



**Projet SEDITERRA (N°CUP : I42F17000010006)**



**ATTIVITÀ T2.3 : PILOTI DI TRATTAMENTO DEI SEDIMENTI NON IMMERGIBILI**  
**ACTIVITE T2.3 : PILOTES DE TRAITEMENTS DE SÉDIMENTS NON IMMERGEABLES**

**PRODOTTO T2.3.4 - TRATTAMENTO DI MYCOREMEDIATION**

**LIVRABLE T2.3.4 - TRAITEMENT PAR MYCOREMÉDIATION**



**ANNÉE 2019 / ANNO 2019**

<p><b>Nom du livrable :</b></p> <p><b>Nome del deliverable :</b></p>	<p>Traitement par mycoremédiation</p> <p>Trattamento di mycoremediation</p>
<p><b>Redatto da :</b></p>	<p>Grazia Cecchi, Greta Vagge</p>
<p><b>Vérifié par / Verificato da :</b></p> <p><b>Validé par / Validato da :</b></p> <p><b>Mise en forme finale / Formattazione finale</b></p>	<p>Laura Cutroneo</p> <p>Marco Capello, Mirca Zotti</p> <p>Erwan Tessier (INSA de Lyon)</p>



**ORGANISATION DU DOCUMENT :**

RÉSUMÉ DU LIVRABLE EN FRANÇAIS ET EN ITALIEN

SYNTHÈSE DES RÉSULTATS OBTENUS EN FRANÇAIS ET EN ITALIEN

LIVRABLE T2.3.4 (en italien)

LIVRABLE T2.3.4 (en français)

**ORGANIZZAZIONE DEL DOCUMENTO :**

RIASSUNTO DEI CONTRIBUTI IN FRANCESE E ITALIANO

SINTESI DEI RISULTATI OTTENUTI IN FRANCESE E ITALIANO

DELIVERABLE T2.3.4 (in italiano)

DELIVERABLE T2.3.4 INTEGRALE (in francese)

## SOMMAIRE GÉNÉRAL

<b>I.</b>	<b>RÉSUMÉ DU LIVRABLE</b>	<b>5</b>
<b>II.</b>	<b>RIASSUNTO DEL DELIVERABLE</b>	<b>6</b>
<b>III.</b>	<b>SYNTHÈSE DES RÉSULTATS OBTENUS</b>	<b>7</b>
<b>IV.</b>	<b>SINTESI DEI RISULTATI OTTENUTI</b>	<b>12</b>
<b>V.</b>	<b>DELIVERABLE T1.3.5</b>	<b>17</b>
	5.1) <b>AZIONE PILOTA DI MYCOREMEDIATION</b>	<b>17</b>
	5.2) <b>MATERIALI E METODI</b>	<b>18</b>
	5.3) <b>PROTOCOLLO DI MONITORAGGIO</b>	<b>28</b>
	5.4) <b>RISULTATI</b>	<b>32</b>
	5.5) <b>ANALISI DELL'EFFICACIA E DEI LIMITI DEL TRATTAMENTO</b>	<b>63</b>
	5.6) <b>COMPONENTE ECONOMICA</b>	<b>66</b>
	5.7) <b>CONCLUSIONI E PROSPETTIVE</b>	<b>67</b>
<b>VI.</b>	<b>LIVRABLE T1.3.5</b>	<b>68</b>
	6.1) <b>ACTION PILOTE DE MYCOREMÉDIATION</b>	<b>68</b>
	6.2) <b>MATÉRIELS ET MÉTHODES</b>	<b>69</b>
	6.3) <b>PROTOCOLE DE SUIVI</b>	<b>79</b>
	6.4) <b>RÉSULTATS</b>	<b>83</b>
	6.5) <b>ANALYSE DE L'EFFICACITÉ ET DES LIMITES DU TRAITEMENT</b>	<b>115</b>
	6.6) <b>COMPOSANTE ÉCONOMIQUE</b>	<b>117</b>
	6.7) <b>CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES</b>	<b>118</b>

## I. RÉSUMÉ

Les sédiments dragués représentent un important problème de gestion. Dans le cadre du projet Interreg Italie-France Maritime 2014-2020 : « SEDITERRA - Lignes Directrices pour le traitement durable des sédiments de dragage de l'Aire Marittimo » (CUP I42F17000010006), les partenaires du projet ont identifié différentes méthodes ayant pour objectif de réduire la contamination qui, en règle général, caractérise ce type de sédiments portuaires. Le laboratoire DISTAV de Gènes (Dipartimento di Scienze della Terra, dell'Ambiente e della Vita) a ainsi proposé de tester la technique de mycoremédiation via l'utilisation de micromycètes potentiellement capables de dégrader les polluants organiques et de bio-accumuler les métaux lourds afin de favoriser la décontamination de sédiments dragués. Ce rapport présente en détail toutes les informations concernant l'activité pilote de mycoremédiation réalisée par DISTAV dans le cadre du projet SEDITERRA. Les sédiments testés ont été collectés dans les ports ou les zones de dragage présents sur les sites géographiques des partenaires, en particulier : Gènes, Livourne, Pise, Cagliari, Centuri et Toulon. Après une brève introduction sur l'action pilote de mycoremédiation (partie 1), un chapitre sur les matériaux et méthodes (partie 2) est fourni, énumérant les méthodologies utilisées pour la caractérisation physico-chimique et fongique des sédiments traités et les procédures utilisées en laboratoire pour réaliser l'activité pilote. La partie 3 décrit le protocole de surveillance mis en œuvre, tandis que la partie 4 traite des résultats des activités de mycoremédiation. Dans les parties 5 et 6 a été réalisée une analyse de l'efficacité et des limites du traitement et une analyse des coûts associés de l'activité de mycoremédiation ; enfin les conclusions sont présentées dans la Partie 7.

## II. RIASSUNTO

I sedimenti dragati rappresentano un importante problema di gestione. Nell'ambito del Progetto Europeo Interreg Marittimo Italia-Francia 2014-2020 "SEDITERRA - Linee guida per il trattamento dei sedimenti dragati nell'area Marittimo" (CUP I42F17000010006), i partner del Progetto hanno proposto diverse metodologie utili a diminuire il tenore di inquinanti che generalmente caratterizza questo tipo di sedimenti. Nello specifico, il Dipartimento di Scienze della Terra, dell'Ambiente e della Vita (DISTAV), partner del Progetto, ha proposto di utilizzare i microfunghi per attuare la decontaminazione dei sedimenti dragati, tecnica che prende il nome di mycoremediation. Infatti, i microfunghi sono in grado di degradare gli inquinanti organici e accumulare metalli pesanti permettendo la decontaminazione del sedimento. Il presente elaborato fornisce in dettaglio tutte le informazioni riguardanti l'azione pilota di mycoremediation realizzata dal DISTAV nell'ambito del Progetto SEDITERRA. I sedimenti trattati sono stati prelevati nei porti o nelle aree di dragaggio presenti nei siti in cui risiedono i partner del Progetto e nello specifico : Genova, Livorno, Pisa, Cagliari, Centuri e Tolone. In seguito ad una breve introduzione sull'azione pilota di mycoremediation (Parte 1), è riportato un capitolo riguardante i Materiali e metodi (Parte 2) in cui sono elencate le metodologie utilizzate per la caratterizzazione fisico-chimica e della flora fungina dei sedimenti trattati e le procedure utilizzate per l'allestimento del laboratorio per svolgere l'attività pilota. Nella Parte 3 è descritto il protocollo di monitoraggio, mentre nella Parte 4 sono discussi i risultati dell'attività di mycoremediation. Infine, nelle Parti 5 e 6 è stata realizzata un'analisi dell'efficacia e dei limiti del trattamento e un'analisi dei costi dell'azione pilota di mycoremediation ; le conclusioni sono riportate nella Parte 7.

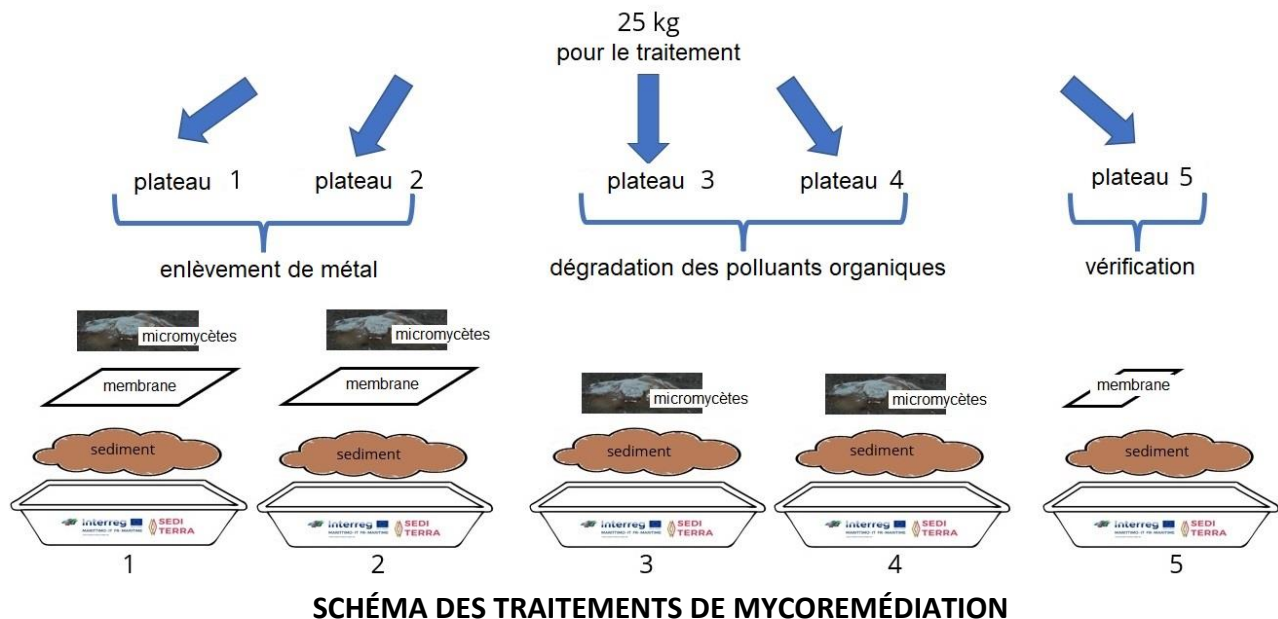
### III. SYNTHÈSE DES RÉSULTATS OBTENUS

#### Action pilote de mycoremédiation

Afin d'améliorer les caractéristiques chimiques des sédiments dragués dans les ports en vue d'une réutilisation future, le laboratoire DISTAV de l'Université de Gênes a proposé l'activité pilote de traitement des sédiments par mycoremédiation. La mycoremédiation fait partie des traitements connus sous le nom de bioremédiation, une alternative "verte" aux méthodes traditionnelles de traitement des polluants dans les sédiments et les eaux.

#### Matériels et méthodes

A partir des sédiments dragués dans les ports de Gênes, Livourne, Cagliari, Centuri, Toulon et du Canal Navicelli de Pise, l'activité a d'abord été initiée par la caractérisation de la flore fongique présente dans chacun de ces sédiments afin de sélectionner les espèces indigènes à utiliser pour mener les expérimentations de mycoremédiation. Pour chaque site, 25 kg de sédiment ont été divisés en 5 plateaux et traités avec des micromycètes pour éliminer les métaux (plateaux 1 et 2 avec une membrane pour séparer les micromycètes des sédiments et pouvoir les éliminer) et pour la dégradation des hydrocarbures (HAP et HCT (C> 12)) et les PCB (plateaux 3 et 4). Dans le plateau 5, le sédiment n'a pas été inoculé avec les micromycètes et a été conservé comme témoin.



#### Protocole de surveillance

Pour évaluer l'efficacité du traitement, les analyses chimiques ont été effectuées quatre fois de suite sur les sédiments et sur les membranes, respectivement au moment de l'inoculation / 15 jours / 30 jours / et 60 jours après l'inoculation (temps 0/1/2/3). Les analyses métalliques dans les sédiments ont été effectuées à la fois dans les premiers centimètres des sédiments en contact étroit avec la membrane et sur la couche de sédiment sous-jacente.

### SEDIMENTS DE GENES, CAGLIARI, LIVOURNE ET PISE

#### Analyses chimiques



1

Métaux sur:  
- sédiment  
- membrane  
IPA, C>12, PBC sur:  
- sédiment



2

Métaux sur:  
- sédiment  
- membrane  
IPA, C>12, PBC sur:  
- sédiment



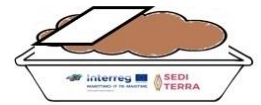
3

IPA, C>12, PBC sur:  
- sédiment



4

IPA, C>12, PBC sur:  
- sédiment



5

Métaux sur:  
- membrane  
IPA, C>12, PBC sur:  
- sédiment

### SEDIMENTS DE CENTURI

#### Analyses chimiques



1 e 2

Métaux sur:  
- sédiment  
- membrane  
Org-Inorg sur  
- sédiment



5

Métaux sur:  
- membrane  
Org-Inorg sur  
- sédiment

### SEDIMENTS DE TOULON

#### Analyses chimiques



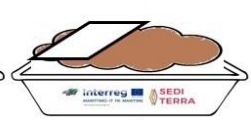
1 e 2

Métaux sur:  
- sédiment  
- membrane  
IPA, C>12 sur:  
- sédiment



3 e 4

IPA, C>12 sur:  
- sédiment



5

Métaux sur:  
- membrane  
IPA, C>12 sur:  
- sédiment

### SCHÉMA D'ANALYSE CHIMIQUE ET DES TEMPS RÉALISÉS SUR LES SÉDIMENTS DE GÈNES, CAGLIARI, LIVOURNE, PISE, CENTURI ET TOULON.

#### Résultats

Les résultats des analyses chimiques effectuées au temps 0 (au moment de l'inoculation des micromycètes dans le sédiment) et au temps 3 (à la fin du traitement, après 60 jours) sur les métaux dans les sédiments des premiers centimètres sous la membrane sont résumés ci-dessous (moyenne des résultats obtenus dans les plateaux 1 et 2 traités pour l'élimination des métaux).



Métal (mg kg <sup>-1</sup> )	Gênes Temps 0	Livourne Temps 0	Pise Temps 0	Cagliari Temps 0	Centuri Temps 0	Toulon Temps 0
Al	6800	4800	29000	4100	11000	4700
Sb	1.2	<1	6.7	2.7	<1	
As	8	<5	<5	12	<1	<1
Cd	0.42	<0.3	22	1.9	<1	<1
Cr tot	55	8.7	320	8.2	470	<1
Fe	15000	6900	23000	7200	26000	<1
Mn	650	100	500	89	300	110
Hg	0.32	<0.3	0.59	<0.3	<1	<1
Ni	31	8.4	57	5.6	320	<1
Pb	59	<3	60	97	<1	35
Cu	15	<10	110	40	74	65
Zn	62	<15	590	210	36	51

Métal (mg kg <sup>-1</sup> )	Gênes Temps 3	Livourne Temps 3	Pise Temps 3	Cagliari Temps 3	Centuri Temps 3	Toulon Temps 3
Al	6000	8000	11500	4750	9750	<1
Sb	<1	1.15	5.25	3.25	<1	
As	5.4	6.2	2.5	13.5	<1	555
Cd	0.32	0.45	15.50	1.45	<1	<1
Cr tot	56.5	43.0	210	7.7	580	<1
Fe	16500	15000	21000	5150	7350	<1
Mn	595	335	400	74	<1	<1
Hg	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3	<1	<1
Ni	36.5	35.5	53.5	4.5	340	<1
Pb	27	13	42	110	<1	2100
Cu	31	36	71	49	27.5	<1
Zn	76	68	345	205	29	<1

### Analyse de l'efficacité et des limites du traitement :

En suivant la stratégie d'évaluation pondérée de la qualité et de la dangerosité des sédiments décrite dans le Décret Ministériel Italien 173/2016, une évaluation quantitative de l'efficacité de la mycoremédiation sur les sédiments traités a été réalisée. Selon la valeur limite L1 (niveau chimique de référence le plus bas), avant traitement (Temps 0), les sédiments de Gênes présentent une contamination (HQ<sub>c</sub>) élevée en métaux (rouge), Pise et Cagliari une contamination très élevée (noir). Selon la valeur limite L2 (niveau chimique de référence le plus élevé), les sédiments de Gênes ont une contamination absente (blanc), Cagliari une contamination moyenne (jaune) et Pise une contamination très élevée (noire).

Après le traitement (au Temps 3), une amélioration générale de la qualité des sédiments est observée. Pour Gênes cependant, l'amélioration s'est limitée à une réduction de classe de contamination pour la L1 : d'une forte contamination à une contamination modérée).

Temps 0	Gênes	Pise	Cagliari
HQ <sub>C</sub> sur L1	8.16	117.23	16.08
HQ <sub>C</sub> sur L2	0.51	44.85	6.39
Temps 3	Gênes	Pise	Cagliari
HQ <sub>C</sub> sur L1	4.59	80.27	14.86
HQ <sub>C</sub> sur L2	0.46	30.76	5.88

S'agissant des sédiments de Livourne, Centuri et Toulon, il n'a pas été possible de calculer le quotient de danger (HQ<sub>C</sub>) des sédiments car les concentrations en métaux considérées par la législation dépassant les limites de détection au Temps 0 étaient trop peu nombreuses et auraient donné des résultats non significatifs. En ce qui concerne les HAP, tous les sédiments ont présenté une contamination initiale négligeable et l'évaluation n'a donc pas été appliquée.

L'évaluation de la qualité a mis en évidence une amélioration de la qualité des sédiments après la mycoremédiation, néanmoins insuffisante pour abaisser la classe de risque sédimentaire à un niveau acceptable pour une réutilisation éventuelle. Cela pourrait signifier que pour des niveaux élevés de contamination métallique, comme dans le cas des sédiments de Pise, l'effet positif de la mycoremédiation, ou alors le temps du traitement appliqué, n'étaient pas suffisants pour permettre une réutilisation possible des sédiments.

### Composante économique

La mycoremédiation des sédiments ne nécessite pas d'investissements importants par rapport aux autres procédures mises en œuvre pour la décontamination des sédiments, car elle ne nécessite ni l'utilisation, ni la location, de machines particulièrement coûteuses. Cependant, il faut disposer de grands espaces si elle s'applique à de grands volumes et à de longues périodes de temps. Le coût le plus élevé est lié aux analyses chimiques à effectuer pour contrôler le bon déroulement du traitement et au personnel dédié au traitement. Dans le cas de l'action pilote réalisée, le coût moyen est d'environ 18 000 € pour chaque traitement individuel d'une durée de deux mois sur 30 kg de sédiment, matériels, analyses et personnel compris.

### **Conclusions et perspectives**

La mycoremédiation effectuée a permis la caractérisation mycologique d'un environnement particulier et la sélection des micromycètes marins indigènes utilisables dans les processus de bioremédiation de sédiments de dragage contaminés.

Les faibles niveaux de contamination constatés sur presque tous les sites du projet ont montré que les micromycètes peuvent être potentiellement utilisés même dans le traitement des contaminations résiduelles, en particulier des métaux.

Ce projet doit encore être développé pour faciliter son utilisation à grande échelle et directement *in situ*, en l'adaptant à chaque type de sédiment à traiter et en essayant de rendre applicable dans toutes les conditions climatiques.

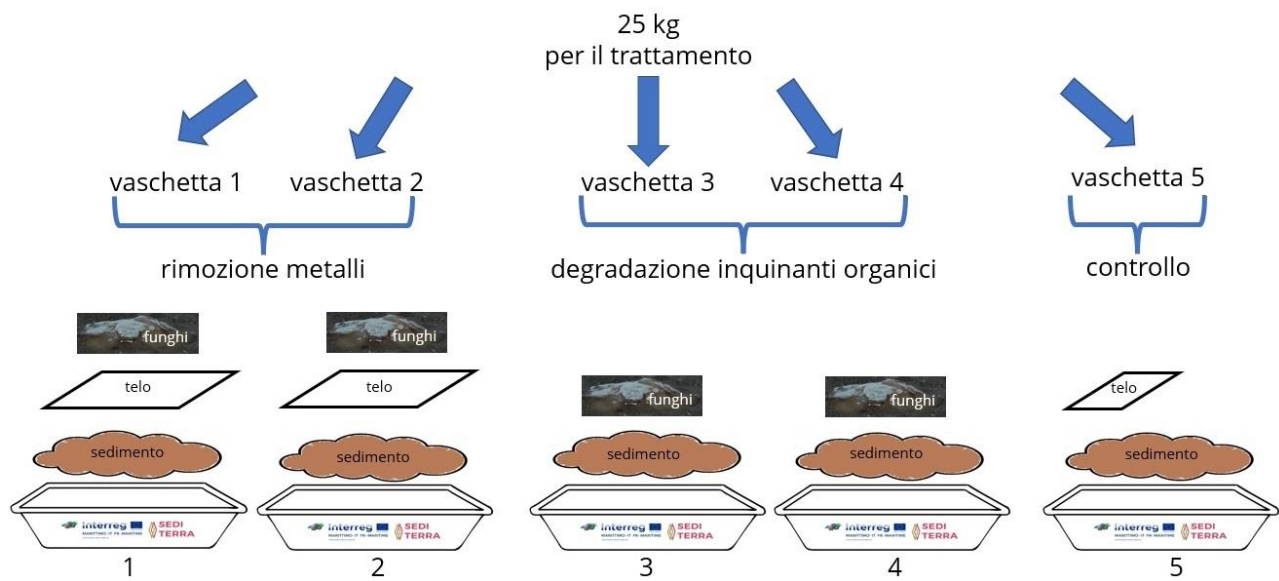
## IV. SINTESI DEI RISULTATI OTTENUTI

### Azione pilota di mycoremediation

Nell’ottica di migliorare le caratteristiche chimiche dei sedimenti dragati dai porti per un loro futuro riutilizzo, il DISTAV dell’Università di Genova ha proposto l’attività pilota di trattamento dei sedimenti tramite mycoremediation. La mycoremediation fa parte dei trattamenti noti come *bioremediation*, una alternativa “verde” ai tradizionali metodi di trattamento degli inquinanti presenti nei sedimenti e nelle acque.

### Materiali e metodi

A partire dal sedimento dragato dai porti di Genova, Livorno, Cagliari, Centuri e Tolone e dal Canale Navicelli di Pisa, l’attività ha previsto prima la caratterizzazione della flora fungina presente all’interno di ciascun sedimento, per la selezione in ciascun sito di specie indigene da applicare nel trattamento. Per ogni sito, 25 kg di sedimento sono stati suddivisi in 5 vaschette e trattati con microfunghi per la rimozione dei metalli (vaschette 1 e 2 con telo per mantenere separati i funghi dal sedimento e poterli quindi rimuovere) e per la degradazione degli idrocarburi (IPA e C>12) e i PCB (vaschette 3 e 4). Nella vaschetta 5, il sedimento non è stato inoculato con i microfunghi ed è stato mantenuto come controllo.



**Schema del trattamento.**

### Protocollo di monitoraggio

In quattro tempi consecutivi (Tempo 0: al momento dell’inoculo; Tempo 1: dopo 15 gg dall’inoculo; Tempo 2: dopo 30 gg dall’inoculo; Tempo 3: dopo 60 giorni dall’inoculo) sono state effettuate le analisi chimiche sui sedimenti e sul telo per valutare l’efficacia del trattamento. Le analisi chimiche sui metalli nel sedimento sono state fatte sia nei primi centimetri di sedimento a stretto contatto con il telo, sia sullo strato di sedimento sottostante.

### SEDIMENTI DI GENOVA, CAGLIARI, LIVORNO E PISA

#### Analisi chimiche



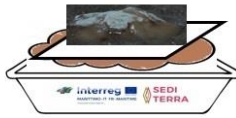
1

Metalli su:

- sedimento
- telo

IPA, C>12, PCB su:

- sedimento



2

Metalli su:

- sedimento
- telo

IPA, C>12, PCB su:

- sedimento



3

IPA, C>12, PCB su:

- sedimento



4

IPA, C>12, PCB su:

- sedimento



5

Metalli su:

- telo

IPA, C>12, PCB su:

- sedimento

### SEDIMENTI DI CENTURI

#### Analisi chimiche



1 e 2

Metalli su:

- sedimento
- telo

Inorg-Org su:

- sedimento



5

Metalli su:

- telo

Inorg-Org su:

- sedimento

### SEDIMENTI DI TOLONE

#### Analisi chimiche



1 e 2

Metalli su:

- telo
- sedimento

IPA, C>12 su:

- sedimento



3 e 4

IPA, C>12 su:

- sedimento



5

Metalli su:

- telo

IPA, C>12 su:

- sedimento

### SCHEMA DELLE ANALISI CHIMICHE E DELLE TEMPISTICHE REALIZZATE SUI SEDIMENTI DI GENOVA, CAGLIARI, LIVORNO, PISA, CENTURI E TOLONE.

#### Risultati

Di seguito sono riassunti i risultati delle analisi chimiche effettuate al Tempo 0 (al momento dell'inoculo dei funghi nel sedimento) e al Tempo 3 (alla fine del trattamento, dopo 60 gg) sui metalli nel sedimento dei primi centimetri sotto il telo nelle vaschette (media dei risultati ottenuti nelle vaschette 1 e 2) trattate per la rimozione dei metalli.

Metallo (mg kg <sup>-1</sup> )	Genova Tempo 0	Livorno Tempo 0	Pisa Tempo 0	Cagliari Tempo 0	Centuri Tempo 0	Tolone Tempo 0
Al	6800	4800	29000	4100	11000	4700
Sb	1.2	<1	6.7	2.7	<1	
As	8	<5	<5	12	<1	<1
Cd	0.42	<0.3	22	1.9	<1	<1
Cr tot	55	8.7	320	8.2	470	<1
Fe	15000	6900	23000	7200	26000	<1
Mn	650	100	500	89	300	110
Hg	0.32	<0.3	0.59	<0.3	<1	<1
Ni	31	8.4	57	5.6	320	<1
Pb	59	<3	60	97	<1	35
Cu	15	<10	110	40	74	65
Zn	62	<15	590	210	36	51

Metallo (mg kg <sup>-1</sup> )	Genova Tempo 3	Livorno Tempo 3	Pisa Tempo 3	Cagliari Tempo 3	Centuri Tempo 3	Tolone Tempo 3
Al	6000	8000	11500	4750	9750	<1
Sb	<1	1.15	5.25	3.25	<1	
As	5.4	6.2	2.5	13.5	<1	555
Cd	0.32	0.45	15.50	1.45	<1	<1
Cr tot	56.5	43.0	210	7.7	580	<1
Fe	16500	15000	21000	5150	7350	<1
Mn	595	335	400	74	<1	<1
Hg	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3	<1	<1
Ni	36.5	35.5	53.5	4.5	340	<1
Pb	27	13	42	110	<1	2100
Cu	31	36	71	49	27.5	<1
Zn	76	68	345	205	29	<1

### Analisi dell'efficacia e dei limiti del trattamento

Seguendo la strategia di valutazione ponderata della qualità e della pericolosità dei sedimenti riportata nel D.M. Italiano 173/2016, è stata fatta una valutazione quantitativa dell'efficacia della mycoremediation sui sedimenti trattati. Considerando il valore limite L1 (il livello chimico di riferimento più basso), prima del trattamento (Tempo 0) i sedimenti di Genova avevano un'alta contaminazione di metalli (rosso), Pisa e Cagliari una contaminazione (HQ<sub>c</sub>) molto alta (nero). Considerando L2 (il più alto livello chimico di riferimento), i sedimenti di Genova avevano una contaminazione assente (bianco), Cagliari una contaminazione media (giallo), e Pisa una contaminazione molto elevata (nero).

Dopo il trattamento (al Tempo 3), c'è stato un miglioramento generale dei sedimenti, ma solo per Genova il miglioramento è corrisposto ad una riduzione della classe di contaminazione per L1 (da alta a media contaminazione).

<b>Tempo 0</b>	<b>Genova</b>	<b>Pisa</b>	<b>Cagliari</b>
HQ <sub>C</sub> su L1	8.16	117.23	16.08
HQ <sub>C</sub> su L2	0.51	44.85	6.39
<b>Tempo 3</b>	<b>Genova</b>	<b>Pisa</b>	<b>Cagliari</b>
HQ <sub>C</sub> su L1	4.59	80.27	14.86
HQ <sub>C</sub> su L2	0.46	30.76	5.88

Per quanto riguarda i sedimenti di Livorno, Centuri e Tolone, non è stato possibile calcolare la pericolosità dei sedimenti in quanto le concentrazioni dei metalli (tra quelli considerati dalla normativa) che superavano i limiti di detezione al Tempo 0 erano troppo pochi e avrebbero dato risultati non significativi. Per quanto riguarda gli IPA, tutti i sedimenti riportavano una contaminazione trascurabile iniziale e quindi la valutazione non è stata applicata.

La valutazione della qualità ha mostrato quindi un miglioramento dei sedimenti dopo la mycoremediation, anche se non tale da abbassare la classe di rischio dei sedimenti a una condizione accettabile per un eventuale riutilizzo. Ciò potrebbe significare che per alti livelli di contaminazione dei metalli, come nel caso dei sedimenti di Pisa, l'effetto positivo del mycoremediation o il tempo del trattamento non sono stati sufficienti per ottenere un possibile riutilizzo dei sedimenti.

### **Componente economica**

La mycoremediation dei sedimenti non richiede investimenti in importanti infrastrutture rispetto ad altre procedure che sono messe in atto per la decontaminazione dei sedimenti, in quanto non richiede l'uso o il noleggio di macchinari particolarmente costosi. Ha però la necessità di avere a disposizione grandi spazi se applicata sui grandi volumi e tempo. Il costo maggiore è quello relativo alle analisi chimiche da effettuare per il controllo del corretto avanzamento del trattamento e al personale dedicato al trattamento. Nel caso dell'azione pilota svolta, il costo medio è di 18.000 € circa per ogni singolo trattamento della durata di due mesi su 30 kg di sedimento, comprensivo di materiali, analisi e personale.

### Conclusioni e prospettive

La mycoremediation effettuata ha permesso la caratterizzazione micologica di un particolare ambiente estremo e la selezione di ceppi fungini marini autoctoni impiegabili in processi di biorisanamento dei sedimenti dragati contaminati.

I bassi valori di contaminazione riscontrati in quasi tutti i siti hanno messo in evidenza come i funghi siano potenzialmente impiegabili anche in trattamenti di contaminazioni residue soprattutto metalliche. Tale progetto deve ancora essere perfezionato per favorire il suo utilizzo su ampia scala e direttamente *in situ*, adattandolo ad ogni tipologia di sedimento da trattare e cercando di renderlo applicabile con qualunque condizione climatica.



## V. DELIVERABLE T2.3.4 - TRATTAMENTO DI MYCOREMEDIATION

### 5.1) AZIONE PILOTA DI MYCOREMEDIATION

I sedimenti marini dragati rappresentano un importante problema in termini di gestione. I dragaggi si rendono necessari principalmente per permettere la navigabilità all'interno dei porti : durante queste attività sono prelevati grandi volumi di sedimento che devono poi essere smaltiti a causa del contenuto di inquinanti organici e inorganici. Per questo motivo, nel passato, i sedimenti dragati erano considerati rifiuti speciali e il loro smaltimento era problematico : stoccaggio in siti *ad hoc*, riposizionamento in canyon sottomarini (*capping*) ecc. Inoltre, nel caso in cui il tenore di inquinanti non fosse elevato, i sedimenti potevano essere riutilizzati, anziché smaltiti, per effettuare il riempimento degli spazi portuali (casce di colmata) al fine di creare nuove banchine o nuovi piazzali all'interno del porto stesso. Oggi, i sedimenti non sono più considerati un rifiuto ma una risorsa e, pertanto, materiale da valorizzare per essere reimpiegato nella costruzione di strade o altre opere. La valorizzazione richiede che il sedimento sia trattato per diminuire o eliminare il contenuto di inquinanti, solo così può essere riutilizzato. Per questa ragione, nel tempo, sono state sviluppate diverse strategie (*sediment washing, bioremediation, ecc.*) utili a questo scopo. In particolare, le strategie di *bioremediation* consistono nella stimolazione e nello sfruttamento di microorganismi componenti dei cicli biogeochimici naturali. Questi microorganismi sono in grado di degradare gli inquinanti organici e bio-immobilizzare quelli inorganici (metalli) attraverso processi biologici che realizzano naturalmente. Nell'ambito del Progetto Europeo Interreg Marittimo Italia-Francia 2014-2020 "SEDITERRA - Linee guida per il trattamento dei sedimenti dragati nell'area Marittimo", il Dipartimento di Scienze della Terra, dell'Ambiente e della Vita (DISTAV), partner del Progetto, ha proposto di utilizzare i microfunghi per attuare la decontaminazione dei sedimenti dragati, questa tecnica prende il nome di mycoremediation.

I funghi sono microorganismi pionieri in grado di sopravvivere in condizioni estreme e di colonizzare ogni tipo di ambiente, incluso il mare. I microfunghi in mare possono essere definiti obbligati o facoltativi. I microfunghi marini obbligati crescono e si riproducono solo in ambiente marino o di estuario, mentre i microfunghi marini facoltativi (detti *marine derived fungi*) provengono da ambienti terrestri o fluviali e sono in grado di crescere e probabilmente anche di riprodursi in ambiente marino. I microfunghi, per le loro proprietà metaboliche, secernono enzimi e acidi organici che possono interagire con gli inquinanti. Infatti, sono in grado di bioconcentrare, bioaccumulare e biostabilizzare i metalli pesanti e di degradare gli inquinanti organici, quali Idrocarburi Policiclici Aromatici (IPA), idrocarburi pesanti (idrocarburi con un numero di atomi di carbonio >12 ; C>12) e policlorobifenili (PCB). Gli IPA e gli idrocarburi pesanti sono degradati in composti più semplici e, insieme ai PCB sono sfruttati come nutrimento dai microfunghi.

Ciò ha suggerito la possibilità di impiegare dei ceppi fungini per decontaminare i sedimenti inquinati dei porti. Nell'ambito del Progetto, l'attività di mycoremediation del DISTAV è stata portata a termine sui sedimenti prelevati da 6 aree differenti : porto di Genova, cassa di colmata del porto di Livorno, Canale dei Navicelli di Pisa, cassa di colmata del porto di Cagliari, porto di Centuri e porto di Tolone. Nello specifico, per ciascun sito sono stati campionati 30 kg di sedimento successivamente sottoposti al processo di mycoremediation. Inizialmente, l'attività ha previsto la caratterizzazione della flora fungina autoctona, presente all'interno di ciascun sedimento. In base alle informazioni contenute in bibliografia, sono state selezionate le specie di microfunghi, individuate all'interno dei sedimenti di ciascuna area, più efficienti nella degradazione dei composti organici e nell'accumulo dei metalli. Infine, le specie indigene selezionate in ciascun sito sono state sfruttate per valutare la capacità di questi microrganismi di diminuire o eliminare gli inquinanti presenti nei sedimenti da cui sono state estratte. La caratterizzazione della flora fungina è stata svolta al fine di utilizzare i microfunghi naturalmente presenti in ciascuna area senza introdurre nuove specie, in vista della possibile applicazione del protocollo di mycoremediation direttamente in ambiente.

La presente Relazione riporta il protocollo utilizzato durante l'attività di mycoremediation svolta dal DISTAV nell'ambito del Progetto SEDITERRA.

