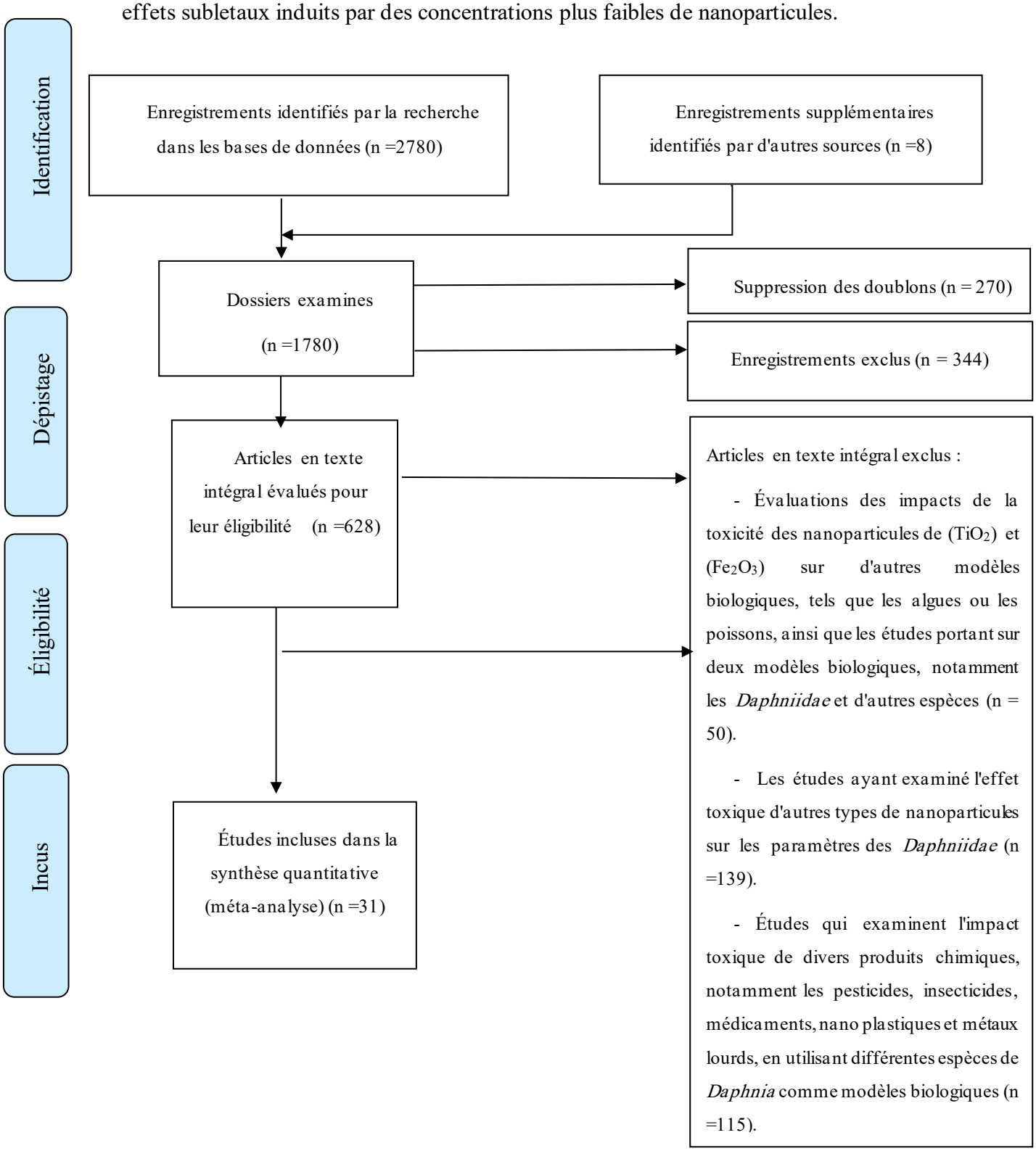


Figure 27. Organigramme du processus de sélection des études selon les normes PRISMA (preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses).

Tableau 05 : Informations bibliométriques des revues sélectionnées.

Titre du journal	N◦ d'articles	Impact factor	Cite Score	H index	SJR
Aquatic Toxicology	5	4.1	7.1	165	1.1
Chemosphere	3	8.1	15.8	311	1.81
Colloids and Surfaces B: Biointerfaces	1	5.4	11.1	198	0.91
Ecotoxicology and Environmental Safety	2	6.2	12.1	180	1.42
Environmental Pollution	9	7.6	16.0	301	2.13
Environmental Science and Pollution Research	1	5.8	6.6	179	1.01
Journal of Hazardous Materials	1	12.2	25.4	352	2.95
PLOS ONE	1	2.9	5.6	435	0.84
Science of the Total Environment	6	8.2	17.6	353	2
Scientific Reports	1	3.8	7.5	315	0.9
Water Research	1	11.4	20.8	376	3.6

2. Analyse des graphiques de bosses (Epic Epoch)

L'analyse des mots-clés est essentielle pour comprendre les dynamiques linguistiques et culturelles au fil du temps. Le diagramme à bosses, également connu sous le nom d'Epic Epoch, se présente comme un outil visuel puissant pour explorer cette évolution. La figure 29 montres les mots-clés les plus utilisés et leur évolution à différentes périodes. Il conviendrait de noter que la variation de teinte au fil de ces différentes périodes illustre l'évolution de la composition des groupes de mots-clés dans le domaine de recherche sur l'impact des NPs de TiO_2 et de Fe_2O_3, sur les écosystèmes aquatiques et les organismes vivants qu'ils abritent et en particulier la famille des *Daphniidae* crustacé d'eau douce. Le mot-clé « *Daphnia magna* » a été le plus fréquent entre 2010 et 2013, mais a progressivement perdu de sa popularité par la suite. Entre 2014 et 2016, il a continué à décliner, passant de la première à la deuxième position entre 2016 et 2017. Cependant, il a réussi à retrouver la première place en 2021. Par ailleurs, le mot-clé « *Daphnia*» occupait la septième position en 2013, mais a connu une ascension remarquable, atteignant la première place en 2017. Malheureusement, en 2022, il a également chuté, redescendant à la septième position.

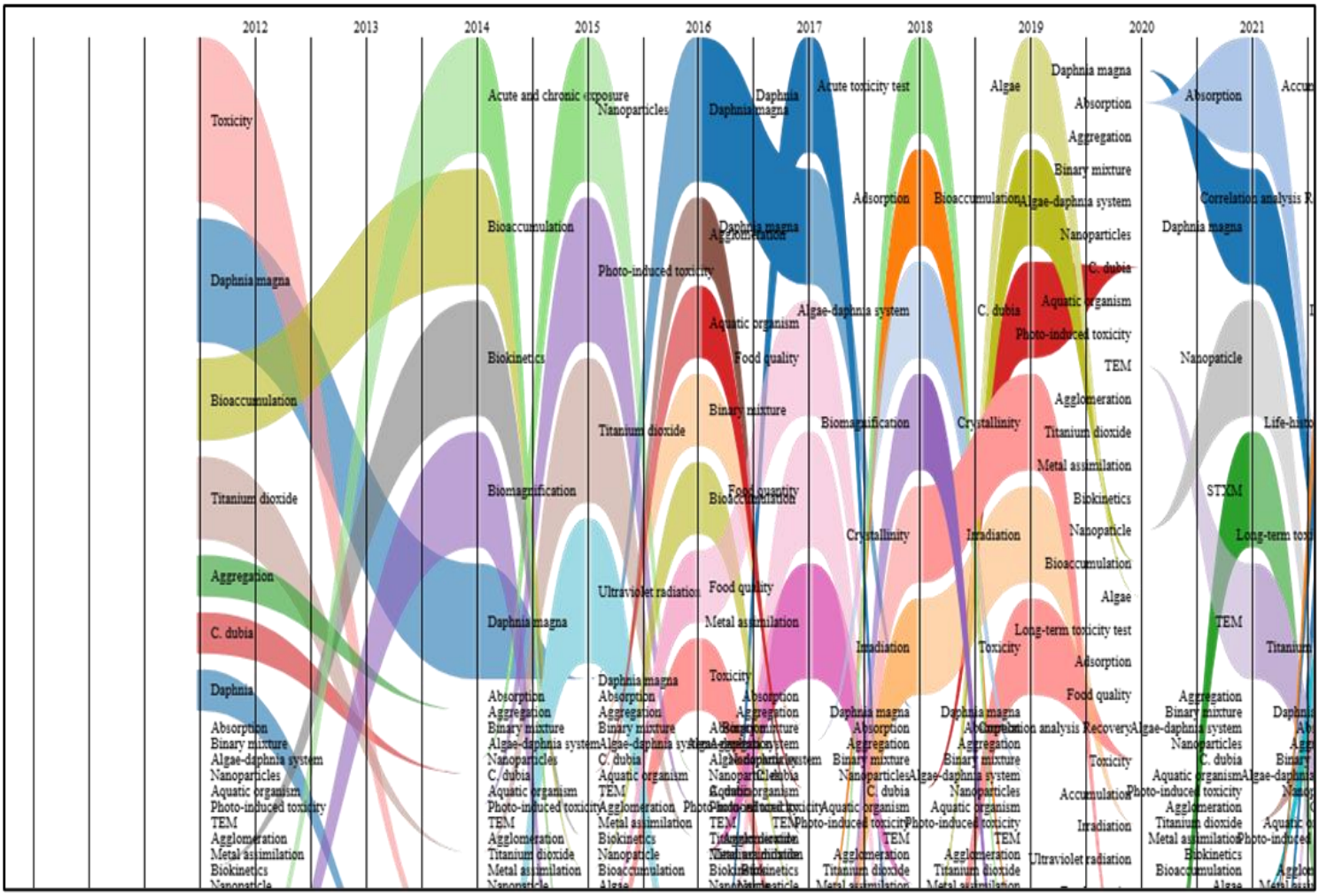


Figure 28. Graphique« Epic Epoch » illustrant les mots-clés les plus utilisés dans les articles Scientifiques de 2010 à 2023.

3- Nanoparticles de TiO_2

Le dioxyde de titane (TiO_2) est un photo-catalyseur apprécié pour ses propriétés environnementales et énergétiques. Il se caractérise notamment par sa photoactivité, sa stabilité et son coût raisonnable. On le retrouve dans divers produits de consommation comme les peintures et les cosmétiques, il trouve des applications dans les surfaces autonettoyantes, les systèmes de purification de l'air et de l'eau, ainsi que dans la stérilisation et la conversion photo-électrochimique. Ses atouts incluent aussi, une durabilité, une innocuité et une disponibilité satisfaisantes (Baek *et al.,* 2022) . Toutefois, leur utilisation soulève des préoccupations quant à leur impact potentiel sur la santé humaine. En particulier, le pigment E171, qui contient des TiO_2 NPs et qui constitue un additif alimentaire courant au sein de l'Union européenne, Ce pigment a été associé à plusieurs problèmes de santé, tels que des altérations de la barrière intestinale, une dysbiose intestinale et des perturbations des fonctions gastro-intestinales normales (Krasucka *et al.,*2022). Un nombre considérable

d'études a été publié sur l'effet toxique des NPs de TiO_2 sur les organismes aquatiques, y compris les daphnies. Dans la présente étude, nous avons extrait 28 travaux qui ont examiné l'impact toxique des NPs sur les traits de vie des daphnies, en utilisant des tests de toxicité standardisés de l'OCDE et de l'EPA pour *C. dubia*. Parmi ces études, 62 % (17 études) ont recouru à des tests de toxicité aiguë (tests d'immobilisation), 14 % (4 études) ont utilisé des tests de toxicité chronique (tests de reproduction), et enfin, 21 % (7 études) ont appliqué les deux types de tests, aigue et chronique. Le modèle biologique le plus fréquemment utilisé était *D.magna* (21 études), suivi de *C.dubia* (6 études), et une seule étude a été réalisée sur l'espèce *Daphnia similis.* Comme le montre le tableau 06. D'après l'étude de Wyrwoll *et al.,* (2016) , la toxicité des NPs de TiO_2 dépend de leur taille. Les particules de taille intermédiaire (25 nm) présentent la plus forte phototoxicité, avec une concentration efficace médiane (CE50) de 0,53 mg/L, suivies par celles de 10 nm (1,28 mg/L) et de 220 nm (3,88 mg/L). L'évaluation de l'activité photochimique indique que la formation de radicaux hydroxyles libres et d'autres espèces réactives de l'oxygène (ROS) augmente avec la diminution de la taille des particules, atteignant un maximum pour les particules de 25 nm, ce qui explique leur phototoxicité élevée. De plus, l'étude de Dabrunz *et al.,* (2011) souligne que la toxicité dépend également de la taille des NPs. Selon l'étude de Marcone *et al.,(* 2012), les Nono TiO_2, sous forme d'anatase et d'un mélange d'anatase et de rutile, affectent la mobilisation de *Daphnia similis* et montrent des valeurs de CE50 photo-dépendantes allant de 56,9 à 7,8 mg/L lorsqu'elles sont exposées à une lumière noire UV-A de 360 nm. Cela suggère que leur toxicité est liée à la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ROS). Les structures cristallines du TiO_2, telles que A-100 (anatase pure) et P25 (mélange de rutile et d'anatase), influencent également l'écotoxicité des Nano TiO_2 sur *Daphnia magna*. Un test semi-statique a révélé qu'une concentration de 0,06 mg/L de A-100 diminuait significativement la reproduction des *daphnies*, signalant ainsi un risque environnemental. En revanche, aucun impact sur la reproduction n'a été constaté avec A-100 et P25 lors d'un test en flux continu, quelle que soit la méthode utilisée (Seitz *et al.* 2013) Par ailleurs, les nanoparticules de rutile et d'anatase ont induit une mortalité similaire sous irradiation visible et UV-A chez *C. dubia*, sauf à des concentrations de 600 et 1200 µM, où le rutile a causé une mortalité plus élevée sous UV-A. Le mélange binaire a montré un effet synergique à basse concentration et un effet additif à haute concentration sous irradiation visible, tandis que sous UV-A, il a présenté un effet additif, sauf à 1200 µM où un effet antagoniste a été observé (Iswarya *et al.,* 2019). L'exposition chronique aux NPs de TiO_2, même à de faibles concentrations, peut affecter les traits de vie de *D.magna*. Cela corrobore par l'étude de Zhu

*et al.,(*2010), qui montre que l'exposition chronique au NanoTiO$_2$ à des concentrations aussi faibles que 0,1 mg/L peut inhiber la reproduction de *D.magna,* affectant ainsi sa population. De plus, des concentrations faibles de 0,5 à 5 mg/L peuvent entraîner une inhibition de la croissance et une mortalité accrue. L'accumulation élevée de NanoTiO$_2$ peut également réduire l'ingestion et la filtration, entraînant une malnutrition. Les NanoTiO$_2$ ont un impact significatif sur la reproduction et les traits de vie (croissance et taille corporelle des adultes et des juvéniles après 21 jours d'exposition) chez *D.magna*, avec des effets persistants sur plusieurs générations, même à de faibles concentrations de 0,02 mg/L (Nederstigt *et al.,*2022). Une autre étude montre que Nano-TiO$_2$ peuvent influencer l'accumulation et l'assimilation des métaux lourds dans les organismes vivants. Cela est en accord avec l'étude Fan *et al.,* (2016) qui indique que NanoTiO$_2$ influencent l'accumulation de métaux lourds dans les organismes de manière variable, en fonction de leur capacité à adsorber ces métaux et à absorber les complexes formés. Par exemple, elles réduisent la concentration de cuivre (Cu) dans l'eau et son accumulation dans *D.magna*. De plus, les nanoparticules de TiO$_2$ peuvent favoriser l'assimilation des métaux tels que le cadmium et le zinc chez *D.magna*, mais cela n'implique pas une augmentation de leur biodisponibilité ou de leur toxicité. En effet, la présence de NanoTiO$_2$ accroît la toxicité de l'argent tout en réduisant celle de l'arsenic et du cuivre (Tan et Wang 2017) Cependant, la toxicité des nanoparticules de dioxyde de titane NanoTiO$_2$ et leur interaction avec le plomb (Pb) chez *C.dubia* ont également été étudiées. Il a été constaté que les algues *Raphidocelis* atténuent la toxicité combinée de ces substances, réduisant la mortalité des organismes de 80 % à 35 % à une concentration de 1,8 × 10^5 cellules/mL. Bien que les algues n'affectent pas l'accumulation ou la distribution du plomb, elles semblent fournir une énergie métabolique qui aide *C.dubia* à gérer le stress oxydatif causé par le plomb (Liu *et al.,*2019). Enfin, NanoTiO$_2$ peuvent se transférer dans la chaîne alimentaire aquatique, principalement par l'alimentation. Les formes d'anatase et de rutile accumulent le Ti de manière optimale sous irradiation UV-A et visible, respectivement, avec un facteur de biomagnification (BMF) élevé, indiquant leur potentiel de transfert trophique. En revanche, un mélange binaire de ces formes réduit l'accumulation de Ti et entraîne moins de mortalité chez *Ceriodaphnia dubia* (Iswarya *et al.,* 2018)**.** En conclusion, les études sur la toxicité des *Nano*TiO$_2$ révèlent que leur impact sur les organismes aquatiques, notamment *D.magna* et *C.dubia*, est fortement influencé par leur taille, leur structure cristalline et les conditions d'exposition. Les résultats montrent que même à de faibles concentrations, ces nanoparticules peuvent entraîner des effets néfastes sur la reproduction, la croissance et la survie des espèces étudiées. De plus, leur capacité à

interagir avec d'autres contaminants, tels que les métaux lourds, souligne l'importance d'évaluer les risques environnementaux associés à leur utilisation. Ces connaissances sont essentielles pour mieux comprendre les implications écologiques des nanoparticules de TiO_2 et pour développer des stratégies de gestion visant à minimiser leur impact sur les écosystèmes aquatiques.

4- Nanoparticules de Fe_2O_3

La majorité des nanoparticules d'oxyde de fer (NPs) présentes à la surface de la Terre sont de la magnétite (Fe_3O_4) et de la maghémite (Fe_2O_3). Ces nanoparticules se présentent sous forme de nanocristaux, qui sont produits par des éruptions volcaniques, le trafic, les émissions industrielles et les incendies (Besnaci *et al.*, 2016). Par ailleurs, NanoFe_2O_3 sont également fréquemment utilisées dans plusieurs secteurs, tels que le traitement de l'eau, le stockage magnétique, les cosmétiques et l'industrie chimique (Ates *et al.*, 2020). Cependant, l'exposition professionnelle aux Nano Fe_2O_3 entraîne des risques pour la santé et l'environnement (Farsi *et al.*, 2021). Des recherches récentes ont montré que le relâchement de ces nanoparticules dans l'environnement, en particulier dans les milieux aquatiques, peut avoir des effets néfastes sur les organismes aquatiques, tels que les poissons (Ates *et al.*, 2016)et les puces d'eau (Kwon *et al.*, 2014).

Dans cette revue systématique, nous avons identifié trois études portant sur l'effet toxique des Nano Fe_2O_3 sur les paramètres physiologiques et comportementaux de *D.magna* et *C.dubia*. Deux de ces études ont utilisé des tests de toxicité aiguë, tandis qu'une seule a combiné des tests aigus et chroniques. Les concentrations des nanoparticules variaient de 0,078 à 50 mg/L. D'après Hu *et al.*, (2012) les phénomènes de bioaccumulation et de dépuration du NanoFe_2O_3 dans *C.dubia* sont influencés par divers facteurs, tels que le temps d'exposition, la concentration de nanoparticules et le pH. Les résultats de cette étude montrent que l'accumulation maximale de NanoFe_2O_3 dans *C.dubia* a été observée après six heures d'exposition à des concentrations de 20 mg/L ou plus, avec des niveaux les plus élevés à un pH compris entre 7 et 8. Cela suggère que l'ingestion est la principale voie de bioaccumulation. Dans un environnement sans nanoparticules, la dépuration de NanoFe_2O_3 a eu lieu, et l'ajout de nourriture a accéléré ce processus. L'exposition de *D.magna* aux NPs de maghémite n'a montré aucune toxicité chez les adultes, mais a eu des effets létaux sur les embryons de *D.magna* en raison de la réactivité des NPs. Les daphnies adultes ont la capacité d'éliminer rapidement les nanoparticules sans effets retardés, bien que des mortalités aient

été observées lors des tests de reproduction à faibles concentrations. Les performances de croissance et de reproduction des groupes exposés étaient légèrement inférieures à celles des témoins, sans différences significatives (Magro *et al.,* 2018). Cependant, les $NanoFe_2O_3$ avec différents revêtements ont des effets variés sur *D.magna*, notamment une agglomération accrue et une inhibition de la mue. Les $NanoFe_2O_3$ instables ont causé les effets les plus marqués sur les daphnies. Ni la taille des particules ni le type de forces stabilisatrices n'ont déterminé les effets observés. Il a été constaté que les agents de recouvrement influencent leur stabilité colloïdale et leur toxicité pour les néonates de daphnie (*D.magna*). Cette étude examine spécifiquement comment des revêtements tels que l'ascorbate, le citrate, le dextran et le polyvinylpyrrolidone influencent les propriétés des nanoparticules et leur potentiel écotoxicologique (Baumann *et al.,* 2014). En résumé, les études examinées mettent en évidence les effets toxiques des nanoparticules d'oxyde de fer $NanoFe_2O_3$ sur *D.magna* et *C.dubia*, soulignant l'importance de divers facteurs tels que la concentration, le temps d'exposition et le pH dans les processus de bioaccumulation et d'épuration. Bien que les adultes de *D.magna* semblent résister à la toxicité des nanoparticules, tandis que les embryons sont particulièrement vulnérables, ce qui soulève des préoccupations quant à la reproduction et à la survie des populations. De plus, les variations dans les revêtements des NPs influencent leur toxicité et leur comportement dans l'environnement aquatique. Ces résultats soulignent la nécessité d'une évaluation approfondie des risques éco toxicologiques associés aux nanoparticules, afin d'informer les réglementations et les pratiques de gestion des risques.

Tableau 06: Impact toxique des NPs de TiO_2 et Fe_2O_3 sur les paramètres physiologiques, comportementaux et biochimique chez la famille des *Daphniidae* signalés dans des articles scientifiques publiés depuis 2000.

Référence	Année	Type de test	Gamme de concentration	Traits étudiés	Principaux résultat de l'étude
(Kim *et al.*, 2010)	2010	Tests de toxicité aiguë et chronique.	Test aiguë: 0, 1, 2, 5, et 10 mg/L test chronique:.0, 0.5, 1, 2.5, 5, et 10 mg/L TiO_2 NPs.	La reproduction. Stress oxydatif [Les enzymes antioxydants catalase (CAT), superoxyde dismutase (SOD), glutathion peroxydase (GPX) et glutathion-S-transférase (GST)].	•Augmentation l'activité des enzymes antioxydants catalase (CAT), glutathione peroxydase (GPX) et glutathione-S-transférase (GST) chez *Daphnia magna*. • La mortalité a significativement augmenté à des concentrations de 5 et 10 mg/L de TiO_2NP. • La capacité de reproductif des organismes exposés n'a pas été réduite.
(Zhu, *et al.*, 2010)	2010	Tests de toxicité aiguë et chronique.	Test aiguë (0.1, 0.5, 1, 5, 10, 50 and 100 mg L-1). Test chronique (0.1, 0.5, 1and 5 mg L-1).	La reproduction. La croissance. La mortalité. La bioaccumulation (mesure de la charge corporelle de $nTiO_2$).	• La mortalité de *C.dubia* est principalement due à l'absorption de l'arsenic (As(V)) sous ses formes dissoute et adsorbée. •Le n-TiO_2 influence l'absorption totale d'As(V). •La mortalité des *C.dubia* augmente avec la concentration de n-TiO_2. Cependant, à une certaine concentration de n-TiO_2, les niveaux d'As(V) dissous et adsorbés diminuent significativement.
(Wang *et al.*, 2011)	2011	Test de toxicité aiguë.	Gamme de Concentration • As(V) : 0, 0.45 mg/L, 0.75 mg/L, 1.5 mg/L, 2.25 mg/L, 4.5 mg/L, 2.5 mg/L, et 3.0 mg/L. • n-TiO_2 : 1.00±0.05 mg/L, 10±2 mg/L, 50±5 mg/L, 100±5 mg/L,	La mortalité. La mobilité. La bioacumulation (Mécanismes d'absorption).	•La mortalité de *C.dubia* est principalement due à l'absorption de l'arsenic (As(V)) sous ses formes dissoute et adsorbée. •Le n-TiO_2 influence l'absorption totale d'As(V). •La mortalité des *C.dubia* augmente avec la concentration de n-TiO_2. Cependant, à une certaine concentration de n-TiO_2, les niveaux d'As

			200±5 mg/L, et 300±5 mg/L.	La bioaccumulation de n-TiO_2 (Évaluation de l'augmentation du poids corporel).	
(Fan *et al.*,2011)	2011	Tests de toxicité aiguë.	• La gamme de concentrations de Cu^{2+} est aiguë est de 10, 20, 30, 40, 50, 70 et 100 mg/L. • La concentration de nano- TiO_2est de 2 mg/L.	La bioaccumulation de cuivre. La concentration de métallothionéine (MT). La mortalité.	• Le nano-TiO_2 augmente la bioaccumulation du cuivre chez *D.magna*. • La mortalité de *D.magna* augmentait avec la concentration de Cu^{2+}, et cette mortalité était encore plus élevée en présence de nano- TiO_2.
(Dabrunz *et al.*, 2011)	2011	Tests de toxicité aiguë.	0,5, 1, 2, 4 et 8 mg/L de n TiO_2	L'immobilisation. Nombre de mue. La mortalité.	•L'exposition à 2 mg/L de nTiO_2 de moins de 100 nm réduit significativement le succès de la deuxième mue à 10%, comparé à un succès de 100% dans le groupe de contrôle.
(Fouqueray *et al.*, 2012)	2012	Tests de toxicité chronique.	0.01, 0.1, 1 et 10 mg/L de TiO_2 RNM.	La survie. Le taux de croissance des algues. Les paramètres photosynthétiques. La reproduction	• L'exposition chronique à des concentrations de TiO_2 RNM à partir de 0,01 mg/L entraîne une diminution significative de la reproduction, une réduction de la taille des daphnies et une baisse des activités enzymatiques, notamment l'amylase et l'esterase. •Après 21 jours. Une mortalité a été observée à 0,1 mg/L, qui sont la concentration minimale avec effet observé (LOEC) sur cette période.
(Bundschuh *et al.*, 2012)	2012	Tests de toxicité aiguë et chronique.	0,00, 0,50, 1,00, 2,00, 4,00 ou 8,00 mg/L de n TiO_2.	La reproduction (nombre de descendants). La sensibilité aiguë des daphnies à différentes concentrations de n TiO_2.	• Aucuns signes de stress toxique chez les daphnies adultes. Cependant, la génération de descendants des daphnies exposées était significativement plus sensible au nTiO_2.
(Marcone *et al.*, 2012)	2012	Tests de toxicité aigue	De 1 à 100 mg L-1 de	L'immobilisation.	• Les nanoparticules de TiO_2 sous forme d'anatase et un mélange d'anatase et de rutile, lorsqu'elles sont illuminées par une lumière noire UV A avec une longueur d'onde de 360 nm, présentent des valeurs EC50 photo-dépendantes de 56,9 à 7,8 mg L^{-1}. Cela indique un mécanisme de toxicité causé par la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ROS).

(Seitz *et al.*, 2013)	2013	Tests de toxicité chronique.	0.06 mg/L, 0.20 mg/L, 0.60 mg/L, et 2.00 mg/L de $nTiO_2$	La croissance (La longueur du corps des adultes et des descendants). La reproduction (Le nombre de descendants produits).	•Une concentration de 0,06 mg/L de A-100 a réduit significativement la reproduction des *daphnies*, •Aucun effet sur la reproduction n'a été observé avec le test en flux continu pour A-100 et P25.
(Campos *et al.*, 2013)	2013	Tests de toxicité chronique	0, 1 et 10 mg/l de $NanoTiO_2$	La survie. La reproduction (Age de la maturité). La croissance (La taille corporelle). La reproduction (La taille de la première ponte). La reproduction cumulative. La bioaccumulation.	• Des effets négatifs sur la longueur du corps ont été observés pour NM-103, NM-104 et P-25. •Des effets significatifs sur les taux de croissance de la population (r) pour NM-103 à une concentration de 10 mg/l et à des niveaux de ration alimentaire faibles.
(C. Tan et Wang, 2014)	2014	Tests de toxicité aiguë	Nano-TiO_2 utilisées étaient de 0,1 mg/L et 1 mg/L.	La bioaccumulation (l'absorption des métaux (Cd et Zn)). La survie. Mesure de la ROS (espèces réactives de l'oxygène). La survie. La reproduction.	La pré-exposition à 1 mg/L de nano-TiO_2 augmentait la toxicité du Cd et du Zn chez *Daphnia magna*, entraînant : •Une mortalité plus rapide par rapport aux contrôles. •Les daphnies exposées à 1 mg/L de nano-TiO_2 sont mortes 10 heures plus tôt pour le Cd et 2 heures plus tôt pour le Zn que les contrôles. •Le taux de survie cumulatif était significativement plus bas pour les daphnies traitées avec 1 mg/L de nano-TiO_2 par rapport aux contrôles.
(Dalai *et al.*, 2014)	2014	Tests de toxicité aiguë et chronique.	Les concentrations de TiO_2 utilisées pour les tests de toxicité aiguë et chronique allaient de 0,05 à 5,0 µg/mL.	La croissance (longueur corporelle) La bioaccumulation factor (BAF). L'absorption. L'immobilisation. La bioaccumulation.	•L'exposition chronique aux nanoparticules de TiO_2 affecte : la survie, la reproduction et la croissance des daphnies. •Les daphnies exposées à des concentrations plus élevées de TiO_2 ont montré une bioaccumulation accrue, mais une toxicité réduite à la concentration de 5,0 µg/mL par rapport à 0,5 µg/mL.

(Mansfield *et al.*, 2015)	2015	Tests de toxicité aiguë	La gamme de concentrations de TiO_2 utilisée comprend 2 ppb, 20 ppb, 200 ppb, 2 ppm, 20 ppm et 200 ppm.	Caractérisation des poudres et des suspensions de TiO_2 :(Taille des particules ; surface spécifique ; Structure cristalline). Evaluation de l'impact de la taille des nanoparticules de dioxyde de titane (nano-TiO_2) et de la force ionique sur leur phototoxicité aiguë envers *Daphnia magna*.	• L'immobilisation a été observée chez les organismes exposés à la fois au TiO_2-NP anatase et aux UVR. Cependant, les organismes qui ont accumulé du TiO_2 et ont ensuite été déplacés vers de l'eau propre ont montré peu ou pas de toxicité photo-induite, tandis que ceux exposés au TiO_2 en suspension aqueuse ont démontré une toxicité significativement plus grande.
(Wyrwoll *et al.*, 2016)	2016	Tests de toxicité aiguë.	La gamme de concentration des nanomatériaux TiO_2 étudiés est la suivante : • NM 100 : 0.1 à 100 mg/L. • NM 101 : 1.28 à 50 mg/L (SSR) et 12 à 100 mg/L (LL). • NM 102 : 0.21 à 50 mg/L dans les expériences SSR et LL.	Le facteur de bioconcentration (BCF) : •Le taux d'absorption (ku). •Le taux de dépuration (ke) des nanoparticules de TiO_2 chez *Daphnia magna*. Stress oxydatif	•Les particules de taille intermédiaire (25 nm) ont montré la plus grande photo toxicité, suivies des particules de 10 nm et 220 nm, avec des concentrations efficaces médianes (EC50) respectives de 0,53, 1,28 et 3,88 mg/L. •L'évaluation de l'activité photochimique indique que la formation de radicaux hydroxyles libres augmente avec la diminution de la taille des particules. La concentration maximale des espèces réactives de l'oxygène (ROS) est observée pour des particules de 25 nm, ce qui est associé à leur forte phototoxicité.
(Fan *et al.*,2016)	2016	Tests de toxicité aiguë.	0,1 mg/L, 1 mg/L et 10 mg/L.	La reproduction (nombre cumulé de descendants).	•Les résultats montrent que les six types de TiO_2NPs étudiés sont très bio accumulatifs. Les facteurs de bioconcentration (BCF) ont été quantifiés et il a été observé que les propriétés des TiO_2NPs influencent ces facteurs.
(Bundschuh *et al.*,2016)	2016	Tests de toxicité aiguë et chronique.	• La gamme de concentration de TiO_2 est varié de 0 à 36 mg/L. • La gamme de concentration de TiO2 est varié de 0 à 15 mg/L.	La croissance (longer du corps et poids du corps). La bioaccumulation	•Les nanoparticules de dioxyde de titane (nTiO_2) peuvent modifier l'allocation d'énergie chez *Daphnia magna*, influençant leur croissance et leur reproduction. Bien que les adultes exposés aux nTiO_2 aient montré une augmentation de la longueur, du poids corporel et de la production reproductive, les juvéniles issus de ces adultes étaient plus petits et plus légers. Une exposition continue aux nTiO_2 pourrait entraîner un déclin ou même un effondrement de la population.

