



UNIVERSITÉ MOHAMED EL BACHIR EL IBRAHIMI
BORDJ BOU ARRERIDJ

UNIVERSITY MOHAMED EL BACHIR EL IBRAHIMI
BORDJ BOU ARRERIDJ

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريريج

Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi- B.B.A.

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الارض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers

قسم العلوم البيولوجية.

Département des Sciences biologiques



UNIVERSITÉ MOHAMED EL BACHIR EL IBRAHIMI
BORDJ BOU ARRERIDJ

UNIVERSITY MOHAMED EL BACHIR EL IBRAHIMI
BORDJ BOU ARRERIDJ

Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Toxicologie

Intitulé

**Evaluation de la toxicité des nanoparticules sur un
modèle végétal aquatique *Elodea canadensis***

Présenté par : BENBRAHAM Seghira

BENZIANE Yasmine

Soutenu le : 13 octobre 2020 ;

Devant le jury :

Président :	M ^r MEKHALFI Hamoudi	MCA (Univ. Bordj Bou Arreridj)
Encadrant:	M ^{lle} MOUMENI Ouissem	MCB (Univ. Bordj Bou Arreridj)
Examineur 1:	M ^{lle} BENRADIA Hamida	MCB (Univ. Bordj Bou Arreridj)
Examineur 2:	M ^{me} DEHIMI Khadidja	MCB (Univ. Bordj Bou Arreridj)

Année universitaire : 2019/2020



Remerciements

Remerciement et Louange au Seigneur des Mondes «الله» le tout puissant, le très miséricordieux qui nous a donné la santé, la force, le courage et l'opportunité de mener ce travail à terme

Les plus vifs remerciements et la profonde gratitude vont bien évidemment à Mme MOUNENJ Ouissem pour avoir accepté de nous encadrer. Son dynamisme, sa disponibilité, son aide et ses précieux conseils, nous ont permis d'avancer, elle a suivi sans relâche et avec beaucoup d'intérêts le déroulement de ce travail.

Nous tenons à remercier monsieur MEKHALFI Hamoudi pour avoir accepté de présider ce jury et d'évaluer ce modeste travail.

Nous remercions vivement Mme BENRADJA Hamida et Mme DEHIMI Khadidja pour avoir accepté d'examiner notre travail.

Nous ne pouvons oublier de remercier l'ensemble des enseignants, et des dirigeants du département de biologie et tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour la réalisation de ce travail.

Un grand merci à tous.



Dédicaces

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail à ceux qui, quelque soient les termes employés, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère.

À l'homme, à qui je dois ma vie, ma réussite et tout mon respect, mon exemple éternel, mon soutien moral : mon cher père Mohamed.

À la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse : mon adorable mère Baya.

Je suis fier des efforts que j'ai fournis et des difficultés que j'ai surmonté pour atteindre mon objectif. Malgré la situation actuelle de propagation de la pandémie du Covid 19, j'ai récolté les fruits de ma réussite.

À mes chères sœurs Lamia et Leila qui n'ont pas cessé de me conseiller, de m'encourager et de me soutenir tout au long de mes études, que Dieu les protège et leur offre la joie et le bonheur.

À ma princesse Nasrine qui est plus chère à mes yeux et qui sait toujours comment procurer la joie et le bonheur pour toute la famille.

À mes poussins Nedjmo- Diyaa- Djewed- Iyed- Isako et mes anges Nissa et Djouri.

À mon binôme YASMINE et à toute sa famille

À mes meilleurs amis : Nour -Amira-Amina-Asma-Bouba-Ahlem-katy-Ibtissem-Soundos-Wided-Sara.

SEGHIRA



Dédicaces

*À mes chers parents, ma mère et mon père, pour l'éducation
qu'ils m'ont prodigué avec tous les moyens et au prix de
tous les sacrifices qu'ils ont consentis à mon égard, pour
leur patience, leur amour et leurs encouragements.*

Que ce travail leur apporte joie et fierté;

À mes chères sœurs SABRINA, ASMA,

À mon frère YASSINE

À mon mari MOHAMMED et à toute sa famille

À tous mes enseignants

À mon binôme SIFRA

À mes très chers amis pour leurs aides et soutiens.

YASMINA

تُستخدم الجسيمات النانوية المعدنية مثل أكسيد النحاس في العديد من التطبيقات التجارية (مبيدات الجراثيم، الحماية من الأشعة فوق البنفسجية ، التصوير الطبي)، وتعتبر سميتها مصدر قلق كبير خاصة بالنسبة للنظم الإيكولوجية المائية بسبب نقص المعرفة بالتفاعلات الحالية بين هذه الجسيمات النانوية والأنظمة البيولوجية.

وفي هذا السياق فإن عملنا يهدف إلى إنشاء توليفة لبعض الأعمال البحثية المتعلقة بدراسة التأثير السام لجزيئات أكسيد النحاس النانوية على النباتات المائية .

واظهرت التجارب التي أجريت على النباتات المائية مثل *Lemna* و *Elodea canadensis* بتراكيزات مختلفة من CuO NPs تثبيطاً للنمو بالإضافة إلى انخفاض في مستويات أصباغ التمثيل الضوئي وهي الكلوروفيل (أ ، ب ، أ + ب) والكاروتينات. فيما يتعلق بالعلامات الحيوية للإجهاد التأكسدي، كما تكشف الدراسات التي تم الرجوع إليها عن زيادة كبيرة في مستوى MDA و وفي الأنشطة الأنزيمية CAT و POD.

الكلمات المفتاحية : *Elodea canadensis* ، نباتات مائية ، CuO ، الإجهاد التأكسدي ، CAT.

Résumé

Les nanoparticules métalliques, telles que l'oxyde de cuivre, sont utilisées dans diverses applications commerciales (bactéricides, protection UV, imagerie médicale), leur toxicité est une source de préoccupation majeure, particulièrement pour les écosystèmes aquatiques en raison de la méconnaissance des interactions existantes entre ces nanoparticules et les systèmes biologiques.

Dans ce contexte, l'objectif de notre travail vise à établir une synthèse de certains travaux de recherches relatifs à l'étude de l'effet toxique des nanoparticules d'oxyde de cuivre sur les macrophytes aquatiques.

De nombreuses expériences effectuées sur les plantes aquatiques telles qu'*Elodea canadensis* et *Lemna minor* avec différentes concentrations de NPs de CuO montrent une inhibition de la croissance ainsi qu'une diminution des taux de pigments photosynthétiques à savoir la chlorophylle (a, b et a+b) et les caroténoïdes. Concernant les biomarqueurs du stress oxydatif, les travaux consultés révèlent une augmentation dose-dépendante et significative de la teneur en MDA et des activités enzymatiques CAT et POD.

Mots clés : *Elodea canadensis*, macrophytes aquatiques, CuO, stress oxydatif, CAT.

Abstract

Metal nanoparticles, such as copper oxide, are used in various commercial applications (bactericides, UV protection, medical imaging), their toxicity is a source of major concern, particularly for aquatic ecosystems due to the lack of knowledge of interactions existing between these nanoparticles and biological systems.

In this context, the objective of our work aims to establish a synthesis of certain works relating to the study of the toxic effect of copper oxide nanoparticles on aquatic macrophytes.

Numerous experiments carried out on aquatic plants such as *Elodea canadensis* and *Lemna minor* with different concentrations of CuO NPs show an inhibition of growth as well as a decrease in the levels of photosynthetic pigments namely chlorophyll (a, b and a + b) and carotenoids. Regarding biomarkers of oxidative stress, consulted studies reveal a dose-dependent and significant increase in MDA content and CAT and POD enzymatic activities.

Keywords: *Elodea canadensis*, aquatic macrophytes, CuO, oxidative stress, CAT.

Table des matières

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction..... 01

Partie 1: Revue bibliographique

Chapitre I: Nanotechnologies, enjeux et risques

1. Les nanoparticules : Présentation et contexte générale	03
1.1. Définition de la nanoscience et la nanotechnologie.....	03
1.2. Qu'est-ce qu'une nanoparticule ?.....	03
1.3. Origine des nanoparticules.....	04
1.3.1. Les nanoparticules d'origine naturelle	04
1.3.2. Les nanoparticules artificielles.....	04
1.4. Synthèse des nanoparticules	05
2. La nanotoxicologie.....	05
2.1. Impacts toxicologiques et éco-toxicologique des nanoparticules.	05
2.1.1. Devenir des nanoparticules dans l'environnement	05
2.1.2. Toxicité des nanoparticules sur la santé humaine.....	07
2.1.3. Toxicité des nanoparticules sur les végétaux aquatiques.....	08
3. Cas des nanoparticules d'oxyde de cuivre	09
3.1. Présentation générale	09
3.2. Domaines d'utilisation	10
3.3. Toxicité des nanoparticules d'oxyde de cuivre.....	10

Chapitre II: Présentation de l'espèce végétale « *Elodea canadensis* »

1. Généralités sur les macrophytes aquatiques	12
2. Description du macrophyte aquatique « <i>Elodea canadensis</i> ».....	13
3. Classification et taxonomie.....	14
4. Répartition et écologie	14
5. Reproduction	15
5.1. Reproduction sexuée	15
5.2. Reproduction asexuée.....	15

Table des matières

6. <i>Elodea canadensis</i> comme une espèce bio-indicatrice de la qualité des eaux	15
Partie 2: Synthèse de certaines recherches relatives à l'évaluation de la toxicité des nanoparticules de CuO sur les macrophytes aquatiques	
Synthèse de certaines recherches relatives à l'évaluation de la toxicité des nanoparticules de CuO sur les macrophytes aquatiques appartenant aux genres <i>Elodea</i> et <i>Lemna</i>	17
Conclusion et perspectives.....	22
Références bibliographiques.....	23

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
I	Classification taxonomique <i>d'Elodea canadensis</i>	14

Liste des figures

N°	Titres	Pages
01	Gamme de tailles des nanoparticules comparées à celles des principales structures chimiques et biologiques	04
02	Phénomènes pouvant altérer les nanomatériaux dans l'environnement	06
03	Mécanisme d'action des NPs au niveau cellulaire	09
04	Représentation schématique de la taille élémentaire de CuO. Les atomes d'oxygène (grandes sphères rouge) et les atomes de Cu (petites sphères jaune)	10
05	<i>Elodea canadensis</i>	13
06	Morphologie externe d' <i>Elodea canadensis</i>	13

Liste des abréviations

Ag NP: Nanoparticule d'argent
CAT: Catalase
CeO₂ NP: Nanoparticules de dioxyde de Cerium
CNT: Nanotubes de Carbone
Cu⁺²: Ions de Cuivre
CuNO₃: Nitrate de Cuivre
CuO NPs: Nanoparticules d'Oxyde de Cuivre
ERO: Espèces Réactives de l'Oxygène
Fe²⁺: Ions de fer II
H₂O₂: Peroxyde d'Hydrogène
MDA: Malondialdéhyde
NPs: Nanoparticules
O²⁻: Anion Superoxyde
POD: Peroxydase
RGR: Relative Growth Rate
ROS: Reactive oxygen species
RuBP: Ribulose Biphosphate
SOD: Superoxyde Dismutase
TiO₂NP: Nanoparticules de Dioxyde de Titane



Introduction

Le développement exponentiel des activités humaines a été toujours accompagné par le rejet d'eaux usées polluées, allant d'une biodégradabilité totale à une non-biodégradabilité absolue. Ces dernières peuvent contenir multitude de substances toxiques de natures variées qui, dépassant certains seuils, peuvent entraîner un déséquilibre du fonctionnement général des écosystèmes aquatiques (**Aimene et Slimani, 2016**)

Suite à l'avènement des nanotechnologies au début des années 2000, des inquiétudes ont émergé au sujet du devenir et de la toxicité des nanoparticules dans l'environnement. En effet, ces nanomatériaux présentent des propriétés exceptionnelles suscitant l'intérêt des industriels. Cependant, ces propriétés peuvent, dans certains cas, leur conférer un potentiel toxique (**Simonin, 2015**).