## 5.2) MATERIALI E METODI

Nell'ambito dell'attività di mycoremediation, sono stati saggiati i sedimenti provenienti da 6 aree differenti, quattro italiane e due francesi : porto di Genova, cassa di colmata del porto di Livorno, Canale dei Navicelli di Pisa, cassa di colmata del porto di Cagliari, porto di Tolone e porto di Centuri (**Tabella 2.1**). Nello specifico, i sedimenti prelevati dalle casse di colmata (casi di Livorno e Cagliari) sono stati esposti alle condizioni atmosferiche per lunghi periodi di tempo, i sedimenti prelevati nel Canale dei Navicelli di Pisa sono salmastri e i sedimenti del porto di Centuri sono caratterizzati dalla presenza di Posidonia Oceanica. Questi ultimi, sono stati trattati solo per quanto riguarda i metalli pesanti, in quanto, in fase di caratterizzazione dei sedimenti (attività T2.1, Prodotto T2.1.1 realizzata da INSA e ISPRA, Partner del Progetto), il contenuto di inquinanti organici è risultato vicino o inferiore al limite di rilevabilità degli strumenti e, pertanto, tale da non permettere un'efficiente valutazione dell'azione dei microfunghi. Tuttavia, vista la presenza di Posidonia Oceanica in questi sedimenti, è stata valutata l'azione dei microfunghi sulla degradazione di questi residui vegetali. Infine, i PCB non sono stati analizzati nei sedimenti del porto di Tolone durante l'attività di mycoremediation poiché in fase di caratterizzazione (attività T2.1, Prodotto T2.1.1 realizzata da INSA e ISPRA, Partner del Progetto) questi composti sono risultati tutti inferiori al limite di rilevabilità.

Ognuno dei 6 campioni di sedimento è stato sottoposto allo stesso protocollo indicato di seguito, ad eccezione dei sedimenti del porto di Centuri come precedentemente menzionato.

**Tabella 2.1** Siti di provenienza dei sedimenti saggiati durante l'attività di mycoremediation svolta dal DISTAV.

Sito	Provenienza del sedimento trattato
Genova	Fondale del porto
Livorno	Cassa di colmata del porto
Pisa	Fondale del Canale dei Navicelli di Pisa
Cagliari	Cassa di colmata del porto
Centuri	Fondale del porto
Tolone	Fondale del porto

Complessivamente, l'attività di mycoremediation ha previsto lo svolgimento di diverse analisi. In ciascuna delle aree campionate sono stati prelevati 30 kg di sedimento, ogni campione è stato dapprima omogeneizzato e, successivamente, sono state prelevate le seguenti aliquote di sedimento :

- 5 g per la caratterizzazione micologica del sedimento e quindi per la selezione dei microfunghi per l'attività di mycoremediation
- 215 g per la caratterizzazione fisica del sedimento
- 1.5 kg per la caratterizzazione chimica del sedimento
- 25 kg per svolgere l'attività di mycoremediation (15 Kg per quanto riguarda il porto di Centuri).

L'attività di mycoremediation specificatamente dedicata alla valutazione dell'efficacia dei microfunghi nella rimozione dei metalli pesanti ha previsto l'utilizzo di un telo, anch'esso sottoposto ad alcune delle analisi chimiche previste durante l'attività.

### 5.2.1 Caratterizzazione della flora fungina, selezione dei microfunghi e preparazione dell'inoculo

L'aliquota per la caratterizzazione della flora fungina, 5 g, è stata prelevata, riposta in una *falcon* di plastica e in seguito analizzata : per ciascun sedimento, sono state selezionate le specie di microfunghi, tra quelle individuate, più efficaci nella degradazione degli inquinati organici e nell'accumulo di metalli pesanti sulla base delle informazioni contenute in bibliografia. La caratterizzazione della flora fungina e la selezione delle specie più adatte allo scopo prefissato hanno permesso di sfruttare i microfunghi naturalmente presenti all'interno di ciascun sedimento in modo tale da non introdurre specie aliene anche nell'ottica di poter utilizzare questo tipo di trattamento direttamente in ambiente. Il protocollo di caratterizzazione della flora fungina e i criteri di selezione delle specie più adatte all'attività di mycoremediation sono presentati nel dettaglio di seguito.

I ceppi fungini sono stati isolati dai sedimenti mediante il metodo delle diluizioni in Piastra. Il campione è stato diluito in acqua sterile in proporzione 1:10 (w/v). In seguito ad agitazione meccanica per 10-20 min, la soluzione ottenuta è stata a sua volta diluita tramite un fattore 10. In ciascuna piastra Petri è stato inoculato 1 mL di sospensione. Infine, le piastre sono state incubate per una settimana al buio a una temperatura di 24 °C. Per favorire la crescita fungina sono stati utilizzati dei terreni di coltura specifici, addizionati con antibiotici in modo da limitare la crescita di ceppi batterici. Settimanalmente sono state contate le colonie fungine e i morfotipi sono stati isolati in colture pure in provetta. A questo punto, mediante approccio polibacico, si è proceduto all'identificazione morfologica e molecolare dei ceppi isolati.

Una volta identificate correttamente tutte le specie trovate, si sono selezionate, in base alla frequenza di isolamento e alle conoscenze bibliografiche, quelle più idonee ai saggi di mycoremediation per ciascun sedimento, sia per quanto riguarda i contaminanti organici, sia per quelli inorganici. Individuati i pool di specie da impiegare, sono stati realizzati inoculi liquidi di terreno colturale impoverito (a ridotto contenuto di sostanze nutritive), al fine di favorire la crescita fungina quanto basta perché i funghi stessi nel sedimento fossero attivati e stimolati a degradare e/o accumulare altre sostanze. Per ciascuna vaschetta si è realizzato un inoculo di 0.5 L. Quest'ultimo, una volta preparato e inoculato con i funghi selezionati, è stato posto in agitazione per 4 giorni, prima di essere addizionato al sedimento stesso.

### 5.2.2 Caratterizzazione fisica

L'aliquota di sedimento prelevata per la caratterizzazione fisica, pari a 215 g, è stata a sua volta suddivisa in due aliquote : 200 g per l'analisi granulometrica e 15 g e per l'analisi del contenuto organico e inorganico del sedimento.

L'analisi granulometrica ha previsto la setacciatura del sedimento con setaccio con maglia pari a 63 µm e utilizzando acqua, per dividere la frazione fine ( $\varnothing < 63 \mu\text{m}$ ) dalla frazione grossolana ( $\varnothing \geq 63 \mu\text{m}$ ). La frazione fine, passata attraverso il setaccio da 63 µm, è stata a sua volta analizzata con lo strumento Coulter Counter® Multisizer 3 (Beckman Coulter, Inc.) al fine di discriminare le diverse classi relative all'argilla e al silt ( $\varnothing < 4 \mu\text{m}$  per l'argilla e 16, 30, 63 µm per il silt). La frazione grossolana è stata asciugata in forno a 60 °C ed è stata sottoposta a setacciatura a secco utilizzando una batteria di setacci. In questo modo è stato possibile dividere il sedimento nelle diverse classi granulometriche relative alla sabbia e alla ghiaia (125, 250, 500, 1000 µm per la sabbia, e  $\varnothing > 2000 \mu\text{m}$  per la ghiaia). I risultati dell'analisi sono stati riportati in percentuale.

L'analisi del contenuto organico e inorganico del sedimento ha previsto il prelievo di 15 g di campione che è stato bruciato all'interno di una muffola ISCO (ISM320 mod.) per 3 ore a 550 °C per rimuovere la frazione organica. In seguito, la frazione che non è bruciata, è stata pesata : si tratta della frazione inorganica del sedimento. La frazione organica è stata determinata per differenza tra il peso iniziale del sedimento e quello della frazione inorganica. I valori ottenuti sono stati riportati in percentuale.

### 5.2.3 Caratterizzazione chimica

L'aliquota di sedimento prelevata per la caratterizzazione chimica, pari a 1.5 kg, è stata a sua volta suddivisa in due aliquote pari a 0.5 kg e 1 kg (campioni di Bianco, Tempo 0) nel caso dei sedimenti di Genova, Livorno, Pisa e Cagliari. Queste due aliquote sono state analizzate da due laboratori differenti : i laboratori dell'Agenzia Regionale per la Protezione dell'Ambiente Ligure (ARPAL) e di Eurochem Italia s.r.l.. I parametri analizzati da ciascun laboratorio sono riportati nel paragrafo 3.1; i metalli sono stati saggiati da entrambi i laboratori per conoscere il grado di deviazione dei risultati dei metalli in modo tale da poter confrontare i dati ottenuti dai due laboratori durante l'attività di mycoremediation. Per quanto riguarda i sedimenti di Centuri e Tolone, l'aliquota prelevata per la caratterizzazione chimica (1.5 kg), è stata analizzata solamente dai Laboratori di Eurochem Italia s.r.l.

Inoltre, una porzione di telo vergine è stata fatta analizzare dal punto di vista chimico al fine di valutare la concentrazione dei metalli naturalmente presenti al suo interno (i parametri analizzati sono riportati nel paragrafo 3.1).

### 5.2.4 Preparazione attività di mycoremediation

L'aliquota di sedimento per svolgere l'attività di mycoremediation, pari a 25 kg (15 kg per il porto di Centuri), è stata a sua volta suddivisa in 5 aliquote da 5 kg ciascuna. Queste aliquote sono state riposte all'interno di 5 vaschette in plastica con dimensioni 50x34x10 cm (3 aliquote da 5 kg ciascuna riposte in 3 vaschette in plastica per il porto di Centuri). Le vaschette sono state numerate da 1 a 5, le cinque vaschette utilizzate sono rappresentate in **Figura 2.4.1** (sono state numerate 1, 2 e 5 per i sedimenti del porto di Centuri ; **Figura 2.4.2**).



**Figura 2.4.1.** Esempio delle 5 vaschette numerate da 1 a 5 utilizzate durante le attività di mycoremediation dei sedimenti provenienti da Genova, Livorno, Pisa, Cagliari e Tolone. Nella foto : vaschette contenenti il sedimento del porto di Genova.





**Figura 2.4.2.** Numerazione delle vaschette contenenti il sedimento proveniente dal porto di Centuri utilizzato durante l'attività di mycoremediation realizzata presso i Laboratori del DISTAV.

Il sedimento contenuto nelle vaschette è stato trattato con i microfunghi ad eccezione del sedimento contenuto nella vaschetta numero 5. I sedimenti contenuti nelle vaschette 1, 2, 3, 4, 5 sono stati trattati come indicato di seguito.

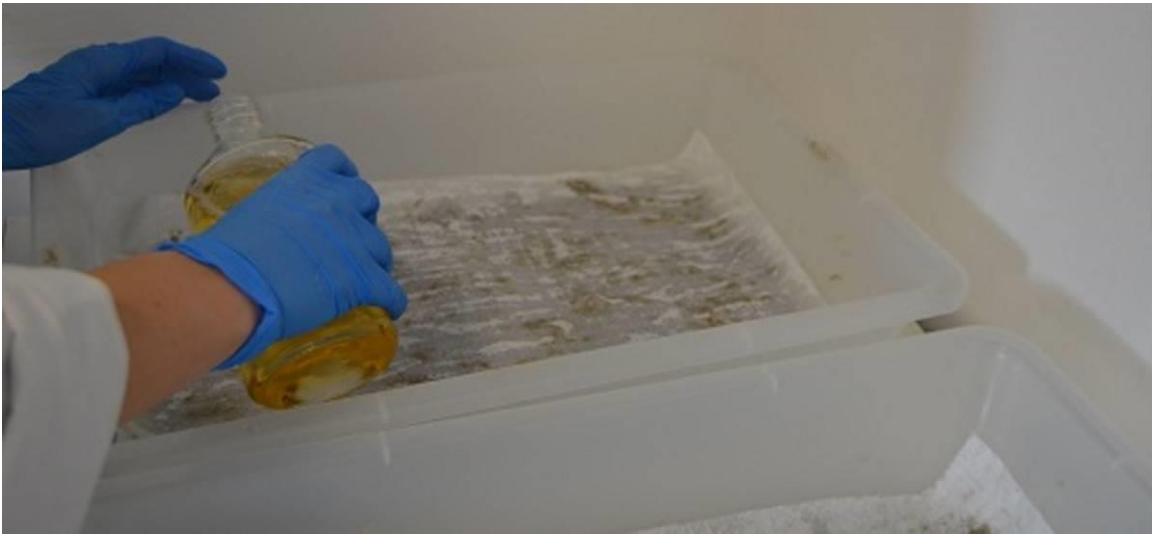
#### Vaschette 1 e 2

I sedimenti contenuti nelle vaschette 1 e 2 sono stati trattati con i microfunghi per saggiare l'efficacia dell'azione di questi organismi sui metalli contenuti nel sedimento. L'attività ha previsto l'utilizzo di un telo di feltro che è stato fatto aderire inumidito alla superficie del sedimento (**Figura 2.4.3**).



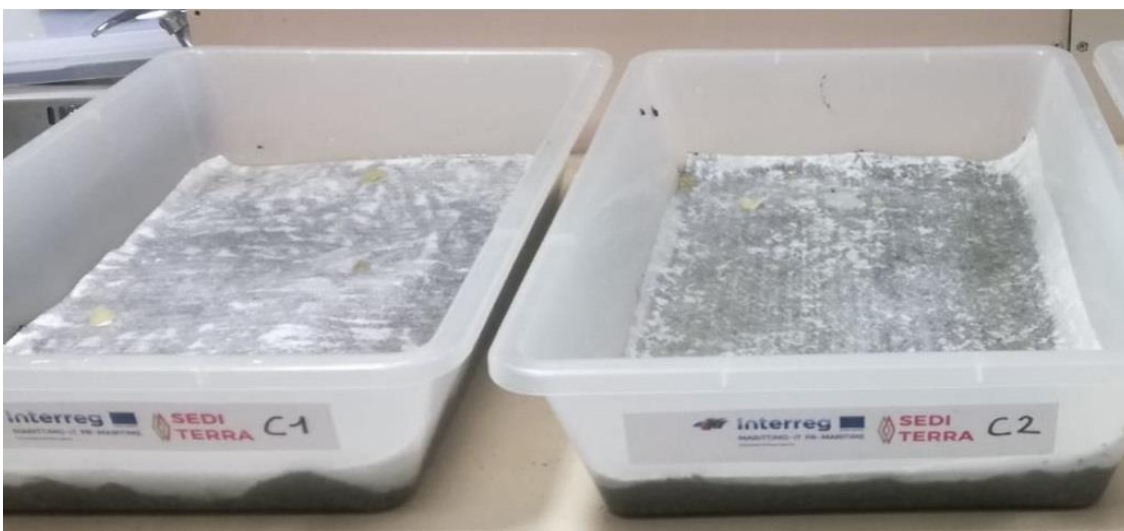
**Figura 2.4.3.** Telo di feltro posizionato sulle vaschette 1 e 2.

In seguito, i microfunghi selezionati tra quelli che presentavano le caratteristiche migliori per l'accumulo dei metalli (paragrafo 2.1), sono stati inoculati sul telo: l'inoculo preparato (paragrafo 2.1) è stato versato sul telo (**Figura 2.4.4**).



**Figura 2.4.4.** Inoculo dei microfunghi sul telo posizionato nelle vaschette 1 e 2. nella foto, sedimenti del porto di Genova.

Il risultato ottenuto per i sedimenti provenienti da Livorno, Pisa, Cagliari, Centuri e Tolone è rappresentato in **Figura 2.4.5** dove sono portati ad esempio i sedimenti del porto di Centuri.



**Figura 2.4.5.** Vaschette 1 e 2 al termine della preparazione per l'attività di mycoremediation. Nella foto, vaschette preparate con il sedimento proveniente dal porto di Centuri.

Nel caso del porto di Genova, i cui sedimenti sono stati i primi a essere stati trattati, il telo in una delle due vaschette (numero 2) è stato riposto in modo tale da aumentare la superficie di contatto tra microfunghi e sedimento come rappresentato in **Figura 2.4.6** (vaschetta a destra).



**Figura 2.4.6.** Due differenti modalità di posizionamento del telo sui sedimenti del porto di Genova, foto realizzata in seguito all'inoculo dei microfunghi. Vaschetta a sinistra : modalità di posizionamento tradizionale del telo. Vaschetta a destra : modalità di posizionamento del telo testata per aumentare la superficie di contatto tra microfunghi e sedimento.

La modalità di posizionamento del telo atta ad aumentare la superficie di contatto tra microfunghi e sedimento è stata subito abbandonata in quanto i risultati hanno mostrato che non è stata utile a rendere più efficace il trattamento del sedimento (paragrafo 4.4.1).

L'azione di mycoremediation nelle vaschette 1 e 2 ha previsto l'uso del telo in quanto permette di separare meccanicamente ma non chimicamente i microfunghi dal sedimento : i microrganismi inoculati possono comunque agire sul sedimento accumulando metalli e degradando gli inquinanti organici di cui possono nutrirsi. Proprio per la capacità dei microfunghi di bioconcentrare i metalli al loro interno, la rimozione del telo (e quindi dei microfunghi su di esso) al termine dell'attività permette di eliminare i metalli dal sedimento.

I sedimenti presenti nelle vaschette 1 e 2 sono stati analizzati anche relativamente agli inquinanti organici per avere un quadro più completo della situazione nonostante i microfunghi siano stati selezionati tra quelli più adatti ad accumulare i metalli.

#### Vaschette 3 e 4

I sedimenti nelle vaschette 3 e 4 sono stati trattati con i microfunghi per testare l'efficacia della loro azione sugli inquinanti organici. I microfunghi, selezionati per la loro capacità di agire efficacemente su questi composti (paragrafo 2.1), sono stati inoculati nel sedimento : l'inoculo preparato (paragrafo 2.1) è stato inserito nel sedimento (**Figura 2.4.7**).





**Figura 2.4.7.** Inoculo dei microfunghi nei sedimenti contenuti nelle vaschette 3 e 4. nella foto, sedimenti del porto di Genova.

Il risultato ottenuto per i sedimenti provenienti da Genova, Livorno, Pisa, Cagliari e Tolone è rappresentato in **Figura 2.4.8** dove sono portati ad esempio i sedimenti del Canale dei Navicelli di Pisa.



**Figura 2.4.8.** Vaschette 3 e 4 al termine della preparazione per l'attività di mycoremediation. Nella foto, vaschette preparate con il sedimento proveniente dal Canale dei Navicelli di Pisa.

### Vaschetta 5

Il sedimento inserito nella vaschetta 5 ha rappresentato il campione di controllo. Infatti, non è stato trattato con i microfunghi ed è stato mantenuto alle stesse condizioni dei sedimenti contenuti nelle altre vaschette in termini di temperatura, umidità e luce (condizioni al contorno) per l'intero periodo di attività. In questo modo, è stato possibile valutare la variazione naturale, ossia data dalle condizioni al contorno, della concentrazione degli inquinanti organici, sensibili a questi fattori. Inoltre, il telo di feltro utilizzato nelle vaschette 1 e 2 è stato posizionato anche sul sedimento contenuto nella vaschetta 5 al fine di valutare l'assorbimento degli inquinanti da parte del telo stesso (senza microfunghi). L'utilizzo del telo nella vaschetta 5 ha permesso di valutare l'efficienza dei soli microfunghi nell'assorbire i metalli nelle vaschette 1 e 2: la concentrazione dei metalli presenti nel telo nella vaschetta 5 durante l'attività di mycoremediation è stata sottratta ai valori di concentrazione ottenuti dalle analisi realizzate per i campioni di telo inoculato con i microfunghi presenti nelle vaschette 1 e 2. In caso contrario, non sarebbe possibile discriminare l'efficienza dei microfunghi da quella del telo nell'assorbire metalli poiché non è possibile separare adeguatamente le due matrici per effettuare le analisi. Il telo non è stato posizionato sui sedimenti della vaschetta 5 nel caso del porto di Genova e nella fase iniziale del trattamento dei sedimenti di Livorno e Pisa: questa procedura è stata messa in atto ad attività in corso al fine di poter valutare più precisamente l'efficienza dell'attività dei soli microfunghi sui metalli.

Il risultato ottenuto per i sedimenti riposti nella vaschetta 5 è rappresentato in **Figura 2.4.9**.



**Figura 2.4.9.** Vaschetta 5 al termine della preparazione per l'attività di mycoremediation. Nella foto, vaschette preparate con il sedimento proveniente dal porto di Centuri.

Una volta terminata la preparazione delle vaschette, i sedimenti provenienti dalle 6 aree sono stati trattati diversamente durante l'attività e, nello specifico, come riportato di seguito.

- Sedimenti del porto di Genova, Livorno e Pisa : il sedimento contenuto in ciascuna vaschetta è stato inizialmente irrorato con acqua, allo scopo di mantenere un'umidità del sedimento circa del 60% necessaria alle attività vitali dei funghi, in quantità pari a 50 mL. Questi sedimenti sono stati inumiditi quotidianamente utilizzando la stessa quantità di acqua per tutta la durata dell'attività. Nei periodi di assenza (> di 5 giorni) dell'operatore incaricato di svolgere questa mansione, i sedimenti sono stati irrorati abbondantemente con 200 ml di acqua e le vaschette sono state avvolte con un telo nero in plastica bucato in modo tale da mantenere l'umidità e, contemporaneamente, permettere l'aerazione del sedimento.
- Sedimenti del porto di Cagliari, Centuri e Tolone : il sedimento contenuto in ciascuna vaschetta è stato inizialmente inumidito con acqua, necessaria alle attività vitali dei funghi, in quantità pari a 2.5 L. Le vaschette sono state subito coperte con teli neri di plastica bucati in modo tale da mantenere l'umidità e, contemporaneamente, permettere l'aerazione del sedimento ; questi teli sono stati mantenuti per tutta la durata dell'attività. Pertanto, dopo l'aggiunta di acqua iniziale (2.5 L) questi sedimenti non hanno più avuto la necessità di essere irrorati con acqua, mantenendo l'umidità necessaria alla crescita dei funghi per tutta la durata della sperimentazione.

Di seguito è riportato un esempio di come si presentano le vaschette al termine della preparazione per l'attività di mycoremediation - caso dei sedimenti provenienti da Genova, Livorno, Pisa, Cagliari, Tolone (**Figura 2.4.10**) e Centuri (**Figura 2.4.11**).



**Figura 2.4.10.** Vaschette al termine della preparazione per l'attività di mycoremediation - caso dei sedimenti provenienti da Genova, Livorno, Pisa, Cagliari, Tolone. Nella foto, vaschette preparate con il sedimento proveniente dal porto di Tolone.



**Figura 2.4.11.** Vaschette al termine della preparazione per l'attività di mycoremediation - caso dei sedimenti provenienti dal porto di Centuri, in foto.

Le vaschette con i sedimenti sono state mantenute in laboratorio, a temperatura ambiente per tutta la durata dell'attività (60 giorni).

### 5.3) PROTOCOLLO DI MONITORAGGIO

L'attività di mycoremediation è durata in totale 60 giorni. Nell'arco di questo periodo, è stato seguito un protocollo di campionamento comune a tutti i sedimenti saggiati che ha previsto analisi chimiche del sedimento, del telo di feltro inoculato con i funghi e del telo senza funghi. Inoltre, sono state svolte analisi del contenuto organico e inorganico del sedimento proveniente da Centuri al fine di valutare l'azione dei microfunghi sulla degradazione della Posidonia Oceanica che caratterizza questi sedimenti. I campioni sono stati prelevati dopo 15 (Tempo 1), 30 (Tempo 2) e 60 (Tempo 3) giorni di attività. I laboratori incaricati di svolgere le analisi chimiche sui campioni prelevati sono quelli dell'Agenzia Regionale per la Protezione dell'Ambiente Ligure (ARPAL) e di Eurochem Italia s.r.l.. Il Laboratorio di SEDITERRA presso il DISTAV ha invece provveduto alle analisi del contenuto organico e inorganico. I campioni di sedimento di Genova, Livorno, Pisa e Cagliari prelevati da ciascuna vaschetta e le analisi cui sono stati sottoposti sono gli stessi per ciascun Tempo (1, 2 e 3) e sono riportati in **Tabella 3.1**, dove sono indicati anche i laboratori incaricati di svolgere le analisi. I campioni di sedimento di Centuri e Tolone prelevati da ciascuna vaschetta e le analisi cui sono stati sottoposti sono gli stessi per ciascun Tempo (1, 2 e 3) e sono riportati in **Tabella 3.2**, dove è indicato anche il laboratorio incaricato di svolgere le analisi.

I parametri analizzati corrispondenti a ciascuna delle analisi sono riportati nel paragrafo 3.1. Tutti i risultati sono riportati su peso secco di sedimento.

Inoltre, nel caso del sedimento del porto di Genova, sono stati analizzati anche i composti organostannici e, nello specifico, monobutilstagno, dibutilstagno, tributilstagno e tetrabutilstagno nel sedimento.

I laboratori di Eurochem Italia s.r.l. sono stati incaricati di svolgere queste analisi. La valutazione di questi composti è avvenuta dopo 15 e 30 giorni ma è stata successivamente abbandonata poiché sono risultati assenti o presenti in concentrazioni molto vicine al limite di rilevabilità degli strumenti per cui sarebbe stato poco significativo valutare adeguatamente l'azione dei microfunghi.

Vaschetta	Campione	Analisi	Laboratorio incaricato di svolgere le analisi
1 e 2	Telo di feltro	Metalli	Eurochem Italia
	Sedimento superficiale (strato di 2 cm al di sotto del telo) <sup>1</sup>	Metalli	Eurochem Italia
	Sedimento (dalla profondità di 2 cm fino al fondo della vaschetta) <sup>1</sup>	Metalli, IPA, C>12 e PCB	ARPAL
3 e 4	Sedimento	IPA, C>12 e PCB	ARPAL
5	Telo di feltro <sup>2</sup>	Metalli	Eurochem Italia
	Sedimento	IPA, C>12 e PCB	ARPAL

**Tabella 3.1** Campioni prelevati dalle vaschette 1, 2, 3, 4 e 5 dopo 15, 30 e 60 giorni di attività di mycoremediation sui sedimenti dei porti di Genova, Livorno e Cagliari e del Canale dei Navicelli di Pisa, analisi a cui sono stati sottoposti e laboratori incaricati di svolgere le analisi.

<sup>1</sup> I sedimenti nelle vaschette 1 e 2 sono stati campionati a differenti profondità in modo tale da valutare più accuratamente l'azione dei microfunghi sui sedimenti a diretto contatto con il telo (sedimento superficiale, strato di 2 cm al di sotto del telo) e sulla frazione sottostante (sedimento dalla profondità di 2 cm fino al fondo della vaschetta).

<sup>2</sup> Campione non prelevato nel caso del porto di Genova: il telo di feltro non è stato posizionato sulla vaschetta 5 nel corso dei 60 giorni di attività di mycoremediation su questi sedimenti; campione prelevato a partire dal quindicesimo giorno di attività nel caso dei sedimenti del porto di Livorno e del Canale dei Navicelli di Pisa.



Numero Vaschetta	Campione	Analisi	Laboratorio incaricato di svolgere le analisi
<b>CENTURI</b>			
1 e 2	Telo di feltro	Metalli	Eurochem Italia
	Sedimento	Metalli	Eurochem Italia
	Sedimento	Contenuto organico-inorganico	DISTAV
5	Sedimento	Contenuto organico-inorganico	DISTAV
<b>TOLONE</b>			
1 e 2	Telo di feltro	Metalli	Eurochem Italia
	Sedimento	Metalli, IPA e C>12 <sup>1</sup>	Eurochem Italia
3 e 4	Sedimento	IPA e C>12 <sup>1</sup>	Eurochem Italia
5	Telo di feltro	Metalli	Eurochem Italia
	Sedimento	IPA e C>12 <sup>1</sup>	Eurochem Italia

**Tabella 3.2** Campioni prelevati dalle vaschette 1, 2, 3, 4 e 5 dopo 15, 30 e 60 giorni di attività di mycoremediation sui sedimenti dei porti di Centuri e Tolone, analisi a cui sono stati sottoposti e laboratorio incaricato di svolgere le analisi.

<sup>1</sup> Nel caso dei sedimenti di Tolone, i campioni per le analisi di IPA e C>12 sono stati prelevati soltanto al Tempo 1 (15 giorni di attività). Le concentrazioni di questi composti sono risultate al di sotto del limite di rilevabilità degli strumenti utilizzati dai laboratori Eurochem Italia s.r.l., pertanto le analisi non sono state effettuate sui campioni corrispondenti al trentesimo e sessantesimo giorno di attività.

### 5.3.1 Parametri analizzati

Tutti i campioni prelevati durante l'attività di mycoremediation sono stati inseriti in barattoli di vetro, i campioni di sedimento inviati ai laboratori di ARPAL sono stati anche oscurati con carta stagnola. I parametri analizzati, la relativa descrizione e la matrice sulla quale sono stati valutati da ciascun laboratorio usando una specifica metodologia, sono riportati nelle **Tablelle 3.1.1 e 3.1.2**. Tutti i risultati ottenuti dalle analisi indicate in **Tabella 3.1.1 e 3.1.2** sono da intendersi su peso secco di sedimento.

Parametro	Descrizione	Matrice	Metodo di analisi
Metalli e metalloidi	Al, As, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn, Hg, Mn, Fe	Sedimento	EPA 3050B + EPA 6010C; EPA 3050B + APAT CNR IRSA 3200A2 Man 29 2003 (Hg)
Idrocarburi policiclici aromatici (IPA) (Rif. D.M. 173/2016)	Acenaftilene, Benzo(a)antracene, Fluorantene, Naftalene, Antracene, Benzo(a)pirene, Benzo(b)fluorantene, Benzo(k)fluorantene, Benzo(g,h,i)perilene, Acenaftene, Fluorene, Fenantrene, Pirene, Dibenzo(a,h)antracene, Crisene, Indeno(1,2,3,c-d)pirene e loro sommatoria	Sedimento	EPA 3540C + EPA 8270D; EPA 3545A + EPA 8270D (Sommatoria IPA)
Idrocarburi pesanti (C>12)		Sedimento	ISO 16703:2004
Policlorobifenili (PCB)	PCB 28, PCB 52, PCB 77, PCB 81, PCB 101, PCB 118, PCB 126, PCB 128, PCB 138, PCB 153, PCB 156, PCB 169, PCB 180	Sedimento	C590

**Tabella 3.1.1** Parametri analizzati dai laboratori di ARPAL nell'ambito delle analisi chimiche svolte sui sedimenti sottoposti all'attività di mycoremediation.

Parametro	Descrizione	Matrice	Metodo di analisi
Metalli e metalloidi	Al, As, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn, Hg, Mn, Fe	Telo di feltro	EPA 3050B 1996 + EPA 6010D 2014
Metalli e metalloidi	Al, As, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn, Hg, Mn, Fe	Sedimento	EPA 3050B 1996 + EPA 6010D 2014
Idrocarburi policiclici aromatici (IPA) (Rif. D.M. 173/2016)	Acenaftilene, Benzo(a)antracene, Fluorantene, Naftalene, Antracene, Benzo(a)pirene, Benzo(b)fluorantene, Benzo(k)fluorantene, Benzo(g,h,i)perilene, Acenaftene, Fluorene, Fenantrene, Pirene, Dibenzo(a,h)antracene, Crisene, Indeno(1,2,3,c-d)pirene e loro sommatoria	Sedimento	EPA 3550C 2007 + EPA 8270E 2017
Idrocarburi pesanti (C>12)		Sedimento	EPA 3550C 2007 + EPA 8015C 2007

**Tabella 3.1.2** Parametri analizzati dai laboratori di Eurochem Italia s.r.l. nell'ambito delle analisi chimiche svolte sui sedimenti sottoposti all'attività di mycoremediation.

Inoltre, sono stati analizzati anche i composti organostannici e, nello specifico, monobutilstagno, dibutilstagno, tributilstagno e tetrabutilstagno nel sedimento. I laboratori di Eurochem Italia s.r.l. sono stati incaricati di svolgere queste analisi. La valutazione di questi composti è avvenuta nell'ambito della caratterizzazione chimica dei sedimenti del porto di Genova, Livorno e Pisa e dopo 15 e 30 giorni di attività nel caso del porto di Genova. La valutazione di questi composti è stata poi trascurata poiché le concentrazioni sono risultate inferiori o molto vicine al limite di rilevabilità degli strumenti per cui sarebbe stato poco significativo valutare adeguatamente l'azione dei microfunghi. Per quanto riguarda i campioni di Cagliari, Tolone e Centuri si è preferito non effettuare nessuna valutazione a questo proposito in quanto non sarebbe stato possibile realizzare confronti con i casi di Genova, Livorno e Pisa.

## 5.4) RISULTATI

### 5.4.1 Risultati caratterizzazione flora fungina

In **Tabella 4.1.1** sono riportate le specie fungine autoctone selezionate per ciascun sedimento sia per il trattamento dei metalli che dei contaminanti organici. Per il trattamento di mycoremediation la selezione ha tenuto conto non soltanto dei dati bibliografici, ma anche dei numeri di colonie isolate per ciascuna specie, e della potenziale patogenicità nei confronti dell'uomo e/o altri organismi.

Sito di Campionamento	Specie fungine selezionate per il trattamento dei metalli	Specie fungine selezionate per il trattamento dei contaminanti organici
Genova	<i>Penicillium expansum</i> Link <i>Paecilomyces formosus</i> Sakag., May. Inoue & Tada ex Houbraken & Samson	<i>Neocosmospora solani</i> (Mart.) L. Lombard & Crous <i>Talaromyces amestolkiae</i> N. Yilmaz, Houbraken, Frisvad & Samson <i>Pseudallescheira boydii</i> (Shear) McGinnis, A.A. Padhye & Ajello <i>Paecilomyces formosus</i>
Livorno	<i>Penicillium brevicompactum</i> Dierckx <i>Mucor racemosus</i> Fresen	<i>Emericellopsis maritima</i> Beliakova <i>Epicoccum nigrum</i> Link
Pisa	<i>Cunninghamella elegans</i> Lendn. <i>Penicillium citrinum</i> Thom	<i>Trichoderma koningii</i> Oudem. <i>Penicillium camponotum</i> Visagie, David Clark & Seifert
Cagliari	<i>Fusarium oxysporum</i> Schldl. <i>C. cladosporioides</i>	<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fresen.) G.A. de Vries <i>Mucor racemosus</i> Fresen.
Centuri	<i>Penicillium</i> sp. e <i>Mucor</i> sp.	-
Tolone	<i>Penicillium</i> sp. e <i>Mucor</i> sp.	-

**Tabella 4.1.1** Specie fungine selezionate per ciascun sedimento trattato.



## 5.4.2 Risultati della caratterizzazione fisica

I risultati della caratterizzazione fisica dei sedimenti testati sono riportati nella **Tabella 4.2.1 e Tabella 4.2.2.**

Campione	Aspetto	Frazione inorganica del sedimento (%)	Frazione organica del sedimento (%)
Sedimenti Genova	Colore: grigio scuro. Presenza di conchiglie.	97	3
Sedimenti Livorno	Colore: marrone. Presenza di conchiglie.	97	3
Sedimenti Pisa	Colore: grigio-nero. Presenza abbondante di serpulidi.	88	12
Sedimenti Cagliari	Colore: marrone. Fibre vegetali abbondanti. Presenza evidente di materiale di origine antropica.	95	5
Sedimenti Centuri	Colore: grigio. Presenza di fibre di origine vegetale.	98	2
Sedimenti Tolone	Colore: marrone. Presenza fibre vegetali.	96	4

**Tabella 4.2.1** Risultati della caratterizzazione fisica dei sedimenti testati durante l'attività di mycoremediation : aspetto, frazione inorganica (%) e organica (%).