				La capacité d'adsorption	
(Fan *et al.*, 2016)	2016	Tests de toxicité aiguë.	/	L'effet de la matière organique (comme l'acide humique) sur ces processus. La teneur en titane (Ti) dans les daphnies (mg/kg). L'absorption.	•Les nano-TiO_2 affectent différemment l'accumulation de métaux lourds dans les organismes en fonction de leur capacité à les adsorber. Ils diminuent la concentration de cuivre (Cu) dans l'eau, réduisant ainsi son accumulation dans *D.magna*, mais augmentent l'accumulation de cadmium (Cd) et d'arsenic (As) dans les carpes.
(Iswarya *et al.*, 2016)	2016	Tests de toxicité aiguë	De 0,5 à 5 mg/L.	La teneur en Ti. La survie. La reproduction. La croissance. La mortalité. La bioaccumulation.	•Les nanoparticules de dioxyde de titane (TiO_2NPs) ont des effets toxiques sur les daphnies, affectant leur survie, leur reproduction et leur croissance. •Les effets étaient plus prononcés sous irradiation UV-A. De plus, les daphnies ont absorbé des quantités significatives de Ti, avec une absorption relative exprimée en L/kg.
(Liu *et al.*,2017)	2017	Tests de toxicité aiguë	0, 0.1, 1, et 10 mg/	La réduction de l'irradiation UV-B dans l'eau. La bioaccumulation (l'assimilation alimentaire des métaux [le cadmium (Cd) et le zinc (Zn)]). La bioaccumulation.	•Les nanoparticules de TiO_2 (TiO_2-NPs) ont diminué la toxicité des radiations UV-B pour les *Daphnia magna*, réduisant la mortalité des daphnies de jusqu'à 62% à une concentration de 10 mg/L.
(Tan *et al.*,2017)	2017	Tests de toxicité aiguë	De 1 mg/L à 10 mg/L.	La mortalité. Le facteur de bioconcentration (BCF).	•Les nanoparticules de TiO_2 peuvent favoriser l'assimilation des métaux cadmium (Cd) et zinc (Zn) chez *Daphnia magna*.
(Iswarya *et al.*, 2018)	2018	/	75, 300 et 1200 µM.	La bioaccumulation. L'irradiation (visible et UV-A) et de la cristallinité sur ces paramètres. L'immobilisation. La fréquence de mue.	•Les nanoparticules de dioxyde de titane (TiO_2NPs) peuvent se transférer dans la chaîne alimentaire aquatique, principalement par l'alimentation. Les formes d'anatase et de rutile accumulent le Ti sous irradiation UV-A et visible, respectivement, avec un facteur de biomagnification (BMF) élevé, indiquant leur potentiel de transfert trophique. En revanche, un mélange binaire de ces formes réduit l'accumulation de Ti et entraîne moins de mortalité chez *Ceriodaphnia dubia*.

(Novak *et al.*,2018)	2018	Tests de toxicité aiguë	0,1 ; 0,5 ;1 ; 10 et 100 mg/L	L'adsorption des nanoparticules (NPs). La mortalité. Stress oxydatif.	•L'adsorption des nanoparticules de TiO_2 sur les daphnies est significative à des concentrations de 10 et 100 mg/L, sans impact sur le processus de mue. La majorité des daphnies ont mué entre 3 et 24 heures, sans différences entre les groupes exposés. Cependant, aucune deuxième mue n'a été observée avant 72 heures, y compris dans les groupes de contrôle
(Iswarya *et al.*, 2019)	2019	Tests de toxicité aiguë.	75 à 1200 µM.	Profil d'agrégation des NP de TiO2 dans l'eau douce stérile. Le facteur de bioconcentration (BCF). Le taux d'absorption (ku)	• Les NPs de rutile et d'anatase ont induit une mortalité similaire sous irradiation visible et UV-A, sauf à des concentrations de 600 et 1200 µM où le rutile a causé une mortalité plus élevée sous UV-A. • Les,mixtures montrent un effet synergique à basse concentration et un effet additif à haute concentration sous irradiation visible, tandis que sous UV-A, il a montré un effet additif sauf à 1200 µM où l'on note un effet antagoniste.
(Chen *et al.*, 2019)	2019	Tests de toxicité aiguë.	0, 0,1, 1 et 10 mg/L.	Le taux d'efflux (ke). Les profils métaboliques des daphnies, la biosynthèse des acides gras, et la biosynthèse des aminoacyl-ARNt). La mortalité. La bioaccumulation.	•Le nTiO_2, une fois ingéré par les daphnies, s'accumule principalement dans leur intestin et son élimination est partielle. Les variations de taille et de forme cristalline du nTiO_2 influencent le métabolisme du pyruvate et le cycle de Krebs chez ces organismes. L'étude a également examiné la toxicité du n TiO_2 et son transfert trophique des algues vers les daphnies.
(Liu *et al.*,2019)	2019	Tests de toxicité aiguë.	La gamme de concentration de nanoTiO_2 varie de 0 à 1200 mg/L. Pour le Pb(II), la concentration varie jusqu'à 2500 µg/L.	L'absorption. Stress Oxydatif.	•Les algues *Raphidocelis* réduisent la toxicité combinée du nano-TiO_2 et du plomb sur *C.dubia*, diminuant la mortalité de 80% à 35% à une concentration de 1.8×10^5 cellules/mL.
(Liu *et al.*,2021)	2021	Tests de toxicité aiguë et chronique.	25 mg/L de TiO_2NPs	La bioaccumulation. La mortalité La reproduction (Age de la maturité sexuelle de la 1éré couvée).	•L'absorption des NanoTiO_2 par *Daphnia magna* est surtout déterminée par leur agglomération plutôt que par la taille de leur noyau. Ces NPs ne pénètrent pas directement dans les tissus du tractus digestif sans modifications morphologiques significatives. De plus, une augmentation du stress oxydatif a été observée, liée à l'accumulation de NPsTiO_2dans l'intestin de *D.magna*.
	2022			La reproduction (Nombre de nouveau-nés dans la 1éré couvée)	•L'étude montre que l'exposition aux NPs de TiO_2 à un impact significatif sur la reproduction et les traits de vie de *D.magna*, même à de faibles

(Nederstigt *et al.*,2022)		Tests de toxicité chronique.	0,02 mg L−1, 0,2 mg L−1, 2 mg L−1 et 5 mg L−1.	La reproduction (Nombre de couvées dans la première couvée). La reproduction (Nombre de néonates par couvée enregistrés sur 21). La croissance (Taille corporelle des adultes après 21 jours d'exposition). La croissance (Taille corporelle des nouveau-nés de la 3ème couvée). Caractérisation des NPs : Comportement et toxicité des NanoTiO_2 au cours de l'expérience. La mortalité. Les performances de nage.	concentrations (0,02 mg L−1). Ces effets persistent sur plusieurs générations.
(Fan *et al.*,2016)	2016	Tests de toxicité aiguë.	20 à 200 mg/L.	La reproduction (nombre de descendants). La croissance. La distribution des SAMN dans le crustacé. L'absorption. La mortalité. La bioaccumulation.	•L'étude a révélé que les SAMNs n'étaient pas toxiques pour les organismes du premier niveau trophique, mais qu'ils avaient des effets létaux sur les embryons de *Daphnia magna* en raison de la réactivité des nanoparticules. Les daphnies adultes ont éliminé rapidement les SAMNs sans effets retardés, bien que des mortalités aient été observées lors des tests de reproduction à faibles concentrations. Les performances de croissance et de reproduction des groupes exposés étaient légèrement inférieures à celles des témoins, sans différences significatives.
(Hu *et al.*, 2012)	2012	Tests de toxicité aiguë.	1, 5, 10, 20, et 50 mg/L.	la mortalité. L'immobilisation. La bioaccumulation Stress oxydatif. La reproduction	•L'accumulation maximale de NanoFe_2O_3 dans *Ceriodaphnia dubia* a été observée après 6 heures d'exposition à des concentrations de 20 mg/L ou plus, avec des niveaux les plus élevés dans un pH de 7 à 8. Cela suggère que l'ingestion est la principale voie de bioaccumulation.

Partie 2 : Réponse physiologique et comportementale de *Ceriodaphnia dubia* à l'exposition aux NanoTiO$_2$ et NanoFe$_2$O$_3$

1- Impact de l'exposition chronique aux NPs de TiO$_2$ et Fe$_2$O$_3$ sur les paramètres physiologiques

1.1- La croissance

Le tableau 07, illustre l'Effet des concentrations de nanoTiO$_2$ et nanoFe$_2$O$_3$ sur le taux de croissance corporelle moyen des individus.

Le taux de croissance corporelle moyen des individus de chaque groupe, est mesuré depuis le premier jour de l'expérience jusqu'au 21 ^{ème} jour, l'analyse ANOVA d'un modèle linéaire mixte général (LMER) a démontré un effet hautement significatif du traitement sur le taux de croissance de l'espèce ($\chi2 = 274,46$, Df = 4, $p < 0,0001$; $\chi2 = 321,45$, Df = 4, $p < 0,0001$) pour les concentrations de TiO$_2$ et Fe$_2$O$_3$. Néanmoins, le groupe témoin et les différents groupes exposés ont révélé des différences statistiquement significatives dans le taux de croissance (voir tableau S1). Les tests de Tukey ultérieurs pour les comparaisons par paires du taux de croissance ont montré que les quatre concentrations testées de nanoTiO$_2$ et Fe$_2$O$_3$ (C1, C2, C3 et C4) affectaient significativement la croissance de la longueur de *C. Dubia* par rapport aux témoins, qui présentent le taux de croissance le plus élevé. Pour les nanoparticules de TiO$_2$, les individus du groupe témoin avaient un taux de croissance moyen de 0,00792 ± 0,000232 mm, comparé aux taux de croissance des lots expérimentaux de 0,00513 ± 0,000184 mm, 0,00478 ± 0,000223 mm, 0,00400 ± 0,000124 mm, 0,00400 ± 0,000222 mm, pour C1, C2, C3, C4, respectivement. Concernant les NPs de Fe$_2$O$_3$, le taux de croissance du groupe témoin était de 0,00909 ± 0,000167 mm, comparé aux taux de croissance du groupe expérimental de 0,00631 ± 0,000290 mm, 0,00660 ± 0,000191 mm, 0,00433 ± 0,000188 mm, 0,00457 ± 0,000209 mm, pour C1, C2, C3, C4, respectivement.

Tableau 07 : Effet des concentrations de nanoTiO$_2$ et nanoFe$_2$O$_3$ sur le taux de croissance de *C.dubia* évaluée par le modèle mixte linéaire.

Concentration	*Estimation*	*SE*	*df*	*t*	*p*
TiO_2					
(Intercept)	0.0051292	0.0002010	74.0637826	25.523	< 2e-16 ***
Concentration C2	-0.0003521	0.0002761	59.9999998	-1.275	0.207162
Concentration C3	-0.0011250	0.0002761	59.9999998	-4.075	0.000137 ***
Concentration C4	-0.0011312	0.0002761	59.9999998	-4.097	0.000127 ***
Témoin	0.0027927	0.0002761	59.9999998	10.115	1.39e-14 ***
Fe_2O_3					
(Intercept)	*0.0063062*	*0.0002134*	*75.0000000*	29.547	< 2e-16 ***
Concentration C2	*0.0002958*	*0.0003018*	*75.0000000*	0.980	0.33
Concentration C3	*-0.0019760*	*0.0003018*	*75.0000000*	-6.547	6.49e-09 ***
Concentration C4	*-0.0017333*	*0.0003018*	*75.0000000*	-5.743	1.88e-07 ***
Témoin	*0.0027797*	*0.0003018*	*75.0000000*	9.209	5.96e-14 ***

La concentration C1 (TiO_2, Fe_2O_3) (0.1mg L^{-1} ; 5mg L^{-1}) est utilisée comme niveau de référence pour le calcul des contrastes. C2 (TiO_2, Fe_2O_3) (0.5mg L^{-1}: 15mg L^{-1}), C3 (TiO_2, Fe_2O_3) (1mg L^{-1}; 25mg L^{-1}), C4 (TiO_2, Fe_2O_3) (50 mg L^{-1}; mg L^{-1}), respectivement. Indiquent une signification de probabilité : ***—p<0.001; **—p<0.01; *—p≤0.05.

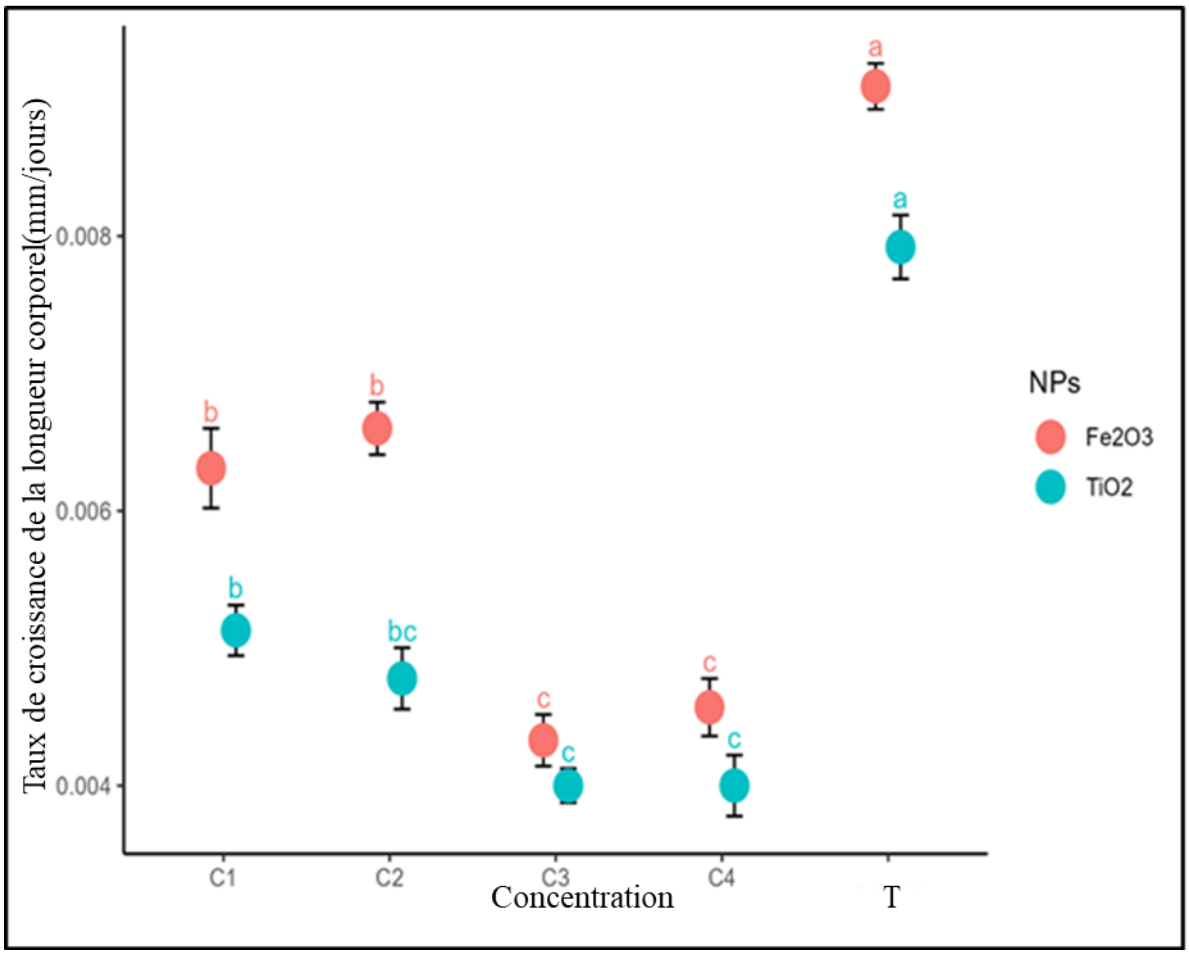


Figure 29. Taux de croissance des individus dans les différents groupes pendant la période d'exposition de 21 jours aux NanoTiO_2 et NanoFe_2O_3 aux quatre concentrations testées.

1.2- Impact sur la durée de vie et mortalité

Durant l'expérience, la durée de vie a été déterminée par le nombre de jours pendant lesquels chaque individu dans chaque récipient a survécu. Contrairement au modèle nul, l'analyse ANOVA d'un modèle linéaire mixte général (GLMER) a démontré un effet très significatif du traitement sur la durée de vie des espèces ($\chi2 = 640,37$, $Df = 4$, $p < 0,0001$; $\chi2 = 959,75$, $Df = 4$, $p < 0,0001$) par les NPs TiO_2 et Fe_2O_3 respectivement. L'analyse post-hoc de Tukey (Tableau S2) a indiqué que le nombre de jours de vie pendant lesquels l'organisme a vécu a diminué de manière significative, passant d'une moyenne de (19,2 ± 0,222 ; 19,8 ± 0,170) jours chez les témoins à C1 (12,2 ± 0,549 ; 12,4 ± 0,618), C2 (11,2 ± 0,562 ; 10,6 ± 0,572), C3 (10,1 ± 0,484 ; 9 ± 0,550), C4 (9,21 ± 0,473 ; 7,45 ± 0,494) jours dans les NPs TiO_2 et Fe_2O_3 respectivement. Le taux de mortalité (nombre d'individus morts sur une période spécifique) a été obtenu en tant que pente du nombre d'individus morts par rapport au temps sur la période expérimentale de 21 jours. La mortalité de *C. dubia* s'est produite pour tous les traitements, y compris le traitement témoin avec des taux de (78,90 % et 73,57 %) dans les TiO_2 et Fe_2O_3, respectivement.

Le taux de mortalité de *C. dubia* a augmenté de manière significative avec l'augmentation des concentrations de nanoparticules ($\chi2 = 38,547$, $Df = 4$, $p < 0,0001$; $\chi2 = 37,643$, $Df = 4$, $p < 0,0001$) dans le TiO_2 et le Fe_2O_3 (Tableau 08, Fig. 31b), respectivement. L'évaluation de toutes les combinaisons par paires à l'aide du test de contraste de Tukey (Tableau S3) a révélé que le groupe témoin est le seul groupe présentant une différence statistiquement significative dans le taux de mortalité par rapport aux quatre groupes de concentrations. Les individus du groupe témoin avaient une mortalité moyenne de (2,75 ± 0,19 ; 2,76 ± 0,21) individus, comparativement à la mortalité des groupes expérimentaux, allant de (6,62 ± 0,315 ; 5,44 ± 0,302), (7,19 ± 0,209 ; 6,69 ± 0,198), (7,38 ± 0,202 ; 0,75 ± 6,82) ; (7,62 ± 0,155, 7,44 ± 0,157) individus, dans C1, C2, C3 et C4, dans le TiO_2 et le Fe_2O_3, respectivement

1.3- Impact sur la maturation et reproduction

Les concentrations de nanoparticules affectent l'âge de maturation ($\chi2 = 80.108$, $Df = 4$, $p < 0.0001$; $\chi2 = 80.108$, $Df = 4$, $p < 0.0001$) pour les nanoparticules de TiO_2 et de Fe_2O_3, respectivement et ceci de manière dose-dépendante (Tableau 08, Fig. 30c). Les tests de Tukey ultérieurs pour les comparaisons par paires (Tableau S4) de l'âge à la

maturation ont montré que les quatre concentrations testées de Nano TiO_2 (C1, C2, C3, C4) ont un impact significatif sur la date de la première portée par rapport au témoin, augmentant celle-ci à (17 ± 0.196, 17.4 ± 0.267, 20.3 ± 0.213 et 21.1 ± 0.261 jours de retard), respectivement. De plus, l'âge auquel un organisme atteint sa maturité a été influencé par l'exposition aux NanoFe_2O_3.Comparé au témoin, les quatre concentrations de nanoparticules de Fe_2O_3 (C1, C2, C3, C4) ont augmenté la date de la première portée, entraînant un retard de (13.6 ± 0.242, 16.2 ± 0.261, 19.4 ± 0.313 et 21.4 ± 0.369 jours). Le test de Tukey a révélé que l'âge à la maturation était significativement plus élevé à la concentration C4 par rapport aux concentrations C1 et C2 ; et il y avait également une différence significative entre les concentrations C3 et C1 dans le cas du Fe_2O_3. La concentration de nanoparticules affecte le nombre d'œufs à la première couvée of *C.dubia* ($\chi2$ = 86.668, Df = 4, $p<0.0001$; $\chi2$ = 94.466, Df = 4, $p<0.0001$) in the NPs of TiO_2 and Fe_2O_3 respectivement (Tableau 08, Fig. 30d).

Le nombre moyen d'œufs lors de la première ponte dans le traitement témoin était de 8,31 ± 0,362 ; 8,31 ± 0,362 œufs dans les nanoparticules de TiO_2 et Fe_2O_3, respectivement. L'analyse post-hoc de Tukey (Tableau S5) a indiqué que les quatre concentrations d'exposition aux nanoparticules de TiO_2 et Fe_2O_3 (C1, C2, C3, C4) ont eu un impact significatif sur le nombre d'œufs lors de la première ponte de *C. dubia* par rapport au témoin, le réduisant de 34 % à la concentration C1 pour le TiO_2, et de 35 % à la concentration C1 pour le Fe_2O_3. Il convient de noter qu'aucune différence dans le nombre d'œufs n'a été observée entre les quatre concentrations (Tableau S5) pour le TiO_2 et le Fe_2O_3.

Tableau 08: Impact des concentrations de Nps de TiO_2 et de Fe_2O_3 sur la durée de vie, mortalité, âge de maturation et sur la reproduction de *C .dubia.*
(Modèle à effets mixtes linéaires).

Variable de réponse à (TiO_2)	Estimation	SE	z	p	Variable de réponse à (Fe_2O_3)	Estimation	SE	z	p
Durée de vie					**Durée de vie**				
(Intercept)	2.42713	0.04413	54.996	< 2e-16 ***	(Intercept)	2.43102	0.04535	53.602	< 2e-16 ***
C2	-0.08742	0.03644	-2.399	0.0164 *	C2	-0.15583	0.03684	-4.230	2.34e-05 ***
C3	-0.19479	0.03750	-5.195	2.05e-07 ***	C3	-0.32035	0.03857	-8.305	< 2e-16 ***
C4	-0.28322	0.03844	-7.368	1.73e-13 ***	C4	-0.50998	0.04084	-12.487	< 2e-16 ***
Témoin	0.45187	0.03223	14.020	< 2e-16 ***	Témoin	0.46835	0.03190	14.682	< 2e-16 ***
Âge de maturation					**Âge de maturation**				
(Intercept)	2.83321	0.06727	42.119	< 2e-16 ***	*(Intercept)*	2.61352	0.06565	39.808	< 2e-16 ***
C2	0.02326	0.10135	0.229	0.819	C2	0.17003	0.08914	1.907	0.056469.
C3	0.17741	0.09722	1.825	0.068.	C3	0.35261	0.09275	3.802	0.000144 ***
C4	0.21809	0.10622	2.053	0.040 *	C4	0.45120	0.10477	4.307	1.66e-05 ***
Témoin	1-0.70796	0.10949	-6.466	1.01e-10 ***	Témoin	-0.48389	0.10632	-4.551	5.33e-06 ***
Nombre d'œufs de la première couvée					**Nombre d'œufs de la première couvée**				
(Intercept)	1.0460	0.1644	6.362	1.99e-10 ***	*(Intercept)*	1.0169	0.1459	6.972	3.13e-12 ***
C2	-0.1297	0.2589	-0.501	0.616	C2	-0.1613	0.2151	-0.750	0.453
C3	-0.3040	0.2732	-1.113	0.266	C3	-0.3238	0.2509	-1.291	0.197
C4	-0.4269	0.3224	-1.324	0.185	C4	-0.3979	0.3134	-1.270	0.204

Témoin	1 1.0718	0.1859	5.767	8.09e-09 ***	Témoin	1.0402	0.1697	6.130	8.79e-10 ***
Mortalité					**Mortalité**				
(Intercept)	1.89085	0.09713	19.468	< 2e-16 ***	*(Intercept)*	1.6933	0.1072	15.794	< 2e-16 ***
C2	0.08149	0.13465	0.605	0.545	C2	0.2069	0.1444	1.433	0.151756
C3	0.10725	0.13382	0.801	0.423	C3	0.2790	0.1421	1.964	0.049565 *
C4	0.14058	0.13278	1.059	0.290	C4	0.3132	0.1411	2.220	0.026388 *
Témoin	-0.87925	0.17934	-4.903	9.45e-07 ***	Témoin	-0.6817	0.1850	-3.685	0.000229 ***

La concentration C1 (TiO_2, Fe_2O_3) (0.1mg L^{-1} ; 5mg L^{-1}) est utilisée comme niveau de référence pour le calcul du contraste.C2 (TiO_2, Fe_2O_3) (0.5mg L^{-1}; 15mg L^{-1}), C3 (TiO_2, Fe_2O_3) (1mg L^{-1}; 25mg L^{-1}), C4 (TiO_2, Fe_2O_3) (50 mg L^{-1}; mg L^{-1}). *** indique une signification de probabilité : ***—$p<0.001$; **—$p<0.01$; *—$p\leq0.05$.

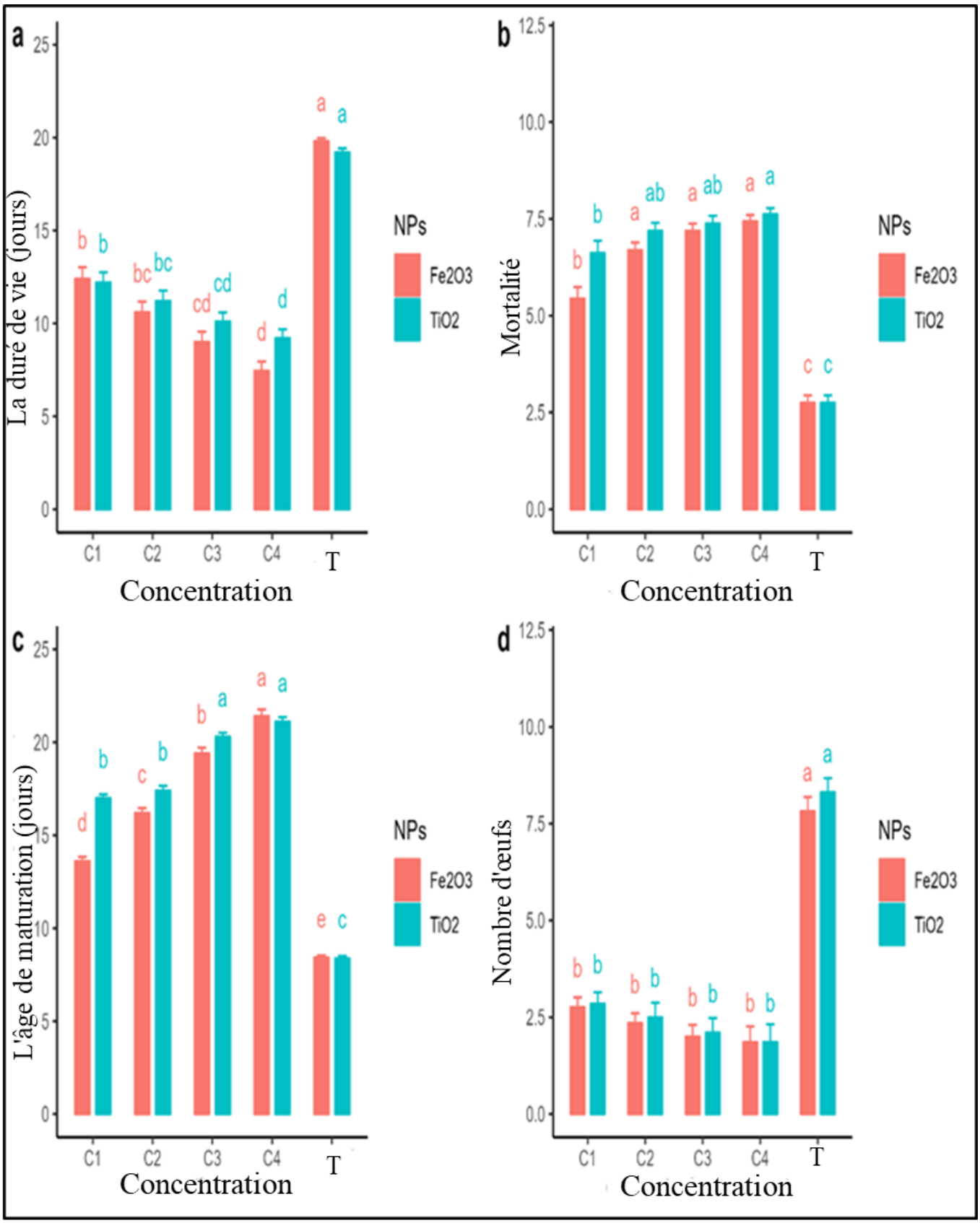


Figure 30. Effets des différentes concentrations de nano TiO_2 et Fe_2O_3 sur les paramètres individuelles après 21 jours de traitement.

2-Impact de l'exposition chronique au TiO_2 sur la reproduction de F1 *C.dubia* (Âge de maturation et première génération).

Le tableau 9 illustre les variations de l'âge de maturité suite à l'exposition chronique au TiO_2 sur la reproduction de F1 *C.dubia*. Nous constatons que la concentration de nanoparticules affectent l'âge de de maturité de manière dose-dépendante ($\chi 2 = 56{,}738$, $Df = 4$, $p < 0{,}0001$) (Figure 31a). Les tests de Tukey appliqués pour les comparaisons par paires (Tableau S8) de l'âge à la maturation ont montré que les quatre concentrations aux nanoTiO_2 (C1, C2, C3, C4) ont un impact significatif sur la date de la première portée comparé au témoin, augmentant celle-ci atteint (13,1 ± 0,211, 15 ± 0,213, 16,6 ± 0,193 et 18,3 ± 0,267 jours de retard) respectivement.

Aussi la concentration de NPs a un impact sur le nombre d'œufs lors de la première ponte de *C. dubia* ($\chi 2 = 52{,}22$, $Df = 4$, $p < 0{,}0001$) pour les NanoTiO_2 (Tableau S8 Tableau 09, Figure 31b). Le nombre moyen d'œufs lors de la première ponte chez le témoin est de 6,94 ± 0,309 œufs. L'analyse post-hoc de Tukey (Tableau S5) indique que les quatre concentrations de NanoTiO_2 (C1, C2, C3, C4) testées ont significativement affecté le nombre d'œufs lors de la première ponte de *C.dubia*, le réduisant de (63 % à la concentration C1). Il est à noter aussi qu'il y une différence entre C1, C3, and C4 (Tableau S8).

Tableau 09 : Impact des concentrations des NanoTiO_2 sur la reproduction (Âge de maturation et première génération F1 de *C.dubia*) (Modèle à effets mixtes linéaires).

