

QUALIPORTI

**Qualité des eaux par des Actions de
Limitation et d'Identification des polluants
dans les Ports
et l'Organisation de Ressources Transfrontalières
Innovantes**



**LIVRABLE T2.1.1 et OUTPUT T2 :
MEMOIRE TRANSFRONTALIER DES ACTIONS PILOTES**

**PRODOTTO T2.1.1 e OUTPUT T2 :
RAPPORTO TRANSFRONTALIERO DI AZIONI PILOTA**



MEMOIRE TRANSFRONTALIER DES ACTIONS PILOTES

RICORDO TRANSFRONTALIERO DELLE AZIONI PILOTA