Campione	Sedimenti Genova	Sedimenti Livorno	Sedimenti Pisa	Sedimenti Cagliari	Sedimenti Centuri	Sedimenti Tolone
Frazione grossolana totale ( $\varnothing > 63 \mu\text{m}$ ; %)	86.7	60.4	27.4	76.6	96.5	53.2
Frazione fine totale ( $\varnothing < 63 \mu\text{m}$ ; %)	13.3	39.6	72.6	23.4	3.5	46.8
Ghiaia $\varnothing > 2000 \mu\text{m}$	0.3	22.6	3.4	2.1	22.2	3.6
Sabbia molto grossolana ( $1000 \mu\text{m} < \varnothing < 2000 \mu\text{m}$ )	0.7	6.2	2.9	1.9	13.0	2.9
Sabbia grossolana ( $500 \mu\text{m} < \varnothing < 1000 \mu\text{m}$ )	1.7	6.3	4.4	5.0	22.8	3.8
Sabbia media ( $250 \mu\text{m} < \varnothing < 500 \mu\text{m}$ )	3.7	12.1	4.5	23.2	24.7	5.3
Sabbia fine ( $125 \mu\text{m} < \varnothing < 250 \mu\text{m}$ )	65.5	7.2	5.9	35.7	11.1	18.7
Sabbia molto fine ( $63 \mu\text{m} < \varnothing < 125 \mu\text{m}$ )	14.7	6.0	6.3	8.8	2.7	18.9
Silt grossolano ( $30 \mu\text{m} < \varnothing < 63 \mu\text{m}$ )	7.2	4.9	16.5	5.0	0.6	17.4
Silt medio ( $16 \mu\text{m} < \varnothing < 30 \mu\text{m}$ )	2.3	8.4	15.8	5.6	1.0	9.7
Silt fine ( $4 \mu\text{m} < \varnothing < 16 \mu\text{m}$ )	3.2	20.0	30.8	10.4	1.6	14.5
Argilla ( $\varnothing < 4 \mu\text{m}$ )	0.7	6.3	9.5	2.3	0.3	5.2

**Tabella 4.2.2** Risultati della caratterizzazione fisica dei sedimenti testati durante l'attività di mycoremediation : analisi granulometriche.

I sedimenti testati presentano la frazione inorganica come prevalente (**Tabella 4.2.1**). I sedimenti del porto di Genova e della cassa di colmata del porto di Livorno presentano le stesse caratteristiche in termini di contenuto organico e inorganico con netta prevalenza della frazione inorganica (97% ; **Tabella 4.2.1**). I sedimenti del porto di Cagliari, nonostante la presenza di fibre vegetali presentano una frazione inorganica pari al 95% mentre i sedimenti del Canale dei Navicelli di Pisa risultano i sedimenti caratterizzati da una percentuale di frazione organica maggiore rispetto agli altri sedimenti (12% ; **Tabella 4.2.1**) a causa della massiccia presenza di serpulidi.

Per quanto riguarda le analisi granulometriche, i sedimenti del porto di Genova, del porto di Cagliari e della cassa di colmata del porto di Centuri sono costituiti prevalentemente dalla frazione grossolana ( $\varnothing > 63 \mu\text{m}$ ) e, in particolare, da sabbia fine per quanto riguarda i sedimenti del porto di Genova (**Tabella 4.2.2**). I sedimenti della cassa di colmata del porto di Livorno e del porto di Tolone sono costituiti da una frazione grossolana ( $\varnothing > 63 \mu\text{m}$ ) e fine ( $\varnothing < 63 \mu\text{m}$ ) ugualmente importanti mentre i sedimenti del Canale dei Navicelli di Pisa sono caratterizzati da una frazione fine predominante e prevalentemente caratterizzata da silt (**Tabella 4.2.2**).

#### 5.4.3 Risultati della caratterizzazione chimica

Nelle tabelle di seguito sono riportati i risultati della caratterizzazione chimica iniziale di ciascun sedimento testato durante l'attività di mycoremediation. Sono riportati separatamente i risultati ottenuti dai due laboratori incaricati di svolgere le analisi (ARPAL ed Eurochem Italia s.r.l.). I valori inferiori al limite di rilevabilità sono riportati con il simbolo "<" seguito dal limite di rilevabilità relativo.

Metalli (mg kg <sup>-1</sup> )										
Sedimenti testati	Genova		Livorno		Pisa		Cagliari		Centuri	Tolone
<b>Al</b>	6977	6800	15600	4800	14300	29000	5189	4100	11000	4700
<b>As</b>	8	8	9	3.6	6.0	<5	14	12	<1	<1
<b>Cd</b>	0.41	0.42	0.5	<0.3	29	22	1.9	1.9	<1	<1
<b>Cr tot</b>	68	55	67	8.7	337	320	63	8.2	470	<1
<b>Fe</b>	11542	15000	20346	6900	21260	23000	5193	7200	26000	<1
<b>Mn</b>	715	650	441	100	498	500	112	89	300	110
<b>Ni</b>	41	31	52	8.4	61	57	34	5.6	320	<1
<b>Pb</b>	36	59	17	<3	75	60	129	97	<1	35
<b>Cu</b>	20	15	30	<10	95	110	43	40	74	65
<b>Zn</b>	81	62	87	<15	693	590	289	210	36	51
<b>Hg</b>	0.23	0.32	0.08	<0.3	0.40	0.59	0.3	<0.3	<1	<1
<b>Sb</b>	nc	1.2	nc	<1	nc	6.7	nc	2.7	<1	<1
<b>Laboratorio incaricato di svolgere l'analisi</b>	ARPAL	Eurochem Italia	ARPAL	Eurochem Italia	ARPAL	Eurochem Italia	ARPAL	Eurochem Italia	Eurochem Italia	Eurochem Italia

**Tabella 4.3.1** Risultati della caratterizzazione chimica dei metalli nei sedimenti testati e laboratori incaricati di svolgere le analisi (Tempo 0)

nc = non calcolato

Idrocarburi Policiclici Aromatici (mg kg <sup>-1</sup> )				
Sedimenti testati	Genova	Livorno	Pisa	Cagliari
Acenaftene	<0.01	0.02	0.05	0.01
Acenaftilene	<0.01	0.01	0.03	0.03
Antracene	0.02	0.04	0.18	0.05
Benzo(a)antracene	0.08	0.22	0.86	0.44
Benzo(a)pirene	0.11	0.12	0.64	0.58
Benzo(b)fluorantene	0.13	0.36	1.09	0.64
Benzo(k)fluorantene	0.06	0.13	0.40	0.25
Benzo(g,h,i)perilene	0.10	0.09	0.48	0.62
Crisene	0.06	0.36	0.61	0.36
Dibenzo(a,h)antracene	0.03	0.03	0.13	0.18
Fenantrene	0.06	0.25	0.19	0.16
Fluorantene	0.15	0.52	2.37	0.53
Fluorene	0.01	0.03	0.01	0.01
Indeno(1,2,3-c,d)pirene	0.11	0.11	0.48	0.72
Naftalene	0.02	0.05	0.02	0.02
Pirene	0.13	0.48	3.18	0.48
<b>Somma IPA</b>	<b>1.1</b>	<b>2.8</b>	<b>10.7</b>	<b>5.1</b>
<b>Laboratorio incaricato di svolgere le analisi</b>	<b>ARPAL</b>	<b>ARPAL</b>	<b>ARPAL</b>	<b>ARPAL</b>

**Tabella 4.3.2** Risultati della caratterizzazione chimica degli IPA nei sedimenti testati e laboratori incaricati di svolgere le analisi (Tempo 0). Nei sedimenti di Tolone tutti gli IPA sono risultati inferiori al limite di rilevabilità e per questo, in tabella non sono indicati i risultati relativi al Tempo 0 di Tolone.

Idrocarburi pesanti (C>12 ; mg kg <sup>-1</sup> )		
Sedimenti testati	C>12	Laboratorio incaricato di svolgere l'analisi
Genova	83	ARPAL
Livorno	40	ARPAL
Pisa	6800	ARPAL
Cagliari	94	ARPAL

**Tabella 4.3.3** Risultati della caratterizzazione chimica degli idrocarburi pesanti (C>12) nei sedimenti testati e laboratori incaricati di svolgere le analisi (Tempo 0). Nei sedimenti di Tolone i C>12 sono risultati inferiori al limite di rilevabilità e per questo, in tabella non sono indicati i risultati relativi al Tempo 0 di Tolone.

PCB ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ )				
Sedimenti testati	Genova	Livorno	Pisa	Cagliari
PCB 28	0.4211	0.1475	4.9965	0.3549
PCB 52	2.5700	0.4845	19.1754	3.1074
PCB 77	0.0605	0.0257	0.2384	0.0209
PCB 81	0.0809	<0.0025	<0.0025	0.0512
PCB 101	3.0773	1.0107	33.2405	4.4257
PCB 118	3.2670	0.8599	14.2039	2.5067
PCB 126	0.0160	<0.0025	<0.0025	<0.0025
PCB 128	0.5013	0.2458	0.2655	0.7754
PCB 138	3.9395	1.4784	54.8269	6.6839
PCB 153	4.1052	1.9398	51.9239	5.5837
PCB 156	0.3126	0.1335	3.3200	0.3780
PCB 169	<0.0025	<0.0025	<0.0025	<0.0025
PCB 180	1.7832	1.0255	23.9094	2.8302
PCB tot	20.1	7.3514	205.86	26.72
Laboratorio incaricato di svolgere le analisi	ARPAL	ARPAL	ARPAL	ARPAL

**Tabella 4.3.4** Risultati della caratterizzazione chimica dei policlorobifenili (PCB) nei sedimenti testati e laboratori incaricati di svolgere le analisi (Tempo 0).

Metalli analizzati ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	Telo 0
As	<1
Al	24±5
Cd	<1
Cr totale	<1
Ni	<1
Cu	<1
Sb	<1
Fe	80±13
Mn	<1
Hg	<1
Pb	<1
Zn	<1
Laboratorio incaricato di svolgere l'analisi	EUROCHEM Italia

**Tabella 4.3.5** Risultati della caratterizzazione chimica dei metalli presenti nel telo utilizzato durante l'attività di mycoremediation e laboratorio incaricato di svolgere le analisi.

La caratterizzazione chimica dei sedimenti testati durante l'attività di mycoremediation ha evidenziato che i sedimenti del Canale dei Navicelli di Pisa sono caratterizzati da un inquinamento più consistente rispetto agli altri sedimenti analizzati, sia per quanto riguarda i metalli sia gli inquinanti organici (IPA, C>12 e PCB). Tuttavia, si è evidenziato come la contaminazione non fosse mai particolarmente elevata, così da poter essere considerata una contaminazione di tipo residuo. Nel caso dei sedimenti di Centuri e Tolone, per esempio, i valori di contaminanti organici, sono risultati dalle analisi chimiche così bassi da non permettere il trattamento di mycoremediation, che sarebbe stato difficilmente valutabile nella sua efficienza.

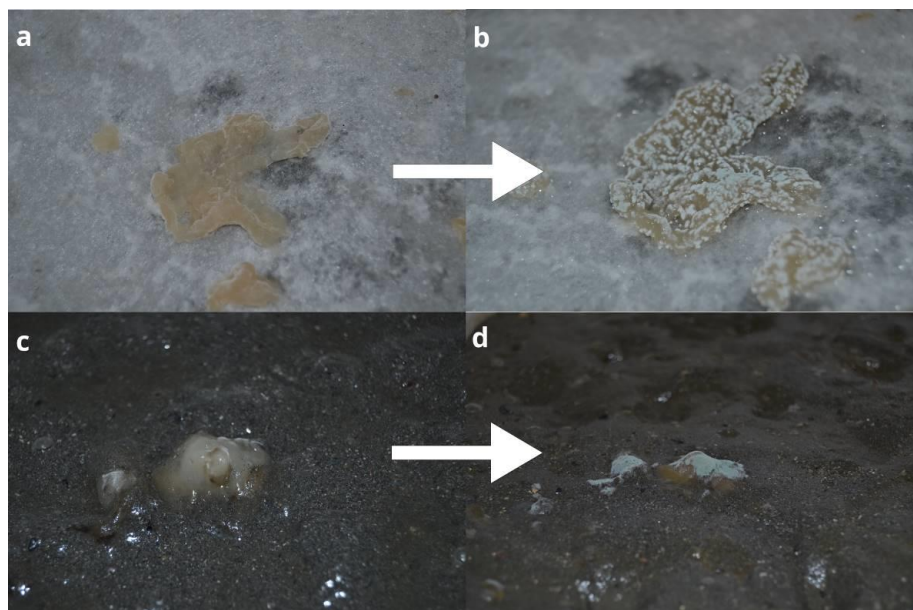
#### 5.4.4 Risultati dell'attività di mycoremediation

I risultati delle analisi svolte durante l'attività di mycoremediation sono riportati all'interno di tabelle nelle quali è indicato anche il risultato della caratterizzazione chimica corrispondente al parametro mostrato. I risultati sono stati definiti significativi considerando sia l'incertezza del risultato sia i campioni di controllo realizzati.

##### 5.4.4.1 Sedimento del porto di Genova

L'attività di mycoremediation dei sedimenti del porto di Genova è stata svolta dal 20 novembre 2017 al 22 gennaio 2018.

Nella **Figura 4.4.1.1** sono riportate alcune immagini realizzate durante l'attività di mycoremediation sui sedimenti del porto di Genova : si può osservare la crescita dei microfunghi nella vaschetta 1 (**Figura 4.4.1.1**, immagini a e b) e nella vaschetta 3 (**Figura 4.4.1.1**, immagini c e d) durante i primi quattro giorni di attività.



**Figura 4.4.1.1.** Crescita dei microfunghi durante i primi quattro giorni di attività di mycoremediation sui sedimenti del porto di Genova : a ; b) microfunghi inoculati nella vaschetta 1 ; c e d) microfunghi inoculati nella vaschetta 3.

I risultati delle analisi di metalli, IPA, idrocarburi con C>12 e PCB realizzate dopo 15, 30 e 60 giorni di attività, sono riportati nelle **Tabelle 4.4.1.1-4.4.1.6**.

Metalli (mg kg <sup>-1</sup> )										
	Tempo 0	Vaschetta 1			Vaschetta 2			Vaschetta 1 e 2		
		Tempo 1	Tempo 2	Tempo 3	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 3	Media Tempo 1	Media Tempo 2	Media Tempo 3
<b>Al</b>	6977	7356	6756	6641	7594	6589	6391	7475	6673	6516
<b>As</b>	8.0	10.0	7.4	7.3	10.0	7.4	7.9	10.0	7.4	7.6
<b>Cd</b>	0.41	0.41	0.40	0.40	0.43	0.40	0.60	0.42	0.40	0.50
<b>Cr tot</b>	68	70	63	66	70	66	66	70	65	66
<b>Fe</b>	11542	13852	12370	12171	15085	13111	12284	14469	12741	12228
<b>Mn</b>	715	695	594	633	715	631	604	705	613	619
<b>Ni</b>	41	42	39	39	44	40	41	43	40	40
<b>Pb</b>	36	52	37	59	42	43	65	47	40	62
<b>Cu</b>	20	22	24	26	26	21	42	24	22.5	34
<b>Zn</b>	81	79	90	97	82	91	136	81	91	117
<b>Hg</b>	0.23	0.30	0.30	0.30	0.36	0.30	0.30	0.33	0.30	0.30

**Tabella 4.4.1.1** Risultati delle analisi chimiche dei metalli realizzate dai Laboratori ARPAL dopo 15 (Tempo 1), 30 (Tempo 2) e 60 (Tempo 3) giorni di attività di mycoremediation sui sedimenti del porto di Genova. Si riporta anche il risultato della caratterizzazione chimica del sedimento relativa ai metalli (Tempo 0).



Idrocarburi Policiclici Aromatici (mg kg <sup>-1</sup> )													
	Tempo 0	Media Vaschetta 1 e 2			Vaschetta 3			Vaschetta 4			Vaschetta 5		
		Tempo 1	Tempo 2	Tempo 3	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 3	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 3	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 3
<b>Naftalene</b>	0.02	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	0.01	<0.01	0.04	0.03	<0.01	<0.01	0.02	0.01
<b>Acenaftene</b>	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	0.01	0.01	<0.01	<0.01	0.03	0.01
<b>Acenaftilene</b>	<0.01	0.005	<0.01	0.01	<0.01	0.02	0.02	<0.01	0.02	0.01	<0.01	0.02	0.01
<b>Antracene</b>	0.02	0.02	0.02	0.03	0.02	0.04	0.03	0.02	0.04	0.02	0.02	0.06	0.03
<b>Benzo(a)antracene</b>	0.08	0.07	0.07	0.08	0.08	0.08	0.08	0.04	0.12	0.09	0.04	0.16	0.08
<b>Benzo(a)pirene</b>	0.11	0.10	0.12	0.12	0.12	0.11	0.12	0.08	0.14	0.14	0.07	0.22	0.11
<b>Benzo(b)fluorantene</b>	0.13	0.13	0.15	0.13	0.15	0.13	0.13	0.11	0.15	0.16	0.09	0.25	0.11
<b>Benzo(k)fluorantene</b>	0.06	0.06	0.06	0.05	0.06	0.05	0.05	0.04	0.06	0.06	0.04	0.10	0.05
<b>Benzo(g,h,i)perilene</b>	0.10	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.07	0.10	0.11	0.07	0.17	0.08
<b>Crisene</b>	0.06	0.05	0.06	0.05	0.06	0.04	0.04	0.04	0.06	0.05	0.05	0.10	0.04
<b>Dibenzo(a,h)antracene</b>	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.02	0.03	0.04	0.02	0.05	0.03
<b>Fenantrene</b>	0.06	0.04	0.04	0.04	0.03	0.05	0.04	0.04	0.09	0.03	0.04	0.14	0.05
<b>Fluorantene</b>	0.15	0.10	0.11	0.10	0.10	0.10	0.11	0.06	0.17	0.10	0.07	0.24	0.09
<b>Fluorene</b>	0.01	0.01	<0.01	0.02	<0.01	0.02	0.02	0.02	0.03	<0.01	<0.01	0.03	0.02
<b>Indeno(1,2,3-c,d)pirene</b>	0.11	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.08	0.12	0.13	0.07	0.20	0.09
<b>Pirene</b>	0.13	0.10	0.09	0.10	0.10	0.09	0.10	0.06	0.15	0.09	0.07	0.20	0.11
<b>Somma IPA</b>	1.1	0.9	0.9	0.9	0.9	1.0	0.9	0.7	1.3	1.0	0.7	2.0	0.9

**Tabella 4.4.1.2** Risultati delle analisi chimiche degli IPA (mg kg<sup>-1</sup>) realizzate dai Laboratori ARPAL dopo 15 (Tempo 1), 30 (Tempo 2) e 60 (Tempo 3) giorni di attività di mycoremediation sui sedimenti del porto di Genova. Si riporta anche il risultato della caratterizzazione chimica del sedimento relativa agli IPA (Tempo 0).

Idrocarburi C>12 (mg kg <sup>-1</sup> )													
	Tempo 0	Media Vaschetta 1 e 2			Vaschetta 3			Vaschetta 4			Vaschetta 5		
		Tempo 1	Tempo 2	Tempo 3	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 3	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 3	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 3
<b>C&gt;12</b>	83	77	124	102	64	42	86	70	84	72	40	62	57

**Tabella 4.4.1.3** Risultati delle analisi chimiche degli idrocarburi pesanti (C>12 ; mg kg<sup>-1</sup>) realizzate dai Laboratori ARPAL dopo 15 (Tempo 1), 30 (Tempo 2) e 60 (Tempo 3) giorni di attività di mycoremediation sui sedimenti del porto di Genova. Si riporta anche il risultato della caratterizzazione chimica del sedimento relativa ai C>12 (Tempo 0).

PCB (µg kg <sup>-1</sup> )													
	Tempo 0	Media Vaschetta 1 e 2			Vaschetta 3			Vaschetta 4			Vaschetta 5		
		Tempo 1	Tempo 2	Tempo 3	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 3	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 3	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 3
<b>PCB 28</b>	0.4211	0.5980	0.3099	1.9695	0.4932	0.4415	0.4559	0.2580	0.4705	0.3966	0.2558	0.5603	0.3283
<b>PCB 52</b>	2.5700	2.4590	1.9782	17.1090	4.4403	3.4302	3.3879	2.3361	2.7403	3.0594	1.5130	18.5322	1.8374
<b>PCB 77</b>	0.0605	0.0985	0.0514	1.2736	0.0960	0.3254	0.3720	0.0537	0.4193	0.3889	0.0335	2.9494	0.3191
<b>PCB 81</b>	0.0809	0.0947	0.0830	0.3007	0.1380	0.0962	0.1055	0.1899	0.1161	0.1239	0.0624	1.1378	0.0664
<b>PCB 101</b>	3.0773	2.9185	2.7209	9.1547	4.9685	3.8626	3.7816	5.5845	3.6936	3.5001	1.9792	28.1525	2.4603
<b>PCB 118</b>	3.2670	4.5807	3.7845	17.3510	6.4567	6.0523	6.6441	8.7310	8.5504	6.6136	2.3934	81.4553	5.0376
<b>PCB 126</b>	0.0160	0.0158	0.0262	0.0200	0.0214	0.0107	0.0144	0.0206	0.0145	0.0190	0.0142	0.0137	0.0139
<b>PCB 128</b>	0.5013	0.5756	0.6286	2.1485	1.0519	0.8012	0.7887	1.6053	1.0042	0.7814	0.5846	7.1742	0.5729
<b>PCB 138</b>	3.9395	3.8580	4.2977	10.6921	7.7355	4.2197	4.0685	9.7764	5.1450	4.0958	2.7859	38.6309	2.8053
<b>PCB 153</b>	4.1052	4.2281	4.7597	13.1370	7.5741	5.7420	5.3058	8.5536	6.7706	4.8621	2.9785	37.7171	3.4891
<b>PCB 156</b>	0.3126	0.3636	0.3670	1.7690	0.7105	0.6377	0.6436	1.0200	0.9458	0.6789	0.2342	5.4353	0.4704
<b>PCB 169</b>	<0.0025	<0.0025	<0.0025	<0.0025	<0.0025	<0.0025	<0.0025	<0.0025	<0.0025	<0.0025	<0.0025	<0.0025	<0.0025
<b>PCB 180</b>	1.7832	1.5789	4.9541	5.1704	3.5270	3.1358	2.3011	2.5982	4.8191	2.2057	1.4463	5.5921	1.8183
<b>PCB tot</b>	20.1	21.4	24.0	80.1	37.2	28.8	27.9	40.7	34.7	26.7	14.3	227.4	19.2

**Tabella 4.4.1.4** Risultati delle analisi chimiche degli idrocarburi pesanti (PCB ; µg kg<sup>-1</sup>) realizzate dai Laboratori ARPAL dopo 15 (Tempo 1), 30 (Tempo 2) e 60 (Tempo 3) giorni di attività di mycoremediation sui sedimenti del porto di Genova. Si riporta anche il risultato della caratterizzazione chimica del sedimento relativa ai PCB (Tempo 0).

Metalli (mg kg <sup>-1</sup> )	Media Vaschetta 1 e 2	
	Tempo 0	Tempo 3
Al	6800	6000
As	8	5.4
Cd	0.42	0.32
Cr tot	55	56.5
Fe	15000	16500
Mn	650	595
Ni	31	36.5
Pb	59	27
Cu	15	30.5
Zn	62	75.5
Hg	0.32	<0.3

**Tabella 4.4.1.5** Risultati delle analisi chimiche (laboratorio EUROCHEM Italia s.r.l.) relative ai saggi di mycoremediation sui sedimenti di Genova, effettuate sui campioni di sedimento (strato superficiale - 2 cm -sotto il telo) trattato e non, al Tempo 0 e dopo 60 giorni (Tempo 3) dall'inoculo fungino.

Metalli (mg kg <sup>-1</sup> )	Media Vaschetta 1 e 2		
	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 3
Al	1195	1150	1950
As	<1	<1	1.3
Cd	<1	<1	<1
Cr tot	12.25	12	15.5
Fe	2800	2700	4700
Mn	105.5	<1	175
Ni	5.65	4.35	11.35
Pb	4.2	6.85	15.5
Cu	10.45	15	12.2
Zn	30	45.5	116.5
Hg	<1	<1	<1

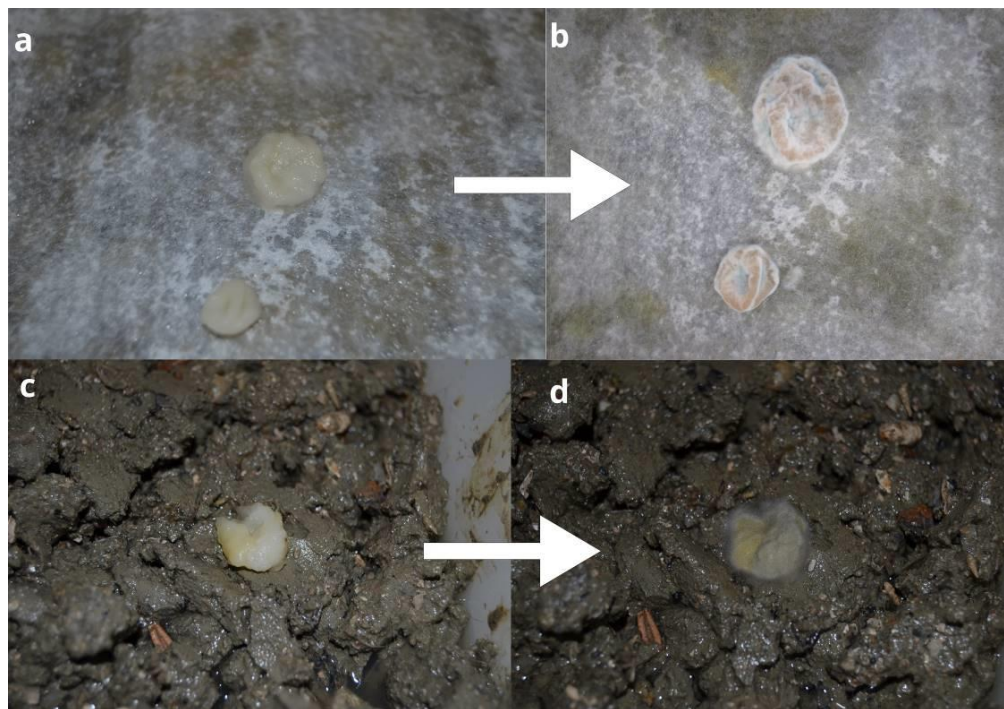
**Tabella 4.4.1.6** Risultati delle analisi chimiche (laboratorio EUROCHEM Italia s.r.l.) relative ai saggi di mycoremediation sui sedimenti di Genova, effettuate sui campioni di telo trattato e non, dopo 15 (Tempo1), 30 (Tempo2) e 60 (Tempo3) giorni dall'inoculo fungino.

Le analisi dei metalli (**Tabella 4.4.1.1**) evidenziano come non vi sia differenza tra i risultati ottenuti per la vaschetta 1 e la vaschetta 2 dove il telo è stato posizionato diversamente per aumentare la superficie di contatto tra i microfunghi e il sedimento (**Figura 2.4.6**). Per questo motivo, nei test successivi, quest'ultima modalità di posizionamento del telo non è stata utilizzata. Inoltre, i risultati evidenziano la diminuzione significativa del manganese dopo 30 e 60 giorni di attività (**Tabella 4.4.1.1**) nel sedimento profondo, una netta diminuzione di importanti contaminanti come Al, As, Cd e Pb nei primi centimetri di sedimento fino al Tempo 3 (**Tabella 4.4.1.5**), e che i microfunghi sono stati in grado di accumulare principalmente rame e zinco (**Tabella 4.4.1.6**). Per quanto riguarda gli inquinanti organici, invece, non si evidenziano diminuzioni significative delle concentrazioni fatta eccezione, nel caso della vaschetta 3, per gli idrocarburi con C>12 (**Table 4.4.1.2, 4.4.1.3, 4.4.1.4**). Infatti, si è osservata una diminuzione degli idrocarburi pesanti dopo 30 giorni di attività (da 83 mg kg<sup>-1</sup> a 42 mg kg<sup>-1</sup>) (**Tabella 4.4.1.3**).

#### 5.4.4.2 Sedimento del porto di Livorno

L'attività di mycoremediation dei sedimenti prelevati all'interno della cassa di colmata del porto di Livorno è stata svolta dal 6 marzo 2018 al 3 maggio 2018, in contemporanea con i sedimenti del Canale dei Navicelli di Pisa (paragrafo 4.4.3).

Nella **Figura 4.4.2.1** sono riportate alcune immagini dei microfunghi durante l'attività di mycoremediation. Sui sedimenti della cassa di colmata del porto di Livorno : si può osservare la crescita dei microfunghi nella vaschetta 1 (**Figura 4.4.2.1**, immagini a e b) e nella vaschetta 4 (**Figura 4.4.2.1**, immagini c e d) durante i primi tre giorni di attività.



**Figura 4.4.2.1.** Crescita dei microfunghi durante i primi tre giorni di attività di mycoremediation sui sedimenti del porto di Livorno : a; b) microfunghi inoculati nella vaschetta1; c e d) microfunghi inoculati nella vaschetta 4.

I risultati delle analisi di metalli, IPA, idrocarburi con C>12 e PCB realizzate dopo 15, 30 e 60 giorni di attività, sono riportati nelle **Tabelle 4.4.2.1-4.4.2.6**.

<b>Metalli (mg kg<sup>-1</sup>)</b>				
	Tempo 0	<b>Media Vaschetta 1 e 2</b>		
		Tempo 1	Tempo 2	Tempo 3
<b>Al</b>	15600	17325	16705	15544
<b>As</b>	9.0	10.5	10.4	10.8
<b>Cd</b>	0.5	0.6	0.6	0.7
<b>Cr tot</b>	67	72	69	65
<b>Fe</b>	20346	22645	19940	18778
<b>Mn</b>	441	473	455	484
<b>Ni</b>	52	55	52	52
<b>Pb</b>	17	23	19	26
<b>Cu</b>	30	37	35	33
<b>Zn</b>	87	97	93	93
<b>Hg</b>	0.08	0.09	0.09	0.13

**Tabella 4.4.2.1** Risultati delle analisi chimiche dei metalli realizzate dai Laboratori ARPAL dopo 15 (Tempo 1), 30 (Tempo 2) e 60 (Tempo 3) giorni di attività di mycoremediation sui sedimenti del porto di Livorno. Si riporta anche il risultato della caratterizzazione chimica del sedimento relativa ai metalli (Tempo 0).

Idrocarburi Policiclici Aromatici (mg kg <sup>-1</sup> )										
	Tempo 0	Media Vaschetta 1 e 2			Media Vaschetta 3 e 4			Vaschetta 5		
		Tempo 1	Tempo 2	Tempo 3	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 3	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 3
<b>Naftalene</b>	0.05	0.03	0.02	<0.01	0.03	0.01	<0.01	0.02	0.01	<0.01
<b>Acenaftene</b>	0.02	0.01	0.02	<0.01	0.02	0.01	<0.01	0.01	0.01	<0.01
<b>Acenaftilene</b>	0.01	0.01	0.01	<0.01	0.01	<0.01	<0.01	0.01	0.01	<0.01
<b>Antracene</b>	0.04	0.03	0.04	0.01	0.03	0.02	<0.01	0.03	0.03	0.02
<b>Benzo(a)antracene</b>	0.22	0.21	0.42	0.12	0.20	0.14	0.07	0.13	0.18	0.22
<b>Benzo(a)pirene</b>	0.12	0.13	0.14	0.07	0.08	0.07	0.04	0.07	0.07	0.09
<b>Benzo(b)fluorantene</b>	0.36	0.36	0.41	0.29	0.28	0.25	0.18	0.27	0.32	0.38
<b>Benzo(k)fluorantene</b>	0.13	0.13	0.14	0.10	0.10	0.09	0.07	0.09	0.11	0.13
<b>Benzo(g,h,i)perilene</b>	0.09	0.10	0.12	0.13	0.06	0.06	0.08	0.06	0.07	0.14
<b>Crisene</b>	0.36	0.29	0.43	0.19	0.28	0.21	0.13	0.20	0.28	0.33
<b>Dibenzo(a,h)antracene</b>	0.03	0.03	0.04	0.04	0.02	0.02	0.03	0.02	0.03	0.05
<b>Fenantrene</b>	0.25	0.18	0.19	<0.01	0.30	0.10	0.02	0.13	0.15	0.01
<b>Fluorantene</b>	0.52	0.52	0.71	0.24	0.85	0.27	0.11	0.27	0.40	0.50
<b>Fluorene</b>	0.03	0.02	0.02	<0.01	0.02	0.01	<0.01	0.01	0.01	<0.01
<b>Indeno(1,2,3-c,d)pirene</b>	0.11	0.11	0.14	0.16	0.07	0.07	0.09	0.07	0.08	0.18
<b>Pirene</b>	0.48	0.46	0.58	0.20	0.52	0.24	0.09	0.25	0.32	0.39
<b>Somma IPA</b>	2.8	2.6	3.4	1.5	2.9	1.6	0.9	1.6	2.1	2.4

**Tabella 4.4.2.2** Risultati delle analisi chimiche degli IPA (mg kg<sup>-1</sup>) realizzate dai Laboratori ARPAL dopo 15 (Tempo 1), 30 (Tempo 2) e 60 (Tempo 3) giorni di attività di mycoremediation sui sedimenti del porto di Livorno. Si riporta anche il risultato della caratterizzazione chimica del sedimento relativa agli IPA (Tempo 0).

Idrocarburi C>12 (mg kg <sup>-1</sup> )										
	Tempo 0	Media Vaschetta 1 e 2			Media Vaschetta 3 e 4			Vaschetta 5		
		Tempo 1	Tempo 2	Tempo 3	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 3	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 3
<b>C&gt;12</b>	40	<10	111	113	<10	68	64	<10	57	66

**Tabella 4.4.2.3** Risultati delle analisi chimiche degli idrocarburi pesanti (C>12; mg kg<sup>-1</sup>) realizzate dai Laboratori ARPAL dopo 15 (Tempo 1), 30 (Tempo 2) e 60 (Tempo 3) giorni di attività di mycoremediation sui sedimenti del porto di Livorno. Si riporta anche il risultato della caratterizzazione chimica del sedimento relativa ai C>12 (Tempo 0).

PCB (µg kg <sup>-1</sup> )										
	Tempo 0	Media Vaschetta 1 e 2			Media Vaschetta 3 e 4			Vaschetta 5		
		Tempo 1	Tempo 2	Tempo 3	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 3	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 3
<b>PCB 28</b>	0.1475	0.1927	0.1761	0.1700	0.2283	0.1333	0.2613	0.1643	0.1172	0.1690
<b>PCB 52</b>	0.4845	0.5278	0.5888	0.4587	0.6573	0.4057	0.8948	0.5263	0.4919	0.6292
<b>PCB 77</b>	0.0257	0.0319	0.0234	0.0236	0.0300	0.0104	0.0217	0.0345	0.0148	0.0193
<b>PCB 81</b>	<0.0025	<0.0025	0.0017	<0.0025	<0.0025	0.0020	<0.0025	<0.0025	<0.0025	<0.0025
<b>PCB 101</b>	1.0107	1.1782	1.3441	0.8989	1.2338	0.7222	1.2398	1.0719	1.0149	1.0210
<b>PCB 118</b>	0.8599	0.9255	0.9391	0.7952	0.9604	0.5085	0.8813	0.9867	0.7168	0.7733
<b>PCB 126</b>	0.0000	0.0055	0.0067	0.0000	0.0000	0.0021	0.0022	0.0000	0.0070	0.0000
<b>PCB 128</b>	0.2458	0.2639	0.2884	0.2283	0.2419	0.0414	0.1992	0.2613	0.2197	0.2391
<b>PCB 138</b>	1.4784	1.5810	2.5077	1.3491	1.3474	1.1722	1.1728	1.4869	2.0717	1.4831
<b>PCB 153</b>	1.9398	2.1717	2.2590	1.6544	1.7431	1.0319	1.2768	1.7934	1.7774	1.6889
<b>PCB 156</b>	0.1335	0.1340	0.1640	0.1215	0.1169	0.0692	0.1039	0.1377	0.1310	0.1374
<b>PCB 169</b>	<0.0025	<0.0025	<0.0025	<0.0025	<0.0025	0.0020	<0.0025	<0.0025	<0.0025	<0.0025
<b>PCB 180</b>	1.0255	1.2564	1.2562	0.9646	0.8236	0.5624	0.6502	0.9176	1.0051	1.0179
<b>PCB tot</b>	7.3514	8.27	9.555	6.665	7.38	4.66	6.705	7.38	7.57	7.18

**Tabella 4.4.2.4** Risultati delle analisi chimiche degli idrocarburi pesanti (PCB; µg kg<sup>-1</sup>) realizzate dai Laboratori ARPAL dopo 15 (Tempo 1), 30 (Tempo 2) e 60 (Tempo 3) giorni di attività di mycoremediation sui sedimenti del porto di Livorno. Si riporta anche il risultato della caratterizzazione chimica del sedimento relativa ai PCB (Tempo 0).