Réponse variable to (TiO_2)	***Estimation***	***SE***	***z***	***p***
Âge à la maturation				
(Intercept)	2.57192	0.08333	30.863	< 2e-16 ***
C2	0.13613	0.11180	1.218	0.223375
C3	0.23648	0.10941	2.162	0.030657 *
C4	0.34043	0.11126	3.060	0.002215 **
Témoin	1 -0.45416	0.12026	-3.776	0.000159 ***
Nombre d'œufs de la première couvée				
(Intercept)	1.4733	0.1443	10.207	< 2e-16 ***
C2	-0.1515	0.2075	-0.730	0.46517
C3	-0.8227	0.2536	-3.244	0.00118 **
C4	-0.7802	0.2661	-2.931	0.00338 **

Témoin	1 0.4636	0.1727	2.684	0.00728 **

La concentration C1 (TiO_2) (0.1mg L^{-1}) est utilisée comme niveau de référence pour le calcul du contraste. C2 (TiO_2) (0.5mg L^{-1}), C3 (TiO_2) (1mg L^{-1}), C4 (TiO_2) (5mg L^{-1}). *** indique une signification de probabilité : ***—p<0.001 ; **—p<0.01; *—p≤0.05.

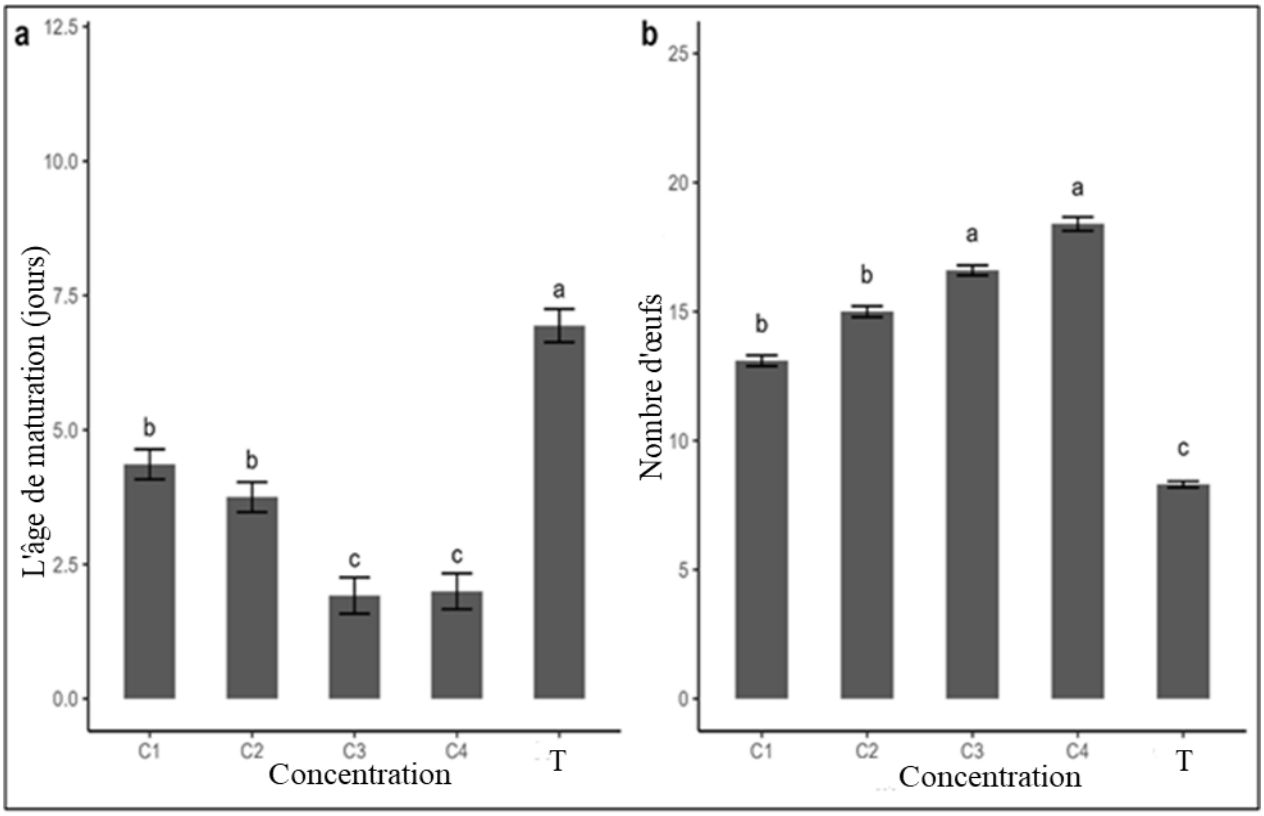


Figure 31. Effets des différentes concentrations de NanoTiO_2 et Fe_2O_3 sur les paramètres individuelles après 21 jours de traitement a) Âge à la maturation, b) Nombre d'œufs lors de la première portée. Les barres d'erreur représentent l'erreur standard. Les moyennes qui sont indiquées par des lettres différentes (a et b) indiquent une différence significative entre les différents traitements, les mêmes lettres désignent une non-significativité (test post-hoc de Tukey, $p < 0,05$).

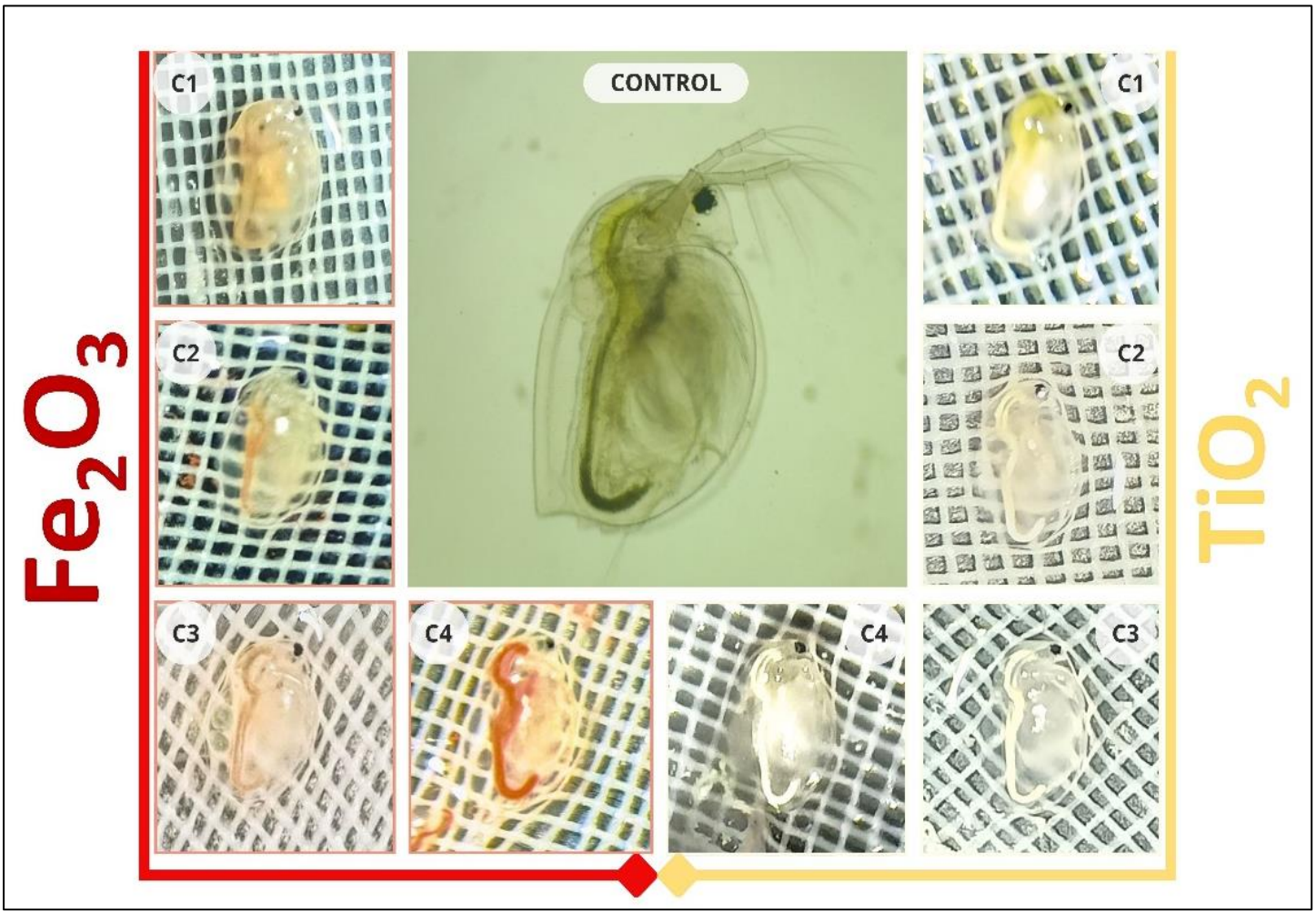


Figure 32. **Accumulation du Nano-oxyde de fer du nano-oxyde de titane dans le tube digestif de *C.dubia*.**

3-3- Impact de l'exposition chronique aux TiO_2 et Fe_2O_3 sur les paramètres comportementaux de *C.dubia*.

La figure 31 représente les réponses individuelles des traits dans chaque groupe de traitement à 10 jours d'exposition aux NanoTiO_2 et NanoFe_2O_3

3.1- Performance de nage et fréquence cardiaque

La performance de nage a été influencée par les nanoparticules de TiO_2 et Fe_2O_3 ($F_{4, 35} = 244,1$, $df = 4$, $p < 0,0001$; $F_{4, 35} = 212,39$, $df = 4$, $p < 0,0001$), respectivement (Figure 34a). La vitesse de nage différait significativement entre le traitement témoin et les quatre traitements de TiO_2 et Fe_2O_3 séparément. La vitesse de nage a diminué de (15,2 ± 0,382 mm/min ; 15,2 ± 0,382 mm/min) chez le témoin à (12,8 ± 0,515 mm/min ; 13,3 ± 0,406 mm/min dans C1), C2 (10,2 ± 0,418 mm/min ; 10,9 ± 0,332 mm/min),

C3 (8,35 ± 0,218 mm/min ; 9,15 ± 0,723 mm/min), et C4 (6,4 ± 0,491 mm/min ; 7,4 ± 0,692 mm/min) pour TiO_2 et Fe_2O_3, respectivement (Fig.33a). Concernant la vitesse de nage, Il existe une différence significative entre la concentration C4 et les trois autres concentrations testées (C1, C2, C4), tout en étant plus faible dans C4 pour les deux traitements aux nanoparticules TiO_2 et Fe_2O_3 (Tableau S6).

Le TiO_2 et le Fe_2O_3 ont un impact sur le rythme cardiaque ($F_{4, 35} = 2724$, $df = 4$, $p < 0,0001$; $F_{4, 35} = 6867$, $df = 4$, $p < 0,0001$) (Fig. 32b), respectivement. Le rythme cardiaque n'a pas montré de changements significatifs aux faibles concentrations comme C1 et C2 par rapport au contrôle, où, dans C1 (319 ± 0,374, 319 ± 0,374 battements/min) ; C2 (321 ± 0,602, 322 ± 0,659 battements/min) pour le TiO_2 et le Fe_2O_3 respectivement (tableau S7). Cependant, il y a une différence significative entre C4 et tous les traitements dans les deux nanoparticules. Pour le TiO_2, 78 battements/min ont été notées avec une différence significativement plus élevée dans C4, aussi, nous avons noté 94 battements/min pour le $NanoFe_2O_3$.

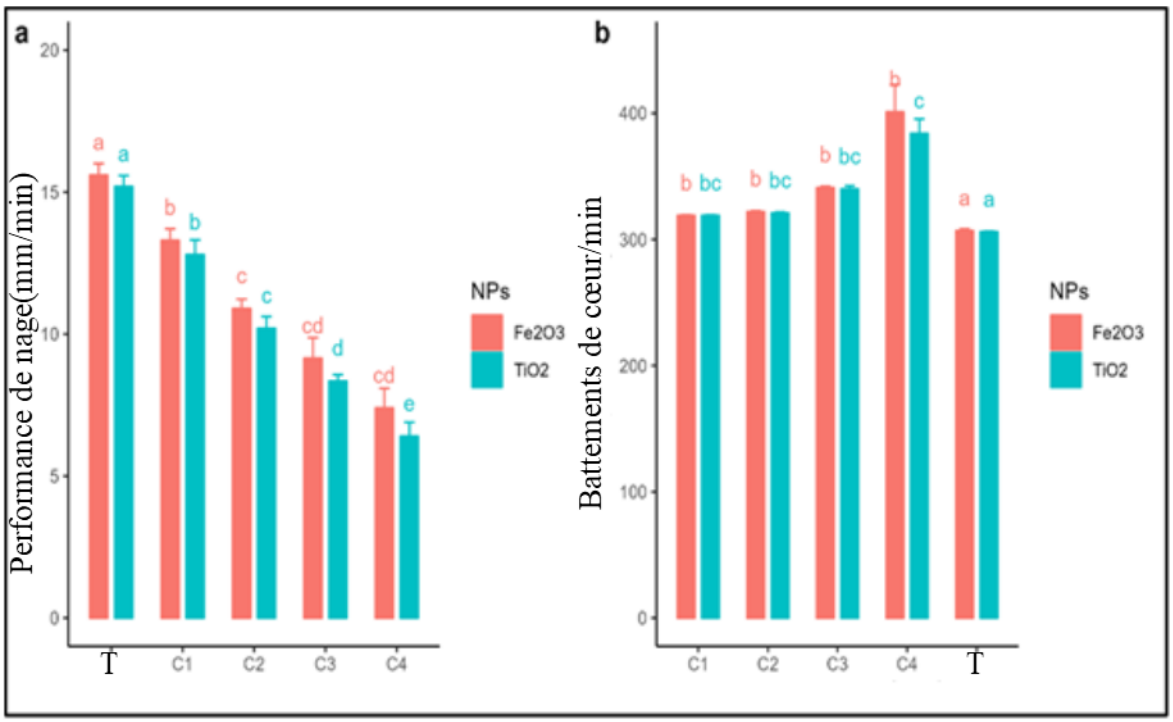


Figure 33. Réponses individuelles à 10 jours d'exposition aux $NanoTiO_2$ et $NanoFe_2O_3$ aux quatre concentrations testées. a) Vitesse de nage (mm/min), b) Battements de cœur/min. Les barres d'erreur représentent l'erreur standard. Les moyennes qui sont désignées par des lettres différentes (a, b, c et d) indiquent une différence significative entre les différents traitements, tandis que les mêmes lettres indiquent une non-significativité.

4-Matériel Supplémentaire (Réponses physiologiques et comportementales de *Ceriodaphnia dubia* aux nanoparticules de dioxyde de titane et d'oxyde de fer.

Tableau S1: Impact des différentes concentrations de NanoTiO_2 et NanoFe_2O_3 sur le taux de croissance *de C. dubia.* (Comparaison des moyennes par le test de Tukey).

Traitements	Estimation	Erreur Std.	z	P
Nano TiO_2				
C2 - C1	-3.521e-04	2.761e-04	-1.275	0.7066
C3 - C1	-1.125e-03	2.761e-04	-4.075	<0.001 ***
C4 - C1	-1.131e-03	2.761e-04	-4.097	<0.001 ***
Témoin - C1	2.793e-03	2.761e-04	10.115	<0.001 ***
C3 - C2	-7.729e-04	2.761e-04	-2.799	0.0408 *
C4 - C2	-7.792e-04	2.761e-04	-2.822	0.0384 *
Témoin - C2	3.145e-03	2.761e-04	11.390	<0.001 ***
C4 - C3	-6.250e-06	2.761e-04	-0.023	1.0000
Témoin - C3	3.918e-03	2.761e-04	14.189	<0.001 ***
Témoin - C4	3.924e-03	2.761e-04	14.212	<0.001 ***
Nano Fe_2O_3				
C2 - C1	0.0002958	0.0003018	0.980	0.864
C3 - C1	-0.0019760	0.0003018	-6.547	<1e-04 ***
C4 - C1	-0.0017333	0.0003018	-5.743	<1e-04 ***
Témoin - C1	0.0027797	0.0003018	9.209	<1e-04 ***
C3 - C2	-0.0022719	0.0003018	-7.527	<1e-04 ***
C4 - C2	-0.0020292	0.0003018	-6.723	<1e-04 ***
Témoin - C2	0.0024839	0.0003018	8.229	<1e-04 ***
C4 - C3	0.0002427	0.0003018	0.804	0.929
Témoin - C3	0.0047557	0.0003018	15.756	<1e-04 ***
Témoin - C4	0.0045130	0.0003018	14.952	<1e-04 ***

*** indique une probabilité significative : ***—$p<0.001$; **—$p<0.01$; *—$p\leq0.05$.

Tableau S2 : Statistiques récapitulatives des comparaisons par paires entre les effets de différentes concentrations de nanoparticules (TiO_2 et Fe_2O_3) sur la durée de vie de *C. dubia* par le test de Tukey.

Traitements	Estimation	Erreur Std.	z	P
NanoTiO_2				
C2 - C1	-0.08742	0.03644	-2.399	0.1144
C3 - C1	-0.19479	0.03750	-5.195	<0.001 ***
C4 - C1	-0.28322	0.03844	-7.368	<0.001 ***
Témoin - C1	0.45187	0.03223	14.020	<0.001 ***
C3 - C2	-0.10738	0.03826	-2.806	0.0397 *
C4 - C2	-0.19580	0.03919	-4.997	<0.001 ***
Témoin - C2	0.53928	0.03312	16.283	<0.001 ***
C4 - C3	-0.08843	0.04017	-2.201	0.1777
Témoin - C3	0.64666	0.03428	18.862	<0.001 ***
Témoin - C4	0.73509	0.03531	20.819	<0.001 ***
NanoFe_2O_3				
C2 - C1	-0.15583	0.03684	-4.230	0.000269 ***
C3 - C1	-0.32035	0.03857	-8.305	< 1e-04 ***
C4 - C1	-0.50998	0.04084	-12.487	< 1e-04 ***
Témoin - C1	0.46835	0.03190	14.682	< 1e-04 ***
C3 - C2	-0.16452	0.03992	-4.121	0.000391 ***
C4 - C2	-0.35416	0.04211	-8.410	< 1e-04 ***
Témoin - C2	0.62418	0.03351	18.625	< 1e-04 ***
C4 - C3	-0.18964	0.04364	-4.346	0.000135 ***
Témoin - C3	0.78870	0.03541	22.273	< 1e-04 ***
Témoin - C4	0.97833	0.03787	25.836	< 1e-04 ***

*** indique une probabilité significative : ***—$p<0.001$; **—$p<0.01$; *—$p\leq0.05$

Tableau S3 : Statistiques récapitulatives des comparaisons par paires entre les effets de différentes concentrations de nanoparticules (TiO_2 et Fe_2O_3) sur le taux de mortalité de *C. dubia* par le test de Tukey.

Traitements	Estimation	Erreur Std.	z	Pr
NanoTiO_2				
C2 - C1	0.08149	0.13465	0.605	0.974
C3 - C1	0.10725	0.13382	0.801	0.929
C4 - C1	0.14058	0.13278	1.059	0.825
Témoin - C1	-0.87925	0.17934	-4.903	<1e-04 ***
C3 - C2	0.02575	0.13104	0.197	1.000
C4 - C2	0.05909	0.12997	0.455	0.991
Témoin - C2	-0.96074	0.17727	-5.420	<1e-04 ***
C4 - C3	0.03334	0.12912	0.258	0.999
Témoin - C3	-0.98649	0.17664	-5.585	<1e-04 ***
Témoin - C4	-1.01983	0.17585	-5.799	<1e-04 ***
Nano Fe_2O_3				
C2 - C1	0.20692	0.14436	1.433	0.6012
C3 - C1	0.27902	0.14209	1.964	0.2795
C4 - C1	0.31322	0.14106	2.220	0.1688
Témoin - C1	-0.68172	0.18499	-3.685	0.0021 **
C3 - C2	0.07210	0.13432	0.537	0.9832
C4 - C2	0.10629	0.13323	0.798	0.9300
Témoin - C2	-0.88864	0.17909	-4.962	<0.001 ***
C4 - C3	0.03419	0.13076	0.261	0.9990
Témoin - C3	-0.96074	0.17727	-5.420	<0.001 ***

**** indique une probabilité significative : ***—$p<0.001$; **—$p<0.01$; *—$p\leq0.05$.*

Tableau S4 : Impact des différentes concentrations de NanoTiO_2 et NanoFe_2O_3 sur l'âge à la maturation de *C. dubia* (Comparaison des moyennes par le test de Tukey).

Traitements	Estimation	Erreur Std.	z	P
NanoTiO_2				
C2 - C1	0.02326	0.10135	0.229	0.999
C3 - C1	0.17741	0.09722	1.825	0.358
C4 - C1	0.21809	0.10622	2.053	0.240
Témoin - C1	-0.70796	0.10949	-6.466	<1e-04 ***

C3 - C2	0.15415	0.10331	1.492	0.566
C4 - C2	0.19483	0.11182	1.742	0.406
Témoin - C2	-0.73122	0.11493	-6.362	<1e-04 ***
C4 - C3	0.04068	0.10809	0.376	0.996
Témoin - C3	-0.88537	0.11130	-7.954	<1e-04 ***
Témoin - C4	-0.92605	0.11925	-7.766	<1e-04 ***
$NanoFe_2O_3$				
C2 - C1	0.17003	0.08914	1.907	0.31089
C3 - C1	0.35261	0.09275	3.802	0.00145 **
C4 - C1	0.45120	0.10477	4.307	< 0.001 ***
Témoin - C1	-0.48389	0.10632	-4.551	< 0.001 ***
C3 - C2	0.18257	0.08904	2.050	0.23990
C4 - C2	0.28117	0.10150	2.770	0.04393 *
Témoin - C2	-0.65393	0.10310	-6.343	< 0.001 ***
C4 - C3	0.09859	0.10468	0.942	0.87944
Témoin - C3	-0.83650	0.10623	-7.874	< 0.001 ***
Témoin - C4	-0.93509	0.11687	-8.001	< 0.001 ***

*** indique une probabilité significative : ***—p<0.001; **—p<0.01 ; *—p≤0.05.

Tableau S5 : Impact des différentes concentrations de $NanoTiO_2$ et $NanoFe_2O_3$ sur le nombre d'œufs lors de la première portée de *C. dubia* (Comparaison des moyennes par le test de Tukey).

Traitements	Estimation	Erreur Std.	Z	p
$NanoTiO_2$				
C2 - C1	-0.1297	0.2589	-0.501	0.986
C3 - C1	-0.3040	0.2732	-1.113	0.788
C4 - C1	-0.4269	0.3224	-1.324	0.661
Témoin - C1	1.0718	0.1859	5.767	<1e-04 ***
C3 - C2	-0.1744	0.2960	-0.589	0.975
C4 - C2	-0.2973	0.3419	-0.869	0.902
Témoin - C2	1.2015	0.2180	5.512	<1e-04 ***
C4 - C3	-0.1229	0.3529	-0.348	0.997

Témoin - C3	1.3758	0.2348	5.859	<1e-04 ***
Témoin - C4	1.4987	0.2906	5.158	<1e-04 ***
$NanoFe_2O_3$				
C2 - C1	-0.16127	0.21512	-0.750	0.941
C3 - C1	-0.32379	0.25088	-1.291	0.682
C4 - C1	-0.39790	0.31337	-1.270	0.695
Témoin - C1	1.04020	0.16969	6.130	<0.001 ***
C3 - C2	-0.16252	0.25820	-0.629	0.968
C4 - C2	-0.23663	0.31925	-0.741	0.943
Témoin - C2	1.20147	0.18033	6.663	<0.001 ***
C4 - C3	-0.07411	0.34437	-0.215	0.999
Témoin - C3	1.36399	0.22178	6.150	<0.001 ***
Témoin - C4	1.43810	0.29059	4.949	<0.001 ***

*** indique une probabilité significative : ***—p<0.001; **—p<0.01; *—p≤0.05 .

Tableau S6: Impact des différentes concentrations de $NanoTiO_2$ et $NanoFe_2O_3$ sur la performance de nage de *C. dubia* (Comparaison des moyennes par le test de Tukey).

Traitements	Diff	lwr	Upr	p adj
$NanoTiO_2$				
C1- Témoin	-2.40	-4.170313	-0.6296873	0.0049606
C2- Témoin	-4.95	-6.720313	-3.1796873	0.0000005
C3- Témoin	-6.85	-8.620313	-5.0796873	0.0000000
C4- Témoin	-8.80	-10.570313	-7.0296873	0.0000000
C2-C1	-2.55	-4.320313	-0.7796873	0.0028007
C3-C1	-4.45	-6.220313	-2.6796873	0.0000027
C4-C1	-6.40	-8.170313	-4.6296873	0.0000000
C3-C2	-1.90	-3.670313	-0.1296873	0.0316883
C4-C2	-3.85	-5.620313	-2.0796873	0.0000218
C4-C3	-1.95	-3.720313	-0.1796873	0.0264821
$NanoFe_2O_3$				
C1- Témoin	-2.30	-4.573023	-0.02697684	0.0464861
C2- Témoin	-4.70	-6.973023	-2.42697684	0.0000430
C3- Témoin	-6.45	-8.723023	-4.17697684	0.0000004
C4- Témoin	-8.20	-10.473023	-5.92697684	0.0000000
C2-C1	-2.40	-4.673023	-0.12697684	0.0353584
C3-C1	-4.15	-6.423023	-1.87697684	0.0002092
C4-C1	-5.90	-8.173023	-3.62697684	0.0000017
C3-C2	-1.75	-4.023023	0.52302316	0.1847171

C4-C2	-3.50	-5.773023	-1.22697684	0.0014294

**** indique une probabilité significative : ***—p<0.001; **—p<0.01; *—p≤0.05.*

Tableau S7 : Impact des différentes concentrations de NanoTiO$_2$et NanoFe$_2$O$_3$ sur la fréquence cardiaque de *C. dubia.* (Comparaison des moyennes par le test de Tukey).

Traitements	diff	Lwr	upr	p adj
NanoTiO$_2$				
C1- Témoin	13.26667	-8.820761	35.35409	0.4022405
C2- Témoin	15.26667	-6.820761	37.35409	0.2716986
C3- Témoin	34.26667	12.179239	56.35409	0.0013213
C4- Témoin	78.33333	56.245906	100.42076	0.0000000
C2-C1	2.00000	-20.087427	24.08743	0.9987105
C3-C1	21.00000	-1.087427	43.08743	0.0673246
C4-C1	65.06667	42.979239	87.15409	0.0000002
C3-C2	19.00000	-3.087427	41.08743	0.1136771
C4-C2	63.06667	40.979239	85.15409	0.0000004
C4-C3	44.06667	21.979239	66.15409	0.0000688
NanoFe$_2$O$_3$				
C1- Témoin	-2.30	-4.573023	-0.02697684	0.0464861
C2- Témoin	-4.70	-6.973023	-2.42697684	0.0000430
C3- Témoin	-6.45	-8.723023	-4.17697684	0.0000004
C4- Témoin	-8.20	-10.473023	-5.92697684	0.0000000
C2-C1	-2.40	-4.673023	-0.12697684	0.0353584
C3-C1	-4.15	-6.423023	-1.87697684	0.0002092
C4-C1	-5.90	-8.173023	-3.62697684	0.0000017
C3-C2	-1.75	-4.023023	0.52302316	0.1847171
C4-C2	-3.50	-5.773023	-1.22697684	0.0014294

*** indique une probabilité significative : ***—p<0.001; **—p<0.01; *—p≤0.05.

Tableau S8 : Impact des différentes concentrations de NPs de TiO_2 sur l'âge de maturation de *C. dubia* F1 (Comparaison des moyennes par le test de Tukey).

	Estimation	Erreur Std.	Z	P
C2 - C1	0.1361	0.1118	1.218	0.74042
C3 - C1	0.2365	0.1094	2.162	0.19390
C4 - C1	0.3404	0.1113	3.060	0.01885 *
Témoin - C1	-0.4542	0.1203	-3.776	0.00145 **
C3 - C2	0.1003	0.1029	0.976	0.86590
C4 - C2	0.2043	0.1048	1.949	0.29073
Témoin - C2	-0.5903	0.1143	-5.162	< 0.001 ***
C4 - C3	0.1040	0.1023	1.016	0.84745
Témoin - C3	-0.6906	0.1120	-6.166	< 0.001 ***
Témoin - C4	-0.7946	0.1138	-6.981	< 0.001 ***

Tableau S9: Impact de différentes concentrations de NanoTiO_2 sur le nombre d'œufs de *C. dubia* F1 (Comparaison des moyennes par le test de Tukey).

	Estimation	Erreur Std.	z	Pr
C2 - C1	-0.15155	0.20750	-0.730	0.94690
C3 - C1	-0.82272	0.25360	-3.244	0.00994 **
C4 - C1	-0.78016	0.26615	-2.931	0.02639 *
Témoin - C1	0.46364	0.17275	2.684	0.05318 .
C3 - C2	-0.67117	0.25632	-2.618	0.06362 .
C4 - C2	-0.62861	0.26874	-2.339	0.12639
Témoin - C2	0.61519	0.17672	3.481	0.00439 **
C4 - C3	0.04256	0.30574	0.139	0.99991
Témoin - C3	1.28635	0.22910	5.615	< 0.001 ***
Témoin - C4	1.24379	0.24292	5.120	< 0.001 ***

Partie 3 : Impact des mixtures de $NanoTiO_2$ et $NanoFe_2O_3$ sur le développement de *Daphnia magna*

1- Exposition chronique des mixtures de $NanoTiO_2$+ $NanoFe_2O_3$ sur les paramètres physiologique de *D.magna*

1.1- Impact de l'exposition chronique aux mixtures sur la croissance de *D.magna*

Le tableau 10 illustre les données sur le taux de croissance de *D.magna* pendant la phase d'exposition aux mixtures $NanoTiO_2$ + $NanoFe_2O_3$.

Le taux de croissance est défini comme étant la longueur corporelle moyenne des individus lors de chaque mesure pour chaque récipient depuis le début de l'expérience c.-à-d. 21 jours. L'analyse ANOVA d'un modèle à effets mixtes linéaires généraux (LMER) montre un effet très significatif du traitement sur le taux de croissance de l'espèce par rapport au modèle nul ($\chi2 = 637,78$, Df = 4, $p < 0,0001$) (figure 34). Cependant, le taux de croissance entre le groupe témoin et les différents groupes exposés aux mixtures de nanoparticules a montré des différences statistiquement significatives (tableau S1). Les tests de Tukey ont montré que les quatre concentrations de mixture (C1, C2, C3 et C4) affectent significativement la croissance de *D.magna* par rapport au témoin, dont le taux de croissance est le plus élevé, et est de moyenne de 0,0137 ± 0,0002 mm, comparé aux taux de croissance des groupes expérimentaux, qui sont de 0,007 ± 0,0002 mm, 0,006 ± 0,0002 mm, 0,005 ± 0,0003 mm, 0,00453 ± 0,0004 mm, pour C1, C2, C3, C4, respectivement.

Tableau 10 : Impact des concentrations de (nanoparticules mixtes) sur le taux de croissance de la longueur *de D. magna.*

Estimation	SE	Df	t	P
(Intercept)	0.0070476	40.2427914	21.829	<2e-16 ***
Concentration C2	-0.0006903	68.0000000	-1.695	0.094623
Concentration C3	-0.0015111	68.0000000	-3.711	0.000418 ***
Concentration C4	-0.0025128	68.0000000	-6.171	4.26e-08 ***
Témoin	0.0066764	68.0000000	16.395	<2e-16 ***

La concentrationC1 (1.27 mg L^{-1}) est utilisé comme niveau de base pour le calcul du contraste. C2 (3.87 mg L^{-1}), C3 (6.5 mg L^{-1}), C4 (13.75 mg L^{-1}). *** indique une probabilité significative: ***—$p<0.001$; **—$p<0.01$; *—$p\leq0.05$.