A ce jour, des études de plus en plus nombreuses sont ainsi entreprises afin de mieux appréhender l'impact de ces polluants émergents sur les écosystèmes aquatiques. En effet, une fois présentes dans la colonne d'eau, les nanoparticules sont susceptibles d'interagir avec les différents organismes aquatiques. Ces interactions, absorptions et accumulations peuvent avoir des effets toxiques cumulatifs tout au long de la chaîne trophique causant de profonds bouleversements dans la diversité et la structure des communautés biologiques (**Nam et al., 2014**).

Les macrophytes aquatiques jouent un rôle très important dans l'écosystème, de par leur fonction dans les cycles du carbone et des nutriments, et leur action de producteur primaire et d'abris pour le phytoplancton. De plus, elles constituent de bons bioindicateurs de la qualité des écosystèmes aquatiques en raison notamment de leur pouvoir épurateur très élevé (**Knauer et al., 2008 ; Coutris et al., 2011**). Elles sont ainsi tolérantes aux polluants et aux différentes conditions climatiques auxquelles sont soumises au sein de l'environnement (**Rajaonarivelo, 2013**).

Parmi les nombreux macrophytes aquatiques, *Elodea canadensis* constitue un excellent modèle expérimental qui présente plusieurs caractéristiques : c'est une plante ubiquiste reconnue pour son hypertolérance aux concentrations élevées de polluants, elle est également dotée de systèmes foliaire et racinaire développés, d'une activité photosynthétique intense, d'une capacité de stockage extrêmement élevée, et d'un mécanisme interne de métabolisation des polluants lui permettant ainsi de s'adapter aux différents stress environnementaux (**Chaudhry et al., 2002**). Tous ces avantages font de cette espèce végétale un outil biologique

pertinent de biosurveillance qui rend compte des niveaux de pollution auxquels elle est soumise en milieu aquatique.

C'est dans ce contexte que s'inscrit notre étude dont l'objectif est de dresser un état de l'art de la toxicité des nanoparticules, spécialement celles d'oxyde de cuivre « CuO », sur les plantes aquatiques.

Ce document est structuré comme suit :

- La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique sur les nanoparticules, subdivisée en deux chapitres :
 - Le premier chapitre présente un état des connaissances actuelles sur les nanoparticules et leurs impacts toxicologiques et écotoxicologiques ainsi qu'un aperçu général sur les nanoparticules d'oxyde de cuivre.
 - Le deuxième chapitre, quant à lui, concerne une présentation générale de l'espèce végétale *Elodea canadensis*.
- La deuxième partie est dédiée à une synthèse de certaines recherches relatives à la toxicité des nanoparticules métalliques d'oxyde de cuivre, sur les macrophytes aquatiques.



Partie 1:

Revue bibliographique



Chapitre I :
Nanotechnologies, enjeux et risques

1. Les nanoparticules : présentation et contexte général

1.1. La nanoscience et les nanotechnologies :

Au croisement de plusieurs disciplines (physique, chimie, biologie, mécanique, etc.), on assiste aujourd'hui à un grand essor des nanosciences et nanotechnologies, si bien que les spécialistes parlent de « Révolution Nanotechnologique » (**Marcel et al., 2004**).

Le concept de nanotechnologies fut introduit par le physicien Richard Feynman en 1959 à l'Institut Américain des Technologies durant son fameux discours intitulé "There's plenty of Room at the Bottom". Il y évoquait la notion de l'infiniment petit, en argumentant que les connaissances de l'époque permettraient en théorie de manipuler des matériaux à l'échelle nanométrique (**Roco, 2005**). L'utilisation de nanoparticules n'est cependant pas récente. En effet, les romains utilisaient des nanoparticules d'or et d'argent pour donner un aspect esthétique à leur verre. Au VII^{ème} siècle, en Mésopotamie, les artisans utilisaient également ces mêmes nanoparticules pour donner de la brillance à leurs vernis (**Hemmerlin, 2014**).

C'est au cours des années 1985, avec la synthèse des fullerènes par Robert F. CURL, Harold W. KROTO et Richard E. SMALLEY, que le concept de nanosciences a été défini. Cependant, avec l'apparition de ces sciences de l'infiniment petit, le nouveau concept relève de l'étude des nanoparticules. En effet, outre leur aspect technologique, l'utilisation de ces dernières présente une source d'inquiétude du fait de leur toxicité sur la santé (**Liu et al., 1986 ; Smalley et Yakobson, 1998 ; Hemmerlin, 2014**).

1.2. Qu'est qu'une nanoparticule ?

Une nanoparticule est selon la norme ISO TS/27687 un nano-objet dont les trois dimensions sont à l'échelle nanométrique, c'est-à-dire une particule dont le diamètre nominal est inférieur à 100 nm environ (**Figure 1**) (**INRS 2008**).

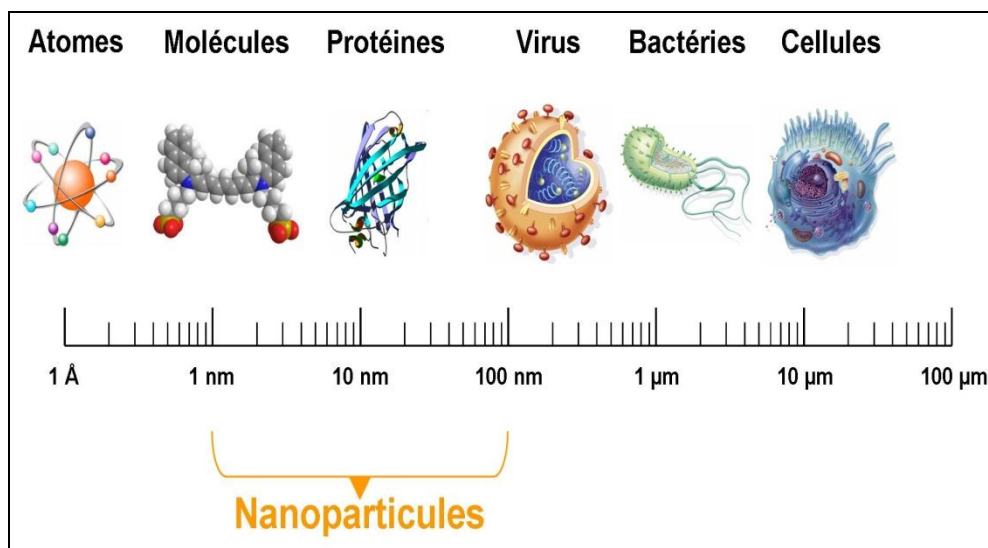


Figure 1: Gamme de tailles des nanoparticules comparées à celles des principales structures chimiques et biologiques (Tomalia, 2004; Icon, 2008)

1.3. Origines des nanoparticules :

Selon leurs origines, les nanoparticules sont classées en deux catégories :

1.3.1. Les nanoparticules naturelles :

Les nanoparticules sont présentes dans l'environnement depuis des milliards d'années, comme le noir de carbone («noir de carbone», charbon de bois), et d'autres particules inorganiques, comme l'argile ou l'oxyhydroxyde métallique (Bucheli, 2007 ; Nowack *et al.*, 2007). Ces nanoparticules sont issues de processus naturels (feux de forêts, éruptions volcaniques...) et existent dans l'atmosphère, le sol et l'eau.

1.3.2. Les nanoparticules artificielles :

Les nanoparticules (NPs) d'origine anthropogénique sont divisées en deux sous-familles différentes: les nanoparticules non intentionnelles (ou accidentelles) et intentionnelles (fabriquées). Comme leur nom l'indique, les nanoparticules accidentelles (NPA) sont dérivées des activités humaines et ont été découvertes accidentellement dans l'environnement (Murr *et al.*, 2004). Les nanoparticules artificielles (NPM) sont, toutefois, des produits synthétisés par l'homme pour des applications spécifiques. Dans la dernière catégorie, les NPs les plus connues sont: les nanotubes de carbone (CNT) et les fullerènes; les nanoparticules d'or et de fer; les oxydes d'argent et de titane ; les nanoparticules à base de polymère (comme le polyéthylène diol) (Ju-Nam *et Lead*, 2008).

1.4. Synthèse des nanoparticules :

Deux différentes méthodes peuvent être utilisées pour synthétiser des nanoparticules : la méthode ascendante et la méthode descendante.

Par l'approche ascendante (bottom-up), les nanoparticules sont construites atome par atome ou molécule par molécule jusqu'à l'obtention d'un objet aux propriétés particulières. Plusieurs stratégies sont possibles pour faire de tels matériaux : la synthèse chimique, l'auto-assemblage et l'assemblage par positionnement individuel en sont les principales (**Siegel et al., 1999**).

Dans l'approche descendante (top-down), une grande structure est graduellement sous-dimensionnée jusqu'à atteindre des dimensions nanométriques. La gravure à l'eau forte, l'ingénierie de précision, la lithographie et le broyage sont les approches les plus courantes (**Feigenbaum et al., 2004**).

2. La nanotoxicologie :

Afin de mieux répondre aux interrogations soulevées par l'utilisation croissante des nanoparticules, la nanotoxicologie se développe parallèlement aux nanotechnologies, et vise à en étudier la toxicité sur les systèmes vivants et l'environnement. La nanotoxicologie a non seulement pour objectif de développer des modèles d'études pour connaître les facteurs influençant la fréquence et la gravité des effets biologiques des nanoparticules, mais également de caractériser ces effets biologiques (**Triboulet, 2013 ; Kurtz-Chalot, 2014**).

2.1. Impacts toxicologiques et éco-toxicologiques des nanoparticules :

2.1.1. Devenir des nanoparticules dans l'environnement :

Une quantité de plus en plus importante de nanoparticules est introduite dans l'environnement et il est prévisible que le développement des nanotechnologies entraînera une augmentation du nombre et de la diversité de ces intrants. Ces derniers peuvent interagir avec les différents compartiments de l'environnement et perturber leurs populations. Il est donc primordial de connaître leur comportement et leur devenir dans l'air, l'eau et le sol. L'évaluation de leurs conséquences environnementales futures doit prendre en compte la nature et l'importance des sources, les mécanismes et voies de transfert (atmosphère, eaux de ruissellement, rejet direct), les compartiments de stockage (eau, sol, sédiments), les espèces

cibles et leurs relations (proie-prédateur) sur les différentes populations exposées (Colvin, 2003 ; Owen et Depledge, 2005).

Compte tenu de leur taille, les NPs pourraient être facilement dispersées par voie atmosphérique, transportées sur de très longues distances puis redéposées sur les sols ou les milieux aquatiques très loin de leur lieu d'émission (Larue, 2011). Dans l'eau, la structure physique des NPs peut être modifiée. Elles peuvent ainsi subir des phénomènes de dissolution, d'agglomération ou d'adsorption qui vont modifier leur surface et donc leurs propriétés (Larue, 2011) (Figure 2).