Metalli (mg kg <sup>-1</sup> )	Media Vaschetta 1 e 2	
	Tempo 0	Tempo 3
Al	4800	8000
As	<5	6.2
Cd	<0.3	0.45
Cr tot	8.7	43
Fe	6900	15000
Mn	100	335
Ni	8.4	36
Pb	<3	13
Cu	<10	36
Zn	<15	68
Hg	<0.3	<0.3

**Tabella 4.4.2.5** Risultati delle analisi chimiche (laboratorio EUROCHEM Italia s.r.l.) relative ai saggi di mycoremediation sui sedimenti di Livorno, effettuate sui campioni di sedimento (strato superficiale - 2 cm -sotto il telo) trattato e non, al Tempo 0 e dopo 60 giorni (Tempo 3) dall'inoculo fungino.

Metalli (mg kg <sup>-1</sup> )	Media Vaschetta 1 e 2		
	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 3
Al	550	1135	3000
As	<1	<1	<1
Cd	<1	<1	<1
Cr tot	2.15	8.7	12
Fe	1025	2650	4450
Mn	165	120	240
Ni	1.5	4.1	9.5
Pb	<1	3.05	4.5
Cu	3.35	9	6.8
Zn	6.45	42.5	31
Hg	<1	<1	<1

**Tabella 4.4.2.6** Risultati delle analisi chimiche (laboratorio EUROCHEM Italia s.r.l.) relative ai saggi di mycoremediation sui sedimenti di Livorno, effettuate sui campioni di telo trattato e non, dopo 15 (Tempo1), 30 (Tempo2) e 60 (Tempo3) giorni dall'inoculo fungino.

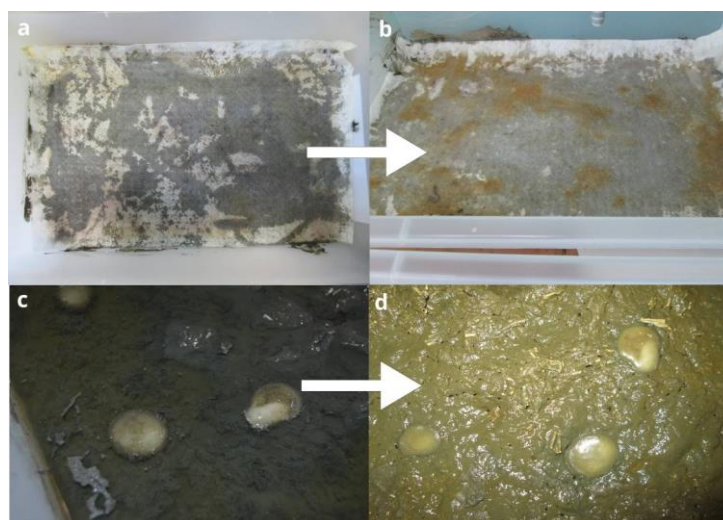
Per quanto riguarda i metalli, i risultati delle analisi dei sedimenti provenienti da Livorno evidenziano come il ferro sia significativamente diminuito dopo 60 giorni di attività (**Tabella 4.4.2.1**). Inoltre, si evidenzia come i microfunghi abbiano accumulato al loro interno arsenico, alluminio, cadmio, cromo, rame, ferro, piombo e zinco dopo 30 giorni di attività e manganese e nichel dopo 15 e 60 giorni di attività, rispettivamente (**Tabella 4.4.2.5**). Nello specifico, cadmio, rame e zinco risultano i metalli maggiormente accumulati (**Tabella 4.4.2.6**).

I risultati ottenuti durante l'attività di mycoremediation svolta sui sedimenti del porto di Livorno hanno evidenziato come la degradazione degli IPA sia stata più efficiente rispetto agli altri sedimenti testati. La diminuzione di concentrazione è stata più evidente nel caso degli idrocarburi totali (sommatoria IPA): la concentrazione è diminuita del 67% in 60 giorni di attività (da 2.8 mg kg<sup>-1</sup> a 0.9 mg kg<sup>-1</sup>; **Tabella 4.4.2.2**). I singoli IPA che sono diminuiti in maniera significativa sono: antracene, benzo(a)antracene, benzo(a)pirene, benzo(b)fluorantene, crisene, fluorantene e pirene (**Tabella 4.4.2.2**). Gli idrocarburi pesanti non hanno subito, invece, variazioni significative (**Tabella 4.4.2.3**) mentre i PCB totali sono diminuiti del 10% nelle vaschette dalla 1 alla 4. I PCB 128 e 156 risultano diminuiti significativamente al tempo 2 (30 giorni di attività) nelle vaschette 3 e 4 (**Tabella 4.4.2.4**).

#### 5.4.4.3 Sedimento del Canale dei Navicelli di Pisa

L'attività di mycoremediation dei sedimenti prelevati all'interno del Canale dei Navicelli di Pisa è stata svolta dal 6 marzo 2018 al 3 maggio 2018, in contemporanea con i sedimenti della cassa di colmata del porto di Livorno (paragrafo 4.4.2).

Nella **Figura 4.4.3.1** sono riportate alcune immagini dei microfunghi durante l'attività di mycoremediation. Dei sedimenti di Pisa: si possono osservare i microfunghi nella vaschetta 2 (**Figura 4.4.3.1**, immagini a e b) e nella vaschetta 4 (**Figura 4.4.3.1**, immagini c e d) durante i primi sei giorni di attività.



**Figura 4.4.3.1** Crescita dei microfunghi durante i primi sei giorni di attività di mycoremediation sui sedimenti del Canale dei Navicelli di Pisa: a; b) microfunghi inoculati nella vaschetta 2; c e d) microfunghi inoculati nella vaschetta 4.

I risultati delle analisi di metalli, IPA, idrocarburi con C>12 e PCB svolte dopo 15, 30 e 60 giorni di attività, sono riportati nelle **Tabelle 4.4.3.1-4.4.3.6**.

Metalli (mg kg <sup>-1</sup> )				
	Tempo 0	Media Vaschetta 1 e 2		
		Tempo 1	Tempo 2	Tempo 3
<b>Al</b>	14300	21743	20195	23015
<b>As</b>	6.0	6.0	6.3	6.7
<b>Cd</b>	29	25	25	26
<b>Cr tot</b>	337	290	310	377
<b>Fe</b>	21260	26236	25662	25971
<b>Mn</b>	498	499	502	537
<b>Ni</b>	61	60	61	135
<b>Pb</b>	75	63	67	70
<b>Cu</b>	95	85	93	96
<b>Zn</b>	693	560	607	631
<b>Hg</b>	0.40	0.37	0.37	0.48

**Tabella 4.4.3.1** Risultati delle analisi chimiche dei metalli realizzate dai Laboratori ARPAL dopo 15 (Tempo 1), 30 (Tempo 2) e 60 (Tempo 3) giorni di attività di mycoremediation sui sedimenti del Canale dei Navicelli di Pisa. Si riporta anche il risultato della caratterizzazione chimica del sedimento relativa ai metalli (Tempo 0).

Idrocarburi Policiclici Aromatici (mg kg <sup>-1</sup> )										
	Tempo 0	Media Vaschetta 1 e 2			Media Vaschetta 3 e 4			Vaschetta 5		
		Tempo 1	Tempo 2	Tempo 3	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 3	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 3
Naftalene	0.02	0.03	<0.01	<0.01	0.03	<0.01	<0.01	0.01	<0.01	<0.01
Acenaftene	0.05	0.02	0.02	<0.01	0.04	0.01	<0.01	0.03	<0.01	<0.01
Acenaftilene	0.03	0.02	<0.01	<0.01	0.02	<0.01	<0.01	0.02	<0.01	<0.01
Antracene	0.18	0.07	0.05	0.04	0.09	0.04	0.03	0.07	<0.01	<0.01
Benzo(a)antracene	0.86	0.46	0.50	0.43	0.48	0.28	0.40	0.40	0.13	0.23
Benzo(a)pirene	0.64	0.38	0.38	0.47	0.38	0.23	0.43	0.36	0.13	0.31
Benzo(b)fluorantene	1.09	0.63	0.67	0.81	0.63	0.40	0.77	0.60	0.21	0.46
Benzo(k)fluorantene	0.40	0.22	0.25	0.28	0.22	0.14	0.26	0.19	0.09	0.16
Benzo(g,h,i)perilene	0.48	0.25	0.30	0.69	0.26	0.19	0.62	0.23	0.11	0.49
Crisene	0.61	0.36	0.42	0.48	0.39	0.23	0.42	0.27	0.11	0.26
Dibenzo(a,h)antracene	0.13	0.07	0.08	0.18	0.07	0.05	0.17	0.07	0.03	0.15
Fenantrene	0.19	0.10	0.07	0.07	0.16	0.05	0.08	0.08	0.06	<0.01
Fluorantene	2.37	1.13	1.35	0.95	1.30	0.74	0.85	1.01	0.37	0.64
Fluorene	0.01	0.02	<0.01	<0.01	0.02	<0.01	<0.01	0.01	<0.01	<0.01
Indeno(1,2,3-c,d)pirene	0.48	0.26	0.30	0.68	0.26	0.19	0.62	0.24	0.11	0.47
Pirene	3.18	1.61	2.05	2.04	1.78	1.16	1.89	1.60	0.60	1.16
Somma IPA	10.70	5.60	6.45	7.10	6.05	3.65	6.50	5.18	2.00	4.30

**Tabella 4.4.3.2** Risultati delle analisi chimiche degli IPA (mg kg<sup>-1</sup>) realizzate dai Laboratori ARPAL dopo 15 (Tempo 1), 30 (Tempo 2) e 60 (Tempo 3) giorni di attività di mycoremediation sui sedimenti del Canale dei Navicelli di Pisa. Si riporta anche il risultato della caratterizzazione chimica del sedimento relativa agli IPA (Tempo 0).

Idrocarburi C>12 (mg kg <sup>-1</sup> )										
	Tempo 0	Media Vaschetta 1 e 2			Vaschetta 3			Vaschetta 5		
		Tempo 1	Tempo 2	Tempo 3	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 3	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 3
<b>C&gt;12</b>	6800	1440	5000	3900	1113	3900	3900	1250	4300	3200

**Tabella 4.4.3.3** Risultati delle analisi chimiche degli idrocarburi pesanti (C>12 ; mg kg<sup>-1</sup>) realizzate dai Laboratori ARPAL dopo 15 (Tempo 1), 30 (Tempo 2) e 60 (Tempo 3) giorni di attività di mycoremediation sui sedimenti del Canale dei Navicelli di Pisa. Si riporta anche il risultato della caratterizzazione chimica del sedimento relativa ai C>12 (Tempo 0).

PCB (µg kg <sup>-1</sup> )										
	Tempo 0	Media Vaschetta 1 e 2			Media Vaschetta 3 e 4			Vaschetta 5		
		Tempo 1	Tempo 2	Tempo 3	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 3	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 3
<b>PCB 28</b>	4.9965	2.6531	3.3735	3.3955	3.1540	1.7080	3.9658	2.6557	1.0450	1.5992
<b>PCB 52</b>	19.1754	9.1135	17.0150	10.2473	10.3599	6.0035	17.5029	9.5018	3.4870	5.6608
<b>PCB 77</b>	0.2384	0.1313	0.0000	0.0992	0.1028	0.0080	0.2497	0.0000	0.0340	0.0561
<b>PCB 81</b>	<0.0025	<0.0025	<0.0025	<0.0025	<0.0025	<0.0025	<0.0025	<0.0025	<0.0025	<0.0025
<b>PCB 101</b>	33.2405	16.8482	28.4940	7.0122	15.1707	11.3140	29.8134	10.2864	6.4450	9.4458
<b>PCB 118</b>	14.2039	7.5364	3.9280	10.0908	5.6022	2.0830	10.0257	4.6232	1.4500	5.1841
<b>PCB 126</b>	<0.0025	0.1026	0.1670	<0.0025	0.1654	<0.0025	<0.0025	0.1541	<0.0025	<0.0025
<b>PCB 128</b>	0.2655	0.2554	7.9085	5.4227	0.7749	2.3775	4.9006	2.8710	1.2770	3.0029
<b>PCB 138</b>	54.8269	19.5232	35.4315	37.7375	21.2765	17.3480	33.2406	19.7950	8.7770	20.1534
<b>PCB 153</b>	51.9239	25.5831	46.4620	43.4655	30.4713	16.4355	36.0538	26.0855	9.9840	30.8211
<b>PCB 156</b>	3.3200	1.9708	2.5535	3.3480	2.4523	1.6605	2.7244	1.9536	0.6630	2.0850
<b>PCB 169</b>	<0.0025	<0.0025	<0.0025	<0.0025	<0.0025	0.0095	<0.0025	<0.0025	0.0040	<0.0025
<b>PCB 180</b>	23.9094	13.5022	14.4665	20.7376	15.3807	10.3700	20.4221	13.6107	4.8050	12.7172
<b>PCB tot</b>	205.86	97.22	159.80	141.56	104.91	69.32	158.90	91.54	37.97	90.73

**Tabella 4.4.3.4** Risultati delle analisi chimiche degli idrocarburi pesanti (PCB ; µg kg<sup>-1</sup>) realizzate dai Laboratori ARPAL dopo 15 (Tempo 1), 30 (Tempo 2) e 60 (Tempo 3) giorni di attività di mycoremediation sui sedimenti del Canale dei Navicelli di Pisa. Si riporta anche il risultato della caratterizzazione chimica del sedimento relativa ai PCB (Tempo 0).

Metalli (mg kg <sup>-1</sup> )	Media Vaschetta 1 e 2	
	Tempo 0	Tempo 3
Al	29000	11500
As	<5	<5
Cd	22	16
Cr tot	320	210
Fe	23000	21000
Mn	500	400
Ni	57	54
Pb	60	42
Cu	110	71
Zn	590	345
Hg	0.59	<0.3

**Tabella 4.4.3.5** Risultati delle analisi chimiche (laboratorio EUROCHEM Italia s.r.l.) relative ai saggi di mycoremediation sui sedimenti di Pisa, effettuate sui campioni di sedimento (strato superficiale - 2 cm -sotto il telo) trattato e non, al Tempo 0 e dopo 60 giorni (Tempo 3) dall'inoculo fungino.

Metalli (mg kg <sup>-1</sup> )	Media Vaschetta 1 e 2		
	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 3
Al	1850	1410	1950
As	<1	<1	<1
Cd	2.85	2.3	2.3
Cr tot	36	30	22.75
Fe	3400	2160	2800
Mn	80	52.5	70.5
Ni	6.85	7.2	5.75
Pb	8.15	9.85	7.25
Cu	12.55	11.85	8.35
Zn	73.5	71.5	75.5
Hg	<1	<1	<1

**Tabella 4.4.3.6** Risultati delle analisi chimiche (laboratorio EUROCHEM Italia s.r.l.) relative ai saggi di mycoremediation sui sedimenti di Pisa, effettuate sui campioni di telo trattato e non, dopo 15 (Tempo1), 30 (Tempo2) e 60 (Tempo3) giorni dall'inoculo fungino.

I risultati delle analisi dei metalli condotte durante l'attività di mycoremediation dei sedimenti prelevati all'interno del Canale dei Navicelli di Pisa evidenziano una diminuzione significativa del cromo totale dopo 15 giorni di attività (**Tabella 4.4.3.1**). I risultati relativi all'accumulo dei metalli da parte dei microfunghi evidenziano, invece, che il ferro e il cadmio hanno raggiunto il picco di accumulo dopo 15 giorni mentre l'antimonio dopo 30 giorni di attività (**Tabella 4.4.3.6**). Gli inquinanti organici non hanno subito variazioni significative nonostante si trattasse del sedimento maggiormente caratterizzato dalla presenza di questi composti (**Tabelle 4.4.3.2, 4.4.3.3, 4.4.3.4**). A questo proposito, è possibile che le caratteristiche fisiche di questo sedimento (fine e pertanto compatto e maggiormente ricco di materiale organico) abbiano ridotto le capacità dei microfunghi di penetrare al suo interno e abbiano favorito lo sfruttamento del materiale organico da parte dei microfunghi come fonte di nutrimento, più facilmente reperibile rispetto agli inquinanti organici.

#### 5.4.4.4 Sedimento del porto di Cagliari

L'attività di mycoremediation dei sedimenti prelevati dalla cassa di colmata del porto di Cagliari è stata realizzata dal 9 agosto 2018 al 10 ottobre 2018.

Nella **Figura 4.4.4.1** è riportata l'immagine di uno dei microfunghi inoculati nei sedimenti del porto di Cagliari il giorno dell'allestimento del laboratorio per l'attività di mycoremediation, in particolare, si tratta di un microfungo all'interno della vaschetta 3 (**Figura 4.4.4.1**).



**Figura 4.4.4.1.** Microfungo inoculato nei sedimenti del porto di Cagliari presenti nella vaschetta 3 il giorno dell'allestimento del laboratorio per l'attività di mycoremediation.



I risultati delle analisi di metalli, IPA, idrocarburi con C>12 e PCB svolte dopo 15, 30 e 60 giorni di attività, sono riportati nelle **Tabelle 4.4.4.1-4.4.4.6**.

Metalli (mg kg <sup>-1</sup> )				
	Tempo 0	Media Vaschetta 1 e 2		
		Tempo 1	Tempo 2	Tempo 3
<b>Al</b>	5189	5652.5	5741	6257
<b>As</b>	14	15.5	15	18
<b>Cd</b>	1.9	2.0	2.1	2.1
<b>Cr tot</b>	63	114	16	15
<b>Fe</b>	5193	6591.5	6361	7000
<b>Mn</b>	112	122	122	121
<b>Ni</b>	34	51	13	12
<b>Pb</b>	129	134	155	150
<b>Cu</b>	43	43.5	48	48
<b>Zn</b>	289	301	343	324
<b>Hg</b>	0.3	0.4	0.7	0.3

**Tabella 4.4.4.1** Risultati delle analisi chimiche dei metalli realizzate dai Laboratori ARPAL dopo 15 (Tempo 1), 30 (Tempo 2) e 60 (Tempo 3) giorni di attività di mycoremediation sui sedimenti del porto di Cagliari. Si riporta anche il risultato della caratterizzazione chimica del sedimento relativa ai metalli (Tempo 0).

Idrocarburi Policiclici Aromatici (mg kg <sup>-1</sup> )										
	Tempo 0	Media Vaschetta 1 e 2			Media Vaschetta 3 e 4			Vaschetta 5		
		Tempo 1	Tempo 2	Tempo 3	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 3	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 3
<b>Naftalene</b>	0.02	0.01	<0.01	0.03	0.02	0.01	0.03	<0.01	<0.01	0.02
<b>Acenaftene</b>	0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	0.04	<0.01	0.01	<0.01
<b>Acenaftilene</b>	0.03	<0.01	0.01	0.03	<0.01	<0.01	0.03	<0.01	<0.01	0.03
<b>Antracene</b>	0.05	0.04	0.03	0.07	0.04	0.04	0.19	0.02	0.03	0.09
<b>Benzo(a)antracene</b>	0.44	0.23	0.17	0.33	0.20	0.22	0.60	0.14	0.17	0.57
<b>Benzo(a)pirene</b>	0.58	0.28	0.23	0.48	0.24	0.28	0.72	0.20	0.22	0.66
<b>Benzo(b)fluorantene</b>	0.64	0.45	0.33	0.70	0.38	0.43	0.98	0.33	0.34	0.92
<b>Benzo(k)fluorantene</b>	0.25	0.17	0.13	0.30	0.15	0.18	0.38	0.13	0.13	0.38
<b>Benzo(g,h,i)perilene</b>	0.62	0.58	0.43	0.98	0.49	0.50	1.09	0.43	0.42	0.97
<b>Crisene</b>	0.36	0.37	0.26	0.52	0.31	0.35	0.74	0.26	0.27	0.62
<b>Dibenzo(a,h)antracene</b>	0.18	0.14	0.11	0.25	0.12	0.13	0.30	0.11	0.10	0.28
<b>Fenantrene</b>	0.16	0.24	0.12	0.21	0.15	0.18	0.81	0.15	0.12	0.31
<b>Fluorantene</b>	0.53	0.52	0.38	0.75	0.44	0.51	1.79	0.36	0.39	0.87
<b>Fluorene</b>	0.01	0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	0.05	<0.01	<0.01	0.01
<b>Indeno(1,2,3-c,d)pirene</b>	0.72	0.56	0.42	0.90	0.47	0.51	1.08	0.43	0.42	0.97
<b>Pirene</b>	0.48	0.47	0.33	0.58	0.44	0.44	1.04	0.34	0.36	0.78
<b>Somma IPA</b>	5.1	4.1	2.9	7.2	3.4	3.8	11.1	2.9	3.0	8.5

**Tabella 4.4.4.2** Risultati delle analisi chimiche degli IPA (mg kg<sup>-1</sup>) realizzate dai Laboratori ARPAL dopo 15 (Tempo 1), 30 (Tempo 2) e 60 (Tempo 3) giorni di attività di mycoremediation sui sedimenti del porto di Cagliari. Si riporta anche il risultato della caratterizzazione chimica del sedimento relativa agli IPA (Tempo 0).

Idrocarburi C>12 (mg kg <sup>-1</sup> )										
	Tempo 0	Media Vaschetta 1 e 2			Vaschetta 3			Vaschetta 5		
		Tempo 1	Tempo 2	Tempo 3	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 3	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 3
<b>C&gt;12</b>	94	93	99	124	97	104	86	80	91	95

**Tabella 4.4.4.3** Risultati delle analisi chimiche degli idrocarburi pesanti (C>12 ; mg kg<sup>-1</sup>) realizzate dai Laboratori ARPAL dopo 15 (Tempo 1), 30 (Tempo 2) e 60 (Tempo 3) giorni di attività di mycoremediation sui sedimenti del porto di Cagliari.

PCB (µg kg <sup>-1</sup> )										
	Tempo 0	Media Vaschetta 1 e 2			Media Vaschetta 3 e 4			Vaschetta 5		
		Tempo 1	Tempo 2	Tempo 3	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 3	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 3
<b>PCB 28</b>	0.3549	0.6329	0.4240	2.3661	0.4700	0.2980	0.5429	0.2979	0.3567	0.4400
<b>PCB 52</b>	3.1074	3.6474	4.4498	6.9527	3.7681	3.8069	2.9949	6.4517	3.1126	2.5849
<b>PCB 77</b>	0.0209	0.0709	0.0746	0.1183	0.0545	0.0261	0.0663	0.0431	0.0316	0.0507
<b>PCB 81</b>	0.0512	0.0530	<0.0025	<0.0025	0.0098	0.0059	<0.0025	0.0140	<0.0025	<0.0025
<b>PCB 101</b>	4.4257	6.1792	5.2148	6.6839	5.3061	12.4638	3.5513	8.6898	4.4104	3.3197
<b>PCB 118</b>	2.5067	3.7364	3.3512	6.1183	3.1840	6.2400	3.3234	4.2284	2.5353	2.8402
<b>PCB 126</b>	<0.0025	0.0036	0.0021	<0.0025	<0.0025	0.0030	<0.0025	0.0050	<0.0025	<0.0025
<b>PCB 128</b>	0.7754	0.9320	0.9377	1.6321	0.7173	2.6215	0.8713	1.8255	0.8201	0.9193
<b>PCB 138</b>	6.6839	5.1677	5.4334	10.8508	4.1491	21.4027	5.1314	13.8542	4.3630	5.4974
<b>PCB 153</b>	5.5837	7.5248	7.5081	9.0046	6.8646	31.9065	4.4697	21.8795	6.6277	3.8998
<b>PCB 156</b>	0.3780	0.4025	0.4723	0.7789	0.3427	1.7672	0.4316	1.2325	0.3470	0.3688
<b>PCB 169</b>	<0.0025	<0.0025	<0.0025	<0.0025	<0.0025	<0.0025	<0.0025	<0.0025	<0.0025	<0.0025
<b>PCB 180</b>	2.8302	3.7604	3.5011	4.5965	3.0531	22.4412	3.0348	13.8308	3.4003	2.6481
<b>PCB tot</b>	26.72	32.11	31.37	49.11	27.92	102.98	24.42	72.35	26.00	22.57

**Tabella 4.4.4.5** Risultati delle analisi chimiche (laboratorio EUROCHEM Italia s.r.l.) relative ai saggi di mycoremediation sui sedimenti di Cagliari, effettuate sui campioni di sedimento (strato superficiale - 2 cm -sotto il telo) trattato e non, al Tempo 0 e dopo 60 giorni (Tempo 3) dall'inoculo fungino.

Metalli (mg kg <sup>-1</sup> )	Media Vaschetta 1 e 2	
	Tempo 0	Tempo 3
Al	4100	4750
As	12	14
Cd	1.9	1.5
Cr tot	8.2	7.7
Fe	7200	5150
Mn	89	74
Ni	5.6	4.5
Pb	97	110
Cu	40	49
Zn	210	205
Hg	<0.3	<0.3

**Tabella 4.4.4.5** Risultati delle analisi chimiche (laboratorio EUROCHEM Italia s.r.l.) relative ai saggi di mycoremediation sui sedimenti di Cagliari, effettuate sui campioni di sedimento (strato superficiale - 2 cm -sotto il telo) trattato e non, al Tempo 0 e dopo 60 giorni (Tempo 3) dall'inoculo fungino.

Metalli (mg kg <sup>-1</sup> )	Media Vaschetta 1 e 2		
	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 3
Al	505	550	845
As	14.5	7.95	14
Cd	<1	<1	1.1
Cr tot	1.6	1.4	<1
Fe	4050	3300	5750
Mn	82	68	79
Ni	1.5	1.15	<1
Pb	18	15.25	17
Cu	5.4	5.32	10.33
Zn	68	47	125
Hg	<1	<1	<1

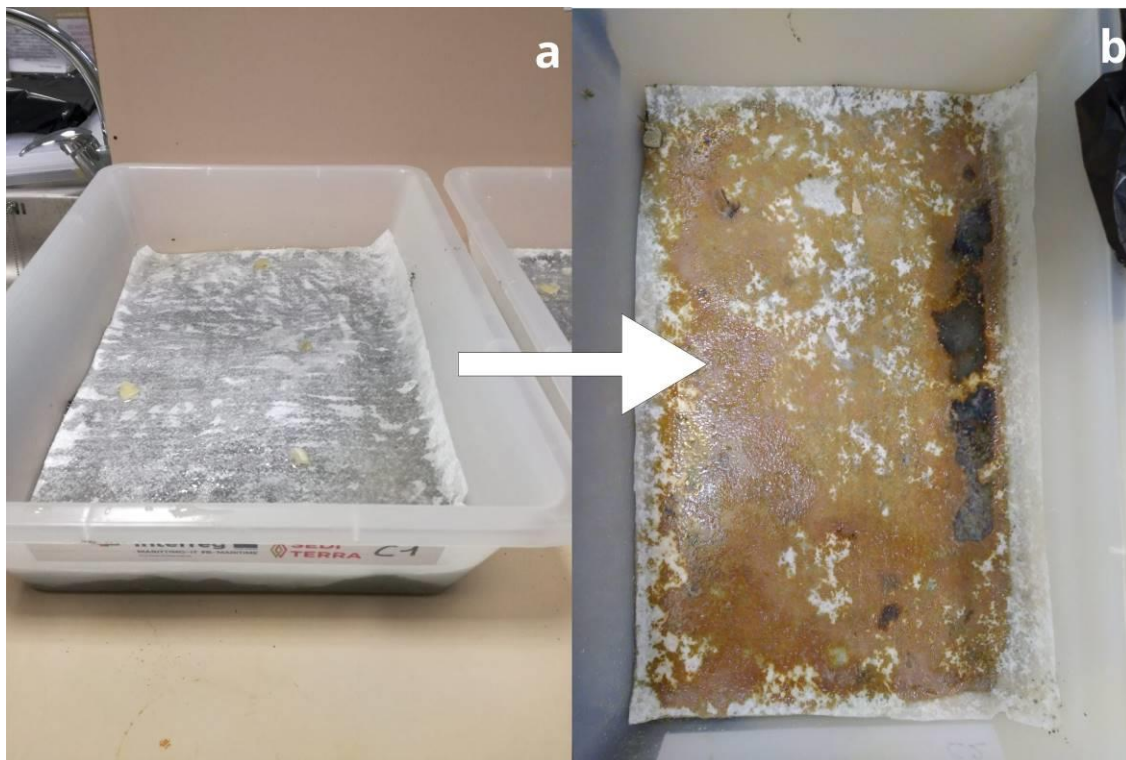
**Tabella 4.4.4.6** Risultati delle analisi chimiche (laboratorio EUROCHEM Italia s.r.l.) relative ai saggi di mycoremediation sui sedimenti di Cagliari, effettuate sui campioni di telo trattato e non, dopo 15 (Tempo1), 30 (Tempo2) e 60 (Tempo3) giorni dall'inoculo fungino.

I risultati delle analisi svolte nell'ambito dell'attività di mycoremediation dei sedimenti del porto di Cagliari mostrano una diminuzione significativa di cromo e nichel dopo 30 e 60 giorni di attività (**Tabella 4.4.4.1**). I principali metalli che sono stati accumulati dai funghi sono: ferro, alluminio, piombo, rame e manganese (**Tabella 4.4.4.6**). Gli inquinanti organici, invece, non hanno subito variazioni significative (**Tablelle 4.4.4.2-4.4.4.3**).

#### 4.4.4.5 Sedimento del porto di Centuri

L'attività di mycoremediation dei sedimenti prelevati nel porto di Centuri è stata svolta dal 5 marzo 2019 al 6 maggio 2019, in contemporanea con i sedimenti del porto di Tolone (paragrafo 4.4.6).

Nella **Figura 4.4.5.1** sono riportate le immagini dei microfunghi presenti nella vaschetta 1 durante l'attività di mycoremediation sui sedimenti del porto di Centuri: si può osservare la crescita dei microfunghi durante i primi 15 giorni di attività (**Figura 4.4.5.1a**, giorno dell'inoculo e **Figura 4.4.5.1b**, quindicesimo giorno di attività).



**Figura 4.4.5.1.** Crescita dei microfunghi durante i primi quindici giorni di attività di mycoremediation sui sedimenti porto di Centuri : a) microfunghi inoculati nella vaschetta 1 il giorno dell'allestimento del laboratorio per l'attività ; b) microfunghi nella vaschetta 1 dopo 15 giorni di attività.

I risultati delle analisi relative ai metalli e al contenuto organico e inorganico del sedimento svolte dopo 15, 30 e 60 giorni di attività, sono riportati nelle **Tablelle 4.4.5.1** e **4.4.5.2**, rispettivamente.

Metalli (mg kg <sup>-1</sup> )				
	Tempo 0	Media Vaschetta 1 e 2		
		Tempo 1	Tempo 2	Tempo 3
<b>Al</b>	11000	<1	4950	9750
<b>As</b>	<1	<1	<1	<1
<b>Cd</b>	<1	<1	<1	<1
<b>Cr tot</b>	470	420	440	580
<b>Fe</b>	26000	<1	7050	7350
<b>Mn</b>	300	<1	305	<1
<b>Ni</b>	320	190	280	340
<b>Pb</b>	<1	<1	5.8	<1
<b>Cu</b>	74	<1	16	27.5
<b>Zn</b>	36	31.5	32	29
<b>Hg</b>	<1	<1	<1	<1
<b>Sb</b>	<1	<1	6.1	<1

**Tabella 4.4.5.1** Risultati delle analisi chimiche dei metalli realizzate dai Laboratori Eurochem Italia s.r.l. dopo 15 (Tempo 1), 30 (Tempo 2) e 60 (Tempo 3) giorni di attività di mycoremediation sui sedimenti del porto di Centuri. Si riporta anche il risultato della caratterizzazione chimica del sedimento relativa ai metalli (Tempo 0).

Vaschetta	Tempo	Frazione inorganica del sedimento (%)	Frazione organica del sedimento (%)
Campione caratterizzazione fisica	0	97.78	2.22
1	1	98.41	1.59
	2	98.47	1.53
	3	98.26	1.74
2	1	97.91	2.09
	2	98.31	1.69
	3	98.44	1.56
5	1	97.76	2.24
	2	97.83	2.17
	3	98.53	1.47

**Tabella 4.4.5.2** Risultati delle analisi del contenuto organico e inorganico del sedimento di Centuri espresso in percentuale : risultato della caratterizzazione fisica (Tempo 0), e risultati ottenuti dopo 15 (Tempo 1), 30 (Tempo 2) e 60 (Tempo 3) giorni di attività di mycoremediation sui sedimenti inseriti nelle vaschette 1, 2 e 5.

I risultati delle analisi del contenuto organico e inorganico del sedimento di Centuri evidenziano come il contenuto organico del sedimento sia diminuito maggiormente nelle vaschette 1 e 2 in cui erano presenti i microfunghi rispetto alla vaschetta 5 di controllo ; ciò suggerisce che l'attività dei microfunghi abbia favorito la degradazione del materiale vegetale presente nei sedimenti provenienti da Centuri (**Tabella 4.4.5.2**).