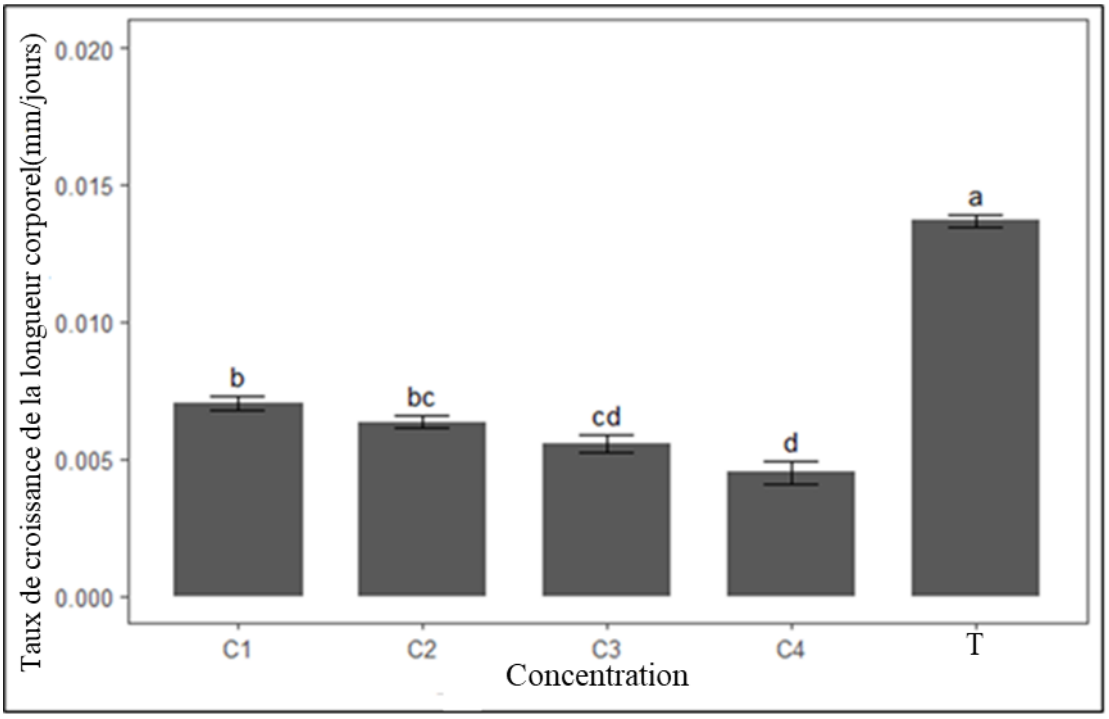


Figure 34. Taux de croissance des différents groupes suite au traitement de 21 jours aux mixtures de NanoTiO$_2$ + NanoFe$_2$O$_3$). Les barres d'erreur représentent l'erreur standard. Les moyennes (a, b, c et d) indiquent une différence significative entre les différents traitements les mêmes lettres désignent une non-significativité (test post-hoc de Tukey, $p < 0,05$) (voir : Matériel supplémentaire, tableau S1).

1.2- Impact de l'exposition chronique aux mixtures NanoTiO$_2$ + NanoFe$_2$O$_3$ sur la durée de vie et la mortalité chez *D.magna*.

Le tableau 11 résume les données sur la durée de vie, la mortalité, maturation et la reproduction chez *D.magna* après contact de notre modèle avec les mixtures aux différentes concentrations testées.

Rappelons que la durée de vie a été définie par le nombre de jours de vie de chaque individu dans chaque récipient durant l'expérience. L'analyse ANOVA d'un modèle linéaire mixte général (GLMER) a montré un effet très significatif du traitement sur la durée de vie de l'espèce par rapport au modèle nul ($\chi 2 = 1229,8$, Df = 4, $p < 0,0001$) (tableau 11 et Fig.35 a). L'analyse post-hoc de Tukey (tableau S2) révèle que le nombre de jours pendant lesquels en vie a diminué de manière significative, passant d'une moyenne de 20,1 ± 0,188 jours chez le lot témoin à 10,7 ± 0,503, 9,58 ± 0,514, 7,45 ± 0,418 et 7,19 ± 0,440 jours dans C1, C2, C3 et C4, respectivement.

Concernant le taux de mortalité qui est défini comme étant le nombre d'individus morts sur une période expérimentale de 21 jours a été obtenu en tant que pente du nombre

d'individus morts. La mortalité de *D.magna* a été observée pour toutes les concentrations testées, chez le lot témoin, elle atteint un taux de 20,48 %. Le taux de mortalité de *D.magna* a augmenté de manière dose-dépendante et significative avec l'augmentation des concentrations des mixtures de nanoparticules ($\chi2 = 62,32$, $Df = 4$, $p < 0,0001$) (Fig.35 b). La comparaison par paires par le test de contraste de Tukey (tableau S3) a révélé une différence statistiquement significative dans le taux de mortalité du groupe témoin par rapport aux quatre groupes traités. Notons que la mortalité moyenne du groupe témoin est de $1 \pm 0,365$ individu, comparativement à une mortalité de $6,94 \pm 0,193$, $7,19 \pm 0,188$, $7,62 \pm 0,125$ et $7,62 \pm 0,155$ individus dans les groupes C1, C2, C3 et C4, respectivement.

1.3- Impact de l'exposition chronique aux mixtures $NanoTiO_2$ + $NanoFe_2O_3$ sur la maturation et la reproduction chez *D.magna*

La concentration de nanoparticules a affecté l'âge auquel les espèces atteignaient leur maturité ($\chi2 = 81,15$, $Df = 4$, $p < 0,0001$). L'âge de maturation diffère entre les traitements (Tableau 11 et Figure 36(c)). Les tests de Tukey pour les comparaisons par paires (tableau S4) de l'âge à la maturation ont montré que les quatre concentrations mixtes (C1, C2, C3, C4) ont un impact significatif sur la date de la première portée par rapport au témoin, l'augmentant à ($14,1 \pm 0,438$, $15,8 \pm 0,521$, $18 \pm 1,05$ et $20,2 \pm 0,479$ jours), respectivement. Toutefois il est significativement plus élevé à la concentration C4 par rapport aux concentrations C1 et C2.

Nous avons aussi constaté que la concentration des mixtures a un impact sur le nombre d'œufs lors de la première ponte de *D. magna* ($\chi2 = 141,91$, $Df = 4$, $p < 0,0001$) (Tableau 11 et Figure 36 (d)). Le nombre moyen d'œufs dans la première ponte chez le témoin est de $11,6 \pm 0,80$. L'analyse post-hoc de Tukey (tableau S5) montre que les quatre concentrations mixtes (C1, C2, C3, C4), le réduisent respectivement a (77 %, 83 %, 85 % et 88 %). Il est à noter qu'aucune différence dans le nombre d'œufs n'a été observée entre les quatre concentrations (tableau S5).

Tableau 11 : Impact des concentrations de nanoparticules mixtes sur la durée de vie, la mortalité, l'âge de maturation et la reproduction de *D. magna* (modèle à effets mixtes linéaires généralisés).

Variables de réponse	Estimation	SE	z	P
Durée de vie				
(Intercept)	2.31783	0.03997	57.987	<2e-16 ***
C2	-0.11324	0.03917	-2.891	0.00384 **

C3	-0.36514	0.04202	-8.689	<2e-16 ***
C4	-0.40038	0.04247	-9.428	<2e-16 ***
Témoin	0.62769	0.03331	18.841	<2e-16 ***
Âge à la maturation				
(Intercept)	2.64415	0.07125	37.112	<2e-16 ***
C2	0.11446	0.11008	1.040	0.29847
C3	0.24623	0.12723	1.935	0.05295 .
C4	0.36401	0.13199	2.758	0.00582 **
Témoin	-0.74997	0.11801	-6.355	2.08e-10 ***
Nombre d'œufs première couvée				
(Intercept)	1.0245	0.1601	6.398	1.57e-10 ***
C2	-0.3314	0.2850	-1.163	0.245
C3	-0.4367	0.3698	-1.181	0.238
C4	-0.6190	0.4385	-1.412	0.158
Témoin	1.4305	0.1752	8.166	3.20e-16 ***
Mortalité				
(Intercept)	1.93694	0.09492	20.407	<2e-16 ***
C2	0.03540	0.13306	0.266	0.790
C3	0.09449	0.13117	0.720	0.471
C4	0.09449	0.13117	0.720	0.471
Témoin	-1.93694	0.26741	-7.243	4.38e-13 ***

La concentration C1 (1.27 mg L^{-1}) est utilisée comme niveau de base pour le calcul du contraste. C2 (3.87 mg L^{-1}), C3 (6.5 mg L^{-1}), C4 (13.75 mg L^{-1}). *** Indique une probabilité significative : ***—$p<0.001$; **—$p<0.01$; *—$p\leq0.05$

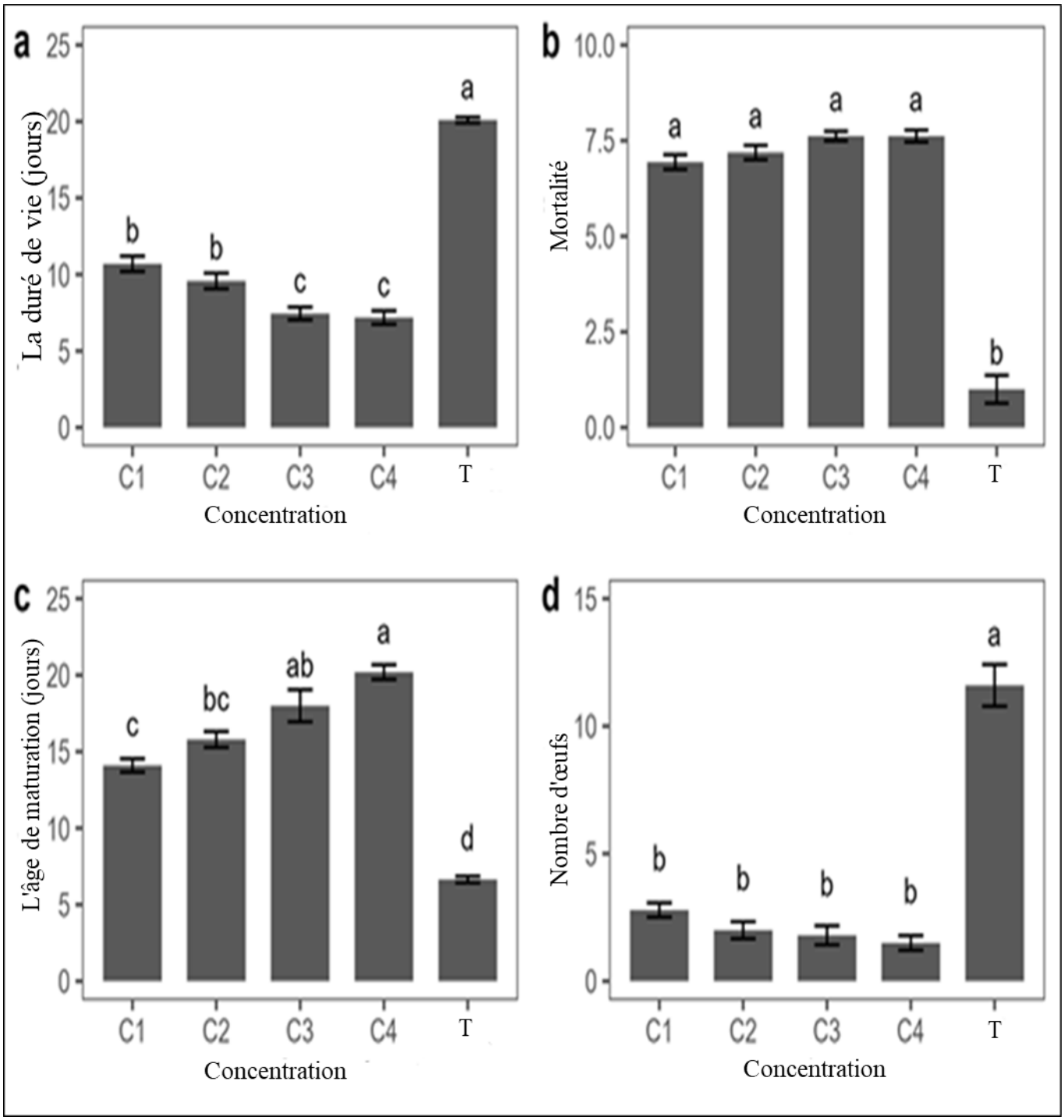


Figure 35. Réponses des différents lots de *D. magna* traités pendant 21 jours aux mixtures de NanoTiO$_2$ et NanoFe$_2$O$_3$.a) Longévité (jours), b) Mortalité, c) Âge à la maturation, d) Nombre d'œufs lors de la première portée. Les barres d'erreur représentent l'erreur standard. Les moyennes sont désignées par des lettres a, b, c et d indiquent une différence significative entre les différents traitements, les mêmes lettres indiquent une non-significativité (test post-hoc de Tukey, $p < 0,05$).

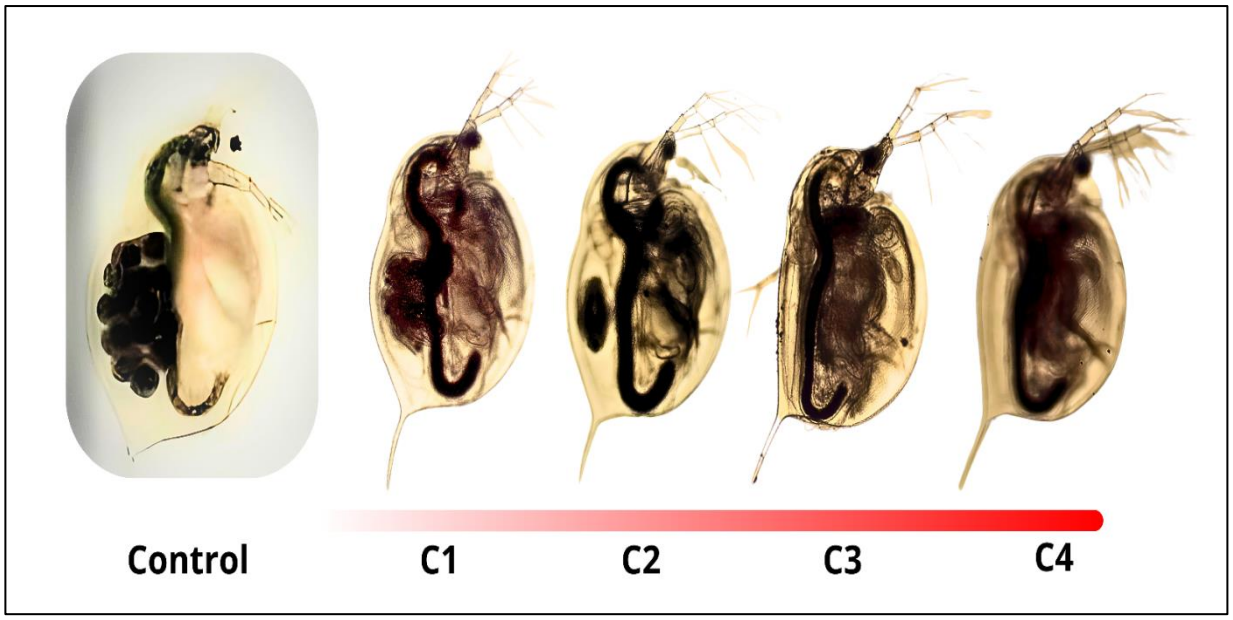


Figure 36. Impact du mélange des NPS (TiO_2 + Fe_2O_3) aux différentes concentrations étudiées au 16ème jour d'exposition sur le nombre d'œufs et également sur l'âge de maturation des femelles.

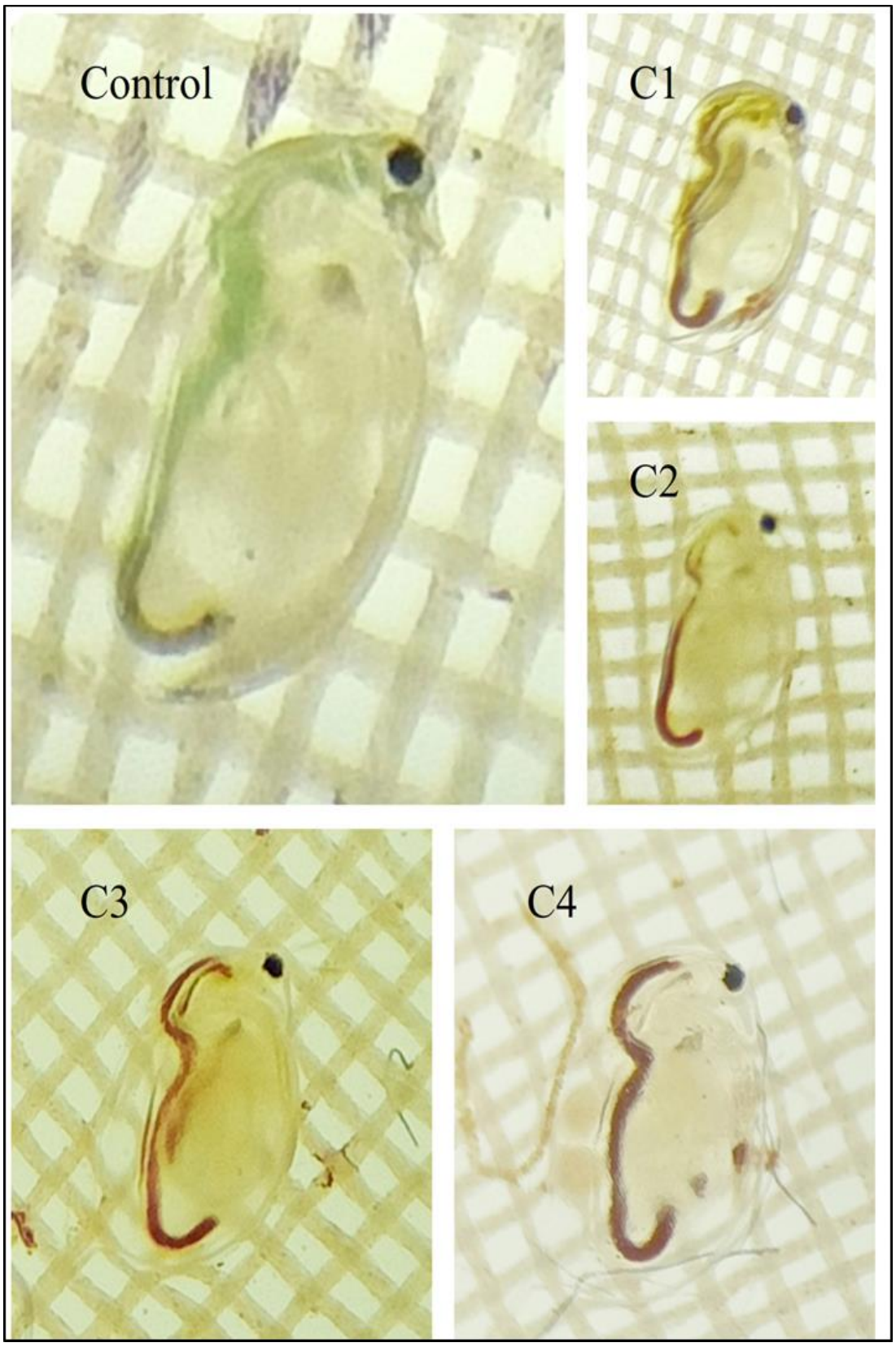


Figure 37. Changements de coloration du tube digestif chez *D.magna* exposés à $NanoTiO_2$ + $NanoFe_2O_3$ aux quatre concentrations (C1, C2, C3, C4).

2- Impact de l'exposition chronique aux mixtures $NanoTiO_2$ + $NanoFe_2O_3$ sur le comportement (performance de nage et rythme cardiaque) chez *D.magna*

2.1- Impact de l'exposition chronique aux mixtures $NanoTiO_2$ + $NanoFe_2O_3$ sur les performances en natation.

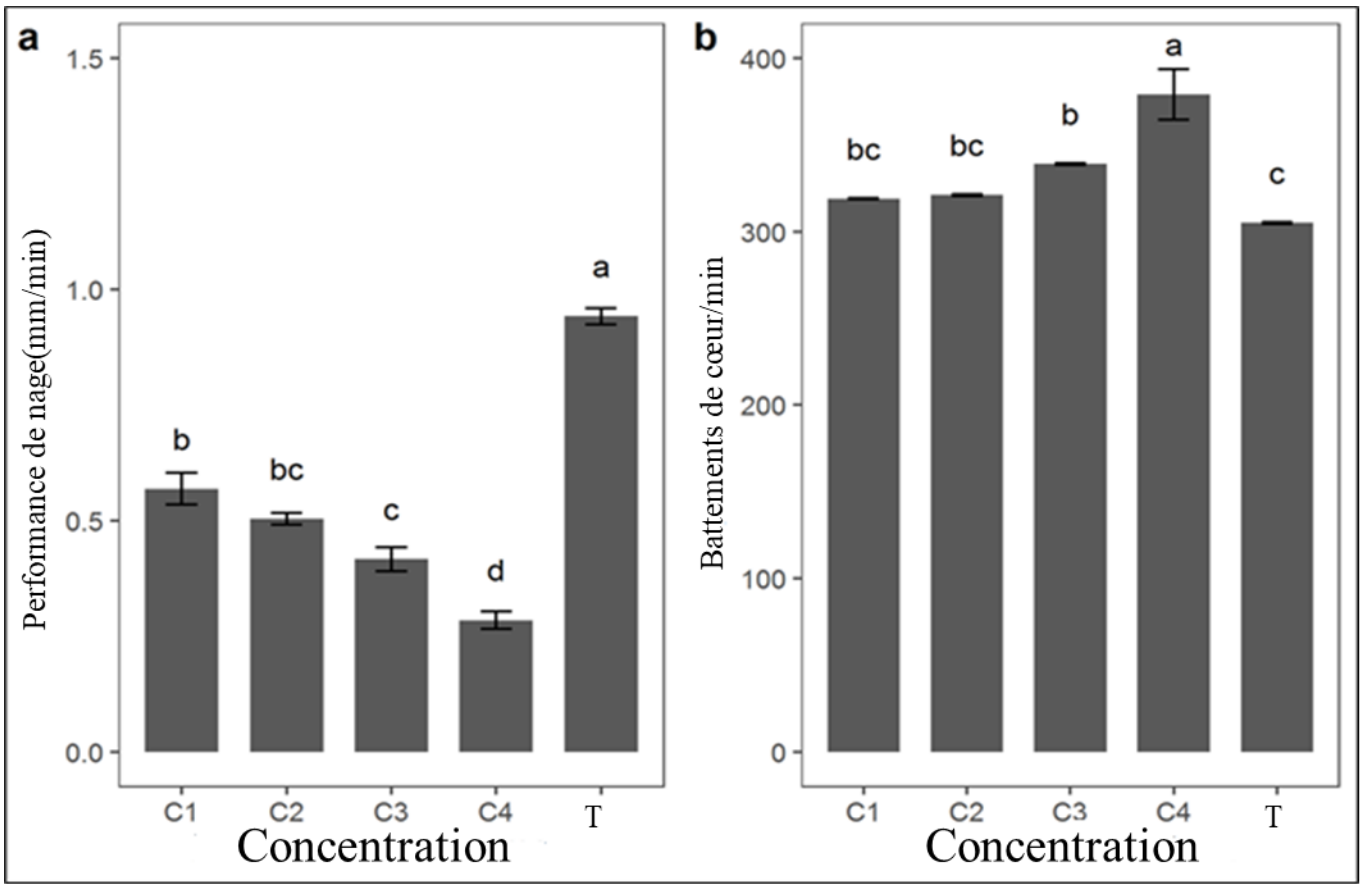
La figure 38 (a) illustre l'mpact des mixtures de $NanoTiO_2$ et $NanoFe_2O_3$ aux quatre concentrations sur la vitesse de nage vitesse de nage.

Les nanoparticules mixtes ont eu un impact sur la performance de nage ($F_{4, 35}$ = 112,9, df = 4, $p < 0,0001$) (figure 4(a)). La vitesse de nage diffère significativement entre les témoins et les quatre traitements de concentrations, la vitesse de nage diminuant de 0,942 ± 0,0178 mm/min pour le témoin à (0,569 ± 0,0346, 0,504 ± 0,0125, 0,417 ± 0,0258 et 0,285 ± 0,0190 mm/min) pour les lots traitées (C1, C2, C3, C4), respectivement. Il y a une différence significative de la vitesse de nage entre la concentration C4 et les trois autres concentrations (C1, C2, C4), tout en étant la plus faible dans C4 (tableau S6).

2.1- Impact de l'exposition chronique aux mixtures $NanoTiO_2$ + $NanoFe_2O_3$ sur le rythme cardiaque.

La figure 38 (b) illustre l'mpact des mixtures de $NanoTiO_2$ et $NanoFe_2O_3$ aux quatre concentrations sur la vitesse de nage vitesse de nage.

Six individus ont été sélectionnés au hasard dans chaque groupe pour des tests de fréquence cardiaque. Bien que l'impact sur le rythme cardiaque soit évident ($F_{4, 25}$ = 19,37, df = 4, $p < 0,0001$) (figure 4(b)). Il est intéressant de noter que la fréquence cardiaque n'a pas montré de changements significatifs à faibles concentrations dans C1 et C2 par rapport au témoin (319 ± 0,40, 321 ± 0,63, 305 ± 0,65 battements/min), respectivement (tableau S7). Cependant, Il y a une différence significative entre C4 et tous les lots traités, C4 étant significativement plus élevé avec 79 battements/min de plus que le témoin, et supérieur de (60, 58 et 30 battements/min) par rapport à C1, C2 et C3, respectivement.



.Figure 38. Impact des mixtures de NanoTiO_2 et NanoFe_2O_3 aux quatre concentrations sur la vitesse de nage (mm/min), a) vitesse de nage ; b) Battements de cœur/min. Les barres d'erreur représentent l'erreur standard. Les moyennes a, b, c et d indiquent une différence significative entre les différents traitements, Les mêmes lettres indiquent une non-significativité (test post-hoc de Tukey, $p < 0,05$) (voir : Matériel supplémentaire, tableaux S6, S7).

3-Matériel Supplémentaire (Impact des mixtures de nanoTiO_2 et nanoFe_2O_3 sur le développement de *Daphnia magna*).

Tableau S1 : Impact des différentes concentrations de NPs sur le taux de croissance de la longueur corporelle de *D. magna* (Comparaison des moyennes par le test de Tukey).

Traitements	Estimation	SE	z	p
Témoin - C1	0.0066764	0.0004072	16.395	< 0.001***
Témoin - C2	0.0073667	0.0004072	18.091	< 0.001***
Témoin - C3	0.0081875	0.0004072	20.106	< 0.001***
Témoin - C4	0.0091892	0.0004072	22.566	< 0.001***
C2 - C1	-0.0006903	0.0004072	-1.695	0.43691
C3 - C1	-0.0015111	0.0004072	-3.711	0.00191**
C4 - C1	-0.0025128	0.0004072	-6.171	< 0.001***
C3 - C2	-0.0008208	0.0004072	-2.016	0.25837
C4 - C2	-0.0018226	0.0004072	-4.476	< 0.001***
C4 - C3	-0.0010017	0.0004072	-2.460	0.09976

*** indique une probabilité significative : ***—$p<0.001$; **—$p<0.01$; *—$p\leq0.05$.

Tableau S2: Impact des différentes concentrations de NPs sur la durée de vie de *D.magna*. (Comparaison des moyennes par le test de Tukey)**.**

Traitements	Estimation	SE	z value	p value
C2 - C1	-0.11324	0.03917	-2.891	0.0306 *
C3 - C1	-0.36514	0.04202	-8.689	<0.001 ***
C4 - C1	-0.40038	0.04247	-9.428	<0.001 ***
Témoin - C1	0.62769	0.03331	18.841	<0.001 ***
C3 - C2	-0.25190	0.04304	-5.852	<0.001 ***
C4 - C2	-0.28714	0.04348	-6.604	<0.001 ***
Témoin - C2	0.74093	0.03459	21.419	<0.001 ***
C4 - C3	-0.03524	0.04607	-0.765	0.9394
Témoin - C3	0.99283	0.03780	26.266	<0.001 ***

Témoin - C4	1.02807	0.03829	26.849	<0.001 ***

*** indique une probabilité significative : ***—p<0.001; **—p<0.01; *—p≤0.05.

Tableau S3: Impact des différentes concentrations de NPs sur la taux de mortalité de *D.magna*. (Comparaison des moyennes par le test de Tukey)

Traitements	Estimation	SE	z	p
C2 - C1	3.540e-02	1.331e-01	0.266	0.999
C3 - C1	9.449e-02	1.312e-01	0.720	0.948
C4 - C1	9.449e-02	1.312e-01	0.720	0.949
Témoin - C1	-1.937e+00	2.674e-01	-7.243	<1e-05 ***
C3 - C2	5.909e-02	1.300e-01	0.455	0.991
C4 - C2	5.909e-02	1.300e-01	0.455	0.991
Témoin - C2	-1.972e+00	2.668e-01	-7.392	<1e-05 ***
C4 - C3	-4.163e-17	1.280e-01	0.000	1.000
Témoin - C3	-2.031e+00	2.659e-01	-7.640	<1e-05 ***
Témoin - C4	-2.031e+00	2.659e-01	-7.640	<1e-05 ***

*** indique une probabilité significative : ***—p<0.001 ; **—p<0.01 ; *—p≤0.05.

Tableau S4: Impact des différentes concentrations de NPs sur la sur l'âge de maturation de *D.magna.* (Comparaison des moyennes par le test de Tukey)

Traitements	Estimation	SE	z	P
C2 - C1	0.1145	0.1101	1.040	0.8348
C3 - C1	0.2462	0.1272	1.935	0.2951
C4 - C1	0.3640	0.1320	2.758	0.0452 *
Témoin - C1	-0.7500	0.1180	-6.355	<0.001 ***
C3 - C2	0.1318	0.1347	0.978	0.8634
C4 - C2	0.2496	0.1392	1.792	0.3744
Témoin - C2	-0.8644	0.1261	-6.857	<0.001 ***
C4 - C3	0.1178	0.1532	0.769	0.9386
Témoin - C3	-0.9962	0.1413	-7.051	<0.001 ***

Témoin - C4	-1.1140	0.1456	-7.652	<0.001 ***

*** indicates a probability significance: ***—p<0.001; **—p<0.01; *—p≤0.05.

Tableau S5: Statistiques récapitulatives des comparaisons par paires du test de Tukey entre les effets des différentes concentrations de NPs sur le nombre d'œufs lors de la première portée de *D.magna.*

Traitements	Estimation	SE	z value	P
C2 - C1	-0.3314	0.2850	-1.163	0.749
C3 - C1	-0.4367	0.3698	-1.181	0.738
C4 - C1	-0.6190	0.4385	-1.412	0.590
Témoin - C1	1.4305	0.1752	8.166	<1e-04 ***
C3 - C2	-0.1054	0.4082	-0.258	0.999
C4 - C2	-0.2877	0.4714	-0.610	0.970
Témoin - C2	1.7619	0.2462	7.157	<1e-04 ***
C4 - C3	-0.1823	0.5270	-0.346	0.996
Témoin - C3	1.8673	0.3408	5.479	<1e-04 ***
Témoin - C4	2.0496	0.4144	4.946	<1e-04 ***

*** indique une probabilité significative : ***—p<0.001; **—p<0.01; *—p≤0.05.

Tableau S6: Statistiques récapitulatives des comparaisons par paire du test de Tukey entre les différentes concentrations d'effets des NP sur les performances de nage de *D.magna*.