Dans la phase liquide du sol, le comportement des NPs est contrôlé par la chimie de la solution, et ses principales caractéristiques (le pH, la force et la composition ionique), ainsi que la présence de colloïdes organiques et inorganiques naturels dans la suspension (Yaron et al., 2015). Le dépôt de NPs dans le sol se produit principalement de deux manières différentes: (1) soit par un libre mouvement entre les agrégats (2) ou par un mouvement de diffusion dans l'espace des pores (Yaron et al., 2015). De plus, le dépôt de NPs dans le sol peut être le résultat d'interactions de surface entre les minéraux naturels (comme l'argile) et la matière organique (comme l'acide humique), ou par chélation directe dans les pores du sol (Yaron et al., 2015).

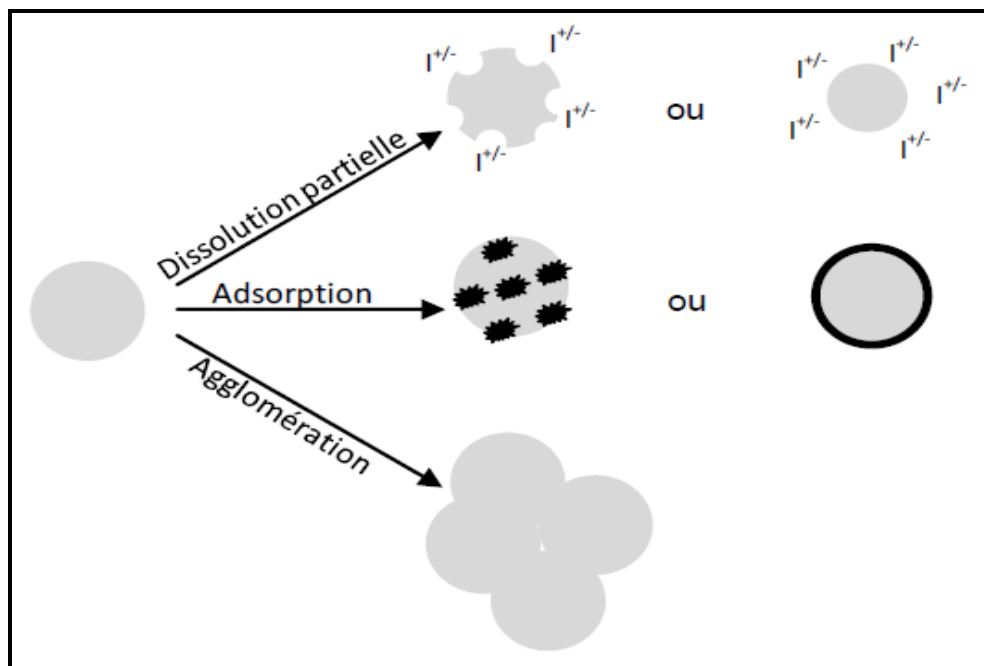


Figure 2 : Phénomènes pouvant altérer les nanomatériaux dans l'environnement (Larue, 2011).

2.1.2. Toxicité des nanoparticules sur la santé humaine

Déterminer les effets sur la santé d'une exposition aux nanoparticules n'est pas si simple. D'une part, les matériaux sont diversifiés, et d'autre part, il est difficile d'évaluer ces particules car elles ont des caractéristiques différentes des objets plus grands. De plus, les nanoparticules ont une énorme surface spécifique (rapport surface / masse), ce qui augmente leur capacité à interagir avec les organismes. Les nanoparticules sont connues pour avoir des niveaux d'interaction et de pénétration plus élevés que leurs homologues macroscopiques. Le danger potentiel provient de leur petite taille, ce qui leur permet de passer plus facilement à travers les cellules humaines, puis dans le sang et les organes internes. Ils peuvent même traverser les barrières protectrices du corps (peau, placenta, barrière hémato-encéphalique, etc.). Les nanoparticules peuvent également jouer le rôle de cheval de Troie pour d'autres polluants dans l'environnement. Certaines nanoparticules ont la propriété d'adsorber des molécules qui peuvent être toxiques à leur surface. Dans ces conditions, la toxicité n'est pas causée par la nanoparticule elle-même, mais par la substance transportée à sa surface (ANSES, 2014).

Même si la caractérisation et la quantification des NPs restent complexes, il est primordial d'étudier dès à présent la toxicité de ces substances puisqu'elles sont manipulées et commercialisées dans de nombreux secteurs d'activité. La pénétration des NPs peut survenir par dépôt sur la peau, par injection (pour le cas de « nano » médicament directement dans le sang), par inhalation d'air contaminé via le tractus respiratoire ou par ingestion d'eau ou d'aliments contaminés dans le tractus gastro-intestinal (Oberdrster et al., 2005).

Une fois dans la cellule, les NPs sont susceptibles de produire des ROS via la réaction de Fenton (Xia et al., 2009). En effet, de nombreux travaux mettent en avant la génération de stress oxydant sous l'effet de nanoparticules métalliques dans des souches cellulaires humaines : les Ag NP dans les cellules de l'épiderme (Arora et al., 2008), les TiO₂ NP dans les cellules épithéliales bronchiales (Park et al., 2008) et les CuO NP dans les cellules épithéliales du larynx (Fahmy et Cormier, 2009). La génération de ROS peut ainsi être à l'origine du déclenchement de processus de l'apoptose (Ahmad et al., 2012)

De plus, les NPs sont des sources probables de génotoxicité puisque leur taille leur permet de pénétrer les noyaux cellulaires et d'interagir directement avec l'ADN. Les dommages génotoxiques peuvent intervenir par lésion de l'ADN, ou en perturbant le bon fonctionnement de la mitose (Afsset, 2010). Ainsi, les NPs peuvent pénétrer dans les noyaux

cellulaires et entraîner une inhibition de la réplication, de la transcription et de la prolifération cellulaire. Des lésions de l'ADN peuvent intervenir indirectement par une déplétion en substances antioxydantes, via une perturbation de l'activité mitochondriales et/ou par l'inhibition des mécanismes de réparation de l'ADN. Les NPs peuvent également générer des composés oxydants provenant de l'endocytose et/ou de la phagocytose qui pénètrent dans le noyau et altèrent l'ADN (Chen et vonMikecz, 2005).

2.1.3. Toxicité des nanoparticules sur les végétaux aquatiques :

Sur la base des travaux scientifiques réalisés, il est évident que la plupart des nanoparticules sont toxiques pour les plantes à haute concentration.

Lorsque les nanoparticules interagissent avec la plante, la paroi cellulaire est la première barrière à franchir (Dietz et Herth, 2011). A partir de la paroi cellulaire, les nanoparticules peuvent se déplacer par endocytose (Etxeberria et al., 2006), ou encore, par transport symplastique vers les différents tissus végétaux (Ma et al., 2010). Récemment, Wong et al. (2016) ont proposé un modèle mathématique qui indique le mécanisme d'échange lipidique pour le transport des nanoparticules à l'intérieur des cellules végétales. L'étude a indiqué que la taille, la magnitude et le potentiel zêta sont essentiels pour déterminer le transport des nanoparticules à l'intérieur de la plante.

Les nanoparticules peuvent interférer avec le métabolisme des plantes de plusieurs manières, par exemple en fournissant des micronutriments (Liu et al., 2015), en régulant les gènes (Nair et Chung, 2014) ou encore en interférant avec les différents processus oxydatifs chez les plantes, ce qui entraîne une explosion oxydative (Hossain et al., 2015) (Figure 3). Elles peuvent interférer avec la chaîne de transport d'électrons des mitochondries et des chloroplastes, ce qui peut entraîner le sursaut oxydatif, observé par l'augmentation de la concentration de ROS (Dimkpa et al., 2013 ; Faisal et al., 2013 ; Jiang et al., 2014 ; Pakrashi et al., 2014 ; Cvjetko et al., 2017). De plus, Il a été précédemment rapporté que sous l'influence de différents facteurs de stress, le taux de fixation du carbone est limité, ce qui provoque une augmentation de la photo-inhibition qui conduit potentiellement le photosystème à une surproduction d'anions superoxydes (Foyer et Noctor, 2005).

Plusieurs rapports ont également montré une augmentation de la peroxydation lipidique et des dommages à l'ADN dans l'interaction plantes-nanoparticules (Atha et al., 2012 ; Belava et al., 2017 ; Cvjetko et al., 2017 ; Saha et Dutta Gupta, 2017). En outre,

l'augmentation de la production de ROS peut induire l'apoptose ou la nécrose des cellules végétales (Van Breusegem et Dat, 2006 ; Rastogi et Pospíšil, 2012 ; Faisal et al., 2013).

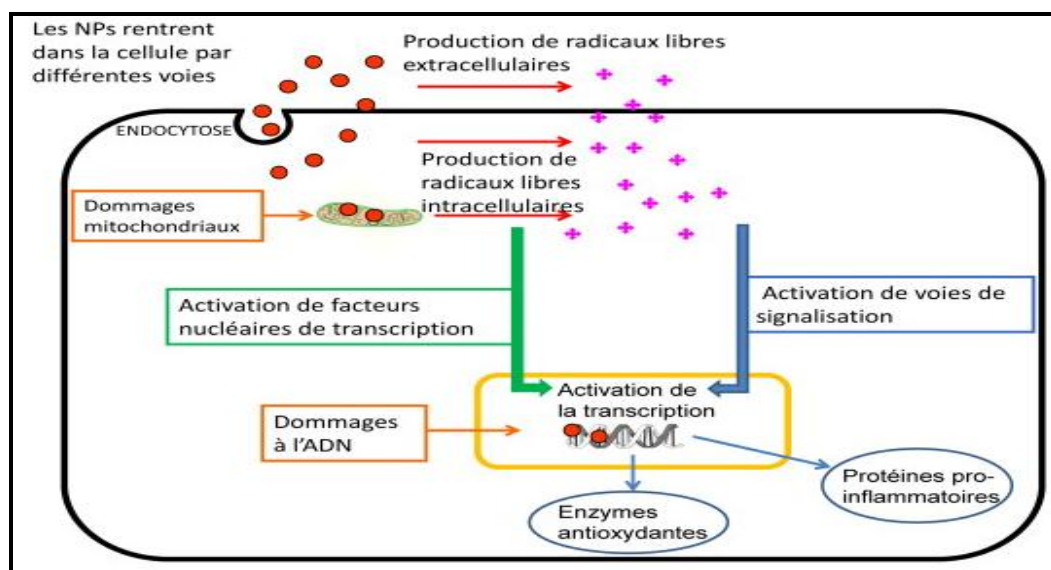


Figure 3: Mécanisme d'action des NPs au niveau cellulaire (Guadagnini, 2013)

3. Cas des nanoparticules d'oxydes de cuivre (CuO):

3.1. Présentation générale :

L'oxyde cuprique (CuO) est un semi-conducteur étroit de type p de bande interdite (1.2 - 1.85 eV), avec une structure cristalline monoclinique de groupe d'espace C2/c. Les paramètres de la maille élémentaire du CuO sont ($a = 4.6837 \text{ \AA}$, $b = 3.4226 \text{ \AA}$, $c = 5.1288 \text{ \AA}$, $\beta = 99.54^\circ$), cette maille comporte des ions Cu^{2+} coordonnés par quatre (4) ions O^{2-} dans une configuration planaire approximativement carrée (Figure 4). À cause de sa faible symétrie, CuO présente des propriétés ferroélectriques (Kimura et al., 2008).