Metalli (mg kg <sup>-1</sup> )	Media Vaschetta 1 e 2		
	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 3
Al	<1	2.9	<1
As	<1	1650	1550
Cd	<1	<1	<1
Cr tot	50	21.6	61.5
Fe	35.5	13.15	13
Mn	<1	11.25	<1
Ni	<1	1.45	<1
Pb	<1	3450	2150
Cu	<1	51.5	31.5
Zn	<1	<1	<1
Hg	<1	5.65	<1

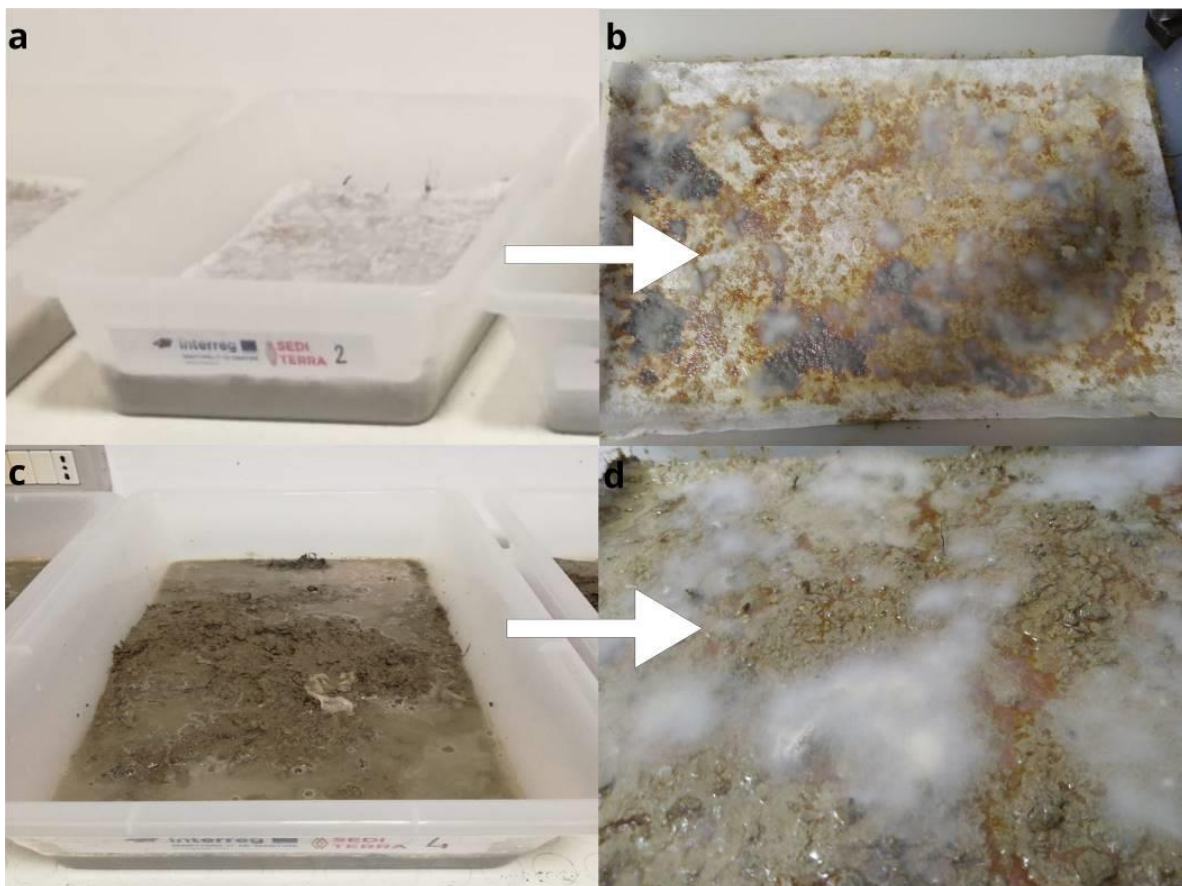
**Tabella 4.4.5.3** Risultati delle analisi chimiche (laboratorio EUROCHEM Italia s.r.l.) relative ai saggi di mycoremediation sui sedimenti di Centuri, effettuate sui campioni di telo trattato e non, dopo 15 (Tempo1), 30 (Tempo2) e 60 (Tempo3) giorni dall'inoculo fungino.



#### 5.4.4.6 Sedimento del porto di Tolone

L'attività di mycoremediation dei sedimenti prelevati nel porto di Tolone è stata svolta dal 5 marzo 2019 al 6 maggio 2019, in contemporanea con i sedimenti del porto di Centuri (paragrafo 4.4.5).

Nella **Figura 4.4.6.1** sono riportate alcune immagini dei microfunghi durante l'attività di mycoremediation dei sedimenti di Tolone : si possono osservare i microfunghi nella vaschetta 2 (**Figura 4.4.6.1**, immagini a e b) e nella vaschetta 4 (**Figura 4.4.6.1**, immagini c e d) durante primi quindici giorni di attività.



**Figura 4.4.6.1.** Crescita dei microfunghi durante i primi quindici giorni di attività di mycoremediation sui sedimenti del porto di Tolone : a; b) microfunghi inoculati nella vaschetta 2; c e d) microfunghi inoculati nella vaschetta 4.

I risultati delle analisi dei metalli svolte dopo 15, 30 e 60 giorni di attività, sono riportati nella **Tabella 4.4.6.1**.

Metalli (mg kg <sup>-1</sup> )				
	Tempo 0	Media Vaschetta 1 e 2		
		Tempo 1	Tempo 2	Tempo 3
Al	4700	4.1	3.95	<1
As	<1	600.5	3550	555
Cd	<1	<1	<1	<1
Cr tot	<1	2.15	68.15	<1
Fe	<1	2.35	41.35	<1
Mn	110	2.85	10	<1
Ni	<1	1.15	2.7	<1
Pb	35	2550.5	<1	2100
Cu	65	29.5	104.5	<1
Zn	51	<1	<1	<1
Hg	<1	5	9.81	<1

**Tabella 4.4.6.1** Risultati delle analisi chimiche dei metalli realizzate dai Laboratori Eurochem Italia s.r.l. dopo 15 (Tempo 1), 30 (Tempo 2) e 60 (Tempo 3) giorni di attività di mycoremediation sui sedimenti del porto di Tolone. Si riporta anche il risultato della caratterizzazione chimica del sedimento relativa ai metalli (Tempo 0).

Le analisi degli inquinanti organici sono risultate <10 mg kg<sup>-1</sup> per tutti gli IPA, <100 mg kg<sup>-1</sup> per la loro sommatoria e <10 mg kg<sup>-1</sup> per gli idrocarburi con C>12 sia nella fase di caratterizzazione (Tempo 0) sia dopo 15 giorni di attività di mycoremediation (Tempo 1) pertanto le analisi riguardanti questi composti sono state sospese.

## 5.5) ANALISI DELL'EFFICACIA E DEI LIMITI DEL TRATTAMENTO

I saggi di mycoremediation hanno reso evidente come il trattamento fungino sia stato più efficace nell'accumulo dei metalli pesanti, rispetto che nella degradazione dei contaminanti organici. Uno dei principali limiti delle sperimentazioni effettuate è stato quello di lavorare con tassi di contaminazione piuttosto bassi : sia i metalli sia i contaminanti organici erano spesso sotto i livelli di tolleranza normati. La contaminazione su cui effettivamente si è lavorato può definirsi, infatti, residua. Tuttavia, almeno per quanto riguarda i metalli, i risultati sono stati molto incoraggianti e promettenti.

Nella maggior parte dei sedimenti si è avuta una riduzione dei contaminanti e un incremento della concentrazione metallica sulle membrane di feltro inoculate con funghi autoctoni. Trattandosi di organismi viventi, è emerso un certo grado di selettività nell'accumulo metallico: infatti, le specie fungine sono capaci di assorbire meglio determinati metalli rispetto ad altri, e non tutte hanno evoluto la capacità di bioaccumulare. Esistono, infatti, i cosiddetti metalli con funzione biologica che i funghi sanno assorbire poiché decisivi per garantire il buon funzionamento cellulare (es. Fe e Zn), mentre esistono poi i metalli indifferenti che soltanto alcune specie sono capaci di chelare e assorbire grazie all'evoluzione di meccanismi specifici e anche grazie all'adattamento e/o all'esposizione a questi metalli stessi (es. Cr, As, Pb, Hg).

Per quantificare il grado di contaminazione dei sedimenti prima (Tempo 0) e dopo il trattamento (al Tempo 3), e quindi quantificare il funzionamento del trattamento di mycoremediation, abbiamo considerato i livelli chimici di riferimento L1 e L2 e la valutazione della pericolosità chimica (*Hazard Quotient* - HQ) per i contaminanti chimici definiti dal Decreto Ministeriale Italiano 173 del 2016. HQ si basa su una classificazione internazionale (Allegato II della Direttiva 2008/105/UE) che definisce le sostanze come "non prioritarie", "prioritarie", o "pericolose e prioritarie", e assegna alle sostanze un peso basato sulla loro classificazione di priorità. Di conseguenza, una sostanza "non prioritaria" ha peso = 1, una "prioritaria" ha peso = 1.1, e una "pericolosa e prioritaria" ha peso = 1.3. Il diverso peso assegnato ai vari composti ha lo scopo di conferire una maggiore rilevanza nella classificazione chimica dei sedimenti.

A partire dalla concentrazione del contaminante (C) trovata nei sedimenti ed in funzione dei livelli di riferimenti L1 e L2 italiani, per ciascun parametro chimico analizzato viene calcolata la variazione rispetto a tali limiti, ovvero la Ratio To Reference (RTR); il valore di RTR viene corretto in funzione del "peso" del contaminante per ottenere un valore di RTR pesato ( $RTR_w$ ), al fine di enfatizzare l'importanza delle variazioni osservate per i contaminanti più pericolosi. Il calcolo dell'indice di pericolo quantitativo (*Hazard Quotient*), specifico per la caratterizzazione chimica dei sedimenti ( $HQ_C$ ), è ottenuto dalla media di tutti gli  $RTR_w$  dei parametri con  $RTR_w \leq 1$  (cioè valori inferiori al limite di riferimento), addizionato con la sommatoria degli  $RTR_w$  di tutti i contaminanti con  $RTR_w > 1$ .

Di seguito le formule utilizzate per la quantificazione :

$$RTR_{(i)} = C_{(i)} / L1_{(i)} \text{ o } L2_{(i)}$$

$$RTR_w = RTR_{(i)} \times \text{peso}_{(i)}$$

$$HQ_C = [\sum RTR_w_{(j)} \text{ se } RTR_{(j)} \leq 1] / N + \sum RTR_w_{(k)} \text{ se } RTR_w_{(k)} > 1$$

L'indice chimico  $HQ_C$  è assegnato ad una classe di pericolo (da assente a molto alto), identificata da un diverso colore: Assente/bianco se  $HQ_C < 0.7$ ; trascurabile/verde se  $0.7 \leq HQ_C < 1.3$ ; basso/azzurro se  $1.3 \leq HQ_C < 2.6$ ; medio/giallo se  $2.6 \leq HQ_C < 6.5$ ; alto/rosso se  $6.5 \leq HQ_C < 13$ ; e molto alto/nero se  $HQ_C \geq 13$  (**Tabella 5.1**).

HQ <sub>c</sub>	CLASSE DI PERICOLO
0 – < 0.7	Assente
0.7 – < 1.3	Trascurabile
1.3 – < 2.6	Basso
2.6 – < 6.5	Medio
6.5 – < 13.0	Alto
≥13.0	Molto Alto

**Tabella 5.1** Classificazione dei sedimenti in base all'*Hazard Quotient* (HQ<sub>c</sub>)

Seguendo la strategia di valutazione della qualità dei sedimenti sopra riportata e considerando L1 (il livello chimico di riferimento più basso), prima del trattamento i sedimenti di Genova mostrano un'alta contaminazione di metalli, mentre i sedimenti di Pisa e Cagliari presentano una contaminazione molto alta (**Tabella 5.2**). Invece, considerando L2 (il più alto livello chimico di riferimento), i sedimenti di Genova hanno una contaminazione assente, i sedimenti di Cagliari una contaminazione media, mentre i sedimenti di Pisa hanno una contaminazione molto elevata. Dopo il trattamento con mycoremediation, c'è stato un miglioramento della contaminazione dei sedimenti, ma solo per Genova il miglioramento è corrisposto anche ad una riduzione della classe di contaminazione dei sedimenti per L1 (**Tabella 5.2**).

Tempo 0	Genova	Pisa	Cagliari
HQ <sub>c</sub> su L1	8.16	117.23	16.08
HQ <sub>c</sub> su L2	0.51	44.85	6.39
Tempo 3	Genova	Pisa	Cagliari
HQ <sub>c</sub> su L1	4.59	80.27	14.86
HQ <sub>c</sub> su L2	0.46	30.76	5.88

**Tabella 5.2** Risultati della valutazione della qualità dei sedimenti (HQ<sub>c</sub>) prima (Tempo 0) e dopo (Tempo 3) il trattamento di mycoremediation. Bianco : contaminazione assente o trascurabile ; giallo : contaminazione media ; rosso : alta contaminazione ; e nero : contaminazione molto alta

Per quanto riguarda i sedimenti di Livorno, Centuri e Tolone, non è stato possibile calcolare la pericolosità dei sedimenti in quanto le concentrazioni dei metalli (tra quelli considerati dalla normativa) che superavano i limiti di detezione al Tempo 0 erano troppo pochi (anche se con valori elevati) e avrebbero dato risultati non significativi.

Per quanto riguarda gli IPA, invece, tutti i sedimenti riportavano concentrazioni iniziali troppo basse per poter applicare questo metodo di valutazione (tutti i sedimenti risultavano avere contaminazione assente già al Tempo 0).

La valutazione della qualità, ove è stato possibile effettuarla, ha mostrato quindi un miglioramento dei sedimenti dopo la mycoremediation, anche se non tale da abbassare la classe di rischio dei sedimenti a livelli accettabili per un loro riutilizzo. Ciò potrebbe significare che per alti livelli di contaminazione dei metalli, come nel caso di Pisa, l'effetto positivo della mycoremediation e/o il tempo di trattamento utilizzato in questo pilota non siano stati sufficienti ad ottenere un miglioramento importante. Ciò potrebbe essere dovuto a fattori ambientali esterni o a caratteristiche fisiche dei sedimenti (granulometria, contenuto di sostanza organica, pH, temperatura ambientale, umidità). Pertanto, sarà necessario approfondire questo aspetto nel processo di trattamento e trovare un possibile miglioramento.

La selezione dei ceppi fungini è risultata determinante per l'impiego dei funghi autoctoni, perché essi sono sicuramente i più adattati a vivere e tollerare l'ambiente contaminato oggetto di studio. D'altro canto, esiste la possibilità che i funghi assumano come strategia di sopravvivenza, nei confronti di un determinato contaminante, l'esclusione. Questo fa sì che ciascuna specie sia abile e molto efficiente nell'accumulo di determinati metalli, mentre ne escluda completamente altri.

## 5.6) COMPONENTE ECONOMICA

Di seguito è riportata una stima dei costi relativi all'attività di mycoremediation su sedimenti marini.

Nella **Tabella 6.1** sono indicati i costi medi di una singola analisi effettuata per l'attività di mycoremediation, mentre nella **Tabella 6.2** sono riportati i costi medi relativi a un trattamento completo (due mesi di trattamento, dal tempo  $t_0$  al tempo  $t_3$ ) di 30 kg di sedimento marino.

Attività di mycoremediation	Costo medio (€)
Analisi chimiche, analisi genetiche della comunità fungina, materiale di consumo di laboratorio e reagenti	142.78 €
Personale scientifico dedicato all'attività	153.62 €
Costo medio complessivo ad analisi	296.40 €

**Tabella 6.1** Costo medio stimato per singola analisi dell'attività di mycoremediation su sedimenti marini.

Attività di mycoremediation	Costo medio (€)
N. medio di analisi necessarie per il trattamento	62
Costo medio ad analisi, comprensivo di personale dedicato	296.40€
Costo medio complessivo a trattamento	18,376.69 €

**Tabella 6.2** Numero medio di analisi e costo medio stimato per un singolo trattamento di mycoremediation su 30 kg di sedimenti marini.

La mycoremediation dei sedimenti non richiede investimenti in importanti infrastrutture rispetto ad altre procedure che sono messe in atto per la decontaminazione dei sedimenti, in quanto non richiede l'uso o il noleggio di macchinari particolarmente costosi. Ha però la necessità di avere a disposizione grandi spazi (se applicata sui grandi volumi) e tempo. Il costo maggiore è quello relativo alle analisi chimiche da effettuare per il controllo del corretto avanzamento del trattamento e al personale dedicato al trattamento.

## 5.7) CONCLUSIONI E PROSPETTIVE

I saggi di mycoremediation effettuati hanno permesso la caratterizzazione micologica di un particolare ambiente estremo, quello dei sedimenti dragati, di cui ad oggi si hanno ben poche conoscenze. Inoltre, il lavoro ha permesso la selezione di ceppi fungini marini autoctoni impiegabili in processi di biorisanamento dei sedimenti dragati contaminati grazie alle loro ottime capacità di biodegradazione di sostanze organiche tossiche e, in particolare, di bioconcentrazione di metalli pesanti.

I bassi valori di contaminazione riscontrati in quasi tutti i siti hanno messo in evidenza come i funghi siano potenzialmente impiegabili anche in trattamenti di contaminazioni residue soprattutto metalliche. Lo studio, infatti, di una membrana assorbente porosa su cui il micelio fungino possa facilmente attecchire e crescere rimanendo chimicamente a contatto col substrato sottostante accumulando i metalli anche residuali, rappresenta un interessante e importante obiettivo che potrebbe diminuire notevolmente i costi di smaltimento e stoccaggio dei sedimenti dragati fuori dal Porto, oltre che aggiungere valore e trasformare questi sedimenti in una risorsa in modo del tutto naturale e sostenibile direttamente *in situ*.

Tale progetto deve ancora essere perfezionato e implementato per favorire il suo utilizzo su ampia scala e direttamente *in situ*, trasferendo quindi l'attività a una scala reale e non di laboratorio, adattandolo di volta in volta ad ogni tipologia di sedimento da trattare e cercando di renderlo applicabile con qualunque condizione climatica (anche sfavorevole alla sopravvivenza dei funghi).



## **VI. LIVRABLE T2.3.4 : TRAITEMENT PAR MYCOREMÉDIATION**

### **6.1) ACTION PILOTE DE MYCOREMÉDIATION**

Les sédiments marins dragués représentent un problème important en terme de gestion. Les dragages sont principalement nécessaires pour permettre la navigabilité à l'intérieur des ports : de gros volumes de sédiment sont prélevés pendant ces activités et doivent être ensuite éliminés en raison de leur teneur en polluants organiques et inorganiques. C'est pourquoi, dans le passé, les sédiments dragués étaient considérés comme des déchets spéciaux et leur élimination était problématique : stockage dans des sites *ad hoc*, repositionnement dans des canyons sous-marins (capping), etc. De plus, si la teneur en polluants n'était pas élevée, les sédiments pouvaient être réutilisés, plutôt que d'être éliminés, pour remplir les espaces portuaires (boîtes de remplissage) afin de créer de nouveaux quais ou de nouvelles zones à l'intérieur du port lui-même. Aujourd'hui, les sédiments ne sont plus considérés comme un déchet mais comme une ressource et, par conséquent, comme un matériau à réutiliser dans la construction de routes ou d'autres travaux. La valorisation exige que les sédiments soient traités pour réduire ou éliminer la teneur en polluants, ce n'est qu'alors qu'ils peuvent être réutilisés. C'est pourquoi, au fil du temps, plusieurs stratégies (lavage des sédiments, bioremédiation, etc.) utiles à cette fin ont été élaborées. En particulier, les stratégies de bioremédiation consistent à stimuler et à exploiter les microorganismes qui sont des composants des cycles biogéochimiques naturels. Ces microorganismes sont capables de dégrader les polluants organiques et de bio-immobiliser les polluants inorganiques (métaux) par des processus biologiques qui se produisent naturellement. Dans le cadre du projet européen InterregMarittimo Italie-France 2014-2020 « SEDITERRA - Lignes directrices pour le traitement durable des sédiments de dragage de l'aire Marittimo », le Département des Sciences de la Terre, de l'Environnement et de la Vie (DISTAV) de l'université de Gènes, partenaire du projet, a proposé d'utiliser le microchampignon pour mettre en œuvre la décontamination des sédiments de dragage : cette technique est appelée mycoremédiation.

Les champignons sont des microorganismes pionniers capables de survivre dans des conditions extrêmes et de coloniser toutes sortes d'environnements, y compris la mer. Le microchampignon, en mer, peut être défini comme obligatoire ou facultatif. Les microchampignons marins obligatoires ne se développent et ne se reproduisent que dans les milieux marins ou dans les estuaires, tandis que les microchampignons marins facultatifs (appelés champignons marins dérivés) proviennent de milieux terrestres ou fluviaux et sont capables de se développer et probablement aussi de se reproduire dans les milieux marins. Les microchampignons, en raison de leurs propriétés métaboliques, sécrètent des enzymes et des acides organiques qui peuvent interagir avec les polluants. En fait, ils sont capables de bio-concentrer, de bio-accumuler et de bio-stabiliser les métaux lourds et de dégrader les polluants organiques, tels que les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), les hydrocarbures lourds (hydrocarbures ayant un nombre d'atomes de carbone  $> 12$  ;  $C > 12$ ) et les polychlorobiphényles (PCB). Les HAP et les hydrocarbures lourds sont dégradés en composés plus simples et sont exploités, avec les PCB, comme nutriments par des microchampignons.



Cela suggère la possibilité d'utiliser des souches fongiques pour décontaminer les sédiments portuaires pollués. Dans le cadre du projet, l'activité de mycoremédiation du DISTAV a été réalisée sur des sédiments prélevés dans 6 zones différentes : le port de Gênes, le réservoir de remplissage du port de Livourne, le canal Navicelli de Pise, le réservoir de remplissage du port de Cagliari, le port de Centuri et le port de Toulon. Plus précisément, pour chaque site, 30 kg de sédiments ont été échantillonnés puis soumis au processus de mycoremédiation. Dans un premier temps, l'activité a consisté à caractériser la flore fongique autochtone présente dans chaque sédiment. Sur la base des informations contenues dans la bibliographie, les espèces de microchampignons, identifiées dans les sédiments de chaque zone, qui sont les plus efficaces pour la dégradation des composés organiques et l'accumulation des métaux, ont été sélectionnées. Enfin, les espèces indigènes sélectionnées sur chaque site ont été exploitées pour évaluer la capacité de ces microorganismes à réduire ou éliminer les polluants présents dans les sédiments dont ils sont extraits. La caractérisation de la flore fongique a été réalisée afin d'utiliser les microchampignons naturellement présents dans chaque zone sans introduire de nouvelles espèces, en vue de l'application possible du protocole de mycoremédiation directement dans l'environnement

Ce rapport présente le protocole utilisé lors de l'activité de mycoremédiation réalisée par le laboratoire DISTAV dans le cadre du projet SEDITERRA.

## 6.2) MATÉRIELS ET MÉTHODES

Dans le cadre de l'activité de mycoremédiation, des sédiments provenant de 6 zones différentes, quatre italiennes et deux françaises, ont été testés : le port de Gênes, le réservoir de remplissage du port de Livourne, le canal dei Navicelli de Pise, le réservoir de remplissage du port de Cagliari, le port de Toulon et le port de Centuri (**Tableau 6.2.1**). Plus particulièrement, les sédiments prélevés dans les réservoirs de remplissage (cas de Livourne et de Cagliari) ont été exposés aux conditions climatiques pendant de longues périodes, les sédiments prélevés dans le canal Navicelli de Pise sont saumâtres et les sédiments du port de Centuri sont caractérisés par la présence de la *Posidonia Oceanica*. Ces derniers ont été traités uniquement pour les métaux lourds, puisque, pendant la phase de caractérisation des sédiments (activité T2.1, produit T2.1.1 réalisée par l'INSA et l'ISPRA, partenaire du projet), la teneur en polluants organiques était proche de ou inférieure à la limite de détection des instruments et, par conséquent, ne permettait pas une évaluation efficace de l'action des microchampignons. Cependant, en raison de la présence de la *Posidonia Oceanica* dans ces sédiments, l'action des microchampignons sur la dégradation de ces résidus végétaux a été évaluée. Enfin, les PCB n'ont pas été analysés dans les sédiments du port de Toulon lors de l'activité de mycoremédiation, car lors de la phase de caractérisation (activité T2.1, produit T2.1.1 réalisée par l'INSA et l'ISPRA, partenaire du projet) ces composés se situaient tous en dessous de la limite de détection.

Chacun des six échantillons de sédiments a été soumis au même protocole que celui indiqué ci-dessous, à l'exception des sédiments provenant du port de Centuri, comme indiqué ci-dessus.

Site	Provenance des sédiments traités
Gènes	Fond marin du port
Livourne	Réservoir de remplissage du port
Pise	Fond du canal Navicelli de Pise
Cagliari	Réservoir de remplissage du port
Centuri	Fond marin du port
Toulon	Fond marin du port

**Tableau 6.2.1 : Sites d'origine des sédiments testés lors de l'activité de mycoremédiation du DISTAV**

Dans l'ensemble, l'activité de mycoremédiation a consisté en diverses analyses. Dans chacune des zones échantillonnées, 30 kg de sédiments ont été prélevés : chaque échantillon a d'abord été homogénéisé, puis les fractions de sédiments suivantes ont été prélevées :

- 5 g pour la caractérisation mycologique du sédiment et pour la sélection du microchampignon pour l'activité de mycoremédiation
- 215 g pour la caractérisation physique du sédiment
- 1,5 kg pour la caractérisation chimique du sédiment
- 25 kg pour effectuer la mycoremédiation (15 kg pour le port de Centuri)

L'activité de mycoremédiation spécifiquement dédiée à l'évaluation de l'efficacité des microchampignons dans l'élimination des métaux lourds a nécessité l'utilisation d'une bêche, qui a également été soumise à un certain nombre d'analyses chimiques prévues au cours de l'activité.

### **6.2.1 Caractérisation de la flore fongique, sélection des microchampignons et préparation de l'inoculum**

La fraction de 5 g destinée à la caractérisation de la flore fongique a été prélevée, placée dans un flacon en plastique puis analysée : pour chaque sédiment, les espèces de microchampignons les plus efficaces dans la dégradation des polluants organiques et l'accumulation des métaux lourds, ont été sélectionnées, parmi celles identifiées, sur la base des informations contenues dans la bibliographie. La caractérisation de la flore fongique et la sélection des espèces les plus appropriées à cette fin ont permis d'exploiter les microchampignons naturellement présents dans chaque sédiment de manière à ne pas introduire d'espèces exotiques, en vue également d'utiliser ce type de traitement directement dans l'environnement. Le protocole de caractérisation de la flore fongique et les critères de sélection des espèces les plus appropriées pour la mycoremédiation sont présentés en détail ci-dessous.

Les souches fongiques ont été isolées du sédiment par la méthode de dilution sur plaque. L'échantillon a été dilué dans de l'eau stérile dans un rapport de 1:10 (p/v). Après agitation mécanique pendant 10-20 min, la solution obtenue a été diluée par un facteur de 10. 1 ml de suspension a été inoculé dans chaque plaque de Pétri. Enfin, les plaques ont été incubées pendant une semaine dans l'obscurité à une température de 24 °C. Pour favoriser la croissance fongique, des milieux de culture spécifiques ont été utilisés, additionnés d'antibiotiques afin de limiter la croissance des souches bactériennes. Les colonies de champignons ont été comptées chaque semaine et les morphotypes ont été isolés dans des cultures pures, en éprouvette. À ce stade, l'identification morphologique et moléculaire des souches isolées a été effectuée en utilisant une approche polybasique.

Une fois que toutes les espèces trouvées ont été correctement identifiées, celles qui conviennent le mieux aux essais de mycoremédiation tant pour les contaminants organiques qu'inorganiques, pour chaque sédiment, ont été sélectionnées en fonction de la fréquence d'isolement et des connaissances bibliographiques. Une fois les pools d'espèces à utiliser identifiés, on a procédé à des inoculations liquides de sols de culture appauvris (à teneur réduite en éléments nutritifs), afin de favoriser la croissance fongique juste assez pour que les champignons eux-mêmes dans les sédiments soient activés et stimulés pour dégrader et/ou accumuler d'autres substances. Un inoculum de 0,5 l a été préparé pour chaque bac. Une fois préparé et inoculé avec les champignons sélectionnés, il a été mis en agitation pendant 4 jours avant d'être ajouté au sédiment lui-même.

### 6.2.2 Caractérisation physique

La fraction de 215 g de sédiments prélevée pour la caractérisation physique, a été à son tour divisée en deux parties : 200 g pour l'analyse granulométrique et 15 g pour l'analyse du contenu organique et inorganique du sédiment.

L'analyse granulométrique a consisté à tamiser le sédiment avec un tamis d'un maillage de 63 µm et à utiliser de l'eau pour séparer la fraction fine ( $\emptyset < 63 \mu\text{m}$ ) de la fraction grossière ( $\emptyset \geq 63 \mu\text{m}$ ). La fraction fine, passée par le tamis 63 µm, a été à son tour analysée avec l'instrument Coulter Counter® Multisizer 3 (Beckman Coulter, Inc.) afin de distinguer les différentes classes d'argile et de limon ( $\emptyset < 4 \mu\text{m}$  pour l'argile et 16, 30, 63 µm pour le limon). La fraction grossière a été séchée dans un four à 60 °C et a été tamisée à sec à l'aide d'une batterie de tamis. De cette façon, les sédiments ont pu être répartis en différentes classes granulométriques pour le sable et le gravier (125, 250, 500, 1000 µm pour le sable, et  $\emptyset > 2000 \mu\text{m}$  pour le gravier). Les résultats de l'analyse ont été présentés sous forme de pourcentage.

L'analyse du contenu organique et inorganique du sédiment a nécessité le prélèvement de 15 g d'échantillon, qui a été brûlé à l'intérieur d'une moufle ISCO (ISM320 mod.) pendant 3 heures à 550 °C pour éliminer la fraction organique. Ensuite, la fraction qui n'a pas brûlé, a été pesée : c'est la fraction inorganique du sédiment. La fraction organique a été déterminée par la différence entre le poids initial du sédiment et la fraction inorganique. Les valeurs obtenues ont été exprimées en pourcentage.

### 6.2.3 Caractérisation chimique

La fraction de sédiments prélevée pour la caractérisation chimique, égale à 1,5 kg, a été répartie, à son tour, en deux fractions de 0,5 kg et 1 kg respectivement (échantillons témoins, Temps 0) dans le cas des sédiments de Gênes, Livourne, Pise et Cagliari. Ces deux fractions ont été analysées par deux laboratoires différents : les laboratoires de l'Agence régionale pour la protection de l'environnement de la Ligurie (ARPAL) et Eurochem Italia s.r.l... Les paramètres analysés par chaque laboratoire sont indiqués au paragraphe 3.1 ; les métaux ont été testés par les deux laboratoires pour connaître le degré d'écart des résultats relatifs aux métaux, de manière à pouvoir comparer les données obtenues par les deux laboratoires au cours de la mycoremédiation. En ce qui concerne les sédiments de Centuri et de Toulon, la fraction prise en compte pour la caractérisation chimique (1,5 kg) a été analysée uniquement par les Laboratoires d'Eurochem Italia s.r.l.

En outre, une partie du papier absorbant vierge a été analysée chimiquement afin d'évaluer la concentration des métaux naturellement présents à l'intérieur de celui-ci (les paramètres analysés sont indiqués au paragraphe 3.1).

### 6.2.4 Préparation de l'activité de mycoremédiation

La fraction de sédiments prise en compte pour la mycoremédiation, qui est de 25 kg (15 kg pour le port de Centuri), a été à son tour répartie en 5 fractions de 5 kg chacune. Ces fractions ont été placées dans 5 bacs en plastique de 50 x 34 x 10 cm (3 fractions de 5 kg chacune placées dans 3 bacs en plastique pour le port de Centuri). Les bacs ont été numérotés de 1 à 5 ; les cinq bacs utilisés sont indiqués sur la **Figure 6.2.4.1** (ils ont été numérotés 1, 2 et 5 pour les sédiments du port de Centuri ; **Figure 6.2.4.2**).



**Figure 6.2.4.1.** Exemple des 5 bacs numérotés de 1 à 5 utilisées lors des activités de mycoremédiation des sédiments de Gênes, Livourne, Pise, Cagliari et Toulon.

Sur la photo : bacs contenant le sédiment du port de Gênes.



**Figure 6.2.4.2** Numérotation des bacs contenant les sédiments du port de Centuri utilisés lors de l'activité de mycoremédiation réalisée aux Laboratoires DISTAV

Le sédiment contenu dans les bacs a été traité avec des microchampignons, à l'exception du sédiment contenu dans le bac numéro 5. Les sédiments contenus dans les bacs 1, 2, 3, 4, 5 ont été traités comme suit.

#### Bacs 1 et 2

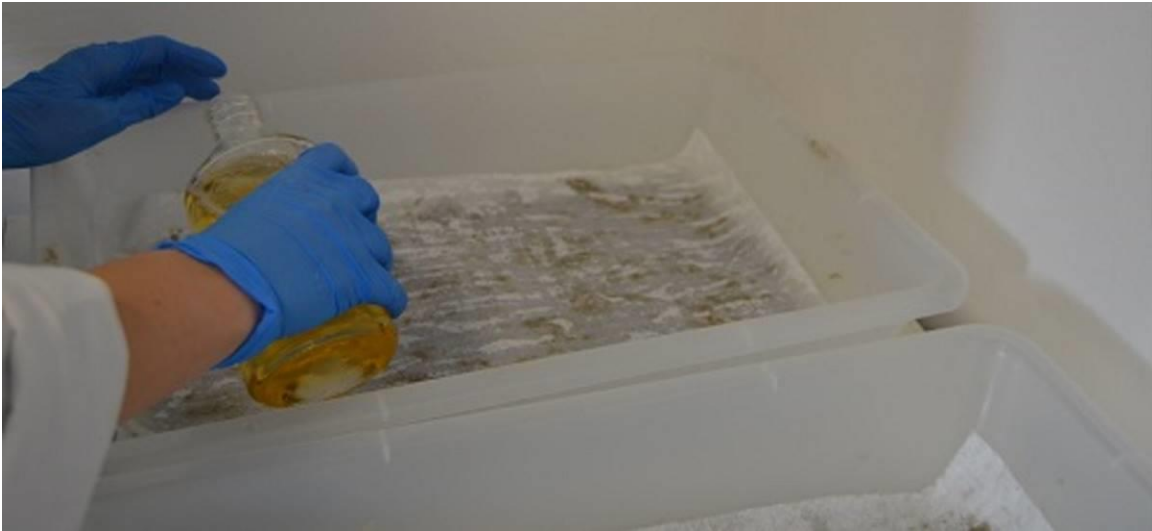
Les sédiments contenus dans les bacs 1 et 2 ont été traités avec des microchampignons pour tester l'efficacité de l'action de ces organismes sur les métaux contenus dans le sédiment. L'activité prévoyait l'utilisation d'un papier absorbant humidifié pour adhérer à la surface des sédiments (**Figure 6.2.4.3**).



**Figure 6.2.4.3** Papier absorbant positionné sur les bacs 1 et 2

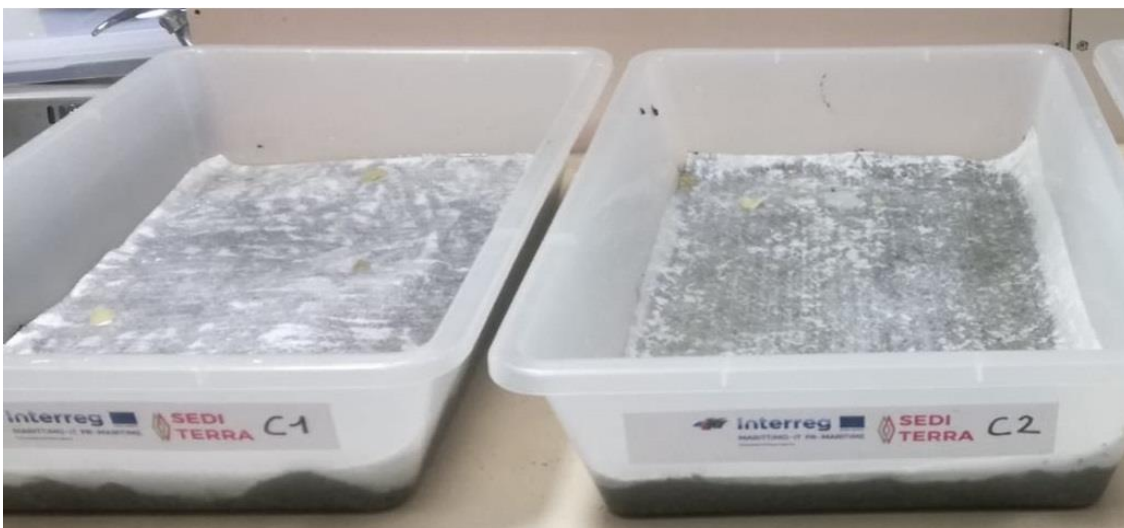


Ensuite, les microchampignons sélectionnés parmi ceux qui présentaient les meilleures caractéristiques pour l'accumulation des métaux (paragraphe 2.1), ont été inoculés sur le papier absorbant : l'inoculum préparé (paragraphe 2.1) a été versé sur le papier absorbant (**Figure 6.2.4.4**).



**Figure 6.2.4.4** Inoculum des microchampignons sur le papier absorbant placé dans les bacs 1 et 2. Sur la photo, sédiments du port de Gênes.