Traitements	Diff	Lwr	Upr	p
C2 - C1	-0.06458333	-0.1589745	0.029807880	0.3027263
C3 - C1	-0.15208333	-0.2464745	-0.057692120	0.0004412 ***
C4 - C1	-0.28333333	-0.3777245	-0.188942120	0.0000000 ***
Témoin - C1	0.37291667	0.2785255	0.467307880	0.0000000 ***
C3 - C2	-0.08750000	-0.1818912	0.006891213	0.0801550

C4 - C2	-0.21875000	-0.3131412	-0.124358787	0.0000010 ***
Témoin - C2	0.43750000	0.3431088	0.531891213	0.0000000 ***
C4 - C3	-0.13125000	-0.2256412	-0.036858787	0.0027326 ***
Témoin - C3	0.52500000	0.4306088	0.619391213	0.0000000 ***
Témoin - C4	0.65625000	0.5618588	0.750641213	0.0000000 ***

*** indique une probabilité significative : ***—p<0.001 ; **—p<0.01 ; *—p≤0.05.

Tableau S7 : Statistiques récapitulatives des comparaisons par paires du test de Tukey entre les effets des différentes concentrations de NPs sur le rythme cardiaque de *D.magna*

Traitements	**Diff**	**Lwr**	**Upr**	**p**
C2 - C1	2.222222	-24.814446	29.258891	0.9991949
C3 - C1	20.722222	-6.314446	47.758891	0.1944069
C4 - C1	60.277778	33.241109	87.314446	0.0000069 ***
Témoin - C1	-13.611111	-40.647779	13.425557	0.5851425
C3 - C2	18.500000	-8.536668	45.536668	0.2906100
C4 - C2	58.055556	31.018887	85.092224	0.0000124 ***
Témoin - C2	-15.833333	-42.870002	11.203335	0.4405155
C4 - C3	39.555556	12.518887	66.592224	0.0019685 ***
Témoin - C3	-34.333333	-61.370002	-7.296665	0.0080048 ***
Témoin - C4	-73.888889	-100.925557	-46.852221	0.0000002 ***

*** indique une probabilité significative : ***—p<0.001 ; **—p<0.01; *—p≤0.05.

Chapitre 4 : Discussion générale

1-Ceriodaphnia dubia

1.1- Réponses physiologiques et comportementales de *Ceriodaphnia dubia* aux nanoparticules de dioxyde de titane et d'oxyde de fer.

Les NPs peuvent être toxiques pour l'environnement et surtout sur les organismes aquatiques. Leur présence dans l'eau peut perturber les cycles biologiques, affecter la santé des organismes aquatiques et entraîner la mort de certaines espèces. L'objectif principal de cette étude est de mettre en évidence les effets toxiques chroniques des deux types de nanoparticules TiO_2 et Fe_2O_3 sur les paramètres physiologiques et comportementaux du crustacé d'eau douce *C.dubia*. Nos résultats indiquent que :

(1) Le cycle de vie de *C.dubia* a été significativement impactés par l'exposition aux NP de TiO_2 et Fe_2O_3, se manifestant par une perturbation entraînant une perturbation dose-dépendante de la performance reproductive et du comportement.

(2) La mortalité est significativement plus élevée dans les groupes expérimentaux que dans le groupe témoin.

(3) L'aspect reproductif, en termes de nombre d'œufs par femelle, a diminué pour les deux types de nanoparticules par rapport aux groupes témoins.

(4) la performance de nage a diminuée, tandis que la fréquence cardiaque a augmenté.

Ces résultats suggèrent que les aboutissements éco toxicologiques des NP de TiO_2 et Fe_2O_3 s'étendent à des traits de vie clés de *C. dubia*, même aux faibles concentrations, soulignant l'importance de la compréhension de l'impact de l'exposition aux nanoparticules. L'étude contribue fortement à l'accroissement des connaissances concernant les polluants émergents et souligne la nécessité de recherches supplémentaires pour évaluer afin de mieux cerner les risques potentiels infligés aux écosystèmes aquatiques et à la santé humaine.

En ce qui concerne les effets chroniques sur le taux de croissance, il a été noté que la concentration des deux nanoparticules est inversement corrélée avec le taux de croissance. qui a diminué de 29 % et 34 % respectivement. Cette constatation est cohérente avec les données de (Zhu *et al.*,2010), Qui a montré que la croissance de *D.magna* est inhibée par l'exposition au Nano TiO_2 à des concentrations allant de 0,5 à 5 mg/L. De même, (Das *et al.*,2013) a rapporté une réduction de 35 % du taux de croissance à la concentration la plus élevée au NanoTiO_2. (7,5 mg/L). De plus, Villa et al., (2023)

ont constaté que la croissance de *D.magna* diminuait significativement à quatre des cinq concentrations de NanoTiO_2 examinées (37,5 mg/L, 75 mg/L, 150 mg/L, 300 mg/L et 600 mg/L). Néanmoins, ces résultats contrastent avec ceux des études de (Lee *et al.*, 2009), qui ont étudié des doses plus faibles de Nano TiO_2 (7 et 20 nm) et n'ont pas observé un niveau notable d'inhibition de la croissance. De plus, le taux de croissance du cladocère *Ceriodaphnia silvestrii* est significativement réduit en présence de nanoparticules de (Fe_3O_4), comme le démontrent les résultats d'une étude menée par (Gebara *et al.*,2019).

Les mécanismes par lesquels les nano de TiO_2 et nano Fe_2O_3 influencent les caractéristiques du cycle de vie de *Ceriodaphnia dubia*, y compris le rendement de la reproduction, la longueur du corps à la maturation et le temps de survie, ne sont pas encore entièrement compris. Néanmoins, il est hypothétiquement suggéré que ces nanoparticules pourraient perturber les processus métaboliques algaux normaux et interférer avec les fonctions cellulaires, affectant ainsi la croissance et la survie de *C.dubia* par transfert trophique. Cela est cohérent avec les résultats de (Iswarya *et al.*, 2018), qui ont montré que la survie, la croissance et la reproduction de *C.dubia* sont considérablement réduites par les nanoparticules de TiO_2 dans l'alimentation algale. Leur travaux de recherche a démontré que la présence de nanoparticules de TiO_2 dans le phytoplancton entraînait des taux de survie réduits, un développement retardé et une performance reproductive altérée chez les daphnies.

La présente étude montre aussi que la concentration de nanoparticules de TiO_2 et de Fe_2O_3 à un effet néfaste sur les paramètres reproductifs, tels que l'âge de maturation des femelles et le nombre d'œufs qu'elles produisent. Il est à noter que, le nombre d'œufs par femelle a diminué de 34 % et 35 %, et l'âge de maturation a été retardé d'au moins 7 jours pour l'exposition au Nano TiO_2 et de 5 jours pour l'exposition au NanoFe_2O_3. Ces résultats sont en parfait accord avec les recherches menées par (Liu et al., 2014), étudié les effets de quatre variétés de nanoparticules de CuO, ZnO, TiO_2 sur *D.magna* et le poisson-zèbre (*Danio rerio*). Leurs résultats ont indiqué que l'exposition à ces nanoparticules entraînait une diminution des niveaux de glutathion et une inhibition de l'activité enzymatique, ce qui, à son tour, entraînait une réduction de la taille des larves de poisson-zèbre et une diminution des taux d'éclosion. L'impact des nanoparticules est d'autant plus prononcé, que la taille est petite, les effets étant dépendants de la taille. Les effets des nanoparticules sur la maturation et les paramètres reproductifs de *D.magna* ont été davantage influencés par des facteurs tels que la qualité de l'alimentation. L'interaction entre la qualité de

l'alimentation et l'exposition aux nanoparticules est un facteur critique dans le développement et la reproduction de *D.magna*, comme l'ont démontré (Sun *et al.,*2022). Il est important de prendre les interactions entre les facteurs de stress environnementaux et la qualité de l'alimentation lors de l'évaluation des effets écologiques des nanoparticules sur les espèces aquatiques .Les processus complexes, y compris les modifications de surface, l'agrégation, la dissolution et d'autres transformations, peuvent influencer le comportement et la biodisponibilité des nanoparticules (NPs). La croissance, la reproduction et les processus physiologiques des espèces aquatiques peuvent être significativement affectés par les méthodes d'exposition aux NPs, notamment l'ingestion, l'application topique et l'absorption par les branchies (Shanmugam *et al.,* 2024). Dans ce contexte, l'exposition des poissons tilapia du Nil (*Oreochromis niloticus*) aux nanoparticules d'Al_2O_3 entraîne une modification des paramètres de stress oxydatif, de stress protéique et de génotoxicité (Temiz et Kargın, 2022). Les effets synergiques des mélanges de nanoparticules sur *D.magna* sont mis en évidence dans une étude récente que la combinaison de nanoparticules (mixtures) peut amplifier les effets toxiques sur les paramètres physiologiques et comportementaux des organismes aquatiques (Chorfi *et al.,* 2024). De plus, l'étude d'Ozmen *et al.,* (2023) a montré que les effets synergiques des compositions de nanoparticules de TiO_2, ZnO et Fe_2O_3 sur la croissance et les malformations chez *Xenopus laevis* et *Danio rerio* sont plus nocifs que ceux des nanoparticules prises séparément. L'exposition chronique au NanoTiO_2 affecte les paramètres reproductifs, l'âge de maturation et le nombre d'œufs de la génération F1 de *C.dubia*. Ainsi, l'âge de maturation est retardé, atteignant respectivement 13,1 ± 0,211, 15 ± 0,213, 16,6 ± 0,193 et 18,3 ± 0,267 jours.

Des études antérieures sur l'effet de différentes nanoparticules sur le comportement locomoteur et le rythme cardiaque de certains organismes aquatiques tels que les daphnies (Artells *et al.,*2013); (Nica *et al.,*2022); (Yang *et al.,* 2022); (Chorfi *et al.,* 2024). En accord avec ces études les résultats recueillis sur l'effet des nanoparticules TiO_2 et Fe_2O_3 chez *C.dubia* ont révélé que la vitesse de nage est affectée par la présence des deux nanoparticules, et qu'elle a diminué de 15 % et 14 % pour TiO_2 et Fe_2O_3, respectivement. De même, notre estimation du rythme cardiaque est similaire dans les groupes contaminés par les deux Nps. Les nanoparticules de SiO_2, que l'on trouve couramment dans des produits tels que la céramique et le verre, ont été testées sur *Daphnia magna* afin d'observer les impacts comportementaux après 48 heures

d'exposition (Kim *et al.,* 2021). L'étude a révélé que l'exposition à des nanoparticules de 20 nm entraînait une augmentation constante et dose-dépendante du rythmes cardiaques, allant de 1,0 à 10 µg/mL, avec des différences significatives observées à des concentrations plus élevées par rapport au groupe témoin. Une augmentation similaire a été observée dans le groupe de 50 nm. En effet, la capacité de nage de *D.magna* a diminué après l'exposition, le groupe témoin ayant une moyenne de 13,2 mm par minute, tandis que les groupes de 20 nm et de 50 nm ont parcourus des distances réduites (8,99 mm et 5,52 mm, respectivement). Une autre étude a démontré que *D.magna* présentait des changements dans la nage ainsi que des altérations dans la neurotransmission, le métabolisme anaérobie, la biotransformation et le stress oxydatif lorsqu'elle était exposée à des nanoparticules d'argent (Ag NPs) et à des NanoTiO_2 dans les eaux usées (Galhano *et al.,* 2020).

Contrairement à *Daphnia pulex*, *Daphnia similis* a montré une diminution plus sévère de la vitesse de nage lorsqu'elle était exposée à des concentrations plus élevées de nanoparticules de dioxyde de cérium (CeO_2 NPs), diminution qui peut atteindre de 60 % à 10 mg/L et 100 mg/L (Artells *et al.,* 2013). Le stress oxydatif peut affecter le rythme cardiaque, la vitesse de nage et la reproduction de *D. magna* en causant des dommages à l'ADN, des perturbations des membranes cellulaires et des modifications des voies de signalisation. Ces altérations entraînent des réponses physiologiques, telles que l'apoptose, et impactent la reproduction et le développement(Bownik *et al.,* 2015); (De Felice *et al.,* 2019).

2-Daphnia magna

2-1.Impact toxique des mélanges de NanoTiO_2 et de NanoFe_2O_3 sur le développement de *Daphnia magna*.

En toxicologie fondamentale, il est bien reconnu que l'impact d'une molécule peut présenter des variations significatives lorsqu'elle interagit avec d'autres molécules, qu'elles appartiennent ou non à la même famille (telles que les nanoparticules, les pesticides, les perturbateurs endocriniens, etc.). Cette interaction peut entraîner des effets additifs, antagonistes, de potentialisation ou synergiques au sein des mélanges résultants. Pour les nanoparticules, les propriétés physico-chimiques, les concentrations, la durée d'exposition sont des facteurs qui peuvent jouer un rôle crucial dans la détermination de leur absorption, distribution, métabolisme, excrétion et toxicité globale. Malheureusement, les données existantes sur la toxicité des nanoparticules chez *Daphnia* reposent principalement sur des matériaux de « qualité recherche », impliquant souvent des combinaisons simples pour pouvoir interpréter les résultats. Pour obtenir une compréhension plus réaliste du comportement des nanoparticules dans les écosystèmes aquatiques et des évaluations précises de leurs effets potentiels, il est impératif d'évaluer la part des conditions environnementales sur leur dégradation.

Nous rapportons ici que la croissance de *D.magna* est inversement proportionnelle à la concentration de nanoparticules, ce qui est corroboré par les données rapportées par Zhu *et al.,* (2010) selon lesquelles l'exposition au nTiO_2 seul à des concentrations de 0,5 à 5 mg L^{-1} inhibait la croissance de *D.magna*. d'après l' étude, Mendoza *et al.* (2023) une réduction significative de la longueur de *D. magna* lorsque cette dernière était exposée à au NanoTiO_2 à plusieurs concentrations de (37,5 mg L^{-1}, 75 mg L^{-1}, 150 mg L^{-1}, 300 mg L^{-1} et 600 mg L^{-1}) est constaté, ce qui contredit les résultats obtenus par Lee *et al.,* (2009), qui a utilisé des doses plus faibles de NanoTiO_2. Cette différence dans les conditions d'exposition explique probablement l'absence d'effets développementaux. Cependant, la toxicité des mélanges comprenant des concentrations d'Ag^+ ainsi que des combinaisons de nanoparticules de ZnO et de TiO_2 est nettement supérieure à la toxicité intrinsèque de chaque composant, indiquant un impact synergique (Park *et al.,* 2019).

L'efficacité des nanoparticules (NPs) en association avec des tensioactifs cationiques peut générer des mélanges de nanoparticules d'oxyde métallique et de tensioactifs, qui présentent des capacités de sorption remarquables(Guerranti et Renzi, 2015). Les

mélanges de [(ZnO ou TiO_2) et Triton] augmentent les effets des nanoparticules sur *D.magna*(Renzi et Blašković, 2019). La combinaison de nanoparticules de graphite-diamant avec le fongicide thiabendazole a démontré des interactions toxiques synergétiques à faibles concentrations, probablement en raison de la biodisponibilité accrue du fongicide facilitée par les nanoparticules. Cependant, à des doses plus élevées de nanoparticules, un effet antagoniste a été observé. Ce phénomène a été attribué à l'agrégation des nanoparticules, ce qui a finalement réduit la biodisponibilité du fongicide (Martín *et al.*, 2019).

D'après des études antérieures, on sait que malgré l'utilisation des NPs dans des stratégies de remédiation contre la pollution par les pesticides (Akash *et al.*, 2022), de taille spécifique, il a été démontré que les NanoTiO_2, en particulier de taille nanométrique, augmentent la toxicité des pesticides (malathion, perméthrine et pirimicarbe) chez *D.magna*. Cet effet est probablement attribué aux dommages des pesticides et à la formation potentielle de sous-produits toxiques induits par la photo catalyse (Lüderwald *et al.*,2020). Les impacts des NPs sur les paramètres de maturation et de reproduction de *D.magna* ont également été influencés par d'autres paramètres tels que la disponibilité alimentaire (Sun *et al.*, 2022) Il a été rapporté que l'exposition à des nanoparticules de ZnO à des concentrations élevées, en présence de faibles quantités de zooplancton (*Chlorella*), peut augmenter l'effet négatif sur le cycle de vie (temps de survie, longueur corporelle à la maturation et nombre de descendants par femelle) de *D.magna*. En revanche, certains autres traits de l'histoire de vie, tels que le temps de maturation et le temps jusqu'à la première portée, ont présenté une différence significative en réponse aux nanoparticules. De plus, il a été observé qu'une grande abondance de zooplancton atténuait les effets néfastes des nanoparticules de ZnO sur *D.magna*. De la même manière, des mélanges de Microcystis toxiques et de nanoparticules de ZnO à plusieurs concentrations peuvent provoquer des altérations du développement et de la longueur corporelle à la maturation, réduisant le nombre de néonates dans la première portée, le nombre total de descendants et le nombre de portées par femelle chez *D.magna*, sans aucun effet sur les temps de maturation (Wang *et al.*, 2019).

Cette étude a évalué les effets nocifs des nanoparticules en examinant le comportement locomoteur, qui constitue une mesure très sensible (Bownik, 2017). Les nanoparticules de dioxyde de cérium (CeO_2 NPs), utilisées dans l'industrie comme catalyseurs d'oxydation, capteurs de gaz, matériaux de polissage et absorbeurs UV,

affectent la performance de nage de *Daphnia similis* et *Daphnia pulex* après des expositions de 1, 10 et 100 mg/L pendant 48 heures. De plus, une exposition à 1 mg/L a induit une diminution de 30 % et 40 % des vitesses de nage chez *D.pulex* et *D.similis*, respectivement. Cependant, à des concentrations élevées, les vitesses de nage de *D.similis* ont été plus sévèrement affectées (avec une réduction de 60 % à 10 mg/L et 100 mg/L) par rapport à celles de *D. pulex* (Artells *et al.*,2013). De même, l'exposition aux nanoparticules de chitosane de cérium peut affecter les paramètres comportementaux liés à la nage (vitesse moyenne, distance parcourue et temps d'activité) et induire un comportement hyperactif en augmentant la vitesse moyenne et l'accélération sans augmenter la distance parcourue. (Villa *et al.*,2020).

L'exposition au TiO_2 augmente la vitesse de nage proportionnellement à la durée d'exposition (passant de 8,2 ± 0,9 mm/min pour 3 h à 21,6 ± 2,8 mm/min pour 48 h) et inversement proportionnellement aux concentrations (0,1, 1,0 et 10 µg/mL)(Park *et al.*, 2022). La fréquence cardiaque et la distance de nage ont toutes deux été affectées de manière linéaire par la concentration de nanoparticules de TiO_2 (Chung *et al.*, 2016). Des recherches préliminaires ont évoqué que l'induction de stress oxydatif peut entraîner des impacts négatifs sur la fréquence cardiaque, la vitesse de nage et les capacités reproductives de *D.magna* (Bownik et Stępniewska, 2015; De Felice *et al.*, 2019; Park *et al.*, 2022).

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

Bien que les nanoparticules offrent de nombreuses opportunités dans divers secteurs, tels que la médecine (notamment le ciblage de médicaments, l'imagerie et la thérapie génique), l'industrie, les produits cosmétiques et les revêtements, leur utilisation soulève des préoccupations. En effet, le manque de réglementation concernant l'utilisation des nanoparticules, associées à une connaissance limitée des effets toxiques potentiels des NPs sur la santé et l'environnement, suscite des inquiétudes parmi les scientifiques. C'est dans ce contexte que notre travail a été mené.

L'objectif principal de notre étude est l'évaluation de l'impact toxique des nanoparticules (NPs) de TiO_2 et de Fe_2O_3 sur les paramètres physiologiques (tels que la survie, la durée de vie et la reproduction) ainsi que sur les paramètres comportementaux (notamment la performance de nage et la fréquence cardiaque) chez la famille des *Daphniidae*. *D.magna* et *C.dubia* ont été choisies comme modèles biologiques alternatifs en raison de plusieurs avantages, parmi lesquels figurent leur rôle dans la chaîne trophique, leur sensibilité aux polluants et leur facilité d'utilisation pour des essais à long terme en laboratoire. Ces caractéristiques ont permis d'étudier les différents aspects de la toxicité des NPs de TiO_2 et de Fe_2O_3, tant séparément sur les paramètres physiologiques et comportementaux et sur la reproduction de la première génération F1 chez *C.dubia*. De plus, nous avons exploré l'impact du mélange des NPs (TiO_2 + Fe_2O_3) sur les mêmes paramètres physiologiques et comportementaux de *D.magna.*

En premier lieu, les résultats de notre revue de littérature sur l'effet toxique des nanoparticules (NPs) de TiO_2 et de Fe_2O_3 sur les paramètres physiologiques, comportementaux et biochimiques chez la famille des *Daphniidae* ont été obtenus selon la méthode PRISMA. Cette recherche a permis de sélectionner 31 articles scientifiques répondant à nos objectifs. L'analyse bibliographique de ces travaux a montré que les NPs de TiO_2 et de Fe_2O_3 peuvent affecter les paramètres physiologiques, comportementaux et biochimiques de diverses espèces de *Daphniidae*, à savoir : *D.magna*, *C.dubia* et *D.similis*, même aux faibles concentrations.

En deuxième lieu, ce travail de recherche a mis en évidence que le développement, les performances reproductives et le comportement de *C.dubia* sont perturbés suite a l'exposition aux nanoparticules de dioxyde de titane (TiO_2) et d'oxyde de fer (Fe_2O_3). Ainsi, la performance de reproduction de la première génération (F1) a été affectée par les deux

types de NPs. La concentration de nanoparticules est directement corrélée avec la gravité de ces effets, Notons également que les rythmes cardiaques ainsi que l'activité de nage sont également affectés de manière significative.

En fin, l'exposition à des mélanges binaires de NPs (TiO_2 et Fe_2O_3) affecte significativement le développement de *D.magna* jusqu'à la maturation et perturbe leurs performances reproductives et leur comportement. L'intensité des effets est proportionnelle aux concentrations des mélanges. La mortalité enregistrée dans le groupe de contrôle est significativement plus faible que dans les groupes expérimentaux. En outre, les performances de natation et la fréquence cardiaque ont également été affectées. Les résultats de cette enquête et l'analyse des données indiquent que l'exposition de *D.magna* à une combinaison de nanoparticules, même à des concentrations minimales, a un impact significatif sur divers aspects de leur cycle de vie et sur la condition physique globale de l'organisme.

En général, les nanoparticules présentent des risques toxicologiques pour les espèces aquatiques, y compris les daphnies. La gravité de ces effets peut être influencée par des facteurs tels que la taille, la forme et la composition des particules (Liu *et al.*, 2019). Par conséquent, il est essentiel de mener des recherches continues sur les effets écologiques des nanoparticules sur la vie aquatique afin d'évaluer plus précisément les risques auxquels les écosystèmes aquatiques sont confrontés. De plus, il est important d'établir des cadres réglementaires visant à atténuer l'exposition aux nanoparticules, afin de préserver la santé des écosystèmes et de protéger la biodiversité aquatique. Dans les écosystèmes naturels, les produits chimiques sont souvent mélangés, et l'absence d'une méthode globale pour étudier les effets combinés des polluants chimiques et d'autres facteurs de stress reflète les divisions existantes entre les disciplines scientifiques.

Pour l'avenir, il est évident qu'un changement de paradigme est nécessaire pour relever les défis posés par les mélanges chimiques dans le contexte de la recherche et de la gestion environnementale. La collaboration interdisciplinaire doit être encouragée entre les écologistes, les toxicologues, tels que écotoxicologues, biologistes, microbiologistes, chimistes, physiciens, spécialistes des matériaux, ainsi que de l'industrie s'avère généralement très précieuse dans ces études. Les chimistes et d'autres domaines pertinents afin d'élaborer une approche intégrée et unifiée de l'étude des impacts cumulatifs des produits chimiques dans les écosystèmes. En unissant nos compétences et nos ressources, nous pourrons dépasser les limites de certaines disciplines et mieux appréhender les

implications écologiques des mélanges chimiques. Les résultats rapportés ont des implications significatives pour l'évaluation appropriée des effets écotoxicologique des polluants émergents.

Bibliographies

Bibliographies :

Abid, N., Khan, A. M., Shujait, S., Chaudhary, K., Ikram, M., Imran, M., . . . Maqbool, M. (2022). Synthesis of nanomaterials using various top-down and bottom-up approaches, influencing factors, advantages, and disadvantages: A review. *Advances in Colloid and Interface Science, 300*, 102597. doi: https://doi.org/10.1016/j.cis.2021.102597

Ağçeli, G. K., Hammachi, H., Kodal, S. P., Cihangir, N., & Aksu, Z. (2020). A novel approach to synthesize TiO_2 nanoparticles: biosynthesis by using Streptomyces sp. HC1. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials, 30*, 3221-3229.

Aghamirkarimi, S., Mashinchian, M. A., Sharifpour, I., Jamili, S., & GHAVAM, M. P. (2017). Sublethal effects of copper nanoparticles on the histology of gill, liver and kidney of the caspian roach, Rutilus Rutilus Caspicus (Case Study).

Ahmed, S. (2023). Applications of *Daphnia Magna* in Ecotoxicological Studies: A Review. *Journal of Advanced Research in Biology, 5*(2), 16-35.

Akash, S., Sivaprakash, B., Rajamohan, N., Pandiyan, C. M., & Vo, D. V. N. (2022). Pesticide pollutants in the environment – A critical review on remediation techniques, mechanism and toxicological impact. *Chemosphere, 301*, 134754. doi: https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.134754

Alabdallah, N. M., Alluqmani, S. M., Almarri, H. M., & Al-Zahrani, A. A. (2024). Physical, chemical, and biological routes of synthetic titanium dioxide nanoparticles and their crucial role in temperature stress tolerance in plants. *Heliyon*.

Ali, A., Zafar, H., Zia, M., ul Haq, I., Phull, A. R., Ali, J. S., & Hussain, A. (2016). Synthesis, characterization, applications, and challenges of iron oxide nanoparticles. *Nanotechnology, science and applications*, 49-67.

Amoros, C. (1984). Introduction pratique à la systématique des organismes des eaux continentales françaises-5. Crustacés Cladocères. *Publications de la Société Linnéenne de Lyon, 53*(3), 72-107.

Archana, H., Chellaram, C., & Anand, T. P. (2013). Impact of marine nanoparticles for sustained drug delivery–a review.

Artells, E., Issartel, J., Auffan, M., Borschneck, D., Thill, A., Tella, M., . . . Thiery, A. (2013). Exposure to cerium dioxide nanoparticles differently affect swimming performance and survival in two *daphnid* species. *PloS one, 8*(8), e71260. doi: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0071260

Askri, D. (2018). *Etude de la biodistribution et de la toxicité des Nanoparticules de Fer chez le rat et sur une lignée de neuroblastome.* Université Grenoble Alpes; Université de Carthage (Tunisie).

Ates, M., Cimen, I. C., Unal, I., Kutlu, B., Ertit Tastan, B., Danabas, D., . . . Arslan, Z. (2020). Assessment of impact of α-Fe_2O_3 and γ-Fe_2O_3 nanoparticles on phytoplankton species Selenastrum capricornutum and Nannochloropsis oculata. *Environmental toxicology, 35*(3), 385-394.

Ates, M., Demir, V., Arslan, Z., Kaya, H., Yılmaz, S., & Camas, M. (2016). Chronic exposure of tilapia (Oreochromis niloticus) to iron oxide nanoparticles: Effects of particle morphology on accumulation, elimination, hematology and immune

responses. *Aquatic Toxicology, 177*, 22-32. doi: https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2016.05.005

Azevedo, S., Holz, T., Rodrigues, J., Monteiro, T., Costa, F., Soares, A., & Loureiro, S. (2017). A mixture toxicity approach to predict the toxicity of Ag decorated ZnO nanomaterials. *Science of The Total Environment, 579*, 337-344.

Baig, N., Kammakakam, I., & Falath, W. (2021). Nanomaterials: A review of synthesis methods, properties, recent progress, and challenges. *Materials Advances, 2*(6), 1821-1871.

Baran, N., Togola, A., & Amalric, L. (2013). Polluants émergents: un risque pour les eaux souterraines?

Barker, D. M., & Hebert, P. D. (1986). Secondary sex ratio of the cyclic parthenogen *Daphnia magna* (Crustacea: Cladocera) in the Canadian Arctic. *Canadian Journal of Zoology, 64*(5), 1137-1143.

Bates, D., Maechler, M., Bolker, B., Walker, S., Christensen, R. H. B., Singmann, H., . . . Bolker, M. B. (2015). Package 'lme4'. *convergence, 12*(1), 2.

Baumann, J., Köser, J., Arndt, D., & Filser, J. (2014). The coating makes the difference: Acute effects of iron oxide nanoparticles on *Daphnia magna*. *Science of The Total Environment, 484*, 176-184. doi: https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.03.023

Berner, D. B. (1986). *Taxonomy of Ceriodaphnia (Crustacea: Cladocera) in US environmental protection agency cultures*: US Environmental Protection Agency, Office of Research and Development ….

Besnaci, S., Bensoltane, S., Braia, F. M. H., Zerari, L., Khadri, S., & Loucif, H. (2016). Embryotoxicity evaluation of iron oxide Fe2O3 on land snails: Helix aspersa. *J. Entomol. Zool. Stud, 4*, 317-323.

Boutalbi, K. (2013). Contribution à l'étude de la toxicité des nanoparticules (cas de l'oxyde de titane et l'oxyde de fer) sur le cycle de vie de *Daphnia magna*.

Bouteraa, Z. (2023). *Nanotoxicologie d'un oxyde de fer et titane chez les rats et l'effet opposé de diféruloyl-méthane.* Université Echahid Cheikh Larbi-Tebessi-Tébessa.

Bownik, A. (2017). Daphnia swimming behaviour as a biomarker in toxicity assessment: A review. *Science of The Total Environment, 601-602*, 194-205. doi: https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.05.199

Bownik, A., & Stępniewska, Z. (2015). Protective effects of ectoine on behavioral, physiological and biochemical parameters of *Daphnia magna* subjected to hydrogen peroxide. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 170*, 38-49. doi: https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2015.02.002

Bownik, A., Stępniewska, Z., & Skowroński, T. (2015). Effects of ectoine on behavioural, physiological and biochemical parameters of *Daphnia magna*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 168*, 2-10. doi: https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2014.11.001

Bundschuh, M., Seitz, F., Rosenfeldt, R. R., & Schulz, R. (2012). Titanium dioxide nanoparticles increase sensitivity in the next generation of the water flea *Daphnia magna*. *PloS one, 7*(11), e48956.

Bundschuh, M., Vogt, R., Seitz, F., Rosenfeldt, R. R., & Schulz, R. (2016). Do titanium dioxide nanoparticles induce food depletion for filter feeding organisms? A case study with *Daphnia magna*. *Environmental Pollution, 214*, 840-846.

Cambronero, M. C., & Orsini, L. (2018). Resurrection of dormant *Daphnia magna*: protocol and applications. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*(131), e56637.

Campos, B., Rivetti, C., Rosenkranz, P., Navas, J. M., & Barata, C. (2013). Effects of nanoparticles of TiO_2 on food depletion and life-history responses of *Daphnia magna*. *Aquatic Toxicology, 130*, 174-183.

Chebboubi, S. D., Hidaya. (2022). contribution à l'étude parasitologique chez *Daphnia* sp.

Chellaram, C., Murugaboopathi, G., John, A., Sivakumar, R., Ganesan, S., Krithika, S., & Priya, G. (2014). Significance of nanotechnology in food industry. *APCBEE procedia, 8*, 109-113.

Chen, L., Hu, C., Guo, Y., Shi, Q., & Zhou, B. (2019). TiO_2 nanoparticles and BPA are combined to impair the development of offspring zebrafish after parental coexposure. *Chemosphere, 217*, 732-741.

Chen, X., Zhu, Y., Yang, K., Zhu, L., & Lin, D. (2019). Nanoparticle TiO_2 size and rutile content impact bioconcentration and biomagnification from algae to *daphnia*. *Environmental Pollution, 247*, 421-430.

Chevalier, J. (2014). *Utilisation du comportement natatoire de Daphnia magna comme indicateur sensible et précoce de toxicité pour l'évaluation de la qualité de l'eau.* Université de Bordeaux.

Chèvre, N. (2000). Etude et modélisation des effets écotoxiques d'un micropolluant organique sur" Daphnia magna" et" Pseudokirchneriella subcapitata": EPFL.

Chorfi, A., Zebsa, R., Boudalia, S., Amari, H., Bensouilah, S., Bensakhri, Z., . . . Bensoltane, S. (2024). Developmental effects on *Daphnia magna* induced by titanium dioxide and iron oxide mixtures. *Environmental Research Communications, 6*(1), 015002.