Les nanoparticules de cuivre sont composées de cuivre de valence zéro mais il y a de fortes chances qu'il y ait rapidement une oxydation en Cu^+ et Cu^{+2} à leur surface. A l'échelle nano, d'autres caractéristiques apparaissent. En effet, de la couleur orange-marron brillant à l'état massif, on passe à une couleur rouge vin lorsque l'on observe une solution colloïdale de nanoparticules de cuivre. On observe également une sensibilité accrue à l'oxygène et à l'eau qui sont deux agents déstabilisants qui peuvent provoquer soit l'oxydation des nanoparticules et leur solubilisation en solution sous forme d'ions cuivriques, soit l'agrégation des particules et le retour au métal massif (Kimura et al., 2008).

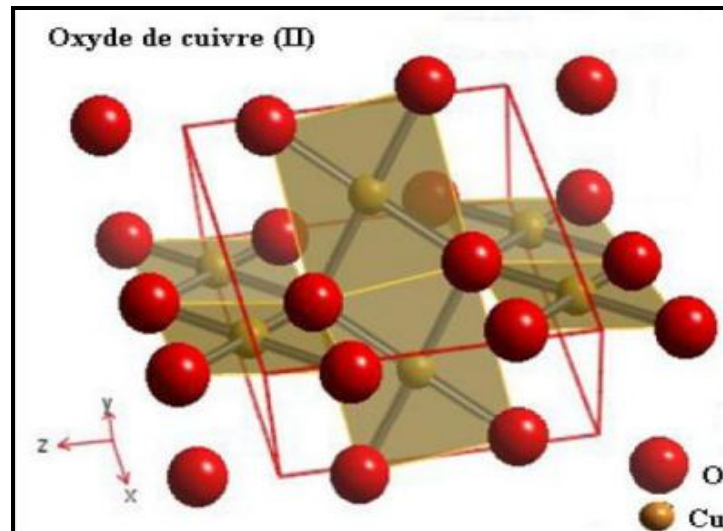


Figure 4 : Représentation schématique de la maille élémentaire de CuO. Les atomes d'oxygène (grandes sphères rouges) et les atomes de Cu (petites sphères jaunes) (**Dadoo, 2010**).

3.2. Domaines d'utilisation :

Les nanoparticules d'oxyde de cuivre sont utilisées dans différents domaines tel que : la biomédecine, la catalyse et en microélectronique comme détecteurs (**Kimura et al., 2008**).

L'industrie de la microélectronique utilise de nos jours le cuivre comme un matériau de choix pour la construction de ses circuits intégrés les plus performants. En effet, des études ont montré que les nanoparticules de cuivre ont des qualités uniques dues à leur importante surface spécifique, elles sont donc des candidats potentiels pour des applications dans le domaine des capteurs (**Kimura et al., 2008**).

Elles sont aussi connues pour leur pouvoir antibactérien. Les nanoparticules de cuivre sont efficaces comme agents antifongiques, antiviraux et anti-inflammatoires (**Zhang et al., 2017**).

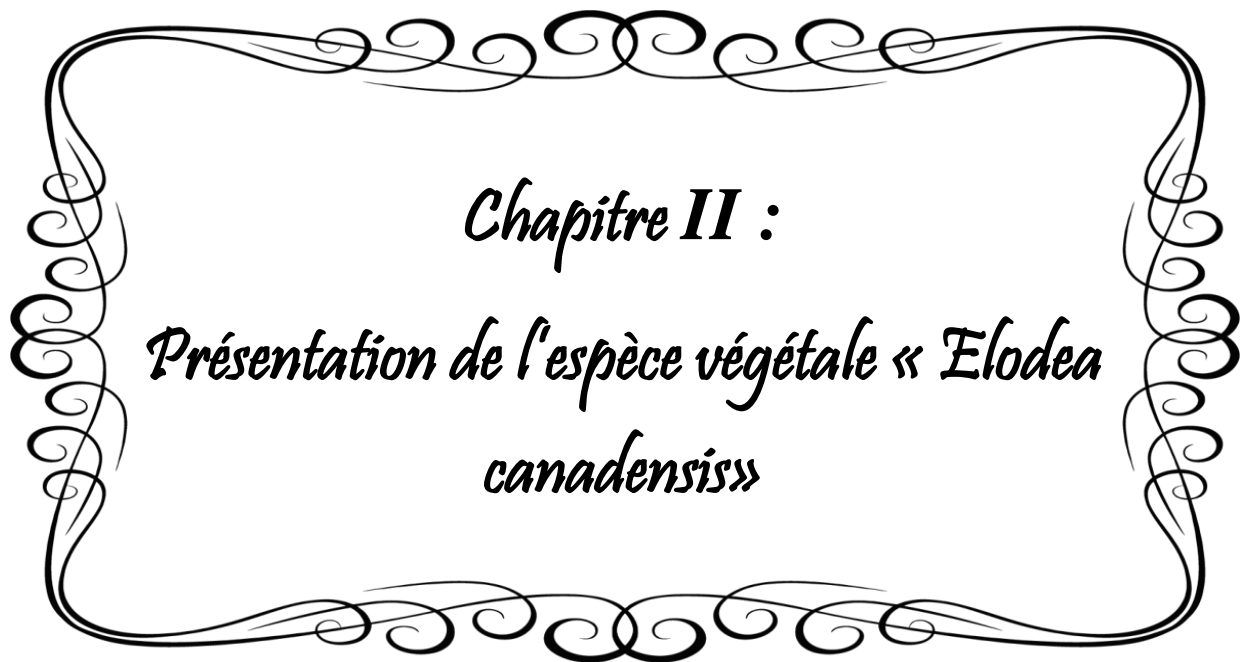
Les nanoparticules de cuivre sont intéressantes pour des applications électriques, telles que les films, pâtes, encres ou enduits conducteurs utilisés notamment en micro-électronique, mais aussi dans l'industrie automobile (**Arhin, 2006**).

3.3. Toxicité des nanoparticules d'oxydes de cuivre :

La toxicité des NPs de cuivre (Cu) et d'oxyde de cuivre (CuO) a été évaluée dans de nombreux modèles cellulaires et par diverses méthodes (**Karlsson et al., 2009; Midanderet al., 2009**).

Les nombreuses études tentant d'établir une relation dose/réponse ont révélé l'importance de la taille de la NP et/ou de sa surface. En effet, il semble évident que la taille nanométrique soit un élément important de la toxicité des nanoparticules à base de cuivre. Par conséquent, par rapport aux particules de l'ordre du micron ayant les mêmes propriétés, le taux de mortalité cellulaire causée par les nanoparticules est beaucoup plus élevé. Les dommages intracellulaires causés par les deux types de NPs sont également plus évidents. **(Karlsson et al., 2009; Midander et al., 2009).**

En outre, il a été démontré que les NPs de CuO produisent de hautes concentrations d'espèces réactives d'oxygènes (ERO) et altèrent les enzymes antioxydants (catalase, glutathion peroxydase) **(Fahmy et Cormier, 2009)**. Les NPs d'oxydes métalliques (CuO) entre dans les cellules et sont prises par les lysosomes. L'environnement acide des lysosomes cause la dégradation des NPs de CuO en ions de cuivre. Les ions de Cu catalysent la formation du radical hydroxyde qui s'attaque à l'ADN si proche du noyau **(Fahmy et Cormier, 2009; Karlsson et al., 2009).**



Chapitre II :
*Présentation de l'espèce végétale « Elodea
canadensis »*

1. Généralités sur les macrophytes aquatiques :

Les macrophytes aquatiques représentent un compartiment végétal constitué d'un assemblage de diverses plantes suffisamment grandes pour être visibles à l'œil nu, et adaptées à une vie partielle ou totale dans l'eau. Ce groupe comprend des bryophytes (mousses), des ptéridophytes (fougères), des sphénophytes (prêles), et des phanérogames (plantes à fleurs), aussi bien que des macroalgues comme les Characées. Néanmoins, les plantes à fleurs comprenant des monocotylédones et des dicotylédones constituent le groupe majoritaire (Haury et al., 2001).

Les macrophytes immergées, en tant qu'organismes sessiles, sont des éléments clés des écosystèmes aquatiques. En effet, elles ont des effets importants sur l'environnement à différents niveaux. D'un point de vue physique les macrophytes peuvent influencer les conditions de luminosité, de température, d'écoulement de l'eau, ou bien encore la stabilité du substrat. D'un point de vue chimique, elles ont des effets majeurs sur l'oxygénation de la colonne d'eau et les cycles biogéochimiques du carbone et des nutriments. En tant que source de nourriture (directe ou via l'épiphyton), mais aussi en tant qu'abris ou substrat, les macrophytes tiennent un rôle primordial dans le maintien de nombreuses espèces aquatiques (Carpenter et Lodge, 1986 ; Lewis, 1995). Les macrophytes sont aussi essentielles dans le maintien de la clarté des eaux stagnantes peu profondes (Sheffer et al., 1993 ; Coutris et al., 2011), car elles inhibent efficacement le développement du phytoplancton via l'émission de composés allélopathiques (Gross, 2003). Ainsi, en cas de réduction des macrophytes, il faut s'attendre à des impacts importants sur l'ensemble de l'écosystème mais aussi sur la qualité de l'eau (Lewis, 1995; Mohan et Hosetti, 1999).

2. Description générale d'*Elodea canadensis* :

L'élodée (du grec helôdês, qui signifie «des marais») est une angiosperme aquatique, de l'ordre des Hélobiales et de la famille des Hydrocharitacées (Figure 5). C'est une plante oxygénante originaire d'Amérique du Nord (Canada), et qui a été introduite involontairement en Europe au XIX^{ème} siècle. Cette plante est caractérisée par une croissance rapide, une multiplication par bourgeonnement et une culture facile par bouturage (Maury-Brachet et al., 1990; Kähkönen et Manninen, 1998; Chandra et Kulshreshtha, 2004; Fritioff et Greger, 2007).

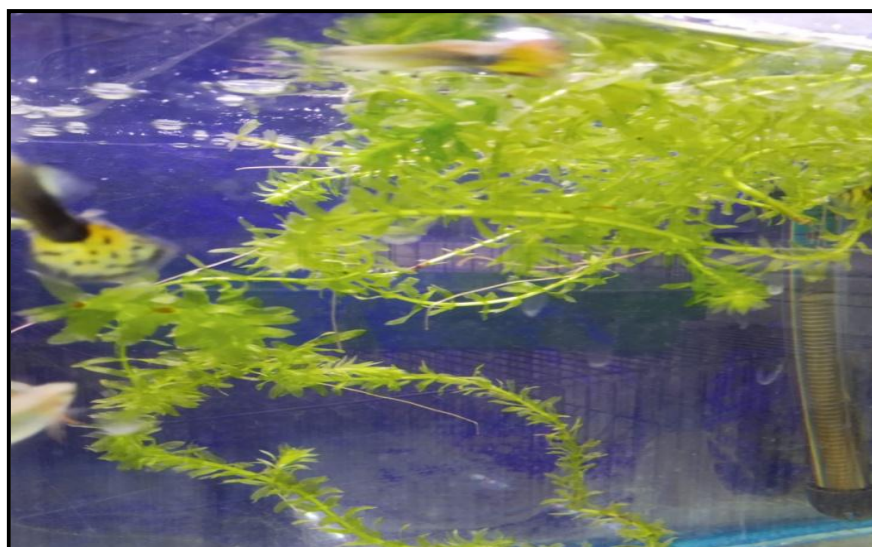


Figure 5 : *Elodea canadensis* (Photo personnelle)

Elodea canadensis est une plante submerge, vert sombre, dont la tige grêle, pouvant atteindre plusieurs mètres, est munie de petites feuilles sessiles et ovales verticillées par trois. Les racines se présentent sous forme d'Amas de racines adventives fibreuses partant de la jonction des feuilles (**Pieret et Delbart, 2007**). Les fleurs d'élodée sont unisexuées, composées de trois pétales et trois sépales identiques (symétrie radiaire) (**Pieret et Delbart, 2007**). Leurs fruits sont sous forme de capsules issues de 2 à 15 carpelles soudées entre elles, présentant généralement 6 loges et produisant 1 à 5 graines (**Pieret et Delbart, 2007**) (**Figure 6**).