Les résultats obtenus pour les sédiments de Livourne, Pise, Cagliari, Centuri et Toulon sont présentés sur la **Figure 6.2.4.5** dans laquelle les sédiments du port de Centuri sont montrés comme exemple.



**Figure 6.2.4.5** Bacs 1 et 2 au terme de la préparation de l'activité de mycoremédiation. Sur la photo, des bacs préparés avec des sédiments provenant du port de Centuri.

Dans le cas du port de Gênes, dont les sédiments ont été les premiers à être traités, le papier absorbant dans l'un des deux bacs (numéro 2) a été placé de manière à augmenter la surface de contact entre les microchampignons et le sédiment comme le montre la **Figure 6.2.4.6** (bac de droite).



**Figure 6.2.4.6** Deux façons différentes de positionner le papier absorbant sur les sédiments du port de Gênes, photo prise après l'inoculation du microchampignon. Bac de gauche : mode de positionnement traditionnel du papier. Bac latéral droit : mode de positionnement du papier absorbant pour augmenter la surface de contact entre le microchampignon et le sédiment.

La méthode consistant à positionner le papier absorbant de manière à augmenter la surface de contact entre le microchampignon et le sédiment a été immédiatement abandonnée car les résultats ont montré qu'elle ne rendait pas le traitement du sédiment plus efficace (paragraphe 4.4.1).

L'action de la mycoremédiation dans les bacs 1 et 2 a prévu l'utilisation d'un papier absorbant car cela permet de séparer mécaniquement, et non chimiquement, les microchampignons du sédiment : les microorganismes inoculés peuvent cependant agir sur le sédiment en accumulant des métaux et en dégradant les polluants organiques dont ils peuvent se nourrir. Précisément en raison de la capacité des microchampignons de bioconcentrer les métaux à l'intérieur de ceux-ci, l'élimination du papier absorbant (et donc des microchampignons qui s'y trouvent) à la fin de l'activité permet d'éliminer les métaux du sédiment.

Les sédiments présents dans les bacs 1 et 2 ont également été analysés au regard des polluants organiques afin d'avoir une image plus complète de la situation, malgré le fait que les microchampignons ont été sélectionnés parmi ceux qui sont les plus adaptés à l'accumulation des métaux.



### Bacs 3 et 4

Les sédiments des bacs 3 et 4 ont été traités avec des microchampignons pour tester l'efficacité de leur action sur les polluants organiques. Les microchampignons, sélectionnés pour leur capacité d'agir efficacement sur ces composés (paragraphe 2.1), ont été inoculés dans le sédiment : l'inoculum préparé (paragraphe 2.1) a été inséré dans le sédiment (**Figure 6.2.4.7**).



**Figure 6.2.4.7** Inoculum de microchampignons dans les sédiments des bacs 3 et 4. Sur la photo, sédiments du port de Gênes.

Les résultats obtenus pour les sédiments de Livourne, Pise, Cagliari et Toulon sont présentés à la **Figure 6.2.4.8** dans laquelle les sédiments du canal Navicelli de Pise sont montrés comme exemple.



**Figure 6.2.4.8** Bacs 3 et 4 au terme de la préparation de l'activité de mycoremédiation. Sur la photo, des bacs préparés avec des sédiments provenant du port du canal Navicelli de Pise.

### Bac 5

Le sédiment placé dans le bac 5 représentait l'échantillon témoin. En effet, il n'a pas été traité avec des microchampignons et a été maintenu dans les mêmes conditions que les sédiments contenus dans les autres bacs en termes de température, d'humidité et de lumière (conditions limites), pendant toute la période d'activité. Ainsi, il a été possible d'évaluer la variation naturelle, à savoir celle donnée par les conditions limites, de la concentration des polluants organiques qui sont sensibles à ces facteurs. De plus, le papier absorbant utilisé dans les bacs 1 et 2 a également été placé sur le sédiment contenu dans le bac 5 afin d'évaluer l'absorption des polluants par le papier absorbant même (sans microchampignons). L'utilisation du papier du bac 5 a permis d'évaluer l'efficacité des microchampignons seuls à absorber les métaux des bacs 1 et 2 : la concentration des métaux présents dans le papier absorbant du bac 5 pendant l'activité de mycoremédiation a été soustraite des valeurs de concentration obtenues à partir des analyses effectuées pour les échantillons de papier inoculé avec les microchampignons présents dans les bacs 1 et 2. Dans le cas contraire, il ne serait pas possible d'établir une distinction entre l'efficacité des microchampignons et celle du papier absorbant en termes d'absorption des métaux, car il n'est pas possible de séparer correctement les deux matrices pour effectuer l'analyse. Le papier absorbant n'a pas été placé sur les sédiments du bac 5 dans le cas du port de Gênes et dans la phase initiale du traitement des sédiments à Livourne et à Pise : cette procédure a été réalisée afin de pouvoir évaluer plus précisément l'efficacité de l'activité des microchampignons seuls sur les métaux.

Le résultat obtenu pour les sédiments placés dans le bac 5 est illustré par la **Figure 6.2.4.9**.



**Figure 6.2.4.9** Bac 5 au terme de la préparation de l'activité de mycoremédiation. Sur la photo, des bacs préparés avec des sédiments provenant du port de Centuri.

Une fois la préparation des bacs terminée, les sédiments provenant des 6 zones ont été traités différemment pendant l'activité et, plus précisément, comme indiqué ci-dessous.

- Sédiments des ports de Gênes, Livourne et Pise : les sédiments contenus dans chaque bac ont été initialement aspergés d'eau, afin de maintenir une humidité sédimentaire d'environ 60 % nécessaire aux activités vitales des champignons, en quantités égales à 50 ml. Ces sédiments ont été humidifiés quotidiennement en utilisant la même quantité d'eau pendant toute la durée de l'activité. Pendant les périodes d'absence (> 5 jours) de l'opérateur chargé de cette tâche, les sédiments ont été pulvérisés abondamment avec 200 ml d'eau et les bacs ont été enveloppés d'une bâche en plastique noire perforée de manière à maintenir l'humidité et, en même temps, à permettre l'aération du sédiment.
- Sédiments du port de Cagliari, Centuri et Toulon : les sédiments contenus dans chaque bac ont été initialement humidifiés avec de l'eau, qui est nécessaire aux activités vitales des champignons, en quantité égale à 2,5 l. Les bacs ont été immédiatement recouverts de bâches en plastique noires perforées, de manière à maintenir l'humidité et, en même temps, à permettre l'aération des sédiments ; ces bâches ont été maintenues pendant toute la durée de l'activité. Par conséquent, après l'ajout de l'eau initiale (2,5 l), ces sédiments n'ont plus besoin d'être aspergés d'eau, ce qui permet de maintenir l'humidité nécessaire à la croissance des champignons tout au long de l'essai.

Vous trouverez ci-dessous un exemple de l'aspect des bacs au terme de la préparation pour l'activité de mycoremédiation: sédiments provenant de Gênes, Livourne, Pise, Cagliari, Toulon (**Figura 6.2.4.10**) et Centuri (**Figura 6.2.4.11**)



**Figure 6.2.4.10** Bacs à la fin de la préparation pour la mycoremédiation - sédiments provenant de Gênes, Livourne, Pise, Cagliari, Toulon. Sur la photo, des bacs préparés avec des sédiments provenant du port de Toulon.



**Figure 6.2.4.11** Bacs à la fin de la préparation pour la mycoremédiation - sédiments provenant du port de Centuri.

Les bacs contenant les sédiments ont été conservés en laboratoire, à température ambiante, pendant toute la durée de l'activité (60 jours).

### 6.3) PROTOCOLE DE SUIVI

L'activité de mycoremédiation a eu une durée totale de 60 jours. Pendant cette période, un protocole d'échantillonnage commun à tous les sédiments testés, comprenant l'analyse chimique du sédiment, du papier absorbant inoculé de champignons et du papier absorbant sans champignons, a été appliqué. De plus, des analyses du contenu organique et inorganique des sédiments de Centuri ont été effectuées afin d'évaluer l'action des microchampignons sur la dégradation de la *Posidonia Oceanica* qui caractérise ces sédiments. Les échantillons ont été prélevés après 15 (Temps 1), 30 (Temps 2) et 60 (Temps 3) jours d'activité. Les laboratoires chargés d'effectuer les analyses chimiques sur les échantillons prélevés sont ceux de l'Agence régionale pour la protection de l'environnement de la Ligurie (ARPAL) et d'Eurochem Italia s.r.l. Le Laboratoire SEDITERRA du DISTAV a prévu, en revanche, l'analyse des contenus organiques et inorganiques. Les échantillons de sédiments de Gênes, Livourne, Pise et Cagliari prélevés dans chaque bac, et les analyses auxquelles ils ont été soumis, sont les mêmes pour chaque Temps (1, 2 et 3) et figurent dans le **Tableau 6.3.1**, dans lequel sont également mentionnés les laboratoires chargés d'effectuer les analyses. Les échantillons de sédiments de Centuri et Toulon prélevés dans chaque bac, et les analyses auxquelles ils ont été soumis, sont les mêmes pour chaque Temps (1, 2 et 3) et figurent dans le **Tableau 6.3.2**, dans lequel sont également mentionnés les laboratoires chargés d'effectuer les analyses.

Les paramètres correspondant à chaque analyse figurent au paragraphe 3.1. Tous les résultats sont reportés en poids sec du sédiment.



En outre, dans le cas des sédiments du port de Gênes, les composés organostanniques et, plus précisément, le monobutylétain, le dibutylétain, le tributylétain et le tétrabutylétain dans les sédiments ont également été analysés.

Les laboratoires d'Eurochem Italia s.r.l. ont été chargés d'effectuer ces analyses. L'évaluation de ces composés a eu lieu après 15 et 30 jours, mais elle a été abandonnée par la suite parce que ceux-ci étaient absents ou présents dans des concentrations très proches de la limite de détectabilité des instruments, si bien qu'il aurait été insignifiant d'évaluer correctement l'action des microchampignons.

**Tableau 6.3.1** Échantillons prélevés dans les bacs 1, 2, 3, 4 et 5 après 15, 30 et 60 jours d'activité de mycoremédiations sur les sédiments des ports de Gênes, Livourne et Cagliari et du canal Navicelli de Pise : analyses auxquelles ils ont été soumis et laboratoires chargés des analyses.

Bac	Échantillon	Analyses	Laboratoire chargé des analyses
1 et 2	Papier absorbant	Métaux	Eurochem Italia
	Sédiment superficiel (couche de 2 cm sous le papier absorbant) <sup>1</sup>	Métaux	Eurochem Italia
	Sédiment (d'une profondeur de 2 cm jusqu'au fond du bac) <sup>1</sup>	Métaux, HAP, C > 12 et PCB	ARPAL
3 et 4	Sédiment	Métaux, HAP, C > 12 et PCB	ARPAL
5	Papier absorbant <sup>2</sup>	Métaux	Eurochem Italia
	Sédiment	Métaux, HAP, C > 12 et PCB	ARPAL

<sup>1</sup> Les sédiments des bacs 1 et 2 ont été échantillonnés à différentes profondeurs afin d'évaluer plus précisément l'action des microchampignons sur les sédiments en contact direct avec le papier absorbant (sédiment superficiel, couche de 2 cm sous le papier absorbant) et sur la fraction inférieure (sédiment d'une profondeur de 2 cm jusqu'au fond du bac).

<sup>2</sup> Échantillon non prélevé dans le cas du port de Gênes : le papier absorbant n'a pas été placé sur le bac 5 pendant les 60 jours d'activité de mycoremédiation sur ces sédiments ; échantillon prélevé à partir du quinzième jour d'activité dans le cas des sédiments du port de Livourne et du canal Navicelli de Pise.

**Tableau 6.3.2** Échantillons prélevés dans les bacs 1, 2, 3, 4 et 5 après 15, 30 et 60 jours d'activité de mycoremédiation sur les sédiments des ports de Centuri et Toulon : analyses auxquelles ils ont été soumis et laboratoires chargés des analyses.

Numéro de bac	Échantillon	Analyses	Laboratoire chargé des analyses
<b>CENTURI</b>			
1 et 2	Papier absorbant	Métaux	Eurochem Italia
	Sédiment	Métaux	Eurochem Italia
	Sédiment	Contenu organique-inorganique	DISTAV
5	Sédiment	Contenu organique-inorganique	DISTAV
<b>TOULON</b>			
1 et 2	Papier absorbant	Métaux	Eurochem Italia
	Sédiment	Métaux, HAP et C >12 <sup>1</sup>	Eurochem Italia
3 et 4	Sédiment	Métaux, HAP et C > 12 <sup>1</sup>	Eurochem Italia
5	Papier absorbant	Métaux	Eurochem Italia
	Sédiment	Métaux, HAP et C > 12 <sup>1</sup>	Eurochem Italia

<sup>1</sup> Dans le cas des sédiments de Toulon, les échantillons pour l'analyse des HAP et du C > 12 n'ont été prélevés qu'au Temps 1 (15 jours d'activité). Les concentrations de ces composés étant inférieures à la limite de détection des instruments utilisés par les laboratoires d'Eurochem Italia s.r.l., les analyses n'ont pas été effectuées sur les échantillons correspondant au 30ème et au 60ème jour d'activité.

### 6.3.1 Paramètres analysés

Tous les échantillons prélevés au cours de l'activité de mycoremédiation ont été placés dans des bocaux en verre, les échantillons de sédiments envoyés aux laboratoires de l'ARPAL ont également été protégés de la lumière par du papier argenté. Les paramètres analysés, leur description et la matrice sur laquelle ils ont été évalués par chaque laboratoire selon une méthode spécifique sont indiqués dans les **Tableaux 6.3.1.1** et **6.3.1.2**. Tous les résultats obtenus à partir des analyses indiquées dans les **Tableaux 6.3.1.1** et **6.3.1.2** s'entendent en poids sec des sédiments.

**Tableau 6.3.1.1** Paramètres analysés par les laboratoires de l'ARPAL dans le cadre des analyses chimiques effectuées sur les sédiments soumis à l'activité de mycoremédiation.

Paramètre	Description	Matrice	Méthode d'analyse
Métaux et métalloïdes	Al, As, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn, Hg, Mn, Fe	Sédiment	EPA 3050B + EPA 6010C ; EPA 3050B + APAT CNR IRSA 3200A2 Man 29 2003 (Hg)
Hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) (Réf. A. min. 173 et 2016)	Acénaphthylène, Benzo(a)anthracène, Fluoranthène, Naphtalène, Anthracène, Benzo(a)pyrène, Benzo(b)fluoranthène, Benzo(k)fluoranthène, Benzo(g,h,i)pérylène, Acénaphthène, Fluorène, Phénanthrène, Pyrène, Dibenzo(a,h)anthracène, Chrysène, Indeno(1,2,3,c-d)pyrène et leur somme	Sédiment	EPA 3540C + EPA 8270D ; EPA 3545A + EPA 8270D (Somme HAP)
Hydrocarbures lourds (C > 12)		Sédiment	Figure 16703.2004
Polychlorobiphényles (PCB)	PCB 28, PCB 52, PCB 77, PCB 81, PCB 101, PCB 118, PCB 126, PCB 128, PCB 138, PCB 153, PCB 156, PCB 169, PCB 180	Sédiment	C590

**Tableau 6.3.1.2** Paramètres analysés par les laboratoires de l'ARPAL dans le cadre des analyses chimiques effectuées sur les sédiments soumis à l'activité de mycoremédiation.

Paramètre	Description	Matrice	Méthode d'analyse
Métaux et métalloïdes	Al, As, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn, Hg, Mn, Fe	Papier absorbant	EPA 3050B 1996 + EPA 6010D 2014
Métaux et métalloïdes	Al, As, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn, Hg, Mn, Fe	Sédiment	EPA 3050B 1996 + EPA 6010D 2014
Hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) (Réf. A. min. 173 et 2016)	Acénaphthylène, Benzo(a)anthracène, Fluoranthène, Naphtalène, Anthracène, Benzo(a)pyrène, Benzo(b)fluoranthène, Benzo(k)fluoranthène, Benzo(g,h,i)pérylène, Acénaphthène, Fluorène, Phénanthrène, Pyrène, Dibenzo(a,h)anthracène, Chrysène, Indeno(1,2,3,c-d)pyrène et leur somme	Sédiment	EPA 3550C 2007 + EPA 8270E 2017
Hydrocarbures lourds (C > 12)		Sédiment	EPA 3550C 2007 + EPA 8015C 2007



En outre, les composés organostanniques et, plus précisément, le monobutylétain, le dibutylétain, le tributylétain et le tétrabutylétain présents dans les sédiments ont également été analysés. Les laboratoires d'Eurochem Italia s.r.l. ont été chargés d'effectuer ces analyses. L'évaluation de ces composés a eu lieu dans le cadre de la caractérisation chimique des sédiments dans le port de Gênes, Livourne et Pise et après 15 et 30 jours d'activité dans le cas du port de Gênes. L'évaluation de ces composés a ensuite été négligée parce que l'on a constaté que les concentrations étaient inférieures ou très proches de la limite de détectabilité des instruments, si bien qu'il aurait été peu significatif d'évaluer correctement l'action des microchampignons. En ce qui concerne les échantillons de Cagliari, Toulon et Centuri, il a été décidé de ne pas procéder à une évaluation à cet égard car il n'aurait pas été possible d'établir des comparaisons avec les cas de Gênes, Livourne et Pise.

## 6.4) Résultats

### 6.4.1 Résultats de la caractérisation de la flore fongique

Le **Tableau 6.4.1.1** indique les espèces fongiques indigènes choisies pour chaque sédiment, tant pour le traitement des métaux que pour celui des contaminants organiques. Pour la mycoremédiation, la sélection a pris en compte non seulement les données bibliographiques, mais aussi le nombre de colonies isolées pour chaque espèce, et la pathogénicité potentielle pour les humains et/ou d'autres organismes.

**Tableau 6.4.1.1** Espèces fongiques choisies pour chaque sédiment traité.

Site d'échantillonnage	Espèces fongiques sélectionnées pour le traitement des métaux	Espèces fongiques sélectionnées pour le traitement des contaminants organiques
Gênes	<i>Penicillium expansum</i> Link <i>Paecilomyces formosus</i> Sakag., May. Inoue & Tada ex Houbraken & Samson	<i>Neocosmospora solani</i> (Mart.) L. Lombard & Crous <i>Talaromyces amestolkiae</i> N. Yilmaz, Houbraken, Frisvad & Samson <i>Pseudallescheira boydii</i> (Shear) McGinnis, A.A. Padhye & Ajello <i>Paecilomyces formosus</i>
Livourne	<i>Penicillium brevicompactum</i> Dierckx <i>Mucor racemosus</i> Fresen	<i>Emericellopsis maritima</i> Beliakova <i>Epicoccum nigrum</i> Link
Pise	<i>Cunninghamella elegans</i> Lendn. <i>Penicillium citrinum</i> Thom	<i>Trichoderma koningii</i> Oudem. <i>Penicillium camponotum</i> Visagie, David Clark & Seifert

Cagliari	<i>Fusarium oxysporum</i> Schldl. <i>C. cladosporioides</i>	<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fresen.) G.A. de Vries <i>Mucor racemosus</i> Fresen
Centuri	<i>Penicillium</i> sp. et <i>Mucor</i> sp.	-
Toulon	<i>Penicillium</i> sp. et <i>Mucor</i> sp.	-

#### 6.4.2 Résultats de la caractérisation physique

Les résultats de la caractérisation physique des sédiments testés figurent dans le **Tableau 6.4.2.1** et le **Tableau 6.4.2.2**.

**Tableau 6.4.2.1** Résultats de la caractérisation physique des sédiments testés lors de l'activité de mycoremédiation : aspect, fraction inorganique (%) et organique (%).

Échantillon	Aspect	Fraction inorganique du sédiment (%)	Fraction organique du sédiment (%)
Sédiments Gênes	Couleur : gris foncé. Présence de coquillages.	97	3
Sédiments Livourne	Couleur : marron. Présence de coquillages.	97	3
Sédiments Pise	Couleur : gris-noir. Présence abondante de serpulides.	88	12
Sédiments Cagliari	Couleur : marron. Fibres végétales abondantes. Présence évidente de matériau d'origine anthropique.	95	5
Sédiments Centuri	Couleur : grise. Présence de fibres d'origine végétale.	98	2
Sédiments Toulon	Couleur : marron. Présence de fibres végétales.	96	4

**Tableau 6.4.2.2** Résultats de la caractérisation physique des sédiments testés lors de l'activité de mycoremédiation : analyses granulométriques.

Échantillon	Sédiments Gênes	Sédiments Livourne	Sédiments Pise	Sédiments Cagliari	Sédiments Centuri	Sédiments Toulon
Fraction grossière totale ( $\phi > 63 \mu\text{m}$ ; %)	86,7	60,4	27,4	76,6	96,5	53,2
Fraction fine totale ( $\phi > 63 \mu\text{m}$ ; %)	13,3	39,6	72,6	23,4	3,5	46,8
Gravier $\phi > 2000 \mu\text{m}$	0,3	22,6	3,4	2,1	22,2	3,6
Sable très grossier ( $1000 \mu\text{m} < \phi < 2000 \mu\text{m}$ )	0,7	6,2	2,9	1,9	13,0	2,9
Sable grossier ( $500 \mu\text{m} < \phi < 1000 \mu\text{m}$ )	1,7	6,3	4,4	5,0	22,8	3,8
Sable moyen ( $250 \mu\text{m} < \phi < 500 \mu\text{m}$ )	3,7	12,1	4,5	23,2	24,7	5,3
Sable fin ( $125 \mu\text{m} < \phi < 250 \mu\text{m}$ )	65,5	7,2	5,9	35,7	11,1	18,7
Sable très fin ( $63 \mu\text{m} < \phi < 125 \mu\text{m}$ )	14,7	6,0	6,3	8,8	2,7	18,9
Limon grossier ( $30 \mu\text{m} < \phi < 63 \mu\text{m}$ )	7,2	4,9	16,5	5,0	0,6	17,4
Limon moyen ( $16 \mu\text{m} < \phi < 30 \mu\text{m}$ )	2,3	8,4	15,8	5,6	1,0	9,7
Limon fin ( $4 \mu\text{m} < \phi < 16 \mu\text{m}$ )	3,2	20,0	30,8	10,4	1,6	14,5
Argile ( $\phi > 4 \mu\text{m}$ )	0,7	6,3	9,5	2,3	0,3	5,2

Les sédiments testés présentent la fraction inorganique comme étant prédominante (**Tableau 6.4.2.1**). Les sédiments du port de Gênes et de la plaine d'inondation du port de Livourne présentent les mêmes caractéristiques en termes de contenu organique et inorganique, avec une nette prédominance de la fraction inorganique (97 % ; **Tableau 6.4.2.1**). Les sédiments du port de Cagliari, malgré la présence de fibres végétales, possèdent une fraction inorganique de 95 %, tandis que les sédiments du canal Navicelli de Pise sont caractérisés par un pourcentage de fraction organique plus élevé que les autres sédiments (12 % ; **Tableau 6.4.2.1**) en raison de la présence massive de serpulides.

En ce qui concerne les analyses granulométriques, les sédiments du port de Gênes, du port de Cagliari et du réservoir de remplissage du port de Centuri sont principalement constitués de la fraction grossière ( $\varnothing > 63 \mu\text{m}$ ) et, en particulier, de sable fin en ce qui concerne les sédiments du port de Gênes (**Tableau 6.4.2.2**). Les sédiments du réservoir de remplissage du port de Livourne et du port de Toulon sont constitués d'une fraction grossière ( $\varnothing > 63 \mu\text{m}$ ) et d'une fraction fine ( $\varnothing < 63 \mu\text{m}$ ) tout aussi importantes, tandis que les sédiments du canal des Navicelli de Pise sont caractérisés par une fraction fine prédominante constituée principalement de limons (**Tableau 6.4.2.2**).

### 6.4.3 Résultats de la caractérisation physique

Les tableaux ci-dessous montrent les résultats de la caractérisation chimique initiale de chaque sédiment testé pendant l'activité de mycoremédiation. Les résultats obtenus par les deux laboratoires chargés de l'analyse (ARPAL et Eurochem Italia s.r.l.) sont présentés séparément. Les valeurs inférieures à la limite de détection sont indiquées par le symbole « < » suivi de la limite de détection relative.

Métaux (mg kg <sup>-1</sup> )										
Sédiments testés	Gênes		Livourne		Pise		Cagliari		Centuri	Toulon
Al	6977	6800	15600	4800	14300	29000	5189	4100	11000	4700
As	8	8	9	3.6	6.0	<5	14	12	<1	<1
Cd	0,41	0,42	0,5	<0,3	29	22	1,9	1,9	<1	<1
Cr tot	68	55	67	8,7	337	320	63	8,2	470	<1
Fe	11542	15000	20346	6900	21260	23000	5193	7200	26000	<1
Mn	715	650	441	100	498	500	112	89	300	110
Ni	41	31	52	8.4	61	57	34	5,6	320	<1
Pb	36	59	17	<3	75	60	129	97	<1	35
Cu	20	15	30	<10	95	110	43	40	74	65
Zn	81	62	87	<15	693	590	289	210	36	51
Hg	0,23	0,32	0,08	<0,3	0,40	0,59	0,3	<0,3	<1	<1
Sb	nc	1,2	nc	<1	nc	6,7	nc	2,7	<1	<1
Laboratoire chargé des analyses	ARPAL	Eurochem Italia	ARPAL	Eurochem Italia	ARPAL	Eurochem Italia	ARPAL	Eurochem Italia	Eurochem Italia	Eurochem Italia

**Tableau 6.4.3.1** Résultats de la caractérisation chimique des métaux dans les sédiments testés et laboratoires responsables de l'analyse (Temps 0)

nc = non calculé.

**Tableau 6.4.3.2** Résultats de la caractérisation chimique des HAP dans les sédiments testés et laboratoires chargés de la réalisation des analyses (Temps 0). Dans les sédiments de Toulon, tous les HAP étaient en dessous du seuil de détection : par conséquent, les résultats pour le Temps 0 de Toulon ne sont pas présentés dans le tableau.

Hydrocarbures aromatiques polycycliques (mg kg <sup>-1</sup> )				
Sédiments testés	Gênes	Livourne	Pise	Cagliari
Acénaphène	< 0,01	0,02	0,05	0,01
Acénaphthylène	< 0,01	0,01	0,03	0,03
Anthracène	0,02	0,04	0,18	0,05
Benzo(a)anthracène	0,08	0,22	0,86	0,44
Benzo(a)pyrène	0,11	0,12	0,64	0,58
Benzo(b)fluoranthène	0,13	0,36	1,09	0,64
Benzo(b)fluoranthène	0,06	0,13	0,40	0,25
Benzo(g,h,i)pérylène	0,10	0,09	0,48	0,62
Chrysène	0,06	0,36	0,61	0,36
Dibenzo(a,h)anthracène	0,03	0,03	0,13	0,18
Phénanthrène	0,06	0,25	0,19	0,16
Fluoranthène	0,15	0,52	2,37	0,53
Fluorène	0,01	0,03	0,01	0,01
Indeno(1,2,3-c,d)pyrène	0,11	0,11	0,48	0,72
Naphtalène	0,02	0,05	0,02	0,02
Pyrène	0,13	0,48	3,18	0,48
<b>Somme HAP</b>	<b>1,1</b>	<b>2,8</b>	<b>10,7</b>	<b>5,1</b>
<b>Laboratoire chargé des analyses</b>	<b>ARPAL</b>	<b>ARPAL</b>	<b>ARPAL</b>	<b>ARPAL</b>

**Tableau 6.4.3.3** Résultats de la caractérisation chimique des hydrocarbures lourds (C > 12) dans les sédiments testés et laboratoires chargés de la réalisation des analyses (Temps 0). Dans les sédiments de Toulon, tous les C > 12 étaient en dessous du seuil de détection: par conséquent, les résultats pour le Temps 0 de Toulon ne sont pas présentés dans le tableau.

Hydrocarbures lourds (C > 12 ; mg kg <sup>-1</sup> )		
Sédiments testés	C > 12	Laboratoire chargé des analyses
Gênes	83	ARPAL
Livourne	40	ARPAL
Pise	6800	ARPAL
Cagliari	94	ARPAL

**Tableau 6.4.3.4** Résultats de la caractérisation chimique des polychlorobiphényles (PCB) dans les sédiments testés et les laboratoires effectuant l'analyse (Temps 0).

PCB (mg kg <sup>-1</sup> )				
Sédiments testés	Gênes	Livourne	Pise	Cagliari
PCB 28	0,4211	0,1475	4,9965	0,3549
PCB 52	2,5700	0,4845	19,1754	3,1074
PCB 77	0,0605	0,0257	0,2384	0,0209
PCB 81	0,0809	<0,0025	< 0,0025	0,0512
PCB 101	3,0773	1,0107	33,2405	4,4257
PCB 118	3,2670	0,8599	14,2039	2,5067
PCB 126	0,0160	<0,0025	< 0,0025	< 0,0025
PCB 128	0,5013	0,2458	0,2655	0,7754
PCB 138	3,9395	1,4784	54,8269	6,6839
PCB 153	4,1052	1,9398	51,9239	5,5837
PCB 156	0,3126	0,1335	3,3200	0,3780
PCB 169	< 0,0025	<0,0025	< 0,0025	< 0,0025
PCB 180	1,7832	1,0255	23,9094	2,8302
PCB tot	20,1	7,3514	205,86	26,72
Laboratoire chargé des analyses	ARPAL	ARPAL	ARPAL	ARPAL

**Tableau 6.4.3.5** Résultats de la caractérisation chimique des métaux présents dans le papier absorbant utilisée lors de l'activité de mycoremédiation et laboratoire chargé de l'analyse.

Métaux analysés (mg kg <sup>-1</sup> )	Papier 0
As	< 1
Al	24±5
Cd	< 1
Cr total	< 1
Ni	< 1
Cu	<1
Sb	<1
Fe	80±13
Mn	< 1
Hg	< 1
Pb	<1
Zn	<1
Laboratoire chargé des analyses	Eurochem Italia



La caractérisation chimique des sédiments testés lors de la mycoremédiation a montré que les sédiments du canal des Navicellide Pise sont caractérisés par une pollution plus consistante que les autres sédiments analysés, tant en termes de métaux que de polluants organiques (HAP, C > 12 et PCB). Toutefois, il a été souligné que la contamination n'était jamais particulièrement élevée, de sorte qu'elle pouvait être considérée comme une contamination résiduelle. Dans le cas des sédiments de Centuri et de Toulon, par exemple, les valeurs des contaminants organiques étaient si faibles, d'après les analyses chimiques, qu'ils ne permettaient pas le traitement par mycoremédiation, dont l'efficacité aurait été difficile à évaluer.

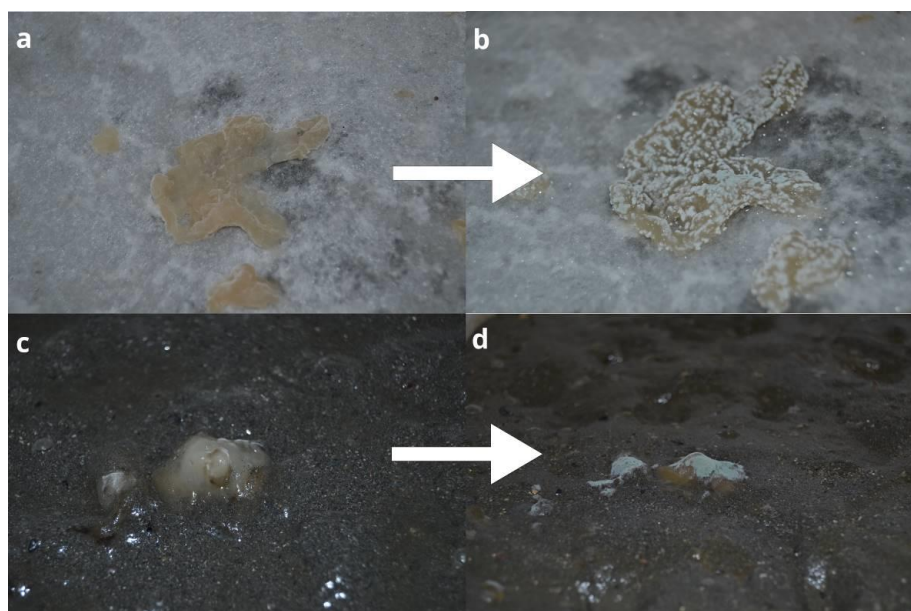
#### 6.4.4 Résultats de l'activité de mycoremédiation

Les résultats de l'analyse effectuée au cours de l'activité de mycoremédiation sont présentés dans des tableaux suivants. Les résultats ont été considérés significatifs compte tenu de l'incertitude du résultat et des échantillons de contrôle produits.

##### 6.4.4.1 Sédiments du port de Gênes

L'activité de mycoremédiation des sédiments du port de Gênes s'est déroulée du 20 novembre 2017 au 22 janvier 2018.

La **Figure 6.4.4.1.1** montre quelques images prises pendant l'activité de mycoremédiation sur les sédiments du port de Gênes : il est possible d'observer la croissance des microchampignons dans le bac 1 (**Figure 6.4.4.1.1**, images a et b) et le bac 3 (**Figure 6.4.4.1.1**, images c et d) pendant les quatre premiers jours d'activité.



**Figure 6.4.4.1.1.** Croissance des microchampignons pendant les quatre premiers jours d'activité de mycoremédiation sur les sédiments du port de Gênes : a ; b) microchampignons inoculés dans le bac 1 ; c et d) microchampignons inoculés dans le bac 3.

Les résultats des analyses des métaux, des HAP, des hydrocarbures avec C > 12 et des PCB effectuées après 15, 30 et 60 jours d'activité figurent aux **Tableaux 4.4.1.1-4.4.1.6**.

**Tableau 6.4.4.1.1** Résultats des analyses chimiques des métaux effectuées par les laboratoires ARPAL après 15 (Temps 1), 30 (Temps 2) et 60 (Temps 3) jours d'activité de mycoremédiation sur les sédiments du port de Gênes. Le résultat de la caractérisation chimique des sédiments en relation avec les métaux (Temps 0) est également indiqué.

Métaux (mg kg <sup>-1</sup> )										
	Temps 0	Bac 1			Bac 2			Bacs 1 et 2		
		Temps 1	Temps 2	Temps 3	Temps 1	Temps 2	Temps 3	Moyenne Temps 1	Moyenne Temps 2	Moyenne Temps 3
<b>Al</b>	6977	7356	6756	6641	7594	6589	6391	7475	6673	6516
<b>As</b>	8,0	10,0	7,4	7,3	10,0	7,4	7,9	10,0	7,4	7,6
<b>Cd</b>	0,41	0,41	0,40	0,40	0,43	0,40	0,60	0,42	0,40	0,50
<b>Cr tot</b>	68	70	63	66	70	66	66	70	65	66
<b>Fe</b>	11542	13852	12370	12171	15085	13111	12284	14469	12741	12228
<b>Mn</b>	715	695	594	633	715	631	604	705	613	619
<b>Ni</b>	41	42	39	39	44	40	41	43	40	40
<b>Pb</b>	36	52	37	59	42	43	65	47	40	62
<b>Cu</b>	20	22	24	26	26	21	42	24	22,5	34
<b>Zn</b>	81	79	90	97	82	91	136	81	91	117
<b>Hg</b>	0,23	0,30	0,30	0,30	0,36	0,30	0,30	0,33	0,30	0,30

**Tableau 6.4.4.1.2** Résultats des analyses chimiques des HAP effectuées par les laboratoires ARPAL après 15 (Temps 1), 30 (Temps 2) et 60 (Temps 3) jours d'activité de mycoremédiation sur les sédiments du port de Gênes. Le résultat de la caractérisation chimique des sédiments en relation avec les HAP (Temps 0) est également indiqué.