Chung, W., Song, J. M., & Lee, J. (2016). The evaluation of titanium dioxide nanoparticle effects on cardiac and swimming performance of *Daphnia magna*. *International Journal of Applied Environmental Sciences, 11*(6), 1375-1385.

Chupani, L., Niksirat, H., Velíšek, J., Stará, A., Hradilová, Š., Kolařík, J., . . . Zusková, E. (2018). Chronic dietary toxicity of zinc oxide nanoparticles in common carp (Cyprinus carpio L.): tissue accumulation and physiological responses. *Ecotoxicology and Environmental Safety, 147*, 110-116.

Clemente, Z., Castro, V., Jonsson, C., & Fraceto, L. (2012). Ecotoxicology of nano-TiO_2– an evaluation of its toxicity to organisms of aquatic ecosystems.

Colbourne, J. K., Pfrender, M. E., Gilbert, D., Thomas, W. K., Tucker, A., Oakley, T. H., . . . Basu, M. K. (2011). The ecoresponsive genome of *Daphnia pulex*. *Science, 331*(6017), 555-561.

Dalai, S., Iswarya, V., Bhuvaneshwari, M., Pakrashi, S., Chandrasekaran, N., & Mukherjee, A. (2014). Different modes of TiO_2 uptake by *Ceriodaphnia dubia*: relevance to toxicity and bioaccumulation. *Aquatic toxicology, 152*, 139-146.

Das, P., Xenopoulos, M. A., & Metcalfe, C. D. (2013). Toxicity of silver and titanium dioxide nanoparticle suspensions to the aquatic invertebrate, *Daphnia magna*.

Bulletin of environmental contamination and toxicology, 91, 76-82. doi: DOI 10.1007/s00128-013-1015-6

Davies, C. (2007). EPA and Nanotechnology: Oversight for the 21st Century.

De Felice, B., Sabatini, V., Antenucci, S., Gattoni, G., Santo, N., Bacchetta, R., . . . Parolini, M. (2019). Polystyrene microplastics ingestion induced behavioral effects to the cladoceran *Daphnia magna*. *Chemosphere, 231*, 423-431. doi: https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.05.115

De Felice, B., Salgueiro-González, N., Castiglioni, S., Saino, N., & Parolini, M. (2019). Biochemical and behavioral effects induced by cocaine exposure to Daphnia magna. *Science of The Total Environment, 689*, 141-148. doi: https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.06.383

de l'Anses, A. (2014). Enjeux et mise à jour des connaissances.

de Lucca, G. M., Freitas, E. C., & da Graça Gama Melão, M. (2018). Effects of TiO_2 nanoparticles on the Neotropical Cladoceran *Ceriodaphnia silvestrii* by waterborne and dietary routes. *Water, Air, & Soil Pollution, 229*, 1-16.

Denton, D. L., Wheelock, C. E., Murray, S. A., Deanovic, L. A., Hammock, B. D., & Hinton, D. E. (2003). Joint acute toxicity of esfenvalerate and diazinon to larval fathead minnows (Pimephales promelas). *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal, 22*(2), 336-341.

Di Nica, V., Rizzi, C., Finizio, A., Ferraro, L., & Villa, S. (2022). Behavioural responses of juvenile *Daphnia magna* to two organophosphorus insecticides. *Journal of limnology, 81*(1). doi: 10.4081/jlimnol.2021.2015

Dorier, M. (2016). *Impact du colorant alimentaire E171 et de nanoparticules de dioxyde de titane sur des modèles cellulaires, in vitro, d'épithélium intestinal.* Université Grenoble Alpes.

DORIS. (2021). Données d'Observations Pour la Reconnaissance et l'Identification de la Faune et la Flore Subaquatiques.

Ebert, D. (2005). *Ecology, epidemiology, and evolution of parasitism in Daphnia*: National Library of Medicine.

Edouard, G. (2021). Le dioxyde de titane dans l'industrie pharmaceutique. Angers: Université Angers.

EPA, E. P. A. (2002). National primary drinking water regulations: long term 1 enhanced surface water treatment rule. Final rule. *Federal register, 67*(9), 1811-1844.

Erard, C. (1998). Engelhardt, W.(avec la collaboration de P. Jurging, J. Pfadenhauer & K. Rehfeld).—La vie dans les étangs, les ruisseaux et les. mares. Série des Guides Vigot, Paris. *Revue d'Écologie (La Terre et La Vie), 53*(2), 189-190.

Fan, W., Liu, L., Peng, R., & Wang, W.-X. (2016). High bioconcentration of titanium dioxide nanoparticles in *Daphnia magna* determined by kinetic approach. *Science of The Total Environment, 569*, 1224-1231.

Fan, W., Peng, R., Li, X., Ren, J., Liu, T., & Wang, X. (2016). Effect of titanium dioxide nanoparticles on copper toxicity to *Daphnia magna* in water: role of organic matter. *Water research, 105*, 129-137.

Farkas, J., Peter, H., Ciesielski, T. M., Thomas, K. V., Sommaruga, R., Salvenmoser, W., . . . Jenssen, B. M. (2015). Impact of TiO_2 nanoparticles on freshwater bacteria from three Swedish lakes. *Science of The Total Environment, 535*, 85-93. doi: https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.03.043

Farsi, L., Sabzalipour, S., Khodadadi, M., Haghighi Fard, N. J., & Jamali-Sheini, F. (2021). The ecotoxicity of nanoparticles Co_2O_3 and Fe_2O_3 on *Daphnia magna* in freshwater. *Journal of Water Chemistry and Technology, 43*(6), 509-516.

Fekete-Kertész, I., László, K., Terebesi, C., Gyarmati, B. S., Farah, S., Márton, R., & Molnár, M. (2020). Ecotoxicity assessment of graphene oxide by *Daphnia magna* through a multimarker approach from the molecular to the physiological level including behavioral changes. *Nanomaterials, 10*(10), 2048.

Fouqueray, M., Dufils, B., Vollat, B., Chaurand, P., Botta, C., Abacci, K., . . . Garric, J. (2012). Effects of aged TiO_2 nanomaterial from sunscreen on *Daphnia magna* exposed by dietary route. *Environmental Pollution, 163*, 55-61.

Fox, H. M. (1948). The haemoglobin of Daphnia. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B-Biological Sciences, 135*(879), 195-212.

Gaffet, E., Marano, F., Ferrari, L., Flahaut, E., Jouzel, J.-N., Madec, L., . . . Stéphanie, G. (2018). *Bilan des connaissances relatives aux effets des nanoparticules de TiO_2 sur la santé humaine; caractérisation de l'exposition des populations et mesures de gestion [Rapport].* Haut Conseil de la Santé Publique.

Galhano, V., Hartmann, S., Monteiro, M. S., Zeumer, R., Mozhayeva, D., Steinhoff, B., . . . Kuhnert, K.-D. (2020). Impact of wastewater-borne nanoparticles of silver and titanium dioxide on the swimming behaviour and biochemical markers of *Daphnia magna*: An integrated approach. *Aquatic Toxicology, 220*, 105404. doi: https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2020.105404

Galhano, V., Zeumer, R., Monteiro, M. S., Knopf, B., Meisterjahn, B., Soares, A. M., . . . Lopes, I. (2022). Effects of wastewater-spiked nanoparticles of silver and titanium dioxide on survival, growth, reproduction and biochemical markers of *Daphnia magna*. *Science of The Total Environment, 839*, 156079.

Gebara, R. C., Souza, J. P., da Silva Mansano, A., Sarmento, H., & Melão, M. d. G. G. (2019). Effects of iron oxide nanoparticles (Fe_3O_4) on life history and metabolism of the Neotropical cladoceran *Ceriodaphnia silvestrii*. *Ecotoxicology and Environmental Safety, 186*, 109743.

Geissen, V., Mol, H., Klumpp, E., Umlauf, G., Nadal, M., van der Ploeg, M., . . . Ritsema, C. J. (2015). Emerging pollutants in the environment: A challenge for water resource management. *International Soil and Water Conservation Research, 3*(1), 57-65. doi: https://doi.org/10.1016/j.iswcr.2015.03.002

Gigault, J. (2017). SOURCES AND BECOMING MANUFACTURED AND ANTHROPIC NANOPARTICLES: TRANSPORT, ACCUMULATION AND REACTIVITY AT INTERFACES.

Gökçe, D., Köytepe, S., & Özcan, İ. (2018). Effects of nanoparticles on *Daphnia magna* population dynamics. *Chemistry and Ecology, 34*(4), 301-323.

Green, J. (1956). *Growth, size and reproduction in Daphnia (Crustacea: Cladocera).* Paper presented at the Proceedings of the Zoological Society of London.

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.

Guerranti, C., & Renzi, M. (2015). Ecotoxicity of nanoparticles in aquatic environments: a review based on multivariate statistics of meta-data. *Journal of Environmental Analytical Chemistry, 2*(04), 1000149. doi: https://doi.org/10.4172/2380-2391.1000149

Haleem, A., Javaid, M., Singh, R. P., Rab, S., & Suman, R. (2023). Applications of nanotechnology in medical field: a brief review. *Global Health Journal, 7*(2), 70-77.

Handy, R. D., Owen, R., & Valsami-Jones, E. (2008). The ecotoxicology of nanoparticles and nanomaterials: current status, knowledge gaps, challenges, and future needs. *Ecotoxicology, 17*, 315-325.

Harris, K. D., Bartlett, N. J., & Lloyd, V. K. (2012). Daphnia as an emerging epigenetic model organism. *Genetics research international, 2012*.

Heiligtag, F. J., & Niederberger, M. (2013). The fascinating world of nanoparticle research. *Materials today, 16*(7-8), 262-271.

Hext, P. M., Tomenson, J. A., & Thompson, P. (2005). Titanium dioxide: inhalation toxicology and epidemiology. *Annals of Occupational Hygiene, 49*(6), 461-472.

Hothorn, T., Hornik, K., Van De Wiel, M. A., & Zeileis, A. (2008). Implementing a class of permutation tests: the coin package. *Journal of statistical software, 28*(8), 1-23.

Hu, J., Wang, D., Wang, J., & Wang, J. (2012). Bioaccumulation of Fe_2O_3 (magnetic) nanoparticles in Ceriodaphnia dubia. *Environmental Pollution, 162*, 216-222.

Huang, J., Cao, C., Liu, J., Yan, C., & Xiao, J. (2019). The response of nitrogen removal and related bacteria within constructed wetlands after long-term treating wastewater containing environmental concentrations of silver nanoparticles. *Science of The Total Environment, 667*, 522-531.

Ijaz, I., Gilani, E., Nazir, A., & Bukhari, A. (2020). Detail review on chemical, physical and green synthesis, classification, characterizations and applications of nanoparticles. *Green Chemistry Letters and Reviews, 13*(3), 223-245.

Iswarya, V., Bhuvaneshwari, M., Chandrasekaran, N., & Mukherjee, A. (2016). Individual and binary toxicity of anatase and rutile nanoparticles towards Ceriodaphnia dubia. *Aquatic Toxicology, 178*, 209-221.

Iswarya, V., Bhuvaneshwari, M., Chandrasekaran, N., & Mukherjee, A. (2018). Trophic transfer potential of two different crystalline phases of TiO2 NPs from Chlorella sp. to *Ceriodaphnia dubia*. *Aquatic Toxicology, 197*, 89-97. doi: https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2018.02.003

Iswarya, V., Palanivel, A., Chandrasekaran, N., & Mukherjee, A. (2019). Toxic effect of different types of titanium dioxide nanoparticles on *Ceriodaphnia dubia* in a freshwater system. *Environmental Science and Pollution Research, 26*, 11998-12013.

Iwai, C. B., Somparn, A., & Noller, B. (2011). Using zooplankton, Moina micrura Kurz to evaluate the ecotoxicology of pesticides used in paddy fields of Thailand. *Pesticides in the Modern World—Risks and Benefits; INTECH Open Access Publisher: Rijeka, Croatia*, 267-280.

Jafari, A., Rashidipour, M., Kamarehi, B., Alipour, S., & Ghaderpoori, M. (2022). Toxicity of green synthesized TiO_2 nanoparticles (TiO_2 NPs) on zebra fish. *Environmental Research, 212*, 113542.

Jahan, M. S., Hasan, M. M., Alotaibi, F. S., Alabdallah, N. M., Alharbi, B. M., Ramadan, K. M., . . . Al-Balawi, D. A. (2022). Exogenous putrescine increases heat tolerance in tomato seedlings by regulating chlorophyll metabolism and enhancing antioxidant defense efficiency. *Plants, 11*(8), 1038.

Kast-Hutcheson, K., Rider, C. V., & LeBlanc, G. A. (2001). The fungicide propiconazole interferes with embryonic development of the crustacean *Daphnia magna*. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal, 20*(3), 502-509.

Kier, L., Brusick, D., Auletta, A., Von Halle, E., Brown, M., Simmon, V., . . . Prival, M. (1986). The Salmonella typhimurium/mammalian microsomal assay: a report of the US Environmental Protection Agency Gene-Tox Program. *Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology, 168*(2), 69-240.

Kim, S., & Ryu, D. Y. (2013). Silver nanoparticle-induced oxidative stress, genotoxicity and apoptosis in cultured cells and animal tissues. *Journal of applied toxicology, 33*(2), 78-89.

Kim, Y., Samadi, A., Gwag, E. H., Park, J., Kwak, M., Park, J., . . . Kim, Y. J. (2021). Physiological and behavioral effects of SiO_2 nanoparticle ingestion on *Daphnia magna.* Micromachines, 12(9), 1105.

Kwon, D., Nho, H. W., & Yoon, T. H. (2014). X-ray and electron microscopy studies on the biodistribution and biomodification of iron oxide nanoparticles in *Daphnia magna*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 122*, 384-389.

Lee, S.-W., Kim, S.-M., & Choi, J. (2009). Genotoxicity and ecotoxicity assays using the freshwater crustacean *Daphnia magna* and the larva of the aquatic midge Chironomus riparius to screen the ecological risks of nanoparticle exposure. *Environmental Toxicology and Pharmacology, 28*(1), 86-91. doi: https://doi.org/10.1016/j.etap.2009.03.001

Get rights and content

Li, M., Zhang, Y., Feng, S., Zhang, X., Xi, Y., & Xiang, X. (2022). Bioaccumulation and biomagnification effects of nano-TiO2 in the aquatic food chain. *Ecotoxicology, 31*(6), 1023-1034.

Liu, J., Fan, D., Wang, L., Shi, L., Ding, J., Chen, Y., & Shen, S. (2014). Effects of ZnO, CuO, Au, and TiO2 nanoparticles on Daphnia magna and early life stages of zebrafish Danio rerio. *Environment Protection Engineering, 40*(1). doi: 10.5277/epe140111

Liu, J., & Wang, W.-X. (2017). The protective roles of TiO_2 nanoparticles against UV-B toxicity in *Daphnia magna*. *Science of The Total Environment, 593*, 47-53.

Liu, S., Cui, M., Li, X., Thuyet, D. Q., & Fan, W. (2019). Effects of hydrophobicity of titanium dioxide nanoparticles and exposure scenarios on copper uptake and toxicity in Daphnia magna. *Water research, 154*, 162-170.

Liu, S., Zeng, P., Li, X., Thuyet, D. Q., & Fan, W. (2019). Effect of chronic toxicity of the crystalline forms of TiO_2 nanoparticles on the physiological parameters of *Daphnia magna* with a focus on index correlation analysis. *Ecotoxicology and Environmental Safety, 181*, 292-300.

Liu, X., Wang, J., & Huang, Y.-W. (2021). Quantifying the effect of nano-TiO_2 on the toxicity of lead on *C.dubia* using a two-compartment modeling approach. *Chemosphere, 263*, 127958.

Liu, X., Wang, J., Huang, Y.-W., & Kong, T. (2019). Algae (*Raphidocelis*) reduce combined toxicity of nano-TiO2 and lead on C. dubia. *Science of The Total Environment, 686*, 246-253.

Lüderwald, S., Meyer, F., Gerstle, V., Friedrichs, L., Rolfing, K., Schreiner, V. C., . . . Bundschuh, M. (2020). Reduction of Pesticide Toxicity Under Field-Relevant Conditions? The Interaction of Titanium Dioxide Nanoparticles, Ultraviolet, and Natural Organic Matter. *Environmental Toxicology and Chemistry, 39*(11), 2237-2246. doi: https://doi.org/10.1002/etc.4851

Magro, M., De Liguoro, M., Franzago, E., Baratella, D., & Vianello, F. (2018). The surface reactivity of iron oxide nanoparticles as a potential hazard for aquatic environments: A study on *Daphnia magna* adults and embryos. *Scientific reports, 8*(1), 13017.

Manar, R. (2008). *Effets populationnels du chlordane sur les microcrustacés cladocères Daphnia sp. dans une perspective d'évaluation des risques.* Université Paul Verlaine-Metz.

Mansfield, C., Alloy, M., Hamilton, J., Verbeck, G., Newton, K., Klaine, S., & Roberts, A. (2015). Photo-induced toxicity of titanium dioxide nanoparticles to *Daphnia magna* under natural sunlight. *Chemosphere, 120*, 206-210.

Marcone, G. P., Oliveira, Á. C., Almeida, G., Umbuzeiro, G. A., & Jardim, W. F. (2012). Ecotoxicity of TiO2 to Daphnia similis under irradiation. *Journal of hazardous materials, 211*, 436-442.

Maroga Mboula, V. (2012). *Devenir de polluants émergents lors d'un traitement photochimique ou photocatylitique sous irradiation solaire.* Nantes, Ecole des Mines.

Martín-de-Lucía, I., Gonçalves, S. F., Leganés, F., Fernández-Piñas, F., Rosal, R., & Loureiro, S. (2019). Combined toxicity of graphite-diamond nanoparticles and thiabendazole to *Daphnia magna*. *Science of The Total Environment, 688*, 1145-1154. doi: https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.06.316

Mendoza-Villa, F., Checca-Huaman, N.-R., & Ramos-Guivar, J. A. (2023). Ecotoxicological properties of titanium dioxide nanomorphologies in *daphnia magna*. *Nanomaterials, 13*(5), 927. doi: https://doi.org/10.3390/nano13050927

Mishra, S., & Sundaram, B. (2023). Fate, transport, and toxicity of nanoparticles: An emerging pollutant on biotic factors. *Process Safety and Environmental Protection, 174*, 595-607. doi: https://doi.org/10.1016/j.psep.2023.04.037

Moher, D., Shamseer, L., Clarke, M., Ghersi, D., Liberati, A., Petticrew, M., . . . Group, P.-P. (2015). Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015 statement. *Systematic reviews, 4*, 1-9.

Mounier, L. (2023). *Evaluation du potentiel phytoremédiateur et stimulateur sur les plantes, et du devenir environnemental des oxydes de fer nanoparticulaires.* Université de Rennes.

Navarro, E., Piccapietra, F., Wagner, B., Marconi, F., Kaegi, R., Odzak, N., . . . Behra, R. (2008). Toxicity of silver nanoparticles to Chlamydomonas reinhardtii. *Environmental science & technology, 42*(23), 8959-8964.

Nederstigt, T. A., Peijnenburg, W. J., Blom, R., & Vijver, M. G. (2022). Correlation analysis of single-and multigenerational endpoints in *Daphnia magna* toxicity tests: A case-study using TiO_2 nanoparticles. *Ecotoxicology and Environmental Safety, 241*, 113792.

Novak, S., Kokalj, A. J., Hočevar, M., Godec, M., & Drobne, D. (2018). The significance of nanomaterial post-exposure responses in Daphnia magna standard acute immobilisation assay: Example with testing TiO_2 nanoparticles. *Ecotoxicology and environmental safety, 152*, 61-66.

Nzengue, Y. (2008). *Comparaison des mécanismes de toxicité redox du cadmium, du cuivre et du zinc: place des métallothionéines et de p53.* Université Joseph-Fourier-Grenoble I.

OECD. (1998). OECD 211 Guideline for Testing of Chemicals. '*Daphnia magna*

Reproduction Test

Oecd, O. (2004). The OECD principles of corporate governance. *Contaduría y Administración*(216).

Ozmen, N., Ozhan Turhan, D., Güngördü, A., Caglar Yilmaz, H., & Ozmen, M. (2023). Investigation of the effects of metal oxide nanoparticle mixtures on Danio rerio and Xenopus laevis embryos. *Chemistry and Ecology, 39*(3), 215-234. doi: https://doi.org/10.1080/02757540.2022.2162893

Painter, M. M., Buerkley, M. A., Julius, M. L., Vajda, A. M., Norris, D. O., Barber, L. B., . . . Schoenfuss, H. L. (2009). Antidepressants at environmentally relevant concentrations affect predator avoidance behavior of larval fathead minnows (Pimephales promelas). *Environmental Toxicology and Chemistry, 28*(12), 2677-2684.

Pantidos, N., & Horsfall, L. E. (2014). Biological synthesis of metallic nanoparticles by bacteria, fungi and plants. *Journal of Nanomedicine & Nanotechnology, 5*(5), 1.

Parisot, F. (2015). *Étude mécaniste des effets transgénérationnels des radiations ionisantes alpha et gamma chez Daphnia magna.* Aix-Marseille.

Park, C. B., Jung, J. W., Baek, M., Sung, B., Park, J. W., Seol, Y., . . . Kim, Y. J. (2019). Mixture toxicity of metal oxide nanoparticles and silver ions on Daphnia magna. *Journal of Nanoparticle Research, 21*(8), 166. doi: https://doi.org/10.1007/s11051-019-4606-2

Park, J., Park, C., Lee, Y., Ryu, C., Park, J., & Kim, Y. (2022). Acute Adverse Effects of Metallic Nanomaterials on Cardiac and Behavioral Changes in *Daphnia magna*. *Environments, 9*(2), 26. doi: https://doi.org/10.3390/environments9020026

Pennak, R. (1989). Freshwater Invertebrates of the United States. A Wiley Inter science publication: John Wiley and Sons Inc.

Perreault, F. (2012). Toxicité des nanoparticules métalliques chez différents modèles biologiques.

Pourmadadi, M., Rahmani, E., Shamsabadipour, A., Mahtabian, S., Ahmadi, M., Rahdar, A., & Díez-Pascual, A. M. (2022). Role of iron oxide (Fe_2O_3) nanocomposites in

advanced biomedical applications: a state-of-the-art review. *Nanomaterials, 12*(21), 3873.

R Core Team. (2021). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. https://www.R-project.org/.

Raza, M. A., Kanwal, Z., Shahid, A., Fatima, S., Sajjad, A., Riaz, S., & Naseem, S. (2021). Toxicity evaluation of arsenic nanoparticles on growth, biochemical, hematological, and physiological parameters of Labeo rohita juveniles. *Advances in Materials Science and Engineering, 2021*(1), 5185425.

Renzi, M., & Blašković, A. (2019). Ecotoxicity of nano-metal oxides: A case study on daphnia magna. *Ecotoxicology, 28*(8), 878-889. doi: https://doi.org/10.1007/s10646-019-02085-3

Reynaldi, S., Meiser, M., & Liess, M. (2011). Effects of the pyrethroid fenvalerate on the alarm response and on the vulnerability of the mosquito larva Culex pipiens molestus to the predator Notonecta glauca. *Aquatic Toxicology, 104*(1-2), 56-60.

Rodgher, S., Espíndola, E. L. G., & Lombardi, A. T. (2010). Suitability of *Daphnia similis* as an alternative organism in ecotoxicological tests: implications for metal toxicity. *Ecotoxicology, 19*, 1027-1033.

Rossano, M. (2014). *Utilisation des nanoparticules de dioxyde de titane dans les émulsions cosmétiques: impact sur la santé humaine et l'environnement.* Le Havre.

Sahoo, M., Vishwakarma, S., Panigrahi, C., & Kumar, J. (2021). Nanotechnology: Current applications and future scope in food. *Food Frontiers, 2*(1), 3-22.

Sana, B. (2016). Evaluation de la toxicité des nanoparticules d'oxyde de fer « Fe_2O_3 » sur un bioindicateur de pollution terrestre : Helix aspersa.

Santamaria, A. (2012). Historical overview of nanotechnology and nanotoxicology. *Nanotoxicity: methods and protocols*, 1-12.

Schäfer, J., Mikolaczyk, M., & Blanc, G. (2014). Etude bibliographique sur les nanoparticules métalliques (NPMe) dans les systèmes aquatiques.

Scherer, E., & McNicol, R. (1998). Preference-avoidance responses of lake whitefish (Coregonus clupeaformis) to competing gradients of light and copper, lead, and zinc. *Water Research, 32*(3), 924-929.

Schindler, D. W. (1987). Detecting ecosystem responses to anthropogenic stress. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 44*(S1), s6-s25.

Seitz, F., Bundschuh, M., Rosenfeldt, R. R., & Schulz, R. (2013). Nanoparticle toxicity in Daphnia magna reproduction studies: The importance of test design. *Aquatic Toxicology, 126*, 163-168.

Semsari, S., & Haït-Amar, A. (2001). *Effets de la salinité et de la dureté de l'eau sur la toxicité des métaux vis-à-vis de Daphnia magna Strauss.* Paper presented at the Annales de Limnologie-International Journal of Limnology.

Shahzad, K., Khan, M. N., Jabeen, F., Chaudhry, A. S., Khan, M. K. A., Ara, C., & Khan, M. S. (2022). Study of some toxicological aspects of titanium dioxide nanoparticles through oxidative stress, genotoxicity, and histopathology in tilapia, Oreochromis mossambicus. *BioNanoScience, 12*(4), 1116-1124.

Shanmugam, K., Sakthivel, E., Rajendran, J., & Jeyaraman, P. (2024). Nanoparticles in Aquatic Ecosystems: Origins, Destiny, and Ecological Consequences. *Environ Sci Arch, 3*(1), 111-124.

Shuba, T., & Costa, R. R. (1972). Development and growth of Ceriodaphnia reticulata embryos. *Transactions of the American Microscopical Society*, 429-435.

Singh, M., Singh, S., Prasad, S., & Gambhir, I. (2008). Nanotechnology in medicine and antibacterial effect of silver nanoparticles. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures, 3*(3), 115-122.

Smith, F. E. (1963). Population dynamics in *Daphnia magna* and a new model for population growth. *Ecology, 44*(4), 651-663.

Sun, Y., Liu, Q., Huang, J., Li, D., Huang, Y., Lyu, K., & Yang, Z. (2022). Food abundance mediates the harmful effects of ZnO nanoparticles on development and early reproductive performance of *Daphnia magna*. *Ecotoxicology and Environmental Safety, 236*, 113475. doi: https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2022.113475

Sun, Y., Yu, B., Lei, Y., Qin, S., Lyu, K., & Yang, Z. (2022). Differential Comprehensive Effects of Food Quality and ZnO Nanoparticles on the Key Traits of Early Life History of *Daphnia magna*. *Frontiers in Environmental Science, 10*, 918570. doi: 10.3389/fenvs.2022.918570

TALEB Amira, N. I. (2020). *Etude de la toxicité potentielle de l'Oxyde de Fer nanométrique (*Fe_2O_3) *sur un modèle cellulaire d'eau douce: Paramecium tetraurelia.*

Tan, C., & Wang, W.-X. (2014). Modification of metal bioaccumulation and toxicity in *Daphnia magna* by titanium dioxide nanoparticles. *Environmental Pollution, 186*, 36-42.

Tan, C., & Wang, W.-X. (2017). Influences of TiO_2 nanoparticles on dietary metal uptake in Daphnia magna. *Environmental Pollution, 231*, 311-318.

Tan, L.-Y., Huang, B., Xu, S., Wei, Z.-B., Yang, L.-Y., & Miao, A.-J. (2016). TiO_2 nanoparticle uptake by the water flea *Daphnia magna* via different routes is calcium-dependent. *Environmental Science & Technology, 50*(14), 7799-7807.

Temiz, Ö., & Kargın, F. (2022). Toxicological impacts on antioxidant responses, stress protein, and genotoxicity parameters of aluminum oxide nanoparticles in the liver of Oreochromis niloticus. *Biological Trace Element Research, 200*(3), 1339-1346. doi: https://doi.org/10.1007/s12011-021-02723-0

Testoni, F. E., García Carrillo, M., Gagnon, M.-A., Rikap, C., & Blaustein, M. (2021). Whose shoulders is health research standing on? Determining the key actors and contents of the prevailing biomedical research agenda. *PloS one, 16*(4), e0249661.

Tkaczyk, A., Bownik, A., Dudka, J., Kowal, K., & Ślaska, B. (2021). *Daphnia magna* model in the toxicity assessment of pharmaceuticals: A review. *Science of the Total Environment, 763*, 143038.

Toumi, H. (2013). *Écotoxicité de la deltaméthrine et du malathion sur différentes souches de" Daphnia magna"(Crustacea, Cladocera): apport de la protéomique dans la recherche de nouvelles cibles cellulaires.* Université de Lorraine.

Verma, V., Al-Dossari, M., Singh, J., Rawat, M., Kordy, M. G. M., & Shaban, M. (2022). A Review on Green Synthesis of TiO_2 NPs: Photocatalysis and Antimicrobial Applications. *Polymers, 14*(7), 1444.

Verry, C., Porcel, E., Chargari, C., Rodriguez-Lafrasse, C., & Balosso, J. (2019). Utilisation de nanoparticules comme agent radiosensibilisant en radiothérapie : où en est-on ? *Cancer/Radiothérapie, 23*(8), 917-921. doi: https://doi.org/10.1016/j.canrad.2019.07.134

Villa, S., Maggioni, D., Hamza, H., Di Nica, V., Magni, S., Morosetti, B., . . . Della Torre, C. (2020). Natural molecule coatings modify the fate of cerium dioxide nanoparticles in water and their ecotoxicity to *Daphnia magna*. *Environmental Pollution, 257*, 113597. doi: https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113597

Walter, P., Welcomme, E., Hallégot, P., Zaluzec, N. J., Deeb, C., Castaing, J., . . . Tsoucaris, G. (2006). Early use of PbS nanotechnology for an ancient hair dyeing formula. *Nano letters, 6*(10), 2215-2219.

Wang, Y., Qin, S., Li, Y., Wu, G., Sun, Y., Zhang, L., . . . Yang, Z. (2019). Combined effects of ZnO nanoparticles and toxic Microcystis on life-history traits of *Daphnia magna*. *Chemosphere, 233*, 482-492. doi: https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.05.269

Wang, Y., Zhu, X., Lao, Y., Lv, X., Tao, Y., Huang, B., . . . Cai, Z. (2016). TiO_2 nanoparticles in the marine environment: Physical effects responsible for the toxicity on algae Phaeodactylum tricornutum. *Science of The Total Environment, 565*, 818-826. doi: https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.03.164

Wyrwoll, A. J., Lautenschläger, P., Bach, A., Hellack, B., Dybowska, A., Kuhlbusch, T. A., . . . Maes, H. M. (2016). Size matters–The phototoxicity of TiO_2 nanomaterials. *Environmental Pollution, 208*, 859-867.

Yang, D., Jeong, S., Kim, J., & Park, S. (2022). Comparisons of fatty acid accumulation patterns of two filter feeders, Branchinella kugenumaensis and *Daphnia magna* in a controlled environment. *Journal of Ecology and Environment, 46*. doi: https://doi.org/10.5141/jee.22.065

Yassa, K., & Tarzout, D. (2021). Nanomédicaments à base de minéraux, bienfaits et risques. Quel avenir pour les produits commercialisés en Algérie.

Yuan, R., Parmelee, T., Balian, J. D., Uppoor, R. S., Ajayi, F., Burnett, A., . . . Marroum, P. (1999). In vitro metabolic interaction studies: experience of the Food and Drug Administration. *Clinical Pharmacology & Therapeutics, 66*(1), 9-15.

Zhu, X., Chang, Y., & Chen, Y. (2010). Toxicity and bioaccumulation of TiO_2 nanoparticle aggregates in *Daphnia magna*. *Chemosphere, 78*(3), 209-215.

Zuur, A. F., Ieno, E. N., & Smith, G. M. (2007). *Analysing ecological data* (Vol. 680): Springer New York, NY.