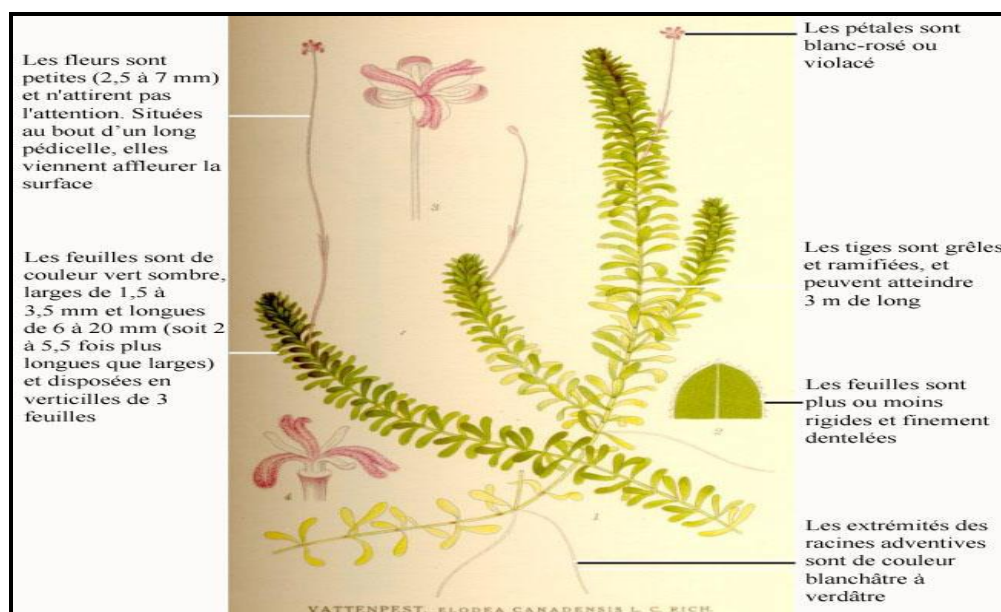


Figure 6 : Morphologie externe d'*Elodea canadensis*

(https://keyserver.lucidcentral.org/weeds/data/media/Html/elodea_canadensis.htm)

3. Classification taxonomique :

La classification taxonomique de la plante aquatique *Elodea canadensis* selon Michaux (1803) est résumée dans le tableau ci-dessous :

Tableau I: Classification taxonomique d'*Elodea canadensis* (Michaux, 1803)

	Termes scientifiques	Termes en français
Règne	<i>Plantae</i>	Plante
Embranchement	<i>Magnoliophyta</i>	Angiospermes
Classe	<i>Liliopsida</i>	Monocotylédones
Sous-classe	<i>Alismatidae</i>	Alismatidées
Ordre	<i>Hydrocharitales</i>	Hydrocharitales
Famille	<i>Hydrocharitaceae</i>	Hydrocharitacées
Genre	<i>Elodea</i>	Elodée
Espèce	<i>Canadensis</i>	

4. Répartition et écologie :

L'*Elodée* du Canada est une espèce présente dans les eaux douces relativement dormantes (étangs, lacs, eaux stagnantes, rivières, marais) et les estuaires des zones tropicales et tempérées (Apha et al., 1992). C'est une espèce cosmopolite dont la répartition est presque mondiale (Godfrey et Wooten, 1979).

Les sédiments limoneux et les eaux riches en éléments nutritifs favorisent la croissance des élodées dans les lacs fertiles. Toutefois, ces plantes sont capables de s'adapter à diverses conditions écologiques, des eaux profondes aux étangs peu profonds, et à différents types de sédiments (Zouainia, 2017). Elles tolèrent un pH de l'eau compris entre 6.7 et 7.5 et une température allant de 20 à 24 °C, mais ne supportent pas la sécheresse du sol, même passagère et ne tolèrent pas de situation ombragée ni la moindre trace de salinité dans le sol (D'agaro et al., 2004).

5. Reproduction:

Les élodées sont des plantes dioïques, à sexes séparés. Deux modes de reproduction peuvent être décrits :

5.1. Reproduction sexuée: En Europe, seuls les pieds femelles sont présents, donc ce mode de reproduction est quasiment inexistant (**Corolla et al., 2016**). *Elodea canadensis* fleurit rarement, de juin à aout, et ses fleurs femelles sont petites, mesurant de 2,5 à 7 mm de diamètre, produites sous l'eau et venant affleurer en surface au sommet de très longs pédicelles. Les pétales sont généralement blanchâtres (**Saint-Maxent, 2002**).

5.2. Reproduction asexuée (végétative): C'est le principal mode de reproduction de cette espèce. En Europe, elle se reproduit uniquement par fragmentation et bouturage des tiges (**Corolla et al., 2016**). Par cette méthode, la plante peut coloniser l'espace beaucoup plus rapidement, grâce à de bonnes capacités régénératrices (**FCBN, 2012**).

En automne, les plantes produisent des bourgeons spécialisés appelés hibernacles, résultant d'une diminution de l'allongement des entrenœuds, formant alors un bourgeon de feuilles densément groupées. Ces bourgeons finissent par se détacher assurant ainsi la survie de la plante en hiver et en même temps sa multiplication (**Corolla et al., 2016**).

6. *Elodea canadensis* comme espèce bioindicatrice de la qualité des eaux :

Mise à part leur caractère invasif, les élodées possèdent des caractéristiques très importantes et variées, ce qui leur offre un intérêt remarquable, favorisant ainsi leur utilisation comme bioindicateurs dans le domaine de biomonitoring des milieux aquatiques:

- Ce sont des espèces pratiquement résistantes à la mauvaise saison et se comportent comme des plantes vivaces dans les climats plus doux (**Zouainia, 2017**) ;
- Elles représentent un matériel d'étude apprécié en physiologie végétale en raison de leur facilité de manipulation au laboratoire et la simplicité de préparation, de coloration et d'observation microscopique de leurs différents tissus (**Zouainia, 2017**) ;
- Elles possèdent des systèmes foliaire et racinaire développés ainsi qu'une activité photosynthétique intense (**Tlidjen, 2014**).
- Elles font partie des plantes aquatiques utilisées pour le traitement des eaux résiduelles domestiques ou industrielles du fait de leurs performances d'épuration, de tolérance, d'accumulation et d'élimination de nombreux polluants organiques (comme les phénols, les

composés organochlorés et organophosphorés, les chlorobenzènes), d'éléments traces métalliques (Cu, Zn, Cd, Pb), et même de pesticides (**Dhir et al., 2009**).



Partie 2 :

*Synthèse de certaines recherches relatives à l'évaluation de la
toxicité des nanoparticules de CuO sur les macrophytes
aquatiques*

Synthèse de certaines recherches relatives à l'évaluation de la toxicité des nanoparticules de CuO sur les macrophytes aquatiques appartenant aux genres *Elodea* et *Lemna*

La nanotechnologie est considérée comme la première avancée technologique la plus importante du troisième millénaire (**Robert, 2012**). Compte tenu de son développement rapide, il est évident qu'il existe un risque croissant d'exposition humaine et environnementale aux différents nanomatériaux. Cependant, les données sur les effets potentiels et les mécanismes d'action toxique des nanoparticules sur les constituants des différents écosystèmes sont mal-connus (**Lément et al., 2013 ; Zhang et al., 2013**), notamment sur les plantes supérieures (**Nair et al., 2010 ; Song et al., 2012 ; Miralles et al., 2012**).

Ces dernières années, l'étude de la toxicité des nanoparticules d'oxyde de cuivre « CuO NP » sur les organismes aquatiques a attiré une attention considérable. En effet, plusieurs organismes aquatiques, tels que les poissons, les algues, les bactéries et les crustacés ont fait l'objet de nombreuses études mettant l'accent sur les effets néfastes des NPs de CuO à différents niveaux d'organisation biologique (**Kahru et Dubourguier, 2010 ; Gunawan et al., 2011 ; Zhao et al., 2011 ; Li et al., 2012**).

En plus de leur grande importance pour la production d'oxygène, le cycle des nutriments et le maintien de la stabilité des écosystèmes aquatiques (**Mohan et Hosetti, 1999**), les macrophytes sont considérés comme d'excellents bioindicateurs de la qualité de l'eau, et sont aujourd'hui de plus en plus utilisés dans les programmes de biomonitoring et de biorémédiation des sites pollués. Cependant, les effets toxiques des nanoparticules de CuO constituent à l'heure actuelle une source d'inquiétude en raison de la méconnaissance des interactions existantes entre ces nanoparticules et les macrophytes aquatiques. Dans ce contexte, le présent travail a pour objectif de réaliser une synthèse de certains articles scientifiques relatifs à l'évaluation de la toxicité des nanoparticules d'oxyde de cuivre (CuO) sur quelques macrophytes aquatiques à savoir ceux appartenant aux genres *Elodea* et *Lemna*.

Dans un premier temps, nous nous sommes intéressés aux travaux évaluant l'effet des NPs de CuO sur la croissance des macrophytes aquatiques. La qualité de la croissance peut ainsi être une réponse générale indiquant l'existence d'un effet délétère causé par les xénobiotiques, ce paramètre peut constituer de ce fait un outil pertinent pour la détermination de la toxicité des nanoparticules sur les plantes aquatiques.

Citons tout d'abord les travaux de **Song et al. (2016)** qui ont exposé la plante aquatique *Lemna minor* à différentes concentrations NPs de CuO, de CuO en vrac et d'ions Cu^{2+} libérés par les NPs de CuO dans le milieu de culture. Les résultats obtenus ont mis en évidence un effet inhibiteur significatif de tous les xénobiotiques testés sur la longueur des

Synthèse de certaines recherches relatives à l'évaluation de la toxicité des nanoparticules de CuO sur les macrophytes aquatiques appartenant aux genres *Elodea* et *Lemna*

racines de *L. mineur*, et ce à des concentrations supérieures ou égales à 10 mg/L. Selon ces chercheurs, les racines de toutes sortes de lentilles d'eau sont très tendres et, par conséquent, facilement endommageables. Les substances toxiques peuvent ainsi facilement pénétrer dans la racine, entraînant des dommages importants de leur structure et perturbant de ce fait leur croissance.