Hydrocarbures aromatiques polycycliques (mg kg <sup>-1</sup> )													
	Temps 0	Moyenne Bacs 1 et 2			Bac 3			Bac 4			Bac 5		
		Temps 1	Temps 2	Temps 3	Temps 1	Temps 2	Temps 3	Temps 1	Temps 2	Temps 3	Temps 1	Temps 2	Temps 3
Naphtalène	0,02	<0,01	< 0,01	<0,01	<0,01	0,01	< 0,01	0,04	0,03	<0,01	< 0,01	0,02	0,01
Acénaphène	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	0,01	0,01	<0,01	<0,01	0,03	0,01
Acénaphthylène	<0,01	0,005	<0,01	0,01	< 0,01	0,02	0,02	<0,01	0,02	0,01	<0,01	0,02	0,01
Anthracène	0,02	0,02	0,02	0,03	0,02	0,04	0,03	0,02	0,04	0,02	0,02	0,06	0,03
Benzo(a)anthracène	0,08	0,07	0,07	0,08	0,08	0,08	0,08	0,04	0,12	0,09	0,04	0,16	0,08
Benzo(a)pyrène	0,11	0,10	0,12	0,12	0,12	0,11	0,12	0,08	0,14	0,14	0,07	0,22	0,11
Benzo(b)fluoranthène	0,13	0,13	0,15	0,13	0,15	0,13	0,13	0,11	0,15	0,16	0,09	0,25	0,11
Benzo(b)fluoranthène	0,06	0,06	0,06	0,05	0,06	0,05	0,05	0,04	0,06	0,06	0,04	0,10	0,05
Benzo(g,h,i)pérylène	0,10	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09	0,07	0,10	0,11	0,07	0,17	0,08
Chrysène	0,06	0,05	0,06	0,05	0,06	0,04	0,04	0,04	0,06	0,05	0,05	0,10	0,04
Dibenzo(a,h)anthracène	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,02	0,03	0,04	0,02	0,05	0,03
Phénanthrène	0,06	0,04	0,04	0,04	0,03	0,05	0,04	0,04	0,09	0,03	0,04	0,14	0,05
Fluoranthène	0,15	0,10	0,11	0,10	0,10	0,10	0,11	0,06	0,17	0,10	0,07	0,24	0,09
Fluorène	0,01	0,01	<0,01	0,02	<0,01	0,02	0,02	0,02	0,03	<0,01	<0,01	0,03	0,02
Indeno(1,2,3-c,d)pyrène	0,11	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,08	0,12	0,13	0,07	0,20	0,09
Pyrène	0,13	0,10	0,09	0,10	0,10	0,09	0,10	0,06	0,15	0,09	0,07	0,20	0,11
Somme HAP	1,1	0,9	0,9	0,9	0,9	1,0	0,9	0,7	1,3	1,0	0,7	2,0	0,9

**Tableau 6.4.4.1.3** Résultats des analyses chimiques des hydrocarbures lourds ( $C > 12$ ;  $\text{mg kg}^{-1}$ ) effectuées par les laboratoires ARPAL après 15 (Temps 1), 30 (Temps 2) et 60 (Temps 3) jours d'activité de mycoremédiation sur les sédiments du port de Gênes. Le résultat de la caractérisation chimique des sédiments en relation avec les  $C > 12$  (Temps 0) est également indiqué.

Hydrocarbures $C > 12$ ( $\text{mg kg}^{-1}$ )													
	Temps 0	Moyenne Bacs 1 et 2			Bac 3			Bac 4			Bac 5		
		Temps 1	Temps 2	Temps 3	Temps 1	Temps 2	Temps 3	Temps 1	Temps 2	Temps 3	Temps 1	Temps 2	Temps 3
<b>C &gt;12</b>	83	77	124	102	64	42	86	70	84	72	40	62	57

**Tableau 6.4.4.1.4** Résultats des analyses chimiques des hydrocarbures lourds (PCB ;  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ) effectuées par les laboratoires ARPAL après 15 (Temps 1), 30 (Temps 2) et 60 (Temps 3) jours d'activité de mycoremédiation sur les sédiments du port de Gênes. Le résultat de la caractérisation chimique des sédiments en relation avec les PCB (Temps 0) est également indiqué.

PCB ( $\text{mg kg}^{-1}$ )													
	Temps 0	Moyenne Bacs 1 et 2			Bac 3			Bac 4			Bac 5		
		Temps 1	Temps 2	Temps 3	Temps 1	Temps 2	Temps 3	Temps 1	Temps 2	Temps 3	Temps 1	Temps 2	Temps 3
<b>PCB 28</b>	0,4211	0,5980	0,3099	1,9695	0,4932	0,4415	0,4559	0,2580	0,4705	0,3966	0,2558	0,5603	0,3283
<b>PCB 52</b>	2,5700	2,4590	1,9782	17,1090	4,4403	3,4302	3,3879	2,3361	2,7403	3,0594	1,5130	18,5322	1,8374
<b>PCB 77</b>	0,0605	0,0985	0,0514	1,2736	0,0960	0,3254	0,3720	0,0537	0,4193	0,3889	0,0335	2,9494	0,3191
<b>PCB 81</b>	0,0809	0,0947	0,0830	0,3007	0,1380	0,0962	0,1055	0,1899	0,1161	0,1239	0,0624	1,1378	0,0664
<b>PCB 101</b>	3,0773	2,9185	2,7209	9,1547	4,9685	3,8626	3,7816	5,5845	3,6936	3,5001	1,9792	28,1525	2,4603
<b>PCB 118</b>	3,2670	4,5807	3,7845	17,3510	6,4567	6,0523	6,6441	8,7310	8,5504	6,6136	2,3934	81,4553	5,0376
<b>PCB 126</b>	0,0160	0,0158	0,0262	0,0200	0,0214	0,0107	0,0144	0,0206	0,0145	0,0190	0,0142	0,0137	0,0139
<b>PCB 128</b>	0,5013	0,5756	0,6286	2,1485	1,0519	0,8012	0,7887	1,6053	1,0042	0,7814	0,5846	7,1742	0,5729
<b>PCB 138</b>	3,9395	3,8580	4,2977	10,6921	7,7355	4,2197	4,0685	9,7764	5,1450	4,0958	2,7859	38,6309	2,8053
<b>PCB 153</b>	4,1052	4,2281	4,7597	13,1370	7,5741	5,7420	5,3058	8,5536	6,7706	4,8621	2,9785	37,7171	3,4891
<b>PCB 156</b>	0,3126	0,3636	0,3670	1,7690	0,7105	0,6377	0,6436	1,0200	0,9458	0,6789	0,2342	5,4353	0,4704
<b>PCB 169</b>	<0,0025	<0,0025	<0,0025	<0,0025	<0,0025	<0,0025	<0,0025	<0,0025	<0,0025	<0,0025	<0,0025	<0,0025	<0,0025
<b>PCB 180</b>	1,7832	1,5789	4,9541	5,1704	3,5270	3,1358	2,3011	2,5982	4,8191	2,2057	1,4463	5,5921	1,8183
<b>PCB tot</b>	20,1	21,4	24,0	80,1	37,2	28,8	27,9	40,7	34,7	26,7	14,3	227,4	19,2

**Tableau 6.4.4.1.5** Résultats des analyses chimiques (laboratoire EUROCHEM Italia s.r.l.) relatives aux essais de mycoremédiation sur les sédiments de Gênes, effectuées sur des échantillons de sédiments (couche superficielle - 2 cm - sous le papier absorbant) traités et non traités, au Temps 0 et après 60 jours (Temps 3) de l'inoculum fongique.

Métaux (mg kg <sup>-1</sup> )	Moyenne Bacs 1 et 2	
	Temps 0	Temps 3
Al	6800	6000
As	8	5,4
Cd	0,42	0,32
Cr tot	55	56,5
Fe	15000	16500
Mn	650	595
Ni	31	36,5
Pb	59	27
Cu	15	30,5
Zn	62	75,5
Hg	0,32	<0,3

**Tableau 6.4.4.1.6** Résultats des analyses chimiques (laboratoire EUROCHEM Italia s.r.l.) relatives aux essais de mycoremédiation sur les sédiments de Gênes, effectuées sur des échantillons de papier absorbant traité et non traité après 15 (Temps 1), 30 (Temps 2) et 60 (Temps 3) jours à compter de l'inoculum fongique.

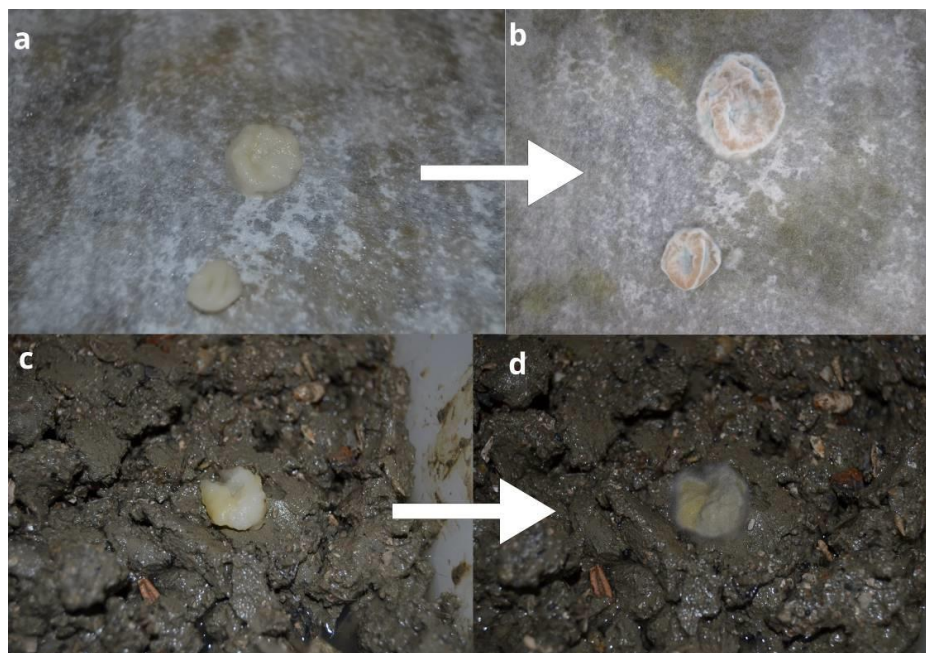
Métaux (mg kg <sup>-1</sup> )	Moyenne Bacs 1 et 2		
	Temps 1	Temps 2	Temps 3
Al	1195	1150	1950
As	<1	<1	1,3
Cd	< 1	<1	<1
Cr tot	12,25	12	15,5
Fe	2800	2700	4700
Mn	105,5	<1	175
Ni	5,65	4,35	11,35
Pb	4,2	6,85	15,5
Cu	10,45	15	12,2
Zn	30	45,5	116,5
Hg	<1	<1	<1

Les analyses des métaux (**Tableau 6.4.4.1.1**) montrent qu'il n'y a aucune différence entre les résultats obtenus pour le bac 1 et le bacc 2 où le papier absorbant a été positionné différemment pour augmenter la surface de contact entre les microchampignons et le sédiment (**Figure 6.2.4.6**). Pour cette raison, lors des tests ultérieurs, ce dernier mode de positionnement du papier absorbant n'a pas été utilisé. De plus, les résultats montrent une diminution significative du manganèse après 30 et 60 jours d'activité (**Tableau 6.4.4.1.1**) dans les sédiments profonds, une nette diminution des contaminants importants tels que Al, As, Cd et Pb dans les premiers centimètres de sédiments jusqu'au Temps 3 (**Tableau 6.4.4.1.5**), et une accumulation, principalement de cuivre et de zinc (**Tableau 6.4.4.1.6**), par les microchampignons. En ce qui concerne les polluants organiques, par contre, il n'y a pas de diminution significative des concentrations sauf, dans le cas du bac 3, pour les hydrocarbures avec C > 12 (**Tableaux 6.4.4.1.2, 6.4.4.1.3, 6.4.4.1.4**). En fait, une diminution des hydrocarbures lourds a été observée après 30 jours d'activité (de 83 mg kg<sup>-1</sup> à 42 mg kg<sup>-1</sup>) (**Tableau 6.4.4.1.3**).

#### 6.4.4.2 Sédiments du port de Gênes

L'activité de mycoremédiation des sédiments prélevés à l'intérieur de la cuve de remplissage du port de Livourne s'est déroulée du 6 mars 2018 au 3 mai 2018, en même temps que les sédiments du canal des Navicellide Pise (paragraphe 4.4.3).

La **Figure 6.4.4.2.1** montre quelques images des champignons pendant l'activité de mycoremédiation. Sur les sédiments de la cuve de remplissage du Port de Livourne l'on peut observer la croissance des microchampignons dans le bac 1 (**Figure 6.4.4.2.1**, images a et b) et le bac 4 (**Figure 6.4.4.2.1**, images c et d) pendant les trois premiers jours d'activité.



**Figure 6.4.4.2.1.** Croissance des microchampignons pendant les trois premiers jours d'activité de mycoremédiation sur les sédiments du port de Livourne : a ; b) microchampignons inoculés dans le bac 1 ; c et d) microchampignons inoculés dans le bac 4.



Les résultats des analyses des métaux, des HAP, des hydrocarbures avec C > 12 et des PCB effectuées après 15, 30 et 60 jours d'activité figurent aux **Tableaux 6.4.4.2.1- 6.4.4.2.6**.

**Tableau 4.4.2.1** Résultats des analyses chimiques des métaux effectuées par les laboratoires ARPAL après 15 (Temps 1), 30 (Temps 2) et 60 (Temps 3) jours d'activité de mycoremédiation sur les sédiments du port de Livourne. Le résultat de la caractérisation chimique des sédiments en relation avec les métaux (Temps 0) est également indiqué.

<b>Métaux (mg kg<sup>-1</sup>)</b>				
	Temps 0	<b>Moyenne Bacs 1 et 2</b>		
		Temps 1	Temps 2	Temps 3
<b>Al</b>	15600	17325	16705	15544
<b>As</b>	9,0	10,5	10,4	10,8
<b>Cd</b>	0,5	0,6	0,6	0,7
<b>Cr tot</b>	67	72	69	65
<b>Fe</b>	20346	22645	19940	18778
<b>Mn</b>	441	473	455	484
<b>Ni</b>	52	55	52	52
<b>Pb</b>	17	23	19	26
<b>Cu</b>	30	37	35	33
<b>Zn</b>	87	97	93	93
<b>Hg</b>	0,08	0,09	0,09	0,13



**Tableau 6.4.4.2** Résultats des analyses chimiques des métaux effectuées par les laboratoires ARPAL après 15 (Temps 1), 30 (Temps 2) et 60 (Temps 3) jours d'activité de mycoremédiation sur les sédiments du port de Livourne. Le résultat de la caractérisation chimique des sédiments en relation avec les HAP (Temps 0) est également indiqué.

Hydrocarbures aromatiques polycycliques (mg kg <sup>-1</sup> )										
	Temps 0	Moyenne Bacs 1 et 2			Moyenne Bacs 3 et 4			Bac 5		
		Temps 1	Temps 2	Temps 3	Temps 1	Temps 2	Temps 3	Temps 1	Temps 2	Temps 3
Naphtalène	0,05	0,03	0,02	<0,01	0,03	0,01	<0,01	0,02	0,01	<0,01
Acénaphène	0,02	0,01	0,02	<0,01	0,02	0,01	<0,01	0,01	0,01	<0,01
Acénaphthylène	0,01	0,01	0,01	<0,01	0,01	<0,01	<0,01	0,01	0,01	<0,01
Anthracène	0,04	0,03	0,04	0,01	0,03	0,02	<0,01	0,03	0,03	0,02
Benzo(a)anthracène	0,22	0,21	0,42	0,12	0,20	0,14	0,07	0,13	0,18	0,22
Benzo(a)pyrène	0,12	0,13	0,14	0,07	0,08	0,07	0,04	0,07	0,07	0,09
Benzo(b)fluoranthène	0,36	0,36	0,41	0,29	0,28	0,25	0,18	0,27	0,32	0,38
Benzo(b)fluoranthène	0,13	0,13	0,14	0,10	0,10	0,09	0,07	0,09	0,11	0,13
Benzo(g,h,i)pérylène	0,09	0,10	0,12	0,13	0,06	0,06	0,08	0,06	0,07	0,14
Chrysène	0,36	0,29	0,43	0,19	0,28	0,21	0,13	0,20	0,28	0,33
Dibenzo(a,h)anthracène	0,03	0,03	0,04	0,04	0,02	0,02	0,03	0,02	0,03	0,05
Phénanthrène	0,25	0,18	0,19	<0,01	0,30	0,10	0,02	0,13	0,15	0,01
Fluoranthène	0,52	0,52	0,71	0,24	0,85	0,27	0,11	0,27	0,40	0,50
Fluorène	0,03	0,02	0,02	<0,01	0,02	0,01	<0,01	0,01	0,01	<0,01
Indeno(1,2,3-c,d)pyrène	0,11	0,11	0,14	0,16	0,07	0,07	0,09	0,07	0,08	0,18
Pyrène	0,48	0,46	0,58	0,20	0,52	0,24	0,09	0,25	0,32	0,39
<b>Somme HAP</b>	<b>2,8</b>	<b>2,6</b>	<b>3,4</b>	<b>1,5</b>	<b>2,9</b>	<b>1,6</b>	<b>0,9</b>	<b>1,6</b>	<b>2,1</b>	<b>2,4</b>

**Tableau 6.4.4.2.3** Résultats des analyses chimiques des hydrocarbures lourds ( $C > 12$ ;  $\text{mg kg}^{-1}$ ) effectuées par les laboratoires ARPAL après 15 (Temps 1), 30 (Temps 2) et 60 (Temps 3) jours d'activité de mycoremédiation sur les sédiments du port de Livourne. Le résultat de la caractérisation chimique des sédiments en relation avec les  $C > 12$  (Temps 0) est également indiqué.

Hydrocarbures $C > 12$ ( $\text{mg kg}^{-1}$ )										
	Temps 0	Moyenne Bacs 1 et 2			Moyenne Bacs 3 et 4			Bac 5		
		Temps 1	Temps 2	Temps 3	Temps 1	Temps 2	Temps 3	Temps 1	Temps 2	Temps 3
<b><math>C &gt; 12</math></b>	40	<10	111	113	<10	68	64	<10	57	66

**Tableau 6.4.4.2.4** Résultats des analyses chimiques des hydrocarbures lourds (PCB ;  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ) effectuées par les laboratoires ARPAL après 15 (Temps 1), 30 (Temps 2) et 60 (Temps 3) jours d'activité de mycoremédiation sur les sédiments du port de Livourne. Le résultat de la caractérisation chimique des sédiments en relation avec les PCB (Temps 0) est également indiqué.

PCB ( $\text{mg kg}^{-1}$ )										
	Temps 0	Moyenne Bacs 1 et 2			Moyenne Bacs 3 et 4			Bac 5		
		Temps 1	Temps 2	Temps 3	Temps 1	Temps 2	Temps 3	Temps 1	Temps 2	Temps 3
<b>PCB 28</b>	0,1475	0,1927	0,1761	0,1700	0,2283	0,1333	0,2613	0,1643	0,1172	0,1690
<b>PCB 52</b>	0,4845	0,5278	0,5888	0,4587	0,6573	0,4057	0,8948	0,5263	0,4919	0,6292
<b>PCB 77</b>	0,0257	0,0319	0,0234	0,0236	0,0300	0,0104	0,0217	0,0345	0,0148	0,0193
<b>PCB 81</b>	<0,0025	<0,0025	0,0017	<0,0025	<0,0025	0,0020	<0,0025	<0,0025	<0,0025	<0,0025
<b>PCB 101</b>	1,0107	1,1782	1,3441	0,8989	1,2338	0,7222	1,2398	1,0719	1,0149	1,0210
<b>PCB 118</b>	0,8599	0,9255	0,9391	0,7952	0,9604	0,5085	0,8813	0,9867	0,7168	0,7733
<b>PCB 126</b>	0,0000	0,0055	0,0067	0,0000	0,0000	0,0021	0,0022	0,0000	0,0070	0,0000
<b>PCB 128</b>	0,2458	0,2639	0,2884	0,2283	0,2419	0,0414	0,1992	0,2613	0,2197	0,2391
<b>PCB 138</b>	1,4784	1,5810	2,5077	1,3491	1,3474	1,1722	1,1728	1,4869	2,0717	1,4831
<b>PCB 153</b>	1,9398	2,1717	2,2590	1,6544	1,7431	1,0319	1,2768	1,7934	1,7774	1,6889
<b>PCB 156</b>	0,1335	0,1340	0,1640	0,1215	0,1169	0,0692	0,1039	0,1377	0,1310	0,1374
<b>PCB 169</b>	<0,0025	<0,0025	<0,0025	<0,0025	<0,0025	0,0020	<0,0025	<0,0025	<0,0025	<0,0025
<b>PCB 180</b>	1,0255	1,2564	1,2562	0,9646	0,8236	0,5624	0,6502	0,9176	1,0051	1,0179
<b>PCB tot</b>	7,3514	8,27	9,555	6,665	7,38	4,66	6,705	7,38	7,57	7,18

**Tableau 6.4.4.2.5** Résultats des analyses chimiques (laboratoire EUROCHEM Italia s.r.l.) relatives aux essais de mycoremédiation sur les sédiments de Gênes, effectuées sur des échantillons de sédiments (couche superficielle - 2 cm - sous le papier absorbant) traités et non traités, au Temps 0 et après 60 jours (Temps 3) de l'inoculum fongique

Métaux (mg kg <sup>-1</sup> )	Moyenne Bacs 1 et 2	
	Temps 0	Temps 3
Al	4800	8000
As	<5	6,2
Cd	<0,3	0,45
Cr tot	8,7	43
Fe	6900	15000
Mn	100	335
Ni	8.4	36
Pb	<3	13
Cu	<10	36
Zn	< 15	68
Hg	<0,3	<0,3

**Tableau 6.4.4.2.6** Résultats des analyses chimiques (laboratoire EUROCHEM Italia s.r.l.) relatives aux essais de mycoremédiation sur les sédiments de Livourne, effectuées sur des échantillons de papier absorbant traité et non traité après 15 (Temps 1), 30 (Temps 2) et 60 (Temps 3) jours à compter de l'inoculum fongique.

Métaux (mg kg <sup>-1</sup> )	Moyenne Bacs 1 et 2		
	Temps 1	Temps 2	Temps 3
Al	550	1135	3000
As	<1	<1	<1
Cd	<1	<1	<1
Cr tot	2,15	8,7	12
Fe	1025	2650	4450
Mn	165	120	240
Ni	1,5	4,1	9,5
Pb	<1	3,05	4,5
Cu	3,35	9	6,8
Zn	6,45	42,5	31
Hg	<1	<1	<1

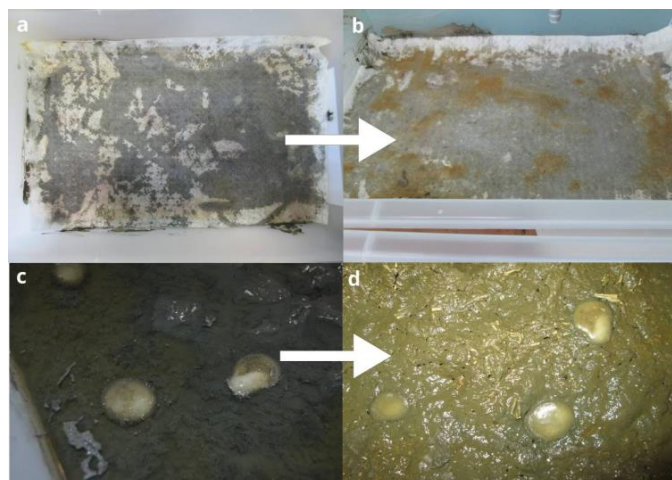
En ce qui concerne les métaux, les résultats de l'analyse des sédiments de Livourne montrent que le fer a diminué de manière significative après 60 jours d'activité (**Tableau 6.4.4.2.1**). De plus, l'on remarque que les microchampignons ont accumulé de l'arsenic, de l'aluminium, du cadmium, du chrome, du cuivre, du fer, du plomb et du zinc après 30 jours d'activité et du manganèse et du nickel après 15 et 60 jours d'activité, respectivement (**Tableau 6.4.4.2.5**). Plus précisément, le cadmium, le cuivre et le zinc sont les métaux les plus accumulés (**Tableau 6.4.4.2.6**).

Les résultats obtenus lors de l'activité de mycoremédiation réalisée sur les sédiments du port de Livourne ont montré que la dégradation des HAP était plus efficace que les autres sédiments testés. La diminution de la concentration était plus évidente dans le cas des hydrocarbures totaux (sommation des HAP) : la concentration a diminué de 67 % en 60 jours d'activité (de 2,8 mg kg<sup>-1</sup> à 0,9 mg kg<sup>-1</sup>; **Tableau 6.4.4.2.2**). Les HAP individuels qui ont diminué de manière significative sont : l'anthracène, le benzo(a)anthracène, le benzo(a)pyrène, le benzo(b)fluoranthène, le chrysène, le fluoranthène et le pyrène (**Tableau 6.4.4.2.2**). Les hydrocarbures lourds n'ont pas changé de façon significative (**Tableau 6.4.4.2.3**), tandis que les PCB totaux ont diminué de 10 % dans les bacs 1 à 4. Les PCB 128 et 156 ont diminué de façon significative au Temps 2 (30 jours d'activité) dans les bacs 3 et 4 (**Tableau 6.4.4.2.4**).

#### 6.4.4.3 Sédiments du canal Navicelli de Pise

L'activité de mycoremédiation des sédiments prélevés à l'intérieur du canal Navicelli de Pise s'est déroulée du 6 mars 2018 au 3 mai 2018, en même temps que les sédiments de la cuve de remplissage du port de Livourne (paragraphe 4.4.2).

La **Figure 6.4.4.3.1** montre quelques images des microchampignons pendant l'activité de mycoremédiation. Sur les sédiments de Pise l'on peut observer la croissance des microchampignons dans le bac 2 (**Figure 6.4.4.3.1**, images a et b) et le bac 4 (**Figure 6.4.4.3.1**, images c et d) pendant les six premiers jours d'activité.



**Figure 6.4.4.3.1** Croissance des microchampignons pendant les six premiers jours d'activité de mycoremédiation sur les sédiments du canal Navicelli de Pise : a ; b) microchampignons inoculés dans le bac 2 ; c et d) microchampignons inoculés dans le bac 4.

Les résultats des analyses des métaux, des HAP, des hydrocarbures avec C >12 et des PCB effectuées après 15, 30 et 60 jours d'activité figurent aux **Tableaux 6.4.4.3.1- 6.4.4.3.6**.

**Tableau 6.4.4.3.1** Résultats des analyses chimiques des métaux effectuées par les laboratoires ARPAL après 15 (Temps 1), 30 (Temps 2) et 60 (Temps 3) jours d'activité de mycoremédiation sur les sédiments du canal Navicelli. Le résultat de la caractérisation chimique des sédiments en relation avec les métaux (Temps 0) est également indiqué.

<b>Métaux (mg kg<sup>-1</sup>)</b>				
	Temps 0	<b>Moyenne Bacs 1 et 2</b>		
		Temps 1	Temps 2	Temps 3
<b>Al</b>	14300	21743	20195	23015
<b>As</b>	6,0	6,0	6,3	6,7
<b>Cd</b>	29	25	25	26
<b>Cr tot</b>	337	290	310	377
<b>Fe</b>	21260	26236	25662	25971
<b>Mn</b>	498	499	502	537
<b>Ni</b>	61	60	61	135
<b>Pb</b>	75	63	67	70
<b>Cu</b>	95	85	93	96
<b>Zn</b>	693	560	607	631
<b>Hg</b>	0,40	0,37	0,37	0,48

**Tableau 6.4.4.3.2** Résultats de l'analyse chimique des métaux effectuée par les laboratoires ARPAL après 15 (Temps 1), 30 (Temps 2) et 60 (Temps 3) jours d'activité de mycoremédiation sur les sédiments du Canal Navicelli. Le résultat de la caractérisation chimique des sédiments concernant les HAP (Temps 0) est également indiqué

Hydrocarbures aromatiques polycycliques (mg kg <sup>-1</sup> )										
	Temps 0	Moyenne Bacs 1 et 2			Moyenne Bacs 3 et 4			Bac 5		
		Temps 1	Temps 2	Temps 3	Temps 1	Temps 2	Temps 3	Temps 1	Temps 2	Temps 3
Naphtalène	0,02	0,03	<0,01	<0,01	0,03	<0,01	<0,01	0,01	<0,01	<0,01
Acénaphène	0,05	0,02	0,02	<0,01	0,04	0,01	<0,01	0,03	<0,01	<0,01
Acénaphylène	0,03	0,02	<0,01	<0,01	0,02	<0,01	<0,01	0,02	<0,01	<0,01
Anthracène	0,18	0,07	0,05	0,04	0,09	0,04	0,03	0,07	<0,01	<0,01
Benzo(a)anthracène	0,86	0,46	0,50	0,43	0,48	0,28	0,40	0,40	0,13	0,23
Benzo(a)pyrène	0,64	0,38	0,38	0,47	0,38	0,23	0,43	0,36	0,13	0,31
Benzo(b)fluoranthène	1,09	0,63	0,67	0,81	0,63	0,40	0,77	0,60	0,21	0,46
Benzo(b)fluoranthène	0,40	0,22	0,25	0,28	0,22	0,14	0,26	0,19	0,09	0,16
Benzo(g,h,i)pérylène	0,48	0,25	0,30	0,69	0,26	0,19	0,62	0,23	0,11	0,49
Chrysène	0,61	0,36	0,42	0,48	0,39	0,23	0,42	0,27	0,11	0,26
Dibenzo(a,h)anthracène	0,13	0,07	0,08	0,18	0,07	0,05	0,17	0,07	0,03	0,15
Phénanthrène	0,19	0,10	0,07	0,07	0,16	0,05	0,08	0,08	0,06	<0,01
Fluoranthène	2,37	1,13	1,35	0,95	1,30	0,74	0,85	1,01	0,37	0,64
Fluorène	0,01	0,02	<0,01	<0,01	0,02	<0,01	<0,01	0,01	<0,01	<0,01
Indeno(1,2,3-c,d)pyrène	0,48	0,26	0,30	0,68	0,26	0,19	0,62	0,24	0,11	0,47
Pyrène	3,18	1,61	2,05	2,04	1,78	1,16	1,89	1,60	0,60	1,16
<b>Somme HAP</b>	<b>10,70</b>	<b>5,60</b>	<b>6,45</b>	<b>7,10</b>	<b>6,05</b>	<b>3,65</b>	<b>6,50</b>	<b>5,18</b>	<b>2,00</b>	<b>4,30</b>

**Tableau 6.4.4.3.3** Résultats des analyses chimiques des métaux effectuées par les laboratoires ARPAL après 15 (Temps 1), 30 (Temps 2) et 60 (Temps 3) jours d'activité de mycoremédiation sur les sédiments du canal Navicelli de Pise. Le résultat de la caractérisation chimique des sédiments en relation avec les C > 12 (Temps 0) est également indiqué.

Hydrocarbures C>12 (mg kg <sup>-1</sup> )										
	Temps 0	Moyenne Bacs 1 et 2			Bac 3			Bac 5		
		Temps 1	Temps 2	Temps 3	Temps 1	Temps 2	Temps 3	Temps 1	Temps 2	Temps 3
<b>C &gt; 12</b>	6800	1440	5000	3900	1113	3900	3900	1250	4300	3200

**Tableau 6.4.4.3.4** Résultats des analyses chimiques des hydrocarbures lourds (PCB; µg kg<sup>-1</sup>) effectuées par les laboratoires ARPAL après 15 (Temps 1), 30 (Temps 2) et 60 (Temps 3) jours d'activité de mycoremédiation sur les sédiments du canal Navicelli de Pise. Le résultat de la caractérisation chimique des sédiments en relation avec les PCB (Temps 0) est également indiqué.

PCB (mg kg <sup>-1</sup> )										
	Temps 0	Moyenne Bacs 1 et 2			Moyenne Bacs 3 et 4			Bac 5		
		Temps 1	Temps 2	Temps 3	Temps 1	Temps 2	Temps 3	Temps 1	Temps 2	Temps 3
<b>PCB 28</b>	4,9965	2,6531	3,3735	3,3955	3,1540	1,7080	3,9658	2,6557	1,0450	1,5992
<b>PCB 52</b>	19,1754	9,1135	17,0150	10,2473	10,3599	6,0035	17,5029	9,5018	3,4870	5,6608
<b>PCB 77</b>	0,2384	0,1313	0,0000	0,0992	0,1028	0,0080	0,2497	0,0000	0,0340	0,0561
<b>PCB 81</b>	<0,0025	<0,0025	<0,0025	<0,0025	<0,0025	<0,0025	<0,0025	<0,0025	<0,0025	<0,0025
<b>PCB 101</b>	33,2405	16,8482	28,4940	7,0122	15,1707	11,3140	29,8134	10,2864	6,4450	9,4458
<b>PCB 118</b>	14,2039	7,5364	3,9280	10,0908	5,6022	2,0830	10,0257	4,6232	1,4500	5,1841
<b>PCB 126</b>	<0,0025	0,1026	0,1670	<0,0025	0,1654	<0,0025	<0,0025	0,1541	<0,0025	<0,0025
<b>PCB 128</b>	0,2655	0,2554	7,9085	5,4227	0,7749	2,3775	4,9006	2,8710	1,2770	3,0029
<b>PCB 138</b>	54,8269	19,5232	35,4315	37,7375	21,2765	17,3480	33,2406	19,7950	8,7770	20,1534
<b>PCB 153</b>	51,9239	25,5831	46,4620	43,4655	30,4713	16,4355	36,0538	26,0855	9,9840	30,8211
<b>PCB 156</b>	3,3200	1,9708	2,5535	3,3480	2,4523	1,6605	2,7244	1,9536	0,6630	2,0850
<b>PCB 169</b>	<0,0025	<0,0025	<0,0025	<0,0025	<0,0025	0,0095	<0,0025	<0,0025	0,0040	<0,0025
<b>PCB 180</b>	23,9094	13,5022	14,4665	20,7376	15,3807	10,3700	20,4221	13,6107	4,8050	12,7172
<b>PCB tot</b>	205,86	97,22	159,80	141,56	104,91	69,32	158,90	91,54	37,97	90,73



**Tableau 6.4.4.3.5** Résultats des analyses chimiques (laboratoire EUROCHEM Italia s.r.l.) relatives aux essais de mycoremédiation sur les sédiments de Pise, effectuées sur des échantillons de sédiments (couche superficielle - 2 cm - sous le papier absorbant) traités et non traités, au Temps 0 et après 60 jours (Temps 3) à compter de l'inoculum fongique

Métaux (mg kg <sup>-1</sup> )	Moyenne Bacs 1 et 2	
	Temps 0	Temps 3
Al	29000	11500
As	<5	<5
Cd	22	16
Cr tot	320	210
Fe	23000	21000
Mn	500	400
Ni	57	54
Pb	60	42
Cu	110	71
Zn	590	345
Hg	0,59	<0,3

**Tableau 6.4.4.3.6** Résultats des analyses chimiques (laboratoire EUROCHEM Italia s.r.l.) relatives aux essais de mycoremédiation sur les sédiments de Pise, effectuées sur des échantillons de papier absorbant traité et non traité après 15 (Temps 1), 30 (Temps 2) et 60 (Temps 3) jours à compter de l'inoculum fongique.