Webographie

[1] :www.asef-asso.fr,2017 .

[2]:https://www.google.com/search?client=firefox-b
d&q=%28Aquaportail%2C+2007%29.+&sei=a6eFZ8aaBeKLkdUPpeXMyAg.

ENVIRONMENTAL RESEARCH
COMMUNICATIONS

INCLUSIVE PUBLISHING TRUSTED SCIENCE PURPOSE-LED PUBLISHING™

PAPER • OPEN ACCESS

Developmental effects on Daphnia magna induced by titanium dioxide and iron oxide mixtures

To cite this article: Amira Chorfi *et al* 2024 *Environ. Res. Commun.* **6** 015002

View the article online for updates and enhancements.

You may also like

- The long-term effects of combined chronic exposure to low-intensity radiofrequency electromagnetic fields and different food quantity on crustaceans *Daphnia magna*
A A Zhalnina, D V Uskalova, K V Ustenko et al.
- The Effect of Difference Dose Quail Manure Fertilizer on The Population Growth of *Daphnia* sp. that Cultured in Soy Stew Water
Diastuti Nur Alfiyanti, Diana Chilmawati and Dicky Harwanto
- Nutritional value content, biomass production and growth performance of *Daphnia magna* cultured with different animal wastes resulted from probiotic bacteria fermentation
Vivi Endar Herawati, R A Nugroho, Pinandoyo et al.

This content was downloaded from IP address 154.247.68.122 on 27/12/2024 at 23:28

IOP Publishing Environ. Res. Commun. 6 (2024) 015002 https://doi.org/10.1088/2515-7620/ad19f2

Environmental Research Communications

PAPER

OPEN ACCESS

RECEIVED
11 August 2023

REVISED
28 November 2023

ACCEPTED FOR PUBLICATION
2 January 2024

PUBLISHED
10 January 2024

Original content from this work may be used under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 licence.

Any further distribution of this work must maintain attribution to the author(s) and the title of the work, journal citation and DOI.

Developmental effects on Daphnia magna induced by titanium dioxide and iron oxide mixtures

Amira Chorfi[1,2], Rabah Zebsa[1,2,*], Sofiane Boudalia[1,2], Hichem Amari[3], Soufyane Bensouilah[4], Zinette Bensakhri[2], Mohamed Djekoun[2,7] and Samira Bensoltane[5,6]

[1] Département d'Écologie et Génie de l'Environnement, Université 8 Mai 1945 Guelma BP 4010 Guelma 24000, Algérie
[2] Laboratoire de Biologie, Eau et Environnement, Université 8 Mai 1945 Guelma BP 4010 Guelma 24000, Algérie
[3] Department of Natural Sciences, Ouargla Higher Normal School, Algeria
[4] Department of Biology, Faculty of Sciences, Amar Telidji Laghouat University, Algeria
[5] University Badji Mokhtar, Faculty of Sciences, Department of Biology, B.P. 12, Sidi-Ammar 23000, Annaba, Algeria
[6] University Badji Mokhtar, Faculty of Medicine, Department of Dental Medicine, 23000, Annaba, Algeria
[7] The author died prior to the submission of this paper. This is one of the last works of him.
[*] Author to whom any correspondence should be addressed.

E-mail: zebsa.rabah@univ-guelma.dz **and** zebsarabah@gmail.com

Keywords: behavior, chronic toxicity, Daphnia magna, iron oxide, titanium dioxide, mixtures

Supplementary material for this article is available online

Abstract

Developmental effects of a binary mixture of nanoparticles (NPs) composed of Titanium dioxide (TiO_2) and iron oxide (Fe_2O_3) were identified in *Daphnia magna* using a chronic toxicity test. Survival, growth, reproduction, and age at first brood were measured throughout 21 days of exposure. Results from this study demonstrated that mixture exposure to NPs (TiO_2 and Fe_2O3) significantly affects the development of *D. magna* to maturation and disturbs the reproductive performance in a dose-dependent manner and beginning from the lower dose. Mortality recorded in control group (1 ± 0.365) was significantly lower than in experimental groups ($6.94 \pm 0.193, 7.19 \pm 0.188, 7.62 \pm 0.125, 7.62 \pm 0.155$ individual, in C1, C2, C3, and C4, respectively). Moreover, swimming performances ($F_{4, 35} = 112.9$, df = 4, $p < 0.0001$) and heart rate ($F_{4, 25} = 19.37$, df = 4, $p < 0.0001$) were also affected. In conclusion, the interaction of binary mixtures can exacerbate toxicological effects that have significant implications for appropriately assessing the ecotoxicological effects of emerging pollutants. Further investigation and the results reported in the present study will be useful in environmental policies.

1. Introduction

In the last decade, the use of nanomaterials has continued to progress in different fields of emerging technologies such as electrical engineering, chemistry, materials science, and medicine (Nations *et al* 2011). Consequently, new research concentrating on improving their performance and suitability was developed. However, because of their extensive usage and inevitable leakage into the environment, there is a lot of concern about their adverse impacts (Liu *et al* 2022, Zergui 2023).

Titanium dioxide (TiO_2) and iron oxide (Fe_2O_3) are two nanoparticles (NPs) widely spread and produced at 5000 and 55 tons per year in industrial processes, cosmetics, and the pharmaceutical industry (Piccinno *et al* 2012). They will reach a production rate of 2.5 million tons by the year 2025 (Wang *et al* 2019). In the aquatic environment, the accumulation of NPs of TiO_2 from discharges (e.g., nano paint, cosmetics and sunscreens, food additives) can disturb the environment and affect aquatic organisms (e.g., phytoplankton, *Daphnia magna*, fish, and bacteria) (Zhu *et al* 2010b, Fan *et al* 2016, Novak *et al* 2018, Fan *et al* 2019, Liu *et al* 2019). Moreover, iron oxide NPs (Fe_2O_3) are also frequently used in several sectors, such as water treatment, magnetic storage, cosmetics, and the chemical industry) (Ates *et al* 2020). However, occupational exposure to iron oxide nanoparticles leads to health and environmental risks (Farsi *et al* 2021). The toxicity of TiO_2 and Fe_2O_3 was

© 2024 The Author(s). Published by IOP Publishing Ltd

established using animal experimentation according to OECD (Organization for Economic Cooperation and Development) guidelines (Buschmann 2013).

Literature shows that, *D. magna* is one of the most commonly used bio-models for aquatic toxicology tests due to its high sensitivity to environmental changes and chemicals, its large size compared to other species, and its ease of use *in vivo* (Gaiser *et al* 2009). Several previous studies reported the use of different nanoparticles types (ZnO, CuO, CeO_2 and AgNPs) to assess their toxic effects on *D. magna* physiology and behaviour (Fan *et al* 2017, Dai *et al* 2020, Milenković *et al* 2021, Galhano *et al* 2022, Ribeiro Santos-Rasera *et al* 2022).

Prior research also indicates that the toxic effect of individual exposure to nanoparticles is widely known; however, the combined effects are unknown or poorly studied (Deng *et al* 2018, Forest 2021). Because it is important to consider that in real life, we are exposed simultaneously to mixtures of (NPs), generally in a continuous manner and at low levels, with possible additive, antagonistic, potentiation or synergistic activities of the resulting mixture. In this study, we hypothesize that the coexistence of the two NPs (TiO_2 and Fe_2O_3) in different concentrations in the environment may affect the life history and behaviour of *D. magna*. After that, we evaluate the combined effects of TiO_2 and Fe_2O_3 NPs on the physiological (mortality, life span, growth rate, and reproduction such as age of maturation, number of eggs, and heart rate) and behavioural (swimming speed) endpoints of *D. magna*.

2. Material and methods

2.1. Nanomaterials

All Nanomaterials (TiO_2 and Fe_2O_3) were supplied as powders from the laboratory of chemistry (Guelma University Algeria) free of metals and organic impurities. The TiO_2 NPs (product number: 637254, particle size: 25 nm, 99.7% trace metals basis). The Fe_2O_3 were elaborated at the laboratory of chemistry; it was 26 nm in size. The elaboration of α-Fe_2O_3 nanoparticles was carried out using mechanical grinding at from the elemental powder of hematite. The milling was performed in a Pulverizing 7 planetary mill (Fritsch, Idar-Oberstein, Germany) using two steel jars (stainless steel with a volume of 45 ml). The preparation of the charge (beads and powders) was carried out in a glove box under argon atmosphere. The mass ratio beads to powders were approximately 1/20 and the grinding speed was at 500 rpm. To minimize the effects related to the temperature increase inside the jars, the grinding was done with sequences of half an hour followed by 15 min of pause and this for 3 h. Before the exposure experiments, stock solutions were sonicated for 30 min (50 W L^{-1} at 40 kHz) and diluted with ultrapure water.

2.2. Culturing experiment

The freshwater crustacean *D. magna* used in this study were collected from a water pond in the Algerian park (*Jardin d'essai du Hamma*, Algiers; 36° 44′ 53″ North, 3° 04′ 34″ East). *D. magna* were maintained in unpolluted natural water at a constant temperature of 23.5 °C with a 16:8 h (light–dark) photoperiod at the University of Guelma, Algeria. *D. magna* cultures were maintained in 1 l glass beakers (20 individuals/beaker). The culture medium was renewed every 48 h, and daphnids were fed daily with *Raphidocelis subcapitata* at a concentration of (3×10^5 cell/mL). Third or fourth generation neonates (<24 h) from the same female were collected to eliminate variation between clones. Individual neonates of similar size were exposed to different concentrations of NPs: In the immobilization test, various concentrations of ($TiO_2 + Fe_2O_3$) in a 1:1 fixed ratio (v/v), namely 0, 2.55, 7.75, 13, and 27.5 mg l^{-1}, were used. These concentrations were represented as control, C1, C2, C3, and C4, respectively. For the chronic test, concentrations of 50% ($TiO_2 + Fe_2O_3$) were employed in a 1/2:1/2 fixed ratio (v/v), specifically 0, 1.27, 3.87, 6.5, and 13.75 mg l^{-1}, which corresponded to control, C1, C2, C3, and C4, respectively.

2.3. Immobilization tests

Immobilization tests were performed based on the OECD guideline 202 (OECD 2004).Tests were carried out using sixteen replicates randomly per concentration and negative control, with eight neonates with $\leqslant$ 24 h per replicate exposed in 50 ml glass beakers. Tests were maintained at room temperature of 20 ± 1 °C and 16:8 h light: dark photoperiod and daphnids were not fed during the entire experiment. After 12, 24, and 48 h, immobilization (i.e., inability to swim within 15 s after gentle agitation of the beaker) and mortality were assessed using a Leica microscope equipped with a digital camera (Leica, Wetzlar, Germany) and then recorded (Ozmen *et al* 2023). The concentration that caused the immobilization of 50% of the neonates (LC50) was calculated. Nominal concentrations of single exposures of TiO_2 and Fe_2O_3 were (0.1 ; 0.5 ; 1 and 5 mg l^{-1}) and (5 ; 15 ; 25 and 50 mg ml^{-1}), respectively, were chosen according to their EC50 values and from previous modified published studies. Mixture concentrations of 100% ($TiO_2 + Fe_2O_3$) used were (0; 2.55 ; 7.75 ; 13 and

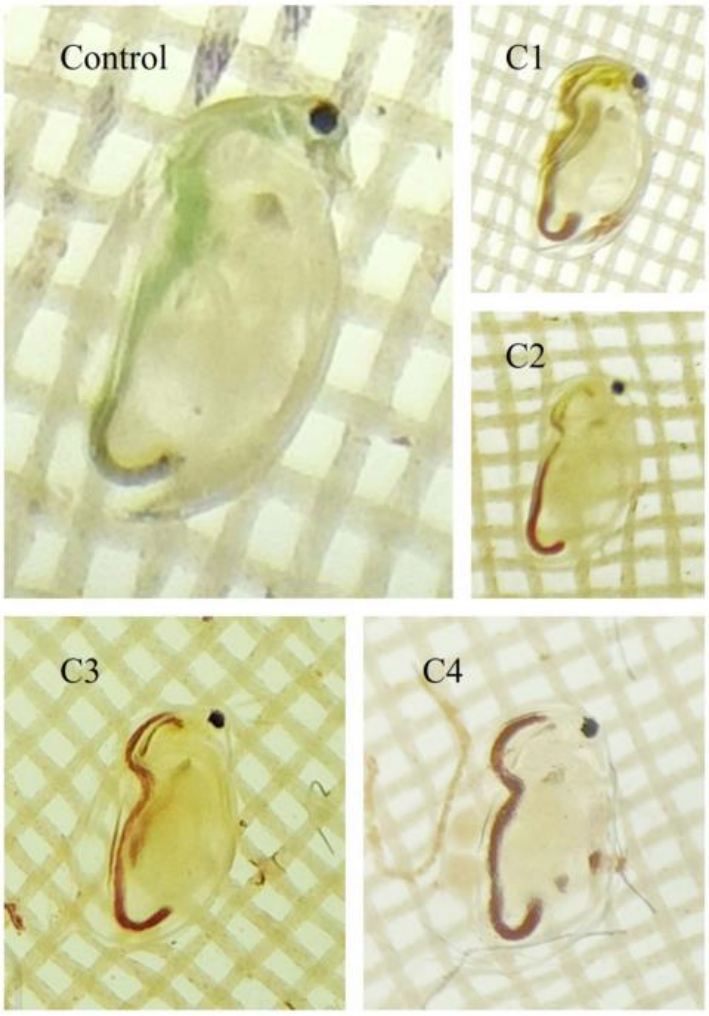


Figure 1. Coloration changes in *D. magna* exposed to (TiO_2 and Fe_2O_3) at four concentrations (C1, C2, C3, C4) and with Control treatment.

27.5 mg L^{-1}) of (control; C1; C2; C3; C4), respectively. Theses concentrations were chosen according to their EC50 values from the single exposures for each experimental setup.

2.4. Chronic toxicity test

The chronic toxicity of the mix of NPs $TiO_2 + Fe_2O_3$ was assessed according to an OECD standard protocol (OECD 211 1998) with modification. Based on the acute toxicity results, neonates (6–24 h old) where exposed for 21 days under the following concentrations that were chosen according to the acute test: 50% (TiO_2+ Fe_2O_3) (control); 1.27 ; 3.87 ; 6.5 and 13.75 mg l^{-1} (figure 1).

In this experiment, eight neonate (aged 6–24 h) were placed in each glass beakers containing 50 ml of test solution. A total of 16 randomly placed replicates of each concentration. Test containers were monitored every 24 h to record deaths or any anomaly. Daphnids were fed daily using *Raphidocelis subcapitata* at a concentration

of (3×10^5 cell mL). Each adult (and offspring if present) was carefully separated from beaker and test solutions were replaced each three days. The incubation was carried out at a temperature of 23 °C, under the same photoperiod conditions as those used in the culture experiment. The chronic effect endpoints recorded were used to evaluate the reproduction of *D. magna* including the age of maturation, and the number of eggs per female. The number of mortality of adults in each treatment was recorded during the exposure period and life span.

2.5. Effects of chronic exposure on *D. magna* growth

Growth rate was defined by the average increase in body length of individuals (8 ind of *D. magna*) in each measurement for each cup from the beginning of the experiment to the 21 days. The body length was measured from the anterior part of the head to the end of the body, excluding the caudal spine. It was calculated from photos taken every five days using a photo processing software image J.

2.6. Effects of chronic exposure on *D. magna* life span and mortality

The mortality rate (i.e., number of individuals dying at a specific time) was determined as the slope of the number of individuals dying versus time over the 21-day duration of the study. However, the life span was defined by the number of days of life of each individual in each cup throughout the period of the experiment.

2.7. Effects of chronic exposure on *D. magna* maturation and reproduction

Throughout the experiments, mature females were individually placed in separate cups, with one female per cup. These cups maintained the same conditions as the solution concentration, temperature, and daily feeding with *Raphidocelis subcapitata*. When the eggs hatched, we recorded the first brood's date and the number of eggs.

2.8. Effect of mix on behaviour (swimming performance and heart beat rate)

2.8.1. Swimming performance

After 48 h of exposure, we randomly selected eight individuals from each concentration group, including the control, within the NP mixtures containing various concentrations of ($TiO_2 + Fe_2O_3$). This selection was made to assess their swimming speed. The individuals were transferred separately to transparent graduated cups of 100 ml of similar environmental conditions to that of the experiment. After stabilisation, the swimming distance was monitored every minute for 10 min, using a millimeter paper. The latter method was modified from the protocol used by Kim *et al* (2021).

2.8.2. Heart beat rate

After the immobilization test five neonates were randomly selected from each concentration groups and the control group to examine the heartbeat count in each exposure condition. The heart rate was recorded as a video file for one min using an integrated PC light microscope at 4× grossing (Optika microscopes, Italy). The heart rate was manually counted using a low-speed reading (×0.3) and repeated three times, with the mean values of each sample used for comparison (Kim *et al* 2021).

2.9. Statistical analysis

Statistical analyses were carried out with R 4.0.2 (R Core Team 2021). The normality, homogeneity assumptions, and residual patterns in the data were checked (Zuur *et al* 2007). A linear mixed-effects models was used to compare the growth rate of the species between concentration treatments including concentration treatments as fixed effect and cups as random intercept, Tukey's post hoc test with *glht* function was applied using multcomp package (Hothorn *et al* 2008) to reveal potential differences in the growth rate between the different treatments. A separate generalised linear mixed effect model with Poisson error distribution with Log link function was applied to assess the difference of all traits: life span (the number of days of life of each individual in each cup), age at maturation (time in days until first brood of each individual), eggs number at the first brood, and mortality of the species between the treatments concentrations. This was followed by Tukey post hoc analyses for pairwise comparison of the different nanoparticle concentration exposures. The models included trait as a response variable, treatments concentrations as fixed effect and females ID or cups (to account for over-dispersion) as random effect. All models were fitted using the R package lme4 (Bates *et al* 2015). ANOVA analyses were conducted to determine the effects of the nanoparticle concentrations treatments on the swimming performance and heart beats count. To evaluate which levels of the nanoparticle treatment differed we additionally carried out Tukey pair-wise tests. The data was presented as mean ± standard error (SE). The minimum threshold of significance retained is $p < 0.05$.

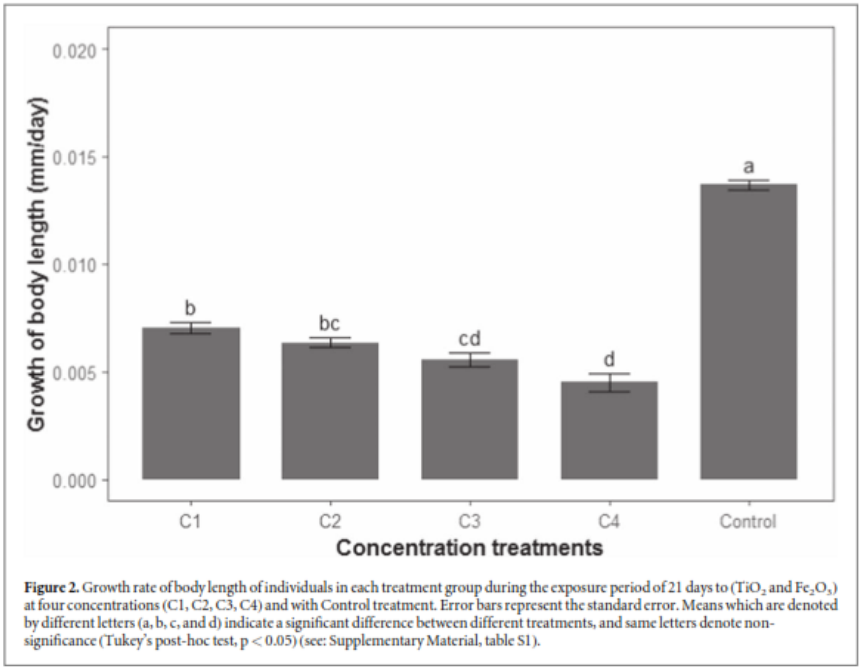


Figure 2. Growth rate of body length of individuals in each treatment group during the exposure period of 21 days to (TiO_2 and Fe_2O_3) at four concentrations (C1, C2, C3, C4) and with Control treatment. Error bars represent the standard error. Means which are denoted by different letters (a, b, c, and d) indicate a significant difference between different treatments, and same letters denote non-significance (Tukey's post-hoc test, $p < 0.05$) (see: Supplementary Material, table S1).

Table 1. Summary results of the general linear mixed effects model assessing the effect of (mixed nanoparticles) concentrations on the growth rate of length of *D. magna*.

	Estimate	SE	Df	t value	p value
(Intercept)	0.0070476	0.0003229	40.2427914	21.829	<2e-16 ***
Concentration C2	−0.0006903	0.0004072	68.0000000	−1.695	0.094623
Concentration C3	−0.0015111	0.0004072	68.0000000	−3.711	0.000418 ***
Concentration C4	−0.0025128	0.0004072	68.0000000	−6.171	4.26e-08 ***
Control	0.0066764	0.0004072	68.0000000	16.395	<2e-16 ***

The concentration C1 (1.27 $mg\,l^{-1}$) is used as the baseline level for contrast calculation. C2 (3.87 $mg\,l^{-1}$), C3 (6.5 $mg\,l^{-1}$), C4 (13.75 $mg\,l^{-1}$). *** indicates a probability significance: ***—$p < 0.001$; **—$p < 0.01$; *—$p \leqslant 0.05$.

3. Results

3.1. Effects of chronic exposure on *D. magna* growth

Growth rate was defined by the average growth rate of body length of individuals in each measurement for each cup from the beginning of the experiment (21 days). ANOVA analysis of a general linear mixed effects model (LMER) showed a highly significant effect of treatment on growth rate of the species compared to the null model ($\chi 2 = 637.78$, $Df = 4$, $p < 0.0001$) (table 1 and figure 2). However, growth rate between the control group and the different nanoparticle concentration exposed groups showed statistically significant differences (table S1). Subsequent Tukey tests for pairwise comparisons of growth rate of length showed that the four concentrations of mixed nanoparticles exposures (C1, C2, C3, and C4) significantly affected the growth of length of *D. magna* compared to the control treatment, and the growth rate was higher at the control treatment. Individuals from the control group had an average growth rate of 0.0137 ± 0.0002 mm, as compared with the experimental group growth rates of 0.007 ± 0.0002 mm, 0.006 ± 0.0002 mm, 0.005 ± 0.0003 mm, 0.00453 ± 0.0004 mm, for C1, C2, C3, C4, respectively.

Table 2. Summary results of the generalised linear mixed effects model assessing the effect of (mixed nanoparticles) concentrations on the life span, mortality, age of maturation, and reproduction of *D. magna*.

Response variables	Estimate	SE	z value	p value
Life span				
(Intercept)	2.31783	0.03997	57.987	<2e-16 ***
C2	−0.11324	0.03917	−2.891	0.00384 **
C3	−0.36514	0.04202	−8.689	<2e-16 ***
C4	−0.40038	0.04247	−9.428	<2e-16 ***
Control	0.62769	0.03331	18.841	<2e-16 ***
Age at maturation				
(Intercept)	2.64415	0.07125	37.112	<2e-16 ***
C2	0.11446	0.11008	1.040	0.29847
C3	0.24623	0.12723	1.935	0.05295.
C4	0.36401	0.13199	2.758	0.00582 **
Control	−0.74997	0.11801	−6.355	2.08e-10 ***
Eggs number of _ first brood				
(Intercept)	1.0245	0.1601	6.398	1.57e-10 ***
C2	−0.3314	0.2850	−1.163	0.245
C3	−0.4367	0.3698	−1.181	0.238
C4	−0.6190	0.4385	−1.412	0.158
Control	1.4305	0.1752	8.166	3.20e-16 ***
Mortality				
(Intercept)	1.93694	0.09492	20.407	<2e-16 ***
C2	0.03540	0.13306	0.266	0.790
C3	0.09449	0.13117	0.720	0.471
C4	0.09449	0.13117	0.720	0.471
Control	−1.93694	0.26741	−7.243	4.38e-13 ***

The concentration C1 (1.27 mg l^{-1}) is used as the baseline level for contrast calculation. C2 (3.87 mg l^{-1}), C3 (6.5 mg l^{-1}), C4 (13.75 mg l^{-1}). *** indicates a probability significance: ***—$p < 0.001$; **—$p < 0.01$; *—$p \leqslant 0.05$.

3.2. Effects of chronic on *D. magna* life span and mortality

Life span was defined by the number of days of life of each individual in each cup throughout the period of experiment. ANOVA analysis of a general linear mixed effects model (GLMER) showed a highly significant effect of treatment on life span of the species compared to the null model ($\chi 2 = 1229.8$, Df = 4, $p < 0.0001$) (table 2 and figure 3(a)). The Tukey post-hoc analysis (table S2) indicated that the number of days in which the organism was in life decreased significantly from an average of 20.1 ± 0.188 days in the control treatment to 10.7 ± 0.503, 9.58 ± 0.514, 7.45 ± 0.418, 7.19 ± 0.440 days in C1, C2, C3, and C4, respectively.

Mortality rate (number of individual deaths in specific time) was obtained as the slope of number of died individuals versus time over the 21-day experimental period. Mortality of *D. magna* occurred in all exposure treatments including the control treatment with (20.48%). The mortality rate of *D. magna* increased significantly with the increase of mixed nonoparticles concentrations ($\chi 2 = 62.32$, Df = 4, $p < 0.0001$) (table 2 and figure 3(b)). The assessment of all pairwise combinations using the Tukey contrast test (table S3) revealed that the control group was the only group with a statistically significant difference in mortality rate compared to the four concentrations groups. Individuals from the control group had an average mortality of 1 ± 0.365 individual, as compared with the experimental group mortality of 6.94 ± 0.193, 7.19 ± 0.188, 7.62 ± 0.125, 7.62 ± 0.155 individual, in C1, C2, C3, and C4, respectively.

3.3. Effects of chronic exposure on *D. magna* maturation and reproduction

The concentration of nanoparticle affected the age at which the species became mature ($\chi 2 = 81.15$, Df = 4, $p < 0.0001$). The age of maturation differed between treatments (table 2 and figure 3(c)). Subsequent Tukey tests for pairwise comparisons (table S4) of age at maturation showed that the four concentration of mixed nanoparticles exposures (C1, C2, C3, C4) significantly impacted the date of the first brood compared to the control, increasing it to (14.1 ± 0.438, 15.8 ± 0.521, 18 ± 1.05, and 20.2 ± 0.479 days), respectively. The Tukey

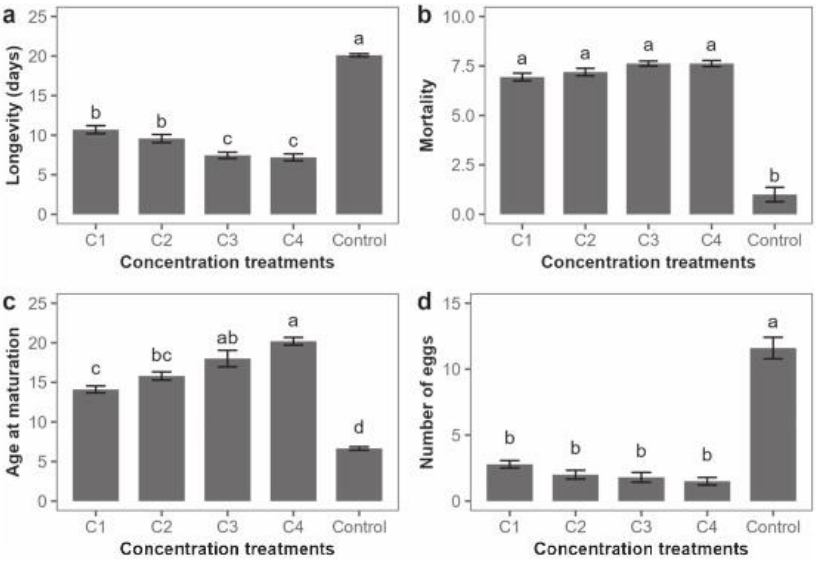


Figure 3. *Daphnia magna* individual responses traits in each treatment group during the exposure period of 21 days to (TiO_2 and Fe_2O_3) according to the four concentrations (C1, C2, C3, and C4) and with Control treatment. (a) Longevity (days), (b) Mortality, (c) Age at maturation, (d) Number of eggs at the first brood. Error bars represent the standard error. Means which are denoted by different letters (a, b, c, and d) indicate a significant difference between different treatments, and same letters denote non-significance (Tukey's post-hoc test, $p < 0.05$) (see: Supplementary Material, table S2, S3, S4, S4).

test revealed that the age at maturation was significantly greater in concentration C4 when compared to concentrations C1 and C2.

The concentration of nanoparticle affected egg number at the first brood of D. magna ($\chi 2 = 141.91$, $Df = 4$, $p < 0.0001$) (table 2 and figure 3(d)). The average number of eggs at the first brood in the control treatment was 11.6 ± 0.80 eggs. The Tukey post-hoc analysis (table S5) indicated that the four concentration of mixed nanoparticles exposures (C1, C2, C3, C4) significantly impacted the number of eggs at the first brood of *D. magna* compared to the control, decreasing it by (77%, 83%, 85%, and 88%), respectively. Notably, no difference of number of eggs was found between the four concentrations (table S5).

3.4. Swimming performance and heart beat rate

The mixed nanoparticle affected the swimming performance ($F_{4,35} = 112.9$, $df = 4$, $p < 0.0001$) (figure 4(a)). Swimming speed differed significantly between the control treatment and the four concentrations treatments, the swimming speed decreasing from 0.942 ± 0.0178 mm min^{-1} of the control treatment to (0.569 ± 0.0346, 0.504 ± 0.0125, 0.417 ± 0.0258, and 0.285 ± 0.0190 mm/min) for (C1, C2, C3, C4 treatment), respectively. There was a significant difference in swimming speed between the concentration C4 and the other three treatments concentration (C1, C2, C4), and it was lower in C4 (table S6).

Six individuals were randomly selected from each group for heart rate testing. Although the mixed nanoparticle affected the heart beat rate ($F_{4,25} = 19.37$, $df = 4$, $p < 0.0001$) (figure 4(b)).

Interestingly, the heart rate did not show significant changes at low concentrations in C1 and C2 compared to the control (319 ± 0.40, 321 ± 0.63, 305 ± 0.65 beats/min), respectively (table S7). There was a significant difference between C4 and all treatments, it was significantly higher in C4 with 79 beats/min more than control, and higher with (60, 58, and 30 beats/min) more than C1, C2, and C3, respectively.

4. Discussion

In contemporary toxicology, it is well-recognized that the impact of a molecule can exhibit significant variation when it interacts with other molecules, whether they belong to the same family (such as nanoparticles, pesticides, endocrine disruptors, etc) or not. This interaction can result in additive, antagonistic, potentiation, or

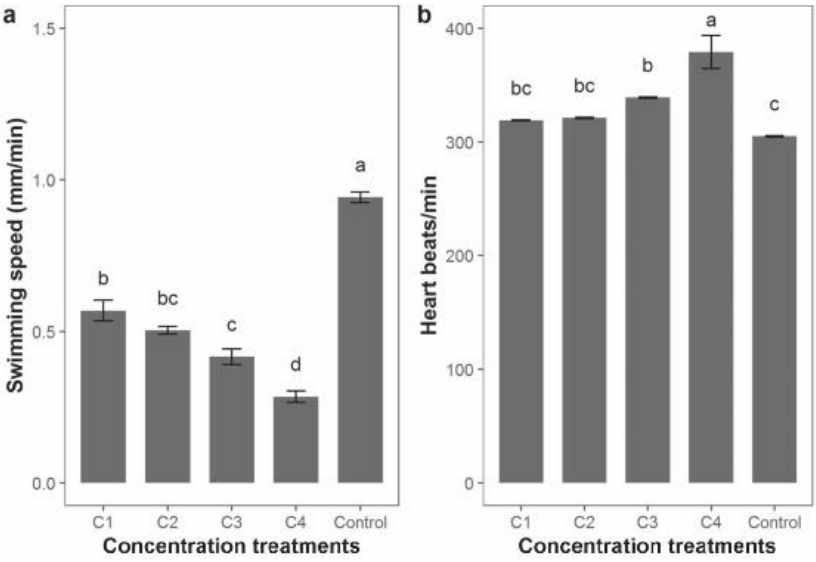


Figure 4. Individual's responses traits in each treatment group after 48h of exposure to (TiO_2 and Fe_2O_3) according to the four concentrations (C1, C2, C3, and C4) as well as the Control treatment. a) Swimming speed (mm/min), b) Heart beats/min. Error bars represent the standard error. Means which are denoted by different letters (a, b, c, and d) indicate a significant difference between different treatments, and same letters denote non-significance (Tukey's post-hoc test, $p < 0.05$) (see: Supplementary Material, table S6, S7).

synergistic effects within the resulting mixtures. For nanoparticles, the physicochemical properties, concentrations, window and duration of exposure are factors that can play a crucial role in determining their uptake, distribution, metabolism, excretion, and overall toxicity.