Les travaux de **Doğan Koca et al. (2018)** se sont également intéressés à comparer les effets phytotoxiques de différentes concentrations (0.2, 0.4, 0.8, 1.6, and 2 ppm) de nanoparticules d'oxyde de cuivre bio-synthétisées (à partir de la peau pomegranate « *Punica granatum* ») et de nitrates de cuivre sur la croissance d'*Elodea canadensis*. Les résultats obtenus ont ainsi révélé que les NPs de CuO avaient un effet inhibiteur sur la croissance, nettement plus faible que celui des nitrates de cuivre (CuNO₃). Ainsi, les valeurs moyennes du taux de croissance « RGR: Relatif Growth Rate » diminuaient de manière linéaire avec l'augmentation des concentrations de nitrate de cuivre. Cependant, les plantes exposées aux nanoparticules de CuO biosynthétisées ont montré une amélioration de leur taux de croissance, et ce chez *E. canadensis* exposée aux plus fortes concentrations du xénobiotique. Ce résultat pourrait être dû à une faible accumulation d'ions de cuivre dans cette plante. D'autres chercheurs comme **Gubbins et al. (2011)** ont également indiqué que la croissance et le développement de *L. minor* ont été proportionnellement inhibés par les particules d'argent ioniques. Cette inhibition s'intensifie avec l'augmentation des concentrations et de la durée d'exposition. Selon les études de **Dickinson et Scott (2010)**, il est possible de conclure que l'inhibition de la croissance observée chez les macrophytes aquatiques est le résultat de la production de ROS lors des processus photosynthétiques en raison du stress exercé par le cuivre.

Les concentrations des pigments photosynthétiques sont souvent mesurées pour évaluer l'impact de nombreux stress environnementaux. Nous nous sommes intéressés, donc, dans un second temps aux travaux rapportant l'effet des nanoparticules de CuO sur la teneur en chlorophylle et en caroténoïdes chez les macrophytes aquatiques.

La diminution de la chlorophylle constitue un des événements primaires chez les plantes soumises au stress métallique et résulte de l'inhibition des enzymes responsables de la biosynthèse de la chlorophylle (**Mysliwa-Kurdziel et Strazalka, 2002**). Dans ce sens, les études menées par **Moreira (2014)** ont montré que les feuilles (ou frondes) de lentilles d'eau *Landoltia punctata* exposées aux NPs de CuO ont des teneurs en chlorophylle a, en

Synthèse de certaines recherches relatives à l'évaluation de la toxicité des nanoparticules de CuO sur les macrophytes aquatiques appartenant aux genres *Elodea* et *Lemna*

chlorophylle b et en chlorophylle (a+b) nettement inférieures à celles des témoins. En effet, après 7 jours de traitement, une dépigmentation importante a été observée chez certaines de ces plantes traitées par les NPs de CuO comparativement aux plantes témoins. Selon **Moussa (2004) ; Burda et al. (2003)**, le stress induit par le cuivre diminue le taux d'assimilation du CO₂ provoquant des perturbations dans les processus de la photosynthèse, ainsi que la dégradation de la chlorophylle et l'inhibition de sa biosynthèse ; ce qui pourrait entraîner des perturbations dans le transport du flux d'électrons des photosystèmes PSI et PSII conduisant à la réduction de l'O₂ et à la génération de radicaux libres. De plus, les travaux de **Burzynski et al. (2004)** ont attribué l'inhibition de l'activité photosynthétique à un stress oxydatif ou inactivation de la ribulose biphosphate (RuBP) carboxylase, une enzyme clé dans la fixation photosynthétique du CO₂, en raison d'interaction du cuivre avec les groupements thiols (SH) des enzymes.

De même, **Prasad et al. (2001) ; Perreault et al. (2010)** ont signalé un fort jaunissement des feuilles de la lentille d'eau *Landoltia punctata* ainsi qu'une réduction des teneurs de la chlorophylle a et b, spécialement chez les plantes exposées aux plus fortes concentrations des nanoparticules de cuivre (0.1, 1 et 10g/L). Les résultats obtenus dans ces mêmes travaux montrent, par contre, une augmentation des teneurs en caroténoïdes après exposition aux NPs de cuivre. Cela pourrait être le reflet de la photoprotection et l'intervention du système antioxydant de la plante qui réagit face au stress causé par les NPs.

Doğan Koca et al. (2018) ont également rapporté une diminution significative des teneurs en chlorophylles (a et b) et en caroténoïdes chez *E. canadensis* exposée aux nitrates de cuivre. En revanche, une augmentation des pigments photosynthétiques a été notée chez la même espèce suite à une exposition aux NPs de CuO biosynthétisées. Selon **Davies (2003)**, l'augmentation de la teneur en pigments photosynthétiques pourrait être interprétée comme une réponse spécifique au métal.

Enfin et dans le but de mieux étayer notre étude, il nous a semblé judicieux de faire une lecture des travaux portant sur l'effet des nanoparticules d'oxyde de cuivre sur l'évolution des biomarqueurs de stress oxydatif chez les macrophytes aquatiques, à l'instar du malondialdéhyde (MDA), indice de peroxydation lipidique et des activités, catalase (CAT) et peroxydase (POD).

Synthèse de certaines recherches relatives à l'évaluation de la toxicité des nanoparticules de CuO sur les macrophytes aquatiques appartenant aux genres *Elodea* et *Lemna*

Les résultats relatifs au suivi des biomarqueurs du stress oxydatif dans les études de **Guanling et al. (2016)** ; **Song et al. (2016)** ; **Doğan Koca et al. (2018)** ont consolidé ceux obtenus sur la photosynthèse et la croissance des plantes aquatiques.

Concernant le malondialdéhyde (MDA), marqueur majeur de peroxydation lipidique, les travaux de **Song et al. (2016)** ont montré une augmentation dose-dépendante et significative des teneurs en MDA chez *L. minor* exposée aux concentrations croissantes de NPs de CuO, par rapport aux témoins, indiquant ainsi une dégradation membranaire des cellules végétales en raison de la forte production de ROS. **Doğan Koca et al. (2018)** ont également rapporté une augmentation du taux de MDA chez *E. canadensis* suite à une exposition à différentes concentrations de nitrates de cuivre et de nanoparticules d'oxyde de cuivre. Ces chercheurs ont souligné que les dommages oxydatifs causés par les nitrates de cuivre étaient plus intenses que ceux engendrés par les nanoparticules de CuO biosynthétisés. Ce résultat peut être interprété comme une stratégie de défense développée par la plante contre le stress métallique. Ainsi, l'étude des effets des NPs de CuO sur la teneur en MDA a révélé la capacité d'*E. canadensis* à détoxifier l'excès de ROS générées par les NPs. Cela pourrait être également lié aux propriétés antioxydantes des NPs de CuO.

En ce qui est des activités enzymatiques (CAT et POD), plusieurs travaux ont montré une augmentation significative de ces dernières chez les macrophytes aquatiques appartenant aux genres *Elodea* et *Lemna*, et ce après exposition aux nanoparticules de CuO (**Mallick, 2004, Hou et al., 2007 ; Guanling et al., 2016 ; Song et al., 2016 ; Doğan Koca et al., 2018**). En effet, l'intensification des activités enzymatiques indique une mise en place du système de défense antioxydant pour neutraliser l'excès de ROS générées.

Selon les travaux de **Song et al. (2016)**, une augmentation significative de l'activité CAT a été notée chez *Lemna mineur* exposée à une concentration de 10 mg/L de NPs de CuO par rapport au témoin. Notons que la CAT est l'une des plus importantes enzymes qui captent les ROS dans les cellules végétales. Cette enzyme est impliquée dans le piégeage du peroxyde d'hydrogène H₂O₂ et du radical superoxyde affectant la structure et le métabolisme cellulaires. La stimulation de l'activité CAT pourrait s'expliquer par un déclenchement des systèmes de détoxification en réponse à la surproduction d'H₂O₂. Ces résultats vont dans le même sens que ceux de **Doğan Koca et al. (2018)** qui ont rapporté une augmentation de l'activité CAT chez *E. canadensis* après exposition aux NPs de CuO. Par ailleurs, la concentration la plus élevée de NPs de CuO (à savoir 2 ppm) s'est révélée extrêmement toxique, en réduisant l'activité

Synthèse de certaines recherches relatives à l'évaluation de la toxicité des nanoparticules de CuO sur les macrophytes aquatiques appartenant aux genres *Elodea* et *Lemna*

CAT chez *E. canadensis*. Cela pourrait être dû au dépassement des systèmes de défense antioxydant et à l'inhibition complète des enzymes de détoxification, ce qui est en parfait accord avec les travaux de **Cho et Park (2000)**. Les mêmes résultats ont été également obtenus par **Mallick (2004)** et **Hou et al. (2007)** chez *E. densa* suite à une exposition aux ions de cuivre. Ces chercheurs expliquent cette diminution de l'activité CAT par l'inactivation de l'enzyme, en particulier, en raison de la substitution de l'ion Fe^{2+} dans son site actif par l'ion Cu^{2+} .

Les activités peroxydase (POD) élevées dans les plantes aquatiques ont été généralement liées à la tolérance aux polluants (**Lavid et al., 2001**). Les POD appartiennent ainsi au groupe des enzymes impliquées dans la croissance, le développement et les processus de sénescence des plantes. De même que la CAT, ses enzymes ont pour rôle d'éliminer l'excès d' H_2O_2 . Les travaux de **Guanling et al. (2016)** ont mis en évidence une augmentation significative de l'activité POD chez *L. minor* après exposition aux nanoparticules de CuO. En effet, les peroxydases interviennent dans les conditions de stress, car elles possèdent une importante capacité à éliminer les formes actives de l'oxygène, ce qui se traduit par une augmentation de leur activité suite à une exposition aux NPs (**Alayat, 2015**).



Conclusion et perspectives

En conclusion, il est évident que les nanoparticules d'oxyde de cuivre exercent un effet toxique à certaines concentrations chez les plantes aquatiques *E. canadensis* et *L. minor*. Les recherches consultées mettent en évidence la présence d'un stress oxydatif en réponse à l'accumulation des nanoparticules au niveau des tissus des macrophytes. Ce stress se traduit d'une part, par une inhibition de la croissance et une diminution des teneurs en pigments photosynthétiques (la chlorophylle et les caroténoïdes). D'autre part, la cytotoxicité des nanoparticules d'oxyde de cuivre s'est manifestée par une activation des systèmes de défense anti-oxydants se traduisant par une augmentation significative des activités enzymatiques CAT et POD, ainsi qu'une augmentation du taux de MDA, indiquant la survenue d'une peroxydation lipidique.

Notre travail reste préliminaire et doit être approfondi, il serait donc intéressant de :

- Réaliser une étude bibliographique plus exhaustive ;
- Réaliser des essais au laboratoire afin de mieux comprendre les interactions entre les nanoparticules d'oxyde de cuivre et les systèmes biologiques ;
- Evaluer le pouvoir épurateur de ces macrophytes aquatiques en analysant les paramètres physico-chimiques des eaux purifiées ;
- Employer divers tests de toxicité sur d'autres organismes aquatiques clés occupant différents niveaux trophiques.