Métaux (mg kg <sup>-1</sup> )	Moyenne Bacs 1 et 2		
	Temps 1	Temps 2	Temps 3
Al	1850	1410	1950
As	<1	<1	<1
Cd	2,85	2,3	2,3
Cr tot	36	30	22,75
Fe	3400	2160	2800
Mn	80	52,5	70,5
Ni	6,85	7,2	5,75
Pb	8,15	9,85	7,25
Cu	12,55	11,85	8,35
Zn	73,5	71,5	75,5
Hg	<1	<1	<1

Les résultats des analyses des métaux réalisées pendant l'activité de mycoremédiation des sédiments prélevés à l'intérieur du canal Navicelli de Pise montrent une diminution significative du chrome total après 15 jours d'activité (**Tableau 6.4.4.3.1**). Les résultats sur l'accumulation des métaux par les microchampignons montrent, d'autre part, que le fer et le cadmium ont atteint le pic d'accumulation après 15 jours et l'antimoine après 30 jours d'activité (**Tableau 6.4.4.3.6**). Les polluants organiques n'ont pas changé de manière significative bien qu'ils soient les sédiments les plus caractérisés par la présence de ces composés (**Tableaux 6.4.4.3.2, 6.4.4.3.3, 6.4.4.3.4**). À cet égard, il est possible que les caractéristiques physiques de ce sédiment (fin et donc compact et plus riche en matière organique) aient réduit la capacité de pénétration des microchampignons à l'intérieur de celui-ci et aient favorisé l'exploitation de la matière organique par les microchampignons comme source de nourriture, plus facile à trouver que les polluants organiques.

#### 6.4.4.4 Sédiments du port de Cagliari

L'activité de mycoremédiation des sédiments du port de Cagliari s'est déroulée du 9 août 2018 au 10 octobre 2018.

La **Figure 6.4.4.4.1** montre l'image de l'un des microchampignons inoculés dans les sédiments du port de Cagliari le jour de la mise en place du laboratoire pour l'activité de mycoremédiation.



**Figure 6.4.4.4.1** Microchampignon inoculé dans les sédiments du port de Cagliari présents dans le bac 3 le jour de la mise en place du laboratoire pour l'activité de mycoremédiation.

Les résultats des analyses des métaux, des HAP, des hydrocarbures avec C > 12 et des PCB effectuées après 15, 30 et 60 jours d'activité figurent aux **Tableaux 6.4.4.4.1 – 6.4.4.4.6**.

**Tableau 6.4.4.4.1** Résultats des analyses chimiques des métaux effectuées par les laboratoires ARPAL après 15 (Temps 1), 30 (Temps 2) et 60 (Temps 3) jours d'activité de mycoremédiation sur les sédiments du port de Cagliari. Le résultat de la caractérisation chimique des sédiments en relation avec les métaux (Temps 0) est également indiqué.

Métaux (mg kg <sup>-1</sup> )				
	Temps 0	Moyenne Bacs 1 et 2		
		Temps 1	Temps 2	Temps 3
<b>Al</b>	5189	5652,5	5741	6257
<b>As</b>	14	15,5	15	18
<b>Cd</b>	1,9	2,0	2,1	2,1
<b>Cr tot</b>	63	114	16	15
<b>Fe</b>	5193	6591,5	6361	7000
<b>Mn</b>	112	122	122	121
<b>Ni</b>	34	51	13	12
<b>Pb</b>	129	134	155	150
<b>Cu</b>	43	43,5	48	48
<b>Zn</b>	289	301	343	324
<b>Hg</b>	0,3	0,4	0,7	0,3

**Tableau 6.4.4.2** Résultats des analyses chimiques des HAP ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) effectuées par les laboratoires ARPAL après 15 (Temps 1), 30 (Temps 2) et 60 (Temps 3) jours d'activité de mycoremédiations sur les sédiments du port de Cagliari. Le résultat de la caractérisation chimique des sédiments en relation avec les HAP (Temps 0) est également indiqué.

Hydrocarbures aromatiques polycycliques ( $\text{mg kg}^{-1}$ )										
	Temps 0	Moyenne Bacs 1 et 2			Moyenne Bacs 3 et 4			Bac 5		
		Temps 1	Temps 2	Temps 3	Temps 1	Temps 2	Temps 3	Temps 1	Temps 2	Temps 3
Naphtalène	0,02	0,01	<0,01	0,03	0,02	0,01	0,03	<0,01	<0,01	0,02
Acénaphène	0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	0,04	<0,01	0,01	<0,01
Acénaphthylène	0,03	<0,01	0,01	0,03	<0,01	<0,01	0,03	<0,01	<0,01	0,03
Anthracène	0,05	0,04	0,03	0,07	0,04	0,04	0,19	0,02	0,03	0,09
Benzo(a)anthracène	0,44	0,23	0,17	0,33	0,20	0,22	0,60	0,14	0,17	0,57
Benzo(a)pyrène	0,58	0,28	0,23	0,48	0,24	0,28	0,72	0,20	0,22	0,66
Benzo(b)fluoranthène	0,64	0,45	0,33	0,70	0,38	0,43	0,98	0,33	0,34	0,92
Benzo(b)fluoranthène	0,25	0,17	0,13	0,30	0,15	0,18	0,38	0,13	0,13	0,38
Benzo(g,h,i)pérylène	0,62	0,58	0,43	0,98	0,49	0,50	1,09	0,43	0,42	0,97
Chrysène	0,36	0,37	0,26	0,52	0,31	0,35	0,74	0,26	0,27	0,62
Dibenzo(a,h)anthracène	0,18	0,14	0,11	0,25	0,12	0,13	0,30	0,11	0,10	0,28
Phénanthrène	0,16	0,24	0,12	0,21	0,15	0,18	0,81	0,15	0,12	0,31
Fluoranthène	0,53	0,52	0,38	0,75	0,44	0,51	1,79	0,36	0,39	0,87
Fluorène	0,01	0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	0,05	<0,01	<0,01	0,01
Indeno(1,2,3-c,d)pyrène	0,72	0,56	0,42	0,90	0,47	0,51	1,08	0,43	0,42	0,97
Pyrène	0,48	0,47	0,33	0,58	0,44	0,44	1,04	0,34	0,36	0,78
<b>Somme HAP</b>	<b>5,1</b>	<b>4,1</b>	<b>2,9</b>	<b>7,2</b>	<b>3,4</b>	<b>3,8</b>	<b>11,1</b>	<b>2,9</b>	<b>3,0</b>	<b>8,5</b>

**Tableau 6.4.4.3** Résultats des analyses chimiques des hydrocarbures lourds (C>12 ; mg kg<sup>-1</sup>) effectuées par les laboratoires ARPAL après 15 (Temps 1), 30 (Temps 2) et 60 (Temps 3) jours d'activité de mycoremédiation sur les sédiments du port de Cagliari.

Hydrocarbures C>12 (mg kg <sup>-1</sup> )										
	Temps 0	Moyenne Bacs 1 et 2			Bac 3			Bac 5		
		Temps 1	Temps 2	Temps 3	Temps 1	Temps 2	Temps 3	Temps 1	Temps 2	Temps 3
<b>C&gt;12</b>	94	93	99	124	97	104	86	80	91	95

**Tableau 6.4.4.4** Résultats des analyses chimiques des hydrocarbures lourds (PCB ; µg kg<sup>-1</sup>) effectuées par les laboratoires ARPAL après 15 (Temps 1), 30 (Temps 2) et 60 (Temps 3) jours d'activité de mycoremédiation sur les sédiments du port de Cagliari.

PCB (mg kg <sup>-1</sup> )										
	Temps 0	Moyenne Bacs 1 et 2			Moyenne Bacs 3 et 4			Bac 5		
		Temps 1	Temps 2	Temps 3	Temps 1	Temps 2	Temps 3	Temps 1	Temps 2	Temps 3
<b>PCB 28</b>	0,3549	0,6329	0,4240	2,3661	0,4700	0,2980	0,5429	0,2979	0,3567	0,4400
<b>PCB 52</b>	3,1074	3,6474	4,4498	6,9527	3,7681	3,8069	2,9949	6,4517	3,1126	2,5849
<b>PCB 77</b>	0,0209	0,0709	0,0746	0,1183	0,0545	0,0261	0,0663	0,0431	0,0316	0,0507
<b>PCB 81</b>	0,0512	0,0530	<0,0025	<0,0025	0,0098	0,0059	<0,0025	0,0140	<0,0025	<0,0025
<b>PCB 101</b>	4,4257	6,1792	5,2148	6,6839	5,3061	12,4638	3,5513	8,6898	4,4104	3,3197
<b>PCB 118</b>	2,5067	3,7364	3,3512	6,1183	3,1840	6,2400	3,3234	4,2284	2,5353	2,8402
<b>PCB 126</b>	<0,0025	0,0036	0,0021	<0,0025	<0,0025	0,0030	<0,0025	0,0050	<0,0025	<0,0025
<b>PCB 128</b>	0,7754	0,9320	0,9377	1,6321	0,7173	2,6215	0,8713	1,8255	0,8201	0,9193
<b>PCB 138</b>	6,6839	5,1677	5,4334	10,8508	4,1491	21,4027	5,1314	13,8542	4,3630	5,4974
<b>PCB 153</b>	5,5837	7,5248	7,5081	9,0046	6,8646	31,9065	4,4697	21,8795	6,6277	3,8998
<b>PCB 156</b>	0,3780	0,4025	0,4723	0,7789	0,3427	1,7672	0,4316	1,2325	0,3470	0,3688
<b>PCB 169</b>	<0,0025	<0,0025	<0,0025	<0,0025	<0,0025	<0,0025	<0,0025	<0,0025	<0,0025	<0,0025
<b>PCB 180</b>	2,8302	3,7604	3,5011	4,5965	3,0531	22,4412	3,0348	13,8308	3,4003	2,6481
<b>PCB tot</b>	26,72	32,11	31,37	49,11	27,92	102,98	24,42	72,35	26,00	22,57

**Tableau 6.4.4.4.5** Résultats des analyses chimiques (laboratoire EUROCHEM Italia s.r.l.) relatives aux essais de mycoremédiation sur les sédiments de Cagliari, effectuées sur des échantillons de sédiments (couche superficielle - 2 cm - sous le papier absorbant) traités et non traités, au Temps 0 et après 60 jours (Temps 3) à compter de l'inoculum fongique.

Métaux (mg kg <sup>-1</sup> )	Moyenne Bacs 1 et 2	
	Temps 0	Temps 3
Al	4100	4750
As	12	14
Cd	1,9	1,5
Cr tot	8,2	7,7
Fe	7200	5150
Mn	89	74
Ni	5,6	4,5
Pb	97	110
Cu	40	49
Zn	210	205
Hg	<0,3	<0,3

**Tableau 6.4.4.4.6** Résultats des analyses chimiques (laboratoire EUROCHEM Italia s.r.l.) relatives aux essais de mycoremédiation sur les sédiments de Cagliari, effectuées sur les échantillons de papier absorbant traité et non traité après 15 (Temps1), 30 (Temps 2) et 60 (Temps 3) jours à compter de l'inoculum fongique.

Métaux (mg kg <sup>-1</sup> )	Moyenne Bacs 1 et 2		
	Temps 1	Temps 2	Temps 3
Al	505	550	845
As	14,5	7,95	14
Cd	<1	<1	1,1
Cr tot	1,6	1,4	<1
Fe	4050	3300	5750
Mn	82	68	79
Ni	1,5	1,15	<1
Pb	18	15,25	17
Cu	5,4	5,32	10,33
Zn	68	47	125
Hg	<1	<1	<1

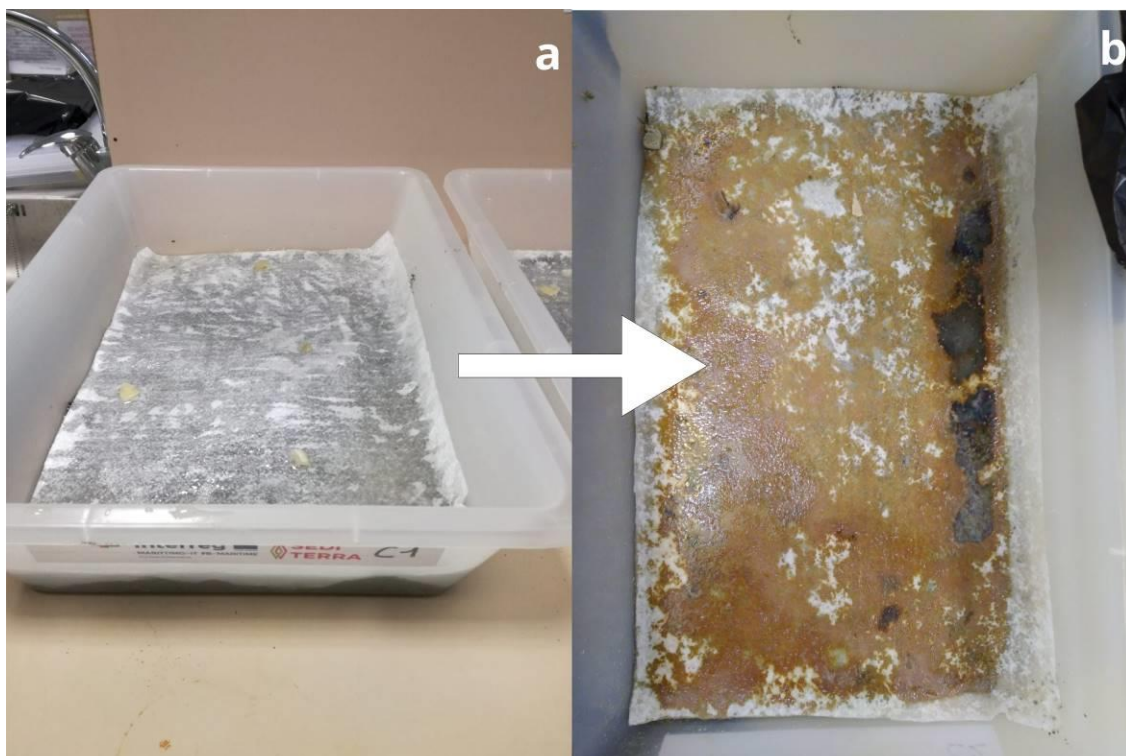


Les résultats des analyses effectuées dans le cadre de la mycoremédiation des sédiments du port de Cagliari montrent une diminution significative du chrome et du nickel après 30 et 60 jours d'activité (**Tableau 6.4.4.4.1**). Les principaux métaux qui ont été accumulés par les champignons sont : le fer, l'aluminium, le plomb, le cuivre et le manganèse (**Tableau 6.4.4.4.6**). Les polluants organiques, par contre, n'ont pas subi de modifications significatives (**Tableaux 6.4.4.2 – 6.4.4.3**).

#### 6.4.4.5 Sédiments du port de Centuri

L'activité de mycoremédiation des sédiments prélevés dans le port de Centuri s'est déroulée du 5 mars 2019 au 6 mai 2019, en même temps que les sédiments du Port de Toulon (paragraphe 6.4.4.6).

La **Figure 6.4.4.5.1** montre les images des microchampignons présents dans le bac 1 pendant l'activité de mycoremédiation sur les sédiments du port de Centuri : la croissance des microchampignons pendant les 15 premiers jours d'activité peut être observée (**Figure 6.4.4.5.1a**, jour d'inoculation et **Figure 6.4.4.5.1b**, 15e jour d'activité).



**Figure 4.4.5.1** Croissance des microchampignons pendant les quinze premiers jours d'activité de mycoremédiation sur les sédiments du port de Centuri : a) Microchampignons inoculés dans le bac 1 le jour de l'installation du laboratoire pour l'activité ; b) Microchampignons dans le bac 1 après 15 jours d'activité.

Les résultats des analyses des métaux et du contenu organique et inorganique des sédiments effectuées après 15, 30 et 60 jours d'activité figurent aux **Tableaux 6.4.4.5.1** et **6.4.4.5.2**, respectivement.

**Tableau 6.4.4.5.1** Résultats des analyses chimiques des métaux effectuées par les laboratoires Eurochem Italia s.r.l. après 15 (Temps 1), 30 (Temps 2) et 60 (Temps 3) jours d'activité de mycoremédiation sur les sédiments du port de Centuri. Le résultat de la caractérisation chimique des sédiments en relation avec les métaux (Temps 0) est également indiqué.

<b>Métaux (mg kg<sup>-1</sup>)</b>				
	<b>Temps 0</b>	<b>Moyenne Bacs 1 et 2</b>		
		<b>Temps 1</b>	<b>Temps 2</b>	<b>Temps 3</b>
<b>Al</b>	11000	<1	4950	9750
<b>As</b>	<1	<1	<1	<1
<b>Cd</b>	<1	<1	<1	<1
<b>Cr tot</b>	470	420	440	580
<b>Fe</b>	26000	<1	7050	7350
<b>Mn</b>	300	<1	305	<1
<b>Ni</b>	320	190	280	340
<b>Pb</b>	<1	<1	5,8	<1
<b>Cu</b>	74	<1	16	27,5
<b>Zn</b>	36	31.5	32	29
<b>Hg</b>	<1	<1	<1	<1
<b>Sb</b>	<1	<1	6,1	<1

**Tableau 6.4.4.5.2** Résultats des analyses du contenu organique et inorganique des sédiments de Centuri, exprimés en pourcentage : résultat de la caractérisation physique (Temps 0), et résultats obtenus après 15 (Temps 1), 30 (Temps 2) et 60 (Temps 3) jours d'activité de mycoremédiation sur les sédiments insérés dans les bacs 1, 2 et 5.

Bac	Temps	Fraction inorganique du sédiment (%)	Fraction organique du sédiment (%)
Caractérisation physique	0	97,78	2,22
1	1	98,41	1,59
	2	98,47	1,53
	3	98,26	1,74
2	1	97,91	2,09
	2	98,31	1,69
	3	98,44	1,56
5	1	97,76	2,24
	2	97,83	2,17
	3	98,53	1,47

Les résultats des analyses du contenu organique et inorganique des sédiments de Centuri montrent que le contenu organique des sédiments a diminué davantage dans les bacs 1 et 2 où les microchampignons étaient présents que dans le bac témoin 5 ; cela suggère que l'activité des microchampignons a favorisé la dégradation de la matière végétale présente dans les sédiments provenant de Centuri (**Tableau 6.4.4.5.2**).

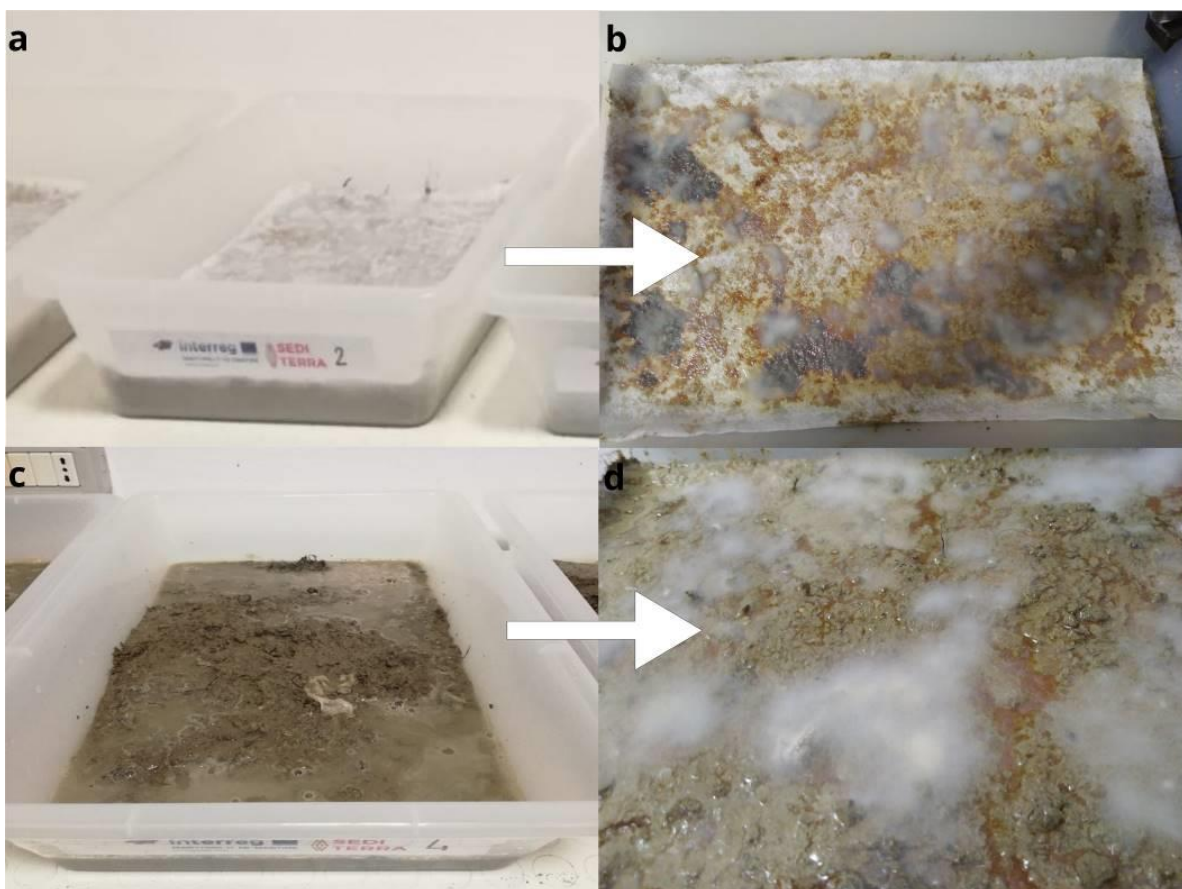
**Tableau 6.4.4.5.3** Résultats des analyses chimiques (laboratoire EUROCHEM Italia s.r.l.) relatives aux essais de mycoremédiation sur les sédiments de Centuri, effectuées sur des échantillons de papier absorbant traité et non traité après 15 (Temps1), 30 (Temps 2) et 60 (Temps 3) jours à compter de l'inoculum fongique.

Métaux (mg kg <sup>-1</sup> )	Moyenne Bacs 1 et 2		
	Temps 1	Temps 2	Temps 3
<b>Al</b>	<1	2,9	<1
<b>As</b>	<1	1650	1550
<b>Cd</b>	<1	<1	<1
<b>Cr tot</b>	50	21,6	61,5
<b>Fe</b>	35,5	13,15	13
<b>Mn</b>	<1	11,25	<1
<b>Ni</b>	<1	1,45	<1
<b>Pb</b>	<1	3450	2150
<b>Cu</b>	<1	51,5	31,5
<b>Zn</b>	<1	<1	<1
<b>Hg</b>	<1	5,65	<1

#### 6.4.4.6 Sédiments du port de Toulon

L'activité de mycoremédiation des sédiments prélevés dans le port de Toulon s'est déroulée du 5 mars 2019 au 6 mai 2019, en même temps que les sédiments du Port de Centuri (paragraphe 6.4.4.5).

La **Figure 6.4.4.6.1** montre quelques images prises pendant l'activité de mycoremédiation sur les sédiments du port de Toulon : il est possible d'observer la croissance des microchampignons dans le bac 2 (**Figure 6.4.4.6.1**, images a et b) et le bac 4 (**Figure 6.4.4.6.1**, images c et d) pendant les quinze premiers jours d'activité.



**Figure 6.4.4.6.1.** Croissance des microchampignons pendant les quinze premiers jours d'activité de mycoremédiation sur les sédiments du port de Toulon : a ; b) microchampignons inoculés dans le bac 2 ; c et d) microchampignons inoculés dans le bac 4.

Les résultats des analyses des métaux effectuées après 15, 30 et 60 jours d'activité figurent au **Tableau 6.4.4.6.1**.

**Tableau 6.4.4.6.1** Résultats des analyses chimiques des métaux effectuées par les laboratoires Eurochem Italia s.r.l. après 15 (Temps 1), 30 (Temps 2) et 60 (Temps 3) jours d'activité de mycoremédiation sur les sédiments du port de Toulon. Le résultat de la caractérisation chimique des sédiments en relation avec les métaux (Temps 0) est également indiqué.

Métaux (mg kg <sup>-1</sup> )				
	Temps 0	Moyenne Bacs 1 et 2		
		Temps 1	Temps 2	Temps 3
<b>Al</b>	4700	4,1	3,95	<1
<b>As</b>	<1	600,5	3550	555
<b>Cd</b>	<1	<1	<1	<1
<b>Cr tot</b>	<1	2,15	68,15	<1
<b>Fe</b>	<1	2,35	41,35	<1
<b>Mn</b>	110	2,85	10	<1
<b>Ni</b>	<1	1,15	2,7	<1
<b>Pb</b>	35	2550,5	<1	2100
<b>Cu</b>	65	29,5	104,5	<1
<b>Zn</b>	51	<1	<1	<1
<b>Hg</b>	<1	5	9,81	<1

Les analyses des polluants organiques étant <10 mg kg<sup>-1</sup> pour tous les HAP, <100 mg kg<sup>-1</sup> pour leur sommation et <10 mg kg<sup>-1</sup> pour les hydrocarbures avec C>12, à la fois dans la phase de caractérisation (Temps 0) et après 15 jours d'activité de mycoremédiation (Temps 1), les analyses de ces composés ont donc été suspendues.

## 6.5) ANALYSE DE L'EFFICACITÉ ET DES LIMITES DU TRAITEMENT

Les essais de mycoremédiation ont montré que le traitement fongique était plus efficace pour l'accumulation des métaux lourds que pour la dégradation des contaminants organiques. L'une des principales limites des expériences réalisées a été de travailler avec des taux de contamination plutôt faibles : tant les valeurs des métaux que celles des contaminants organiques se situaient souvent en dessous des niveaux de tolérance standard. La contamination sur laquelle on travaille réellement peut en fait être qualifiée de résiduelle. Cependant, au moins en ce qui concerne les métaux, les résultats sont très encourageants et prometteurs.

Dans la plupart des sédiments, on a constaté une réduction des contaminants et une augmentation de la concentration de métaux sur les membranes de feutre inoculées avec des champignons indigènes. S'agissant d'organismes vivants, un certain degré de sélectivité dans l'accumulation des métaux a été constaté : en effet, les espèces fongiques sont capables d'absorber certains métaux mieux que d'autres, et elles n'ont pas toutes développé leur capacité de bioaccumulation. Il existe, en effet, des métaux dits à fonction biologique, que les champignons sont capables d'absorber parce qu'ils sont déterminants pour assurer un bon fonctionnement cellulaire (par exemple Fe et Zn), et des métaux indifférents que seules certaines espèces sont capables de chélater et d'absorber grâce à l'évolution de mécanismes spécifiques et aussi grâce à l'adaptation et/ou l'exposition à ces métaux (par exemple Cr, As, Pb, Hg).

Afin de quantifier le degré de contamination des sédiments avant (Temps 0) et après le traitement (au Temps 3), puis de quantifier le fonctionnement du traitement de mycoremédiation, nous avons considéré les niveaux chimiques de référence L1 et L2 et l'évaluation du danger chimique (Quotient de danger - HQ) pour les contaminants chimiques définis par l'arrêté ministériel italien 173 de 2016. HQ est basé sur une classification internationale (annexe II de la directive 2008/105/UE) qui définit les substances comme « non prioritaires », « prioritaires » ou « dangereuses et prioritaires », en attribuant aux différentes substances une pondération basée sur leur classification en termes de priorité. Par conséquent, le poids d'une substance « non prioritaire » est 1, celui d'une substance « prioritaire » est 1,1, et celui d'une substance « dangereuse et prioritaire » est 1,3. Le poids différent attribué aux divers composés vise à donner une plus grande pertinence à la classification chimique des sédiments.

À partir de la concentration du contaminant (C) constatée dans les sédiments et selon les niveaux de référence italiens L1 et L2, pour chaque paramètre chimique analysé, on calcule la variation par rapport à ces limites, c'est-à-dire le Ratio To Reference (RTR) ; la valeur RTR est corrigée en fonction du « poids » du contaminant pour obtenir une valeur RTR pondérée ( $RTR_w$ ), afin de souligner l'importance des variations observées pour les contaminants les plus dangereux. Le calcul de l'indice de danger quantitatif (Quotient de danger), spécifique pour la caractérisation chimique des sédiments ( $HQ_c$ ), est obtenu en additionnant la moyenne de tous les  $RTR_w$  des paramètres avec  $RTR_w \leq 1$  (c'est-à-dire les valeurs inférieures à la limite de référence) avec la somme des  $RTR_w$  de tous les contaminants avec  $RTR_w > 1$ .



Ci-dessous les formules utilisées pour la quantification :

$$RTR_{(i)} = C_{(i)} / L1_{(i)} \text{ ou } L2_{(i)}$$

$$RTR_w = RTR_{(i)} \times \text{poids}_{(i)}$$

$$HQ_C = [\sum RTR_{w(j)} \text{ si } RTR_{(j)} \leq 1] / N + \sum RTR_{w(k)} \text{ si } RTR_{w(k)} > 1$$

L'indice chimique  $HQ_C$  est attribué à une classe de danger (absent à très élevé), identifiée par une couleur différente : absent/blanc si  $HQ_C < 0,7$  ; négligeable/vert si  $0,7 \leq HQ_C < 1,3$  ; faible/bleu clair si  $1,3 \leq HQ_C < 2,6$  ; moyen/jaune si  $2,6 \leq HQ_C < 6,5$  ; élevé/rouge si  $6,5 \leq HQ_C < 13$  ; et très élevé/noir si  $HQ_C \geq 13$  (**Tableau 6.5.1**).

**Tableau 6.5.1** Classification des sédiments selon le Quotient de danger ( $HQ_C$ ).

$HQ_C$	CLASSE DI PERICOLO
0 – < 0.7	Assente
0.7 – < 1.3	Trascurabile
1.3 – < 2.6	Basso
2.6 – < 6.5	Medio
6.5 – < 13.0	Alto
$\geq 13.0$	Molto Alto

En suivant la stratégie d'évaluation de la qualité des sédiments ci-dessus et en considérant L1 (le niveau de référence chimique le plus bas), avant le traitement, les sédiments de Gênes montrent une forte contamination en métaux, tandis que les sédiments de Pise et de Cagliari montrent une très forte contamination (**Tableau 6.5.2**). En revanche, si l'on prend en compte L2 (le niveau de référence chimique le plus élevé), les sédiments de Gênes ne sont pas contaminés, ceux de Cagliari sont moyennement contaminés et ceux de Pise sont très fortement contaminés. Le traitement par mycoremédiation a entraîné une amélioration en termes de contamination des sédiments, mais seulement pour Gênes, l'amélioration correspondant également à une réduction de la classe de contamination des sédiments pour L1 (**Tableau 6.5.2**).

**Tableau 6.5.2** Résultats de l'évaluation de la qualité des sédiments ( $HQ_C$ ) avant (Temps 0) et après (Temps 3) le traitement de mycoremédiation. Blanc : aucune contamination ou une contamination négligeable ; jaune : contamination moyenne ; rouge : contamination élevée ; et noir : contamination très élevée

Temps 0	Gênes	Pise	Cagliari
$HQ_C$ sur L1	8,16	117,23	16,08
$HQ_C$ sur L2	0,51	44,85	0,39
Temps 3	Gênes	Pise	Cagliari
$HQ_C$ sur L1	4,59	80,27	14,86
$HQ_C$ sur L2	0,46	30,76	5,88

En ce qui concerne les sédiments de Livourne, Centuri et Toulon, il n'a pas été possible de calculer la dangerosité des sédiments, car les concentrations de métaux (parmi celles considérées par la réglementation) qui dépassaient les limites de détection au Temps 0 étaient trop faibles (bien qu'avec des valeurs élevées) et auraient donné des résultats insignifiants.

Pour les HAP, par contre, tous les sédiments avaient des concentrations initiales trop faibles pour appliquer cette méthode d'évaluation (tous les sédiments n'étaient pas contaminés au Temps 0).

L'évaluation de la qualité, lorsqu'il était possible de la réaliser, a donc montré une amélioration des sédiments après la mycoremédiation, mais pas au point d'abaisser la classe de risque des sédiments à des niveaux acceptables pour la réutilisation. Cela pourrait signifier que pour des niveaux élevés de contamination métallique, comme dans le cas de Pise, l'effet positif de la mycoremédiation et/ou le temps de traitement utilisé dans ce pilote n'ont pas été suffisants pour obtenir une amélioration significative. Cela pourrait être dû à des facteurs environnementaux externes ou aux caractéristiques physiques des sédiments (taille des grains, teneur en matière organique, pH, température ambiante, humidité). Il sera donc nécessaire d'approfondir cet aspect dans le processus de traitement et de trouver une possible amélioration.

La sélection des souches fongiques a été déterminante pour l'utilisation des champignons indigènes, car ils sont certainement les plus adaptés pour vivre dans et tolérer le milieu contaminé étudié. D'autre part, il est possible que les champignons adoptent l'exclusion comme stratégie de survie vis-à-vis d'un certain contaminant. C'est ce qui fait que chaque espèce est habile et très efficace dans l'accumulation de certains métaux, et l'exclusion complète d'autres éléments.

## 6.6) Composante économique

Voici une estimation des coûts liés à l'activité de mycoremédiation sur les sédiments marins.

Le **Tableau 6.6.1** montre les coûts moyens d'une seule analyse effectuée pour l'activité de mycoremédiation, tandis que le **Tableau 6.6.2** montre les coûts moyens d'un traitement complet (deux mois de traitement, de temps  $t_0$  à temps  $t_3$ ) pour 30 kg de sédiments marins.

**Tableau 6.6.1** Coût moyen estimé par analyse unique de l'activité de mycoremédiation sur les sédiments marins.

Activité de mycoremédiation	Coût moyen (€)
Analyses chimiques, analyses génétiques de la communauté fongique, consommables et réactifs de laboratoire	142,78 €
Personnel scientifique dédié à l'activité	153,62 €
Coût moyen global par analyse	296,40 €

**Tableau 6.6.2** Nombre moyen d'analyses et coût moyen estimé pour un traitement unique de mycoremédiation sur 30 kg de sédiments marins.

Activité de mycoremédiation	Coût moyen (€)
Nombre moyen d'analyses nécessaires pour le traitement	62
Coût moyen par analyse, y compris le personnel dédié	296,40 €
Coût moyen global par analyse	18 376,69 €

La mycoremédiation des sédiments ne nécessite pas d'investissement dans des infrastructures majeures par rapport aux autres procédés mis en place pour la décontamination des sédiments, car elle ne requiert pas l'utilisation ou la location de machines particulièrement coûteuses. Cependant, elle nécessite de grands espaces (si elle est appliquée à de gros volumes) et du temps. Le coût le plus important est celui des analyses chimiques à effectuer pour vérifier le bon déroulement du traitement et celui du personnel dédié au traitement.

## 6.7) Conclusions et perspectives

Les tests de mycoremédiation réalisés ont permis de caractériser mycologiquement un milieu particulier, celui des sédiments dragués, dont on sait aujourd'hui très peu de choses. En outre, les travaux ont permis de sélectionner des souches de champignons marins indigènes qui peuvent être utilisées dans les processus de biorestauration des sédiments de dragage contaminés en raison de leur excellente biodégradation des substances toxiques et, en particulier, de la bioconcentration des métaux lourds.

Les faibles valeurs de contamination constatées sur presque tous les sites ont montré que les champignons sont également potentiellement utilisables dans le traitement des contaminations résiduelles, principalement métalliques. L'étude d'une membrane absorbante poreuse sur laquelle le mycélium fongique peut facilement s'enraciner et se développer, en restant chimiquement en contact avec le substrat sous-jacent et en accumulant les métaux, y compris les métaux résiduels, représente un objectif intéressant et important qui pourrait réduire de manière significative les coûts d'élimination et de stockage des sédiments dragués à l'extérieur du port, ainsi qu'ajouter de la valeur et transformer ces sédiments en une ressource de manière totalement naturelle et durable directement *in situ*.

Ce projet doit encore être perfectionné et mis en œuvre pour faciliter son utilisation à grande échelle et directement *in situ*, en transférant ainsi l'activité à une échelle réelle et non à une échelle de laboratoire, en l'adaptant à chaque type de sédiment à traiter et en essayant de la rendre applicable dans n'importe quelles conditions climatiques (même défavorables à la survie des champignons).