Unfortunately, the existing data on nanoparticle toxicity in *Daphnia* primarily relies on 'research grade' materials, often involving simple combinations to be able to interpret the results. To gain a more realistic understanding of nanoparticle behavior in aquatic environments and accurate assessments of their potential effects, it is imperative to study the impact of environmental conditions on their degradation.

Here we report that *D. magna* growth was inversely proportional to the concentration of nanoparticles, which is in accordance with data reported by Zhu *et al* (2010a), when exposure to $nTiO_2$ alone at 0.5 to 5 mg l^{-1} inhibited *D. magna* growth. Furthermore, in their study, Mendoza-Villa *et al* (2023) found a significant decrease in the length of D. magna when exposed to TiO2 NPs alone at four out of the five tested concentrations (37.5 mg l^{-1}, 75 mg l^{-1}, 150 mg l^{-1}, 300 mg l^{-1}, and 600 mg l^{-1}). This contrasts with the findings reported by Lee *et al* (2009), who used lower doses of 7 and 20 nm TiO2 alone. This difference in exposure conditions likely explains the absence of developmental effects. However, the toxicity of the mixtures including Ag+ concentrations and ZnO NPs and TiO_2 NPs combinations was greater than the inherent toxicity of each component, indicating a synergistic impact (Park *et al* 2019).

The effectiveness of nanoparticles (NPs) in conjunction with cationic surfactants can generate mixtures of metal-oxide nanoparticles and surfactants, which exhibit remarkable sorption capabilities (Guerranti and Renzi 2015). Mixtures of [(ZnO or TiO2) and Triton] increases effects of nanoparticles on *D. magna* (Renzi and Blaškovic 2019). The combination of graphite-diamond nanoparticles with the fungicide thiabendazole demonstrated synergistic toxic interactions at low concentrations, likely due to the enhanced bioavailability of the fungicide facilitated by the nanoparticles. However, at higher doses of nanoparticles, an antagonistic effect was observed. This phenomenon was attributed to the aggregation of nanoparticles, which ultimately reduced the bioavailability of the fungicide (Martín-de-Lucía *et al* 2019).

From previous studies, and despite the use of NPs in remediation strategies against pesticides pollution (Akash *et al* 2022), nanoparticles, specifically sized titanium dioxide (nTiO2), have been shown to enhance the toxicity of pesticides (malathion, permethrin, and pirimicarb) in D. magna. This effect is likely attributed to the efficient degradation of pesticides and the potential formation of toxic by-products induced by photocatalysis (Lüderwald *et al* 2020). The impacts of NPs on the maturation and reproduction parameters of *D. magna* were

also affected by other parameters such as the food availability. Sun *et al* (2022) reported that exposure to ZnO nanoparticles at high concentrations with low zooplankton (Chlorella) quantities can exacerbate the negative effect on the life history traits (survival time, body length at maturation, and offspring per female) of *D. magna*. Conversely, some other life history traits such as time to maturation and time to first brood exhibited an opposite trend in response to the nanoparticles. In addition, it was observed that higher zooplankton abundance mitigated the adverse effects of ZnO nanoparticles on *D. magna*. In the same way, mixtures of toxic Microcystis and ZnO NPs at several concentrations can provoke developmental alteration and body length at maturation, decreased the number of neonates in the first brood, total offspring, and number of broods per female in *D. magna*, without any effect on the times to maturation (Wang *et al* 2019).

This study assessed the harmless harmful effects of nanoparticles, through examining locomotion-based behavior which is a highly sensitive measure (Bownik 2017). Cerium Dioxide Nanoparticles (CeO_2 NPs), which are used in industry as oxidation catalysts, gas sensors, polishing materials, and UV absorbers, affect the swimming performance of *Daphnia similis* and *Daphnia pulex* after 1, 10, and 100 mg L^{-1} exposures for 48 h. Furthermore, exposure to 1 mg L^{-1} induced a decrease of 30% and 40% of the swimming velocities in *D. pulex* and *D. similis*, respectively. However, at elevated concentrations, the swimming velocities of *D. similis* were more severely affected (with a reduction of 60% at 10 mg L^{-1} and 100 mg L^{-1}) compared to those of *D. pulex* (Artells *et al* 2013). Similarly, exposure to Ceria Chitosan NPs can affect behavioural endpoints related to swimming (average speed, distance moved, and activity time) and induce hyperactive behaviour by increasing the average speed and acceleration without increasing the distance moved (Villa *et al* 2020).

Exposure to TiO_2 increases swimming speed proportionally with the exposure duration (from 8.2 ± 0.9 mm/min for 3 h to 21.6 ± 2.8 mm/min for 48 h) and inversely proportionally with concentrations (0.1, 1.0 and 10 μg mL^{-1}) (Park *et al* 2022). The heart rate and swimming distance were both linearly affected by the TiO_2 nanoparticle concentration (Chung *et al* 2016). Previous research has documented that the induction of oxidative stress can lead to negative impacts on the heart rate, swimming speed, and reproductive capabilities of *D. magna* (Bownik and Stępniewska 2015, De Felice *et al* 2019, Park *et al* 2022).

5. Conclusion

Our findings demonstrated that exposition to binary mixtures of NPs (TiO_2 and Fe_2O_3) significantly affects the development of *D. magna* to maturation and disturbs their reproductive performance and behavior. The intensity of the effects is proportional to the concentrations of the mixtures. Mortality recorded in the control group was significantly lower than in the experimental groups. Moreover, swimming performances and heart rate were also affected. The results from the investigation and the analysis of data indicated that the exposure of *D. magna* to a combination of NPs, even at minimal concentrations, significantly affected various aspects of their life history and overall organismal fitness.

In natural ecosystems, chemicals are commonly found in mixtures, and the absence of a comprehensive method for studying the combined effects of chemical pollutants and other stressors reflects the existing divisions among scientific disciplines. Moving forward, it is evident that a paradigm shift is required to address the challenges posed by chemical mixtures in the context of environmental research and management. Interdisciplinary collaboration should be promoted among ecologists, toxicologists, chemists, and other relevant fields in order to build an integrative and unified approach to investigating the cumulative impacts of chemicals in ecosystems. We may overcome the limits of particular disciplines and get a more comprehensive grasp of the ecological implications of chemical mixtures by uniting our skills and resources. The reported results have significant implications for appropriately assessing the ecotoxicological effects of emerging pollutants.

Acknowledgments

The authors would like to express their sincere gratitude to Professor Moussa Houhamdi for his valuable comments and insights on the manuscript.

Data availability statement

All data that support the findings of this study are included within the article (and any supplementary files).

Author contributions

Amira Chorfi: Investigation (Data collection, and experiments performing), Formal analysis, Writing—original draft.

Hichem Amari, Soufyane Bensouilah, Zinette Bensakhri: Investigation (Data collection, and performing the experiments).

Rabah Zebsa, Sofiane Boudalia, Samira Bensoltane: Conceptualization, Supervision, Data curation, Formal analysis, Funding acquisition, Project Administration, Methodology, Writing—original draft– Review & Editing.

Mohamed Djekoun: Conceptualization, former supervisor, Methodology.

All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Financial support

This work is part of Project PRFU-2022 (Code number: D00L02UN240120220002), and this work is funded by the Algerian Ministry of Higher Education and Scientific Research and the Directorate General for Scientific Research and Technological Development (DGRSDT). The funders had no role in study design, data collection and analysis, the decision to publish, or the preparation of the manuscript.

Conflicts of interest

The authors have stated that they have no conflicts of interest to declare.

ORCID iDs

Rabah Zebsa https://orcid.org/0000-0001-8214-9500
Sofiane Boudalia https://orcid.org/0000-0002-7729-185X

References

Akash S, Sivaprakash B, Rajamohan N, Pandiyan C M and Vo D V N 2022 Pesticide pollutants in the environment—A critical review on remediation techniques, mechanism and toxicological impact *Chemosphere* **301** 134754

Artells E, Issartel J, Auffan M, Borschneck D, Thill A, Tella M, Brousset L, Rose J, Bottero J-Y and Thiéry A 2013 Exposure to cerium dioxide nanoparticles differently affect swimming performance and survival in two daphnid species *PLoS One* **8** e71260

Ates M, Cimen I C, Unal I, Kutlu B, Ertit Tastan B, Danabas D, Aksu O and Arslan Z 2020 Assessment of impact of α-Fe_2O_3 and γ-Fe_2O_3 nanoparticles on phytoplankton species Selenastrum capricornutum and Nannochloropsis oculata *Environ. Toxicol.* **35** 385–94

Bates D, Mächler M, Bolker B and Walker S 2015 Fitting linear mixed-effects models using lme4 *J. Stat. Softw* **67** 1–48

Bownik A 2017 Daphnia swimming behaviour as a biomarker in toxicity assessment: A review *Sci. Total Environ.* **601-602** 194–205

Bownik A and Stępniewska Z 2015 Protective effects of ectoine on behavioral, physiological and biochemical parameters of Daphnia magna subjected to hydrogen peroxide *Comp. Biochem. Physiol. C: Toxicol. Pharmacol.* **170** 38–49

Buschmann J 2013 The OECD guidelines for the testing of chemicals and pesticides *Teratogenicity Testing: Methods and Protocols* **947** 37–56

Chung W, Song J M and Lee J 2016 The evaluation of titanium dioxide nanoparticle effects on cardiac and swimming performance of Daphnia magna *International Journal of Applied Environmental Sciences* **11** 1375–85

Dai H, Sun T, Han T, Guo Z, Wang X and Chen Y 2020 Aggregation behavior of zinc oxide nanoparticles and their biotoxicity to Daphnia magna: Influence of humic acid and sodium alginate *Environ. Res.* **191** 110086

Deng H, Zhang Y and Yu H 2018 Nanoparticles considered as mixtures for toxicological research *Journal of Environmental Science and Health, Part C* **36** 1–20

De Felice B, Salgueiro-González N, Castiglioni S, Saino N and Parolini M 2019 Biochemical and behavioral effects induced by cocaine exposure to Daphnia magna *Sci. Total Environ.* **689** 141–8

Fan W, Liang D, Wang X, Ren J, Xiao S and Zhou T 2019 Two-generational effects and recovery of arsenic and arsenate on Daphnia magna in the presence of nano-TiO2 *Ecotoxicology and Environmental Safety* **172** 136–43

Fan W, Peng R, Li X, Ren J, Liu T and Wang X 2016 Effect of titanium dioxide nanoparticles on copper toxicity to Daphnia magna in water: role of organic matter *Water Res.* **105** 129–37

Fan W, Yung B, Huang P and Chen X 2017 Nanotechnology for multimodal synergistic cancer therapy *Chem. Rev.* **117** 13566–638

Farsi L, Sabzalipour S, Khodadadi M, Haghighi Fard N J and Jamali-Sheini F 2021 The Ecotoxicity of Nanoparticles Co_2O_3 and Fe_2O_3 on Daphnia magna in Freshwater *J. Water Chem. Technol.* **43** 509–16

Forest V 2021 Combined effects of nanoparticles and other environmental contaminants on human health - an issue often overlooked *NanoImpact* **23** 100344

Gaiser B K, Fernandes T F, Jepson M, Lead J R, Tyler C R and Stone V 2009 Assessing exposure, uptake and toxicity of silver and cerium dioxide nanoparticles from contaminated environments *Environmental Health* **8** S2

Galhano V, Zeumer R, Monteiro M S, Knopf B, Meisterjahn B, Soares A M, Loureiro S, Schlechtriem C and Lopes I 2022 Effects of wastewater-spiked nanoparticles of silver and titanium dioxide on survival, growth, reproduction and biochemical markers of Daphnia magna *Sci. Total Environ.* **839** 156079

Guerranti C and Renzi M 2015 Ecotoxicity of nanoparticles in aquatic environments: a review based on multivariate statistics of meta-data *Journal of Environmental Analytical Chemistry* **2** 1000149

Hothorn T, Hornik K, Van De Wiel M A and Zeileis A 2008 Implementing a class of permutation tests: the coin package *Journal of statistical software* **28** 1–23

Kim Y, Samadi A, Gwag E H, Park J, Kwak M, Park J, Lee T G and Kim Y J 2021 Physiological and Behavioral Effects of SiO_2 Nanoparticle Ingestion on Daphnia magna *Micromachines* 12 1105

Lee S W, Kim S M and Choi J 2009 Genotoxicity and ecotoxicity assays using the freshwater crustacean Daphnia magna and the larva of the aquatic midge Chironomus riparius to screen the ecological risks of nanoparticle exposure *Environ. Toxicol. Pharmacol.* **28** 86–91

Liu S, Zeng P, Li X, Thuyet D Q and Fan W 2019 Effect of chronic toxicity of the crystalline forms of TiO_2 nanoparticles on the physiological parameters of Daphnia magna with a focus on index correlation analysis *Ecotoxicology and Environmental Safety* **181** 292–300

Liu Z, Malinowski C R and Sepúlveda M S 2022 Emerging trends in nanoparticle toxicity and the significance of using Daphnia as a model organism *Chemosphere* **291** 132941

Lüderwald S, Meyer F, Gerstle V, Friedrichs L, Rolfing K, Schreiner V C, Bakanov N, Schulz R and Bundschuh M 2020 Reduction of pesticide toxicity under field-relevant conditions? the interaction of titanium dioxide nanoparticles, ultraviolet, and natural organic matter *Environ. Toxicol. Chem.* **39** 2237–46

Martin-de-Lucía I, Gonçalves S F, Leganés F, Fernández-Piñas F, Rosal R and Loureiro S 2019 Combined toxicity of graphite-diamond nanoparticles and thiabendazole to Daphnia magna *Sci. Total Environ.* **688** 1145–54

Mendoza-Villa F, Checca-Huaman N-R and Ramos-Guivar J A 2023 Ecotoxicological properties of titanium dioxide nanomorphologies in daphnia magna *Nanomaterials* **13** 927

Milenković I, Radotić K, Despotović J, Lončarević B, Lješkić M, Spasić S Z, Nikolić A and Beškoski V P 2021 Toxicity investigation of CeO_2 nanoparticles coated with glucose and exopolysaccharides levan and pullulan on the bacterium Vibrio fischeri and aquatic organisms Daphnia magna and Danio rerio *Aquat. Toxicol.* **236** 105867

Nations S, Wages M, Cañas J E, Maul J, Theodorakis C and Cobb G P 2011 Acute effects of Fe_2O_3, TiO_2, ZnO and CuO nanomaterials on Xenopus laevis *Chemosphere* **83** 1053–61

Novak S, Kokalj A J, Hočevar M, Godec M and Drobne D 2018 The significance of nanomaterial post-exposure responses in Daphnia magna standard acute immobilisation assay: example with testing TiO_2 nanoparticles *Ecotoxicology and environmental safety* **152** 61–6

OECD 211 1998 *Test No. 211: OECD Guidelines for testing of chemicals: Daphnia magna Reproduction Test*

OECD O 2004 The OECD principles of corporate governance *Contaduría y Administración*

Ozmen N, Ozhan Turhan D, Güngördü A, Caglar Yilmaz H and Ozmen M 2023 Investigation of the effects of metal oxide nanoparticle mixtures on Danio rerio and Xenopus laevis embryos *Chem. Ecol.* **39** 215–34

Park C B, Jung J W, Baek M, Sung B, Park J W, Seol Y, Yeom D H, Park J W and Kim Y J 2019 Mixture toxicity of metal oxide nanoparticles and silver ions on Daphnia magna *J. Nanopart. Res.* **21** 166

Park J, Park C, Lee Y, Ryu C, Park J and Kim Y 2022 Acute adverse effects of metallic nanomaterials on cardiac and behavioral changes in daphnia magna *Environments* **9** 26

Piccinno F, Gottschalk F, Seeger S and Nowack B 2012 Industrial production quantities and uses of ten engineered nanomaterials in Europe and the world *J. Nanopart. Res.* **14** 1109

R Core Team 2021 *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. (R Foundation for Statistical Computing) https://R-project.org/

Renzi M and Blašković A 2019 Ecotoxicity of nano-metal oxides: a case study on daphnia magna *Ecotoxicology* **28** 878–89

Ribeiro Santos-Rasera J, Giovanini de Lima R, Santos Alves D, Teresa Rosim Monteiro R and Wallace Pereira de Carvalho H 2022 X-ray spectrometry imaging and chemical speciation assisting to understand the toxic effects of copper oxide nanoparticles on zebrafish (Danio rerio) *Nanotoxicology* **16** 645–57

Sun Y, Liu Q, Huang J, Li D, Huang Y, Lyu K and Yang Z 2022 Food abundance mediates the harmful effects of ZnO nanoparticles on development and early reproductive performance of Daphnia magna *Ecotoxicology and Environmental Safety* **236** 113475

Villa S, Maggioni D, Hamza H, Di Nica V, Magni S, Morosetti B, Parenti CC, Finizio A, Binelli A and Della Torre C 2020 Natural molecule coatings modify the fate of cerium dioxide nanoparticles in water and their ecotoxicity to Daphnia magna *Environ. Pollut.* **257** 113597

Wang Y, Qin S, Li Y, Wu G, Sun Y, Zhang L, Huang Y, Lyu K, Chen Y and Yang Z 2019 Combined effects of ZnO nanoparticles and toxic Microcystis on life-history traits of Daphnia magna *Chemosphere* **233** 482–92

Zergui A 2023 Metallic nanoparticles in food: an overview on consumers' health effects *Food and Humanity* **1** 51–6

Zhu X, Chang Y and Chen Y 2010a Toxicity and bioaccumulation of TiO_2 nanoparticle aggregates in Daphnia magna *Chemosphere* **78** 209–15

Zhu X, Wang J, Zhang X, Chang Y and Chen Y 2010b Trophic transfer of TiO_2 nanoparticles from daphnia to zebrafish in a simplified freshwater food chain *Chemosphere* **79** 928–33

Zuur A F, Ieno E N and Smith G M 2007 *Analysing Ecological Data* (Springer) vol 680 (https://doi.org/10.1007/978-0-387-45972-1)

les Annexes

Annex 01 : guide utilisé pour l'identification des espèces

Scanned with the kind permission of the author Claude Amoros
and the Société Linnéenne de Lyon.
For personal / educational use only. Not for further distribution or sale.
Society's website: http://www.linneenne-lyon.org/
Author's bibliography: http://umr5023.univ-lyon1.fr/index.php?pid=244&lang=fr

INTRODUCTION PRATIQUE A LA SYSTEMATIQUE DES ORGANISMES DES EAUX CONTINENTALES FRANÇAISES

5

CRUSTACÉS CLADOCÈRES

par

Claude AMOROS
(Université Claude-Bernard — Lyon I)

1984

Annexe 03 : Bump Graph Analysais (Epic Epoch).

name	period	sizess
Toxicity	2010_2013	28,5714286
Daphnia magna	2010_2013	21,4285714
Bioaccumulation	2010_2013	14,2857143
Titanium dioxide	2010_2013	14,2857143
Aggregation	2010_2013	7,14285714
C. dubia	2010_2013	7,14285714
Daphnia	2010_2013	7,14285714
Absorption	2010_2013	0
Binary mixture	2010_2013	0
Algae-daphnia system	2010_2013	0
Nanoparticles	2010_2013	0
Aquatic organism	2010_2013	0
Photo-induced toxicity	2010_2013	0
TEM	2010_2013	0
Agglomeration	2010_2013	0
Metal assimilation	2010_2013	0
Biokinetics	2010_2013	0
Nanopaticle	2010_2013	0
Algae	2010_2013	0
Long-term toxicity test	2010_2013	0
Adsorption	2010_2013	0
Food quality	2010_2013	0
Correlation analysis Recovery	2010_2013	0
Accumulation	2010_2013	0
Irradiation	2010_2013	0
Ultraviolet radiation	2010_2013	0
Food quantity	2010_2013	0
Acute toxicity test	2010_2013	0
Acute and chronic exposure	2010_2013	0
Crystallinity	2010_2013	0
Biomagnification	2010_2013	0
STXM	2010_2013	0
Life-history traits	2010_2013	0
Acute and chronic exposure	2014_2014	20
Bioaccumulation	2014_2014	20
Biokinetics	2014_2014	20
Biomagnification	2014_2014	20
Daphnia magna	2014_2014	20
Absorption	2014_2014	0
Aggregation	2014_2014	0
Binary mixture	2014_2014	0

Algae-daphnia system	2014_2014	0
Nanoparticles	2014_2014	0
C.dubia	2014_2014	0
Aquatic organism	2014_2014	0
Photo-induced toxicity	2014_2014	0
TEM	2014_2014	0
Agglomeration	2014_2014	0
Titanium dioxide	2014_2014	0
Metal assimilation	2014_2014	0
Nanopaticle	2014_2014	0
Algae	2014_2014	0
Long-term toxicity test	2014_2014	0
Adsorption	2014_2014	0
Food quality	2014_2014	0
Correlation analysis Recovery	2014_2014	0
Toxicity	2014_2014	0
Accumulation	2014_2014	0
Irradiation	2014_2014	0
Ultraviolet radiation	2014_2014	0
Food quantity	2014_2014	0
Acute toxicity test	2014_2014	0
Daphnia	2014_2014	0
Crystallinity	2014_2014	0
STXM	2014_2014	0
Life-history traits	2014_2014	0
Nanoparticles	2015_2015	25
Photo-induced toxicity	2015_2015	25
Titanium dioxide	2015_2015	25
Ultraviolet radiation	2015_2015	25
Daphnia magna	2015_2015	0
Absorption	2015_2015	0
Aggregation	2015_2015	0
Binary mixture	2015_2015	0
Algae-*daphnia* system	2015_2015	0
C.dubia	2015_2015	0
Aquatic organism	2015_2015	0
TEM	2015_2015	0
Agglomeration	2015_2015	0
Metal assimilation	2015_2015	0
Biokinetics	2015_2015	0
Nanopaticle	2015_2015	0
Bioaccumulation	2015_2015	0
Algae	2015_2015	0
Long-term toxicity test	2015_2015	0
Adsorption	2015_2015	0

Food quality	2015_2015	0
Correlation analysis Recovery	2015_2015	0
Toxicity	2015_2015	0
Accumulation	2015_2015	0
Irradiation	2015_2015	0
Food quantity	2015_2015	0
Acute toxicity test	2015_2015	0
Daphnia	2015_2015	0
Acute and chronic exposure	2015_2015	0
Crystallinity	2015_2015	0
Biomagnification	2015_2015	0
STXM	2015_2015	0
Life-history traits	2015_2015	0
Daphnia magna	2016_2016	25
Agglomeration	2016_2016	12,5
Aquatic organism	2016_2016	12,5
Binary mixture	2016_2016	12,5
Bioaccumulation	2016_2016	12,5
Food quality	2016_2016	12,5
Toxicity	2016_2016	12,5
Absorption	2016_2016	0
Aggregation	2016_2016	0
Algae-daphnia system	2016_2016	0
Nanoparticles	2016_2016	0
C.dubia	2016_2016	0
Photo-induced toxicity	2016_2016	0
TEM	2016_2016	0
Titanium dioxide	2016_2016	0
Metal assimilation	2016_2016	0
Biokinetics	2016_2016	0
Nanopaticle	2016_2016	0
Algae	2016_2016	0
Long-term toxicity test	2016_2016	0
Adsorption	2016_2016	0
Correlation analysis Recovery	2016_2016	0
Accumulation	2016_2016	0
Irradiation	2016_2016	0
Ultraviolet radiation	2016_2016	0
Food quantity	2016_2016	0
Acute toxicity test	2016_2016	0
Daphnia	2016_2016	0
Acute and chronic exposure	2016_2016	0
Crystallinity	2016_2016	0
Biomagnification	2016_2016	0
STXM	2016_2016	0

Life-history traits	2016_2016	0
Daphnia	2017_2017	20
Daphnia magna	2017_2017	20
Food quality	2017_2017	20
Food quantity	2017_2017	20
Metal assimilation	2017_2017	20
Absorption	2017_2017	0
Aggregation	2017_2017	0
Binary mixture	2017_2017	0
Algae-daphnia system	2017_2017	0
Nanoparticles	2017_2017	0
C. dubia	2017_2017	0
Aquatic organism	2017_2017	0
Photo-induced toxicity	2017_2017	0
TEM	2017_2017	0
Agglomeration	2017_2017	0
Titanium dioxide	2017_2017	0
Biokinetics	2017_2017	0
Nanopaticle	2017_2017	0
Bioaccumulation	2017_2017	0
Algae	2017_2017	0
Long-term toxicity test	2017_2017	0
Adsorption	2017_2017	0
Correlation analysis Recovery	2017_2017	0
Toxicity	2017_2017	0
Accumulation	2017_2017	0
Irradiation	2017_2017	0
Ultraviolet radiation	2017_2017	0
Acute toxicity test	2017_2017	0
Acute and chronic exposure	2017_2017	0
Crystallinity	2017_2017	0
Biomagnification	2017_2017	0
STXM	2017_2017	0
Life-history traits	2017_2017	0
Acute toxicity test	2018_2018	16,6666667
Adsorption	2018_2018	16,6666667
Algae-*daphnia* system	2018_2018	16,6666667
Biomagnification	2018_2018	16,6666667
Crystallinity	2018_2018	16,6666667
Irradiation	2018_2018	16,6666667
Daphnia magna	2018_2018	0
Absorption	2018_2018	0
Aggregation	2018_2018	0
Binary mixture	2018_2018	0
Nanoparticles	2018_2018	0

C. dubia	2018_2018	0
Aquatic organism	2018_2018	0
Photo-induced toxicity	2018_2018	0
TEM	2018_2018	0
Agglomeration	2018_2018	0
Titanium dioxide	2018_2018	0
Metal assimilation	2018_2018	0
Biokinetics	2018_2018	0
Nanopaticle	2018_2018	0
Bioaccumulation	2018_2018	0
Algae	2018_2018	0
Long-term toxicity test	2018_2018	0
Food quality	2018_2018	0
Correlation analysis Recovery	2018_2018	0
Toxicity	2018_2018	0
Accumulation	2018_2018	0
Ultraviolet radiation	2018_2018	0
Food quantity	2018_2018	0
Daphnia	2018_2018	0
Acute and chronic exposure	2018_2018	0
STXM	2018_2018	0
Life-history traits	2018_2018	0
Algae	2019_2019	16,6666667
Bioaccumulation	2019_2019	16,6666667
C. dubia	2019_2019	16,6666667
Crystallinity	2019_2019	16,6666667
Irradiation	2019_2019	16,6666667
Toxicity	2019_2019	16,6666667
Daphnia magna	2019_2019	0
Absorption	2019_2019	0
Aggregation	2019_2019	0
Binary mixture	2019_2019	0
Algae-daphnia system	2019_2019	0
Nanoparticles	2019_2019	0
Aquatic organism	2019_2019	0
Photo-induced toxicity	2019_2019	0
TEM	2019_2019	0
Agglomeration	2019_2019	0
Titanium dioxide	2019_2019	0
Metal assimilation	2019_2019	0
Biokinetics	2019_2019	0
Nanopaticle	2019_2019	0
Long-term toxicity test	2019_2019	0
Adsorption	2019_2019	0
Food quality	2019_2019	0

Correlation analysis Recovery	2019_2019	0
Accumulation	2019_2019	0
Ultraviolet radiation	2019_2019	0
Food quantity	2019_2019	0
Acute toxicity test	2019_2019	0
Daphnia	2019_2019	0
Acute and chronic exposure	2019_2019	0
Biomagnification	2019_2019	0
STXM	2019_2019	0
Life-history traits	2019_2019	0
Daphnia magna	2020_2020	0
Absorption	2020_2020	0
Aggregation	2020_2020	0
Binary mixture	2020_2020	0
Algae-daphnia system	2020_2020	0
Nanoparticles	2020_2020	0
C. dubia	2020_2020	0
Aquatic organism	2020_2020	0
Photo-induced toxicity	2020_2020	0
TEM	2020_2020	0
Agglomeration	2020_2020	0
Titanium dioxide	2020_2020	0
Metal assimilation	2020_2020	0
Biokinetics	2020_2020	0
Nanopaticle	2020_2020	0
Bioaccumulation	2020_2020	0
Algae	2020_2020	0
Long-term toxicity test	2020_2020	0
Adsorption	2020_2020	0
Food quality	2020_2020	0
Correlation analysis Recovery	2020_2020	0
Toxicity	2020_2020	0
Accumulation	2020_2020	0
Irradiation	2020_2020	0
Ultraviolet radiation	2020_2020	0
Food quantity	2020_2020	0
Acute toxicity test	2020_2020	0
Daphnia	2020_2020	0
Acute and chronic exposure	2020_2020	0
Crystallinity	2020_2020	0
Biomagnification	2020_2020	0
STXM	2020_2020	0
Life-history traits	2020_2020	0
Absorption	2021_2021	20
Daphnia magna	2021_2021	20

Nanopaticle	2021_2021	20
STXM	2021_2021	20
TEM	2021_2021	20
Aggregation	2021_2021	0
Binary mixture	2021_2021	0
Algae-daphnia system	2021_2021	0
Nanoparticles	2021_2021	0
C. dubia	2021_2021	0
Aquatic organism	2021_2021	0
Photo-induced toxicity	2021_2021	0
Agglomeration	2021_2021	0
Titanium dioxide	2021_2021	0
Metal assimilation	2021_2021	0
Biokinetics	2021_2021	0
Bioaccumulation	2021_2021	0
Algae	2021_2021	0
Long-term toxicity test	2021_2021	0
Adsorption	2021_2021	0
Food quality	2021_2021	0
Correlation analysis Recovery	2021_2021	0
Toxicity	2021_2021	0
Accumulation	2021_2021	0
Irradiation	2021_2021	0
Ultraviolet radiation	2021_2021	0
Food quantity	2021_2021	0
Acute toxicity test	2021_2021	0
Daphnia	2021_2021	0
Acute and chronic exposure	2021_2021	0
Crystallinity	2021_2021	0
Biomagnification	2021_2021	0
Life-history traits	2021_2021	0
Accumulation	2022_2022	16,6666667
Correlation analysis Recovery	2022_2022	16,6666667
Daphnia	2022_2022	16,6666667
Life-history traits	2022_2022	16,6666667
Long-term toxicity test	2022_2022	16,6666667
Titanium dioxide	2022_2022	16,6666667
Daphnia magna	2022_2022	0
Absorption	2022_2022	0
Aggregation	2022_2022	0
Binary mixture	2022_2022	0
Algae-daphnia system	2022_2022	0
Nanoparticles	2022_2022	0
C. dubia	2022_2022	0
Aquatic organism	2022_2022	0

Photo-induced toxicity	2022_2022	0
TEM	2022_2022	0
Agglomeration	2022_2022	0
Metal assimilation	2022_2022	0
Biokinetics	2022_2022	0
Nanopaticle	2022_2022	0
Bioaccumulation	2022_2022	0
Algae	2022_2022	0
Adsorption	2022_2022	0
Food quality	2022_2022	0
Toxicity	2022_2022	0
Irradiation	2022_2022	0
Ultraviolet radiation	2022_2022	0
Food quantity	2022_2022	0
Acute toxicity test	2022_2022	0
Acute and chronic exposure	2022_2022	0
Crystallinity	2022_2022	0
Biomagnification	2022_2022	0
STXM	2022_2022	0