Références bibliographiques

- **Afsset. (2010).** Les nanomatériaux. Evaluation des risques liés aux nanomatériaux pour la population générale et l'environnement. p 223.
- **Ahmad J., Ahamed M, Akhtar MJ, Alrokayan SA, Siddiqui MA, Musarrat J, Al Khedhairy AA. (2012).** Apoptosis induction by silica nanoparticles mediated through reactive oxygen species in human liver cell line HepG2. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 259 (2): 160-168.
- **Aimen B et Slimani R. (2016).** L'étude de stress oxydatif chez une plante aquatique. *Lemna minor*. Mémoire de master. Université de Larbi Tébessi -Tébessa. p 57.
- **Alayat A. (2015).** Etude de l'impact toxicologique de certains agents chimiques sur la qualité des céréales: Cas du blé et de l'orge. Thèse de Doctorat obtenue à l'Université de Badji Mokhtar – ANNABA, p78- 86.
- **ANSES. (2014).** Évaluation des risques liés aux nanomatériaux. Enjeux et mise à jour des connaissances.
- **Apha., (1992).** Am. Water Works Assoc. (AWWA). Water Environment Federation. (WEF) (1992). Standard methods for the examination of water and wastewater. 18^e éd., APHA, Washington, D.C.
- **Arhin D.D., (2006).** "Elaboration et caractérisation des couche mince" Thèse de doctorat, Université de Trento, Italie.
- **Arora S., Jain J., Rajwade M et Paknikar K.M. (2008).** Cellular responses induced by silver nanoparticles: In vitro studies. *Toxicology Letters* 179 (2): 93-100.
- **Atha DH, Wang H., Petersen EJ, Cleveland D., Holbrook RD, Jaruga P., et al. (2012).** Dommages causés à l'ADN par les nanoparticules d'oxyde de cuivre dans les modèles de plantes terrestres. *Environ. Sci. Technol.* 46, 1819–1827.
- **Belava V.N., Panyuta O.O., Yakovleva G.M., Pysmenna Y.M et Volkogon M.V. (2017).** The Effect of Silver and Copper Nanoparticles on the Wheat-Pseudocercospora herpotrichoides Pathosystem. *Nanoscale Res. Lett.* 12(1):250
- **Burda, C., Yongbing, L., Xiaobo, C., Anna C.S.S., John, S., and James L. G. (2003).** Enhanced Nitrogen Doping in TiO₂ Nanoparticles. *Nano Letters*, Vol. 3(8): 1049-1051
- **Burzynski M, and Ktobus G. (2004).** Changes of Photosynthetic Parameters in Cucumber Leaves under Cu, Cd, and Pb Stress, *Photosynthetica*, vol. 42, pp. 505–510.
- **Carpenter S.R., Lodge D.M. (1986).** Effects of submerged macrophytes on ecosystem processes. *Aquatic Botany* 26, 341 – 370.
- **Chandra P., Kulshreshtha K. (2004).** Chromium accumulation and toxicity in aquatic vascular plants. *Bot Rev* 70, 313-327.
- **Chaudhry Q., Schroder P., Werck-Reichhart D., Grajek W., Marecik R. (2002).** Prospects and limitations of Phytoremediation for the removal of persistent pesticides in the environment. *Environ Sci Pollut R* 9, 4-7.
- **Chen M., von Mikecz. (2005).** Formation of nucleoplasmic protein aggregates impairs nuclear function in responses to SiO₂ nanoparticles. *Experimental Cell Research*. 305 (1): 51-62.
- **Cho U.H., Park J.O. (2000).** Mercury-induced oxidative stress in tomato seedlings. *Plant Science* 156: 1-9.
- **Clément L., Hurel C., Marmier N. (2013).** Toxicity of TiO₂ nanoparticles to cladocerans, algae, rotifers and plants effects of size and crystalline structure. *Chemosphere* 90:1083–1090

- **Colvin V. L. (2003).** The potential environmental impact of engineered nanomaterials. *Nature biotechnology* 21, 10: 1166-1170.
- **Corolla, J.P., Ziemaski, F., Kupfer, M. (2016).** in : **DORIS: *Elodea canadensis*** Michaux.
- **Coutris C., Merlina G., Silvestre J., Pinelli E., Elger A. (2011).** "Can we predict community-wide effects of herbicides from toxicity tests on macrophyte species?" *Aquatic Toxicology* 101(1): 49-56.
- **Cvjetko P., Milošić A., Domijan AM., Vinković-Vrček I., Tolić S., Peharec-Štefanić P., et al. (2017).** Toxicité des ions argent et des nanoparticules d'argent enrobées différemment dans les racines d' *Allium cepa* . *Écotoxicol. Environ. Saf.* 137, 18–28.
- **D'agaro E., Renai B. & Gherardi F., 2004.** Evaluation of the American waterweed. (*Elodea canadensis* Michx.) as supplemental food for the noble crayfish, *Astacus astacus bull.* *Fr. Pêche Piscic.* 372-373: 439-445.
- **Dadoo D. (2010).** "Production et application des nanostructures d'oxyde de cuivre", Thèse de doctorat, Université de Trento-Italie.
- **Davies M.J. (2003).** Singlet oxygen-mediated damage to proteins and its consequences. *Biochem Biophys Res Commun.*; 305:761–770.
- **Dhir B., Sharmila P., Saradhi P, (2009).** Potential of aquatic macrophytes for removing contaminants from the environment. *Crit Rev Env Sci Tec* 39, 754-781.
- **Dickinson M., Scott T.B.** The application of zero-valent iron nanoparticles for the remediation of a uranium-contaminated waste effluent. *J Hazard Mater* 178:171–179.
- **Dietz K.J. et Herth S. (2011).** Nanotoxicologie végétale. *Trends Plant Sci.* 16, 582–589.
- **Dimkpa CO., McLean J.E., Martineau N., Britt D.W., Haverkamp R., Anderson A.J. (2013).** Les nanoparticules d'argent perturbent la croissance du blé (*Triticum aestivum* L.) dans une matrice de sable. *Environ. Sci. Technol* 47, 1082-1090. 10.1021 / es302973y
- **Etxeberria E., Gonzalez P., Pozueta-Romero J., et Romero J.P. (2006).** Absorption endocyttaire en phase fluide de nano-sphères artificielles et de points quantiques fluorescents par des cellules cultivées de sycomore: preuves de la distribution de solutés dans différents compartiments intracellulaires. *Signal d'usine. Comportement.* 1, 196–200. doi: 10.4161 / psb.1.4.3142
- **Fahmy B. et Cormier. (2009).** Copper oxide nanoparticles induce oxidative stress and cytotoxicity in airway epithelial cells. *Toxicology in Vitro* 23(7): 1365-1371.
- **Faisal M., Saquib Q., Alatar A.A, Al-Khedhairy A.A, Hegazy, A.K et Musarrat, J. (2013).** Dangers phytotoxiques des nanoparticules de NiO dans la tomate: une étude sur le mécanisme de la mort cellulaire. *J. Hazard. Mater.* 250–251, 318–332. doi: 10.1016 / j.jhazmat.2013.01.063
- **Doğan Koca F., Demirezen Yilmaz D., Duman F. & Ocsoy I. (2018).** Comparison of phytotoxic effects of bio-synthesised copper oxide nanoparticle and ionic copper on *Elodea canadensis*, *Chemistry and Ecology*, DOI: 10.1080/02757540.2018.149416
- **Fédération des Conservatoires Botaniques Nationaux (FCBN). (2012).** « Fiche *Elodea canadensis* » FCBN [en ligne]. [Consulté le 9 février 2017].
- **Feigenbaum D., Nsamirizi A., Desgagné B.S. (2004).** les nanotechnologies : leurs bénéfiques et leur risque potentiels, CIRANO Working Papers 2004s-44, CIRANO.

- **Foyer C.H, Noctor G. (2005).** Homéostasie redox et signalisation antioxydante: une interface métabolique entre la perception du stress et les réponses physiologiques. *Plant Cell* 17, 1866–1875. 10.1105 / tpc.105.0335
- **Fritioff A. et Greger M. (2007).** Fate of cadmium in *Elodea canadensis*. *Chemosphere* 67, 365-375.
- **Godfrey R.K. and J.W. Wooten. (1979).** Aquatic and wetland plants of the southeastern United States: Monocotyledons. University of Georgia, Athens. (ISBN 0-8203-0420-4)
- **Gross E.M. (2003).** Allelopathy of Aquatic Autotrophs. *Critical Reviews in Plant Sciences* 22, 313–339. doi: 10.1080/713610859
- **Gubbins E.J., Batty L.C., Lead J.R. (2011)** Phytotoxicity of silver nanoparticles to *Lemna minor* L. *Environ Pollut*;159:1551–1559.
- **Gunawan C., Teoh W.Y., Marquis C.P., Amal R. (2011).** Cytotoxic origin of copper (II) oxide nanoparticles: comparative studies with micron-sized particles, leachate, and metal salts. *ACS Nano* 5:7214–7225
- **Haury J., Peltre M.C., Muller S., Thiébaud G., Tremolieres M., Demars B., Barbe J., Dutartre A., Daniel H., Bernez I., Guerlesquin M., Lambert E. (2001).** Les macrophytes aquatiques bioindicateurs des systèmes lotiques. Intérêts et limites des indices macrophytiques (No. 87), Etude sur l'eau en France. Ministère de l'Ecologie et du développement durable, Paris, France
- **Hemmerlin M. (2014).** Toxicité de deux types de nanoparticules d'argent sur la cyanobactérie modèle: *Synechococcus elongatus* PCC 7942. Mémoire de master, Université de Lorraine, France, p 27.
- **Hossain Z., Mustafa G., et Komatsu S. (2015).** Réponses des plantes au stress des nanoparticules. *Int. J. Mol. Sci.* 16, 26644–26653.
- **Hou W., Chen X., Song G., et al.** Effects of Copper and Cadmium on Heavy Metal Polluted Waterbody Restoration by Duckweed (*Lemna minor*), *Plant Physiol. Biochem.*, 2007, vol. 45, pp. 62–69.
- **ICON. (2008).** Towards Predicting Nano-Biointeractions: An International Assessment of Nanotechnology Environment. Health and Safety Research Needs. *International Council on Nanotechnology*. Number 4. 1.80 p.
- **Institut national de recherche et de sécurité (INRS). (2008).** Les nanomatériaux, Paris
- **Jiang, HS, Qiu, XN, Li, GB, Li, W. et Yin, LY. (2014).** Les nanoparticules d'argent ont induit une accumulation d'espèces réactives de l'oxygène et une altération des systèmes antioxydants dans la plante aquatique *Spirodela polyrhiza*. *Environ. Toxicol. Chem.* 33, 1398-1405.
- **Ju-Nam Y. et Lead J.R. (2008).** Manufactured nanoparticles: An overview of their chemistry, interactions and potential environmental implications. *Science of The Total Environment* 400: 396-414.
- **Kähkönen M.A, Manninen P.K.G. (1998).** The uptake of nickel and chromium from water by *Elodea canadensis* at different nickel and chromium exposure levels. *Chemosphere* 36, 1381-1390.
- **Kahru A., Dubourguier H. (2010)** From ecotoxicology to nanoecotoxicology. *Toxicology* 269:105–119
- **Karlsson H. L., Gustafsson J., Cronholm P., and Moller L. (2009).** *Toxicology Letters* 188(2), p112.

- **Kimura T., Kimura Y., Sekio H., Nakamura T., Siegristet T. and Ramirez A.P. (2008).** Cupric oxide as an induced-multiferroic with high-TC. *Nature Materials* 7, 291-294.
- **Knauer K., Mohr S., Feiler U. (2008).** "Comparing growth development of *Myriophyllum* spp. In laboratory and field experiments for ecotoxicological testing." *Environmental Science and Pollution Research* 15(4): 322-331.
- **Kurtz-Chalot A. (2014).** Internalisation cellulaire et effets biologiques de nanoparticules fluorescentes de silice : Influence de la taille et de la fonctionnalisation de surface. Thèse de doctorat, École Nationale Supérieure des Mines de Saint-Étienne, France. p 143.
- **Larue C. (2011).** Impact des nanoparticules de TiO₂ et de nanotubes de carbone sur les végétaux. Thèse de doctorat, Institut des Sciences et Industries di Vivant et de l'Environnement, France, 227.
- **Lavid N, Schwartz A, Yarden O, Tel-Or E. (2001).** The involvement of polyphenols and peroxidase activities in heavy-metal accumulation by epidermal glands of waterlily (*Nymphaeaceae*). *Planta* 212, 323–331.
- **Lewis M.A. (1995).** Use of freshwater plants for phytotoxicity testing: a review. *Environmental Pollution* 87, 319 – 336.
- **Li Y., Zhang W., Niu J., Chen Y. (2012).** Mechanism of photogenerated reactive oxygen species and correlation with the antibacterial properties of engineered metal-oxide nanoparticles. *ACS Nano* 6:5164–5173
- **Liu R. et Lal R. (2015).** Potentiels des nanoparticules modifiées comme engrais pour augmenter les productions agronomiques. *Sci. Total Environ.* 514, 131–139. doi: 10.1016 / j.scitotenv.2015.01.104
- **Ma X., Geisler-Lee J., Deng Y., et Kolmakov A. (2010).** Interactions entre les nanoparticules fabriquées (ENP) et les plantes: phytotoxicité, absorption et accumulation. *Sci. Total Environ.* 408, 3053-3061.
- **Mallick N. (2004).** Copper-Induced Oxidative Stress in the Chloro_ phycean Microalga *Chlorella vulgaris*: Response of the Antiox_ idant System, *J. Plant Physiol.*, vol. 161, pp. 591–597.
- **Maury-Brachet E., Ribeyre F., Boudou A. (1990).** Actions and interactions of temperature and photoperiod on mercury accumulation by *Elodea densa* from sediment source. *Ecotox Environ Safe* 20, 141-155.
- **Midander K., Cronholm P., Karlsson H.L., Elihn K., Moller L., Leygraf C., and Wallinder I.O. (2009).** *Small* 5(3), 389-399
- **Miralles P., Church T.L., Harris A.T. (2012).** Toxicity, uptake, and translocation of engineered nanomaterials in vascular plants. *Environ Sci Technol* 46:9224–9239
- **Mohan BS, Hosetti BB. (1999).** Aquatic plants for toxicity assessment. *Environ Res Sec A* 81:259–274
- **Lalau C.M., Mohedano R de A., Schmidt., É.C. Bouzon Z. L., Ouriques L.C., dos Santos R.W., da Costa C.H., Vicentini D.S. et Matias W.G. (2014).** Toxicological effects of copper oxide nanoparticles on the growth rate, photosynthetic pigment content, and cell morphology of the duckweed *Landoltia punctata*. *Protoplasma*, 252:221–229.
- **Moussa HR. (2004).** Effect of cadmium on growth and oxidative metabolism of faba bean plants. *Acta. Agron. Hung*, 52, 269-276.

- **Murra L., Esquivel E., Bang J., De La Rosa G., et Gardea-Torresdey J. (2004).** Chemistry and nanoparticulate compositions of a 10,000 year-old ice core melt water. *Water Research* 38: 4282-4296.
- **Mysliwa-Kurdziel B., Strzalka K. (2002).** Influence of metals on biosynthesis of photosynthetic pigments. In: Physiology and Biochemistry of Metal Toxicity and Tolerance in Plants. Prasad, M.N.V. and K.Strzalka (Eds.). Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers, p201-227.
- **Nair R., Varghese S.H., Nair B.G., Maekawa T., Yoshuda Y., Kumar D.S. (2010).** Nanoparticulate material delivery to plants. *Plant Sci* 179:154–1643
- **Nair P.M. et Chung I.M. (2014).** Impact de l'exposition aux nanoparticules d'oxyde de cuivre sur la croissance d'*Arabidopsis thaliana*, le développement du système racinaire, la lignification des racines et les changements au niveau moléculaire. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 21, 12709–12022.
- **Nam D., Lee B., Eom I., Kim P & Yeo M.K. (2014).** Uptake and bioaccumulation of titanium- and silver-nanoparticles in aquatic ecosystems. *Molecular & Cellular Toxicology* 10(1): 9-17.
- **Nowack B., and Bucheli T.D. (2007)** Occurrence, Behavior and Effects of Nanoparticles in the Environment. *Environmental Pollution*, 150, 5-22.
- **Owen R. & Depledge M. (2005).** Nanotechnology and environment: risks and rewards. *Marine Pollution Bulletin.* 50: 609-612.
- **Oberdorster G., Maynard A., & Donaldson K. et al. (2005).** Principles for characterizing the potential human health effects from exposure to nanomaterials: elements of a screening strategy. *Part. Fibre Toxicol.*; 2:8.
- **Pakrashi S., Jain N., Dalai S., Jayakumar J., Chandrasekaran P.T, Raichur A.M., et al. (2014).** Évaluation de la génotoxicité *in vivo* des nanoparticules de dioxyde de titane par test de bout de racine *Allium cepa* à des concentrations d'exposition élevées. *PLoS ONE* 9: e87789.
- **Park E.J. Yi J., Chang K.H., Ryu DY., Choi J., Park K. (2008).** Oxidatives stress and apoptosis induced by titanium dioxide nanoparticles in cultured BEAS-2B cells. *Toxicology letters* 180 (3): 222-229.
- **Perreault F., Oukarroum A., Pirastru L., Sirois L., Matias W.G., Popovic R. (2010).** Evaluation of copper oxide nanoparticles toxicity using chlorophyll a fluorescence imaging in *Lemna gibba*. *J Bot.*
- **Pieret N., Delbart E. (2007).** Fiches descriptives des principales espèces de plantes invasives en zones humides FUSAGx-Ecologie. L'élodée du Canada – *Elodea canadensis* Michaux. Cellule d'appui à la gestion des plantes invasives. Proposition de méthodes de gestion préventives et actives de la problématique des plantes invasives aux abords des cours d'eau non navigables en Région wallonne.
- **Prasad M.N.V., Malec P., Waloszek A., Bojko M., Strzalka K. (2001).** Physiological responses of *Lemna trisulca* L. (duckweed) to cadmium and copper bioaccumulation. *Plant Sci.* 161, 881–889.doi:10.1016/S0168- 9452(01)00478-2.
- **Rajaonarivelo F.J., (2013).** La faisabilité de la phytoépuration des eaux usées dans la ville de Toliara. Mémoire de fin d'études pour l'obtention du diplôme d'études Approfondies en Biodiversité et Environnement. Faculté des Sciences. Université De Toliara.68 p.

- **Rastogi A., et Pospíšil P. (2012).** Production de peroxyde d'hydrogène et de radicaux hydroxyle dans le tubercule de pomme de terre pendant la phase nécrotrophique de l'infection hémibiotrophique pathogène *Phytophthora infestans*. *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* 117, 202-206.
- **Robert L.M. (2012).** Nano-technology and nano-toxicology. *Emerg Health Threats J* 5:17508
- **Roco M.C. (2005).** Environmentally responsible development of nanotechnology. *Environmental Science & Technology* 39(5), 106A-112A.
- **Saha N., et Dutta Gupta S. (2017).** Toxicité à faible dose des nanoparticules d'argent biogènes fabriquées par *Swertia chirata* sur les pointes des racines et les boutons floraux d'*Allium cepa*. *J. Hazard. Mater* 330, 18–28. doi: 10.1016 / j.jhazmat.2017.01.021
- **Saint-Maxent T., (2002).** Les espèces animales et végétales susceptibles de proliférer dans les milieux aquatiques et subaquatiques – Fiches synthèse espèces végétales. Agence de l'Eau Artois Picardie. p 144.
- **Scheffer M., Hosper S.H., Meijer M.L., Moss B., Jeppesen E. (1993).** Alternative equilibria in shallow lakes. *Trends in Ecology & Evolution* 8, 275–279. doi: 10.1016/0169- 5347(93)90254-M
- **Siegel E.G., et al. (1999).** Characterization of novel peptide agonists of the alpha mating factor of *Saccharomyces cerevisiae*. *Anal Biochem* 275(1):109-15.
- **Simonin M. (2015).** Dynamique, réactivité et écotoxicité des nanoparticules d'oxydes métalliques dans les sols : impact sur les fonctions et la diversité des communautés microbiennes. Thèse de doctorat, Université Claude Bernard Lyon 1, France, 198.
- **Smalley R.E., Yakobson B.I. (1998).** The future of the fullerenes. *Solid State Commun.* 107(11), 597-606.
- **Song G.L., Gao Y., Wu H., Hou W.H., Zhang C.Y., Ma H.Q. (2012).** Physiological effect of anatase TiO₂ nanoparticles on *Lemna Minor*. *Environ Toxicol Chem* 31:2147–2152
- **Song G., Wenhua H., Yuan G., Yan W., Lin L., Zhiwei Z., Qiang N., Rulin M., Lati M., and Haixia W. (2016).** "Effects Of Cu Nanoparticles On *Lemna Minor*". *Botanical Studies* 57 (1). southeastern United States: monocotyledons. University of Georgia Press, Athens. 712pp.
- **Tlidjen S. (2014).** Impact de xénobiotiques sur une végétation aquatique épuratrice des eaux usées : biométrie, aspect biochimique, enzymatique, métabolisme énergétique et cytotoxicité. Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar-Annaba, p141.
- **Tomalia D.A. (2004).** Birth of a new macromolecular architecture: dendrimers as quantized building blocks for nanoscale synthetic organic chemistry. *Aldrichimica Acta* 37 (2): 39-57.
- **Triboulet S. (2013).** Etude des effets de deux types de nanoparticules métalliques sur des macrophages murins par une approche protéomique. Université de Grenoble, France. p 341.
- **Van Breusegem F., Dat J.F. (2006).** Espèces réactives de l'oxygène dans la mort des cellules végétales. *Physiol végétal* 141, 384–390. 10.1104 / pp.106.078295
- **Xia T., Li N., Nel A.E. (2009).** Potential health impact of nanoparticles. *Annual Review of Public Health*, 30 (1): 2797-2801.

- **Zhang Q., Xu L., Wang J., Sabbioni E., Piao L., Di Gioacchino M., Niu Q. (2013).** Lysosomes involved in the cellular toxicity of nano-alumina: combined effects of particle size and chemical composition. *J Biol Regul Homeost Agents* 27:365–375
- **Zhang P., Song T., Wang T. and Zeng H. (2017).** “In-situ synthesis of Cu nanoparticles hybridized with carbon quantum dots spectrum photocatalyst for improvement of photocatalytic H₂ evolution” applied catalysis. *Applied Catalysis B: Environmental* 206, 328–335.
- **Zhao J., Wang Z., Liu X., Xie X., Zhang K., Xing B. (2011).** Distribution of CuO nanoparticles in juvenile carp (*Cyprinus carpio*) and their potential toxicity. *J Hazard Mater* 197:304–310
- **Zouainia S. (2017).** Evaluation de la toxicité de deux métaux lourds (Cadmium et Zinc) sur le métabolisme énergétique (Respiratoire et photosynthétique) d’une plante aquatique «*Elodea canadensis*». Thèse de doctorat en sciences. Université Badji Mokhtar-Annaba. P 74.

Sites internet :

- <https://images.app.goo.gl/tZSqfUqeA13TmZBs6>
- https://keyserver.lucidcentral.org/weeds/data/media/Html/elodea_canadensis.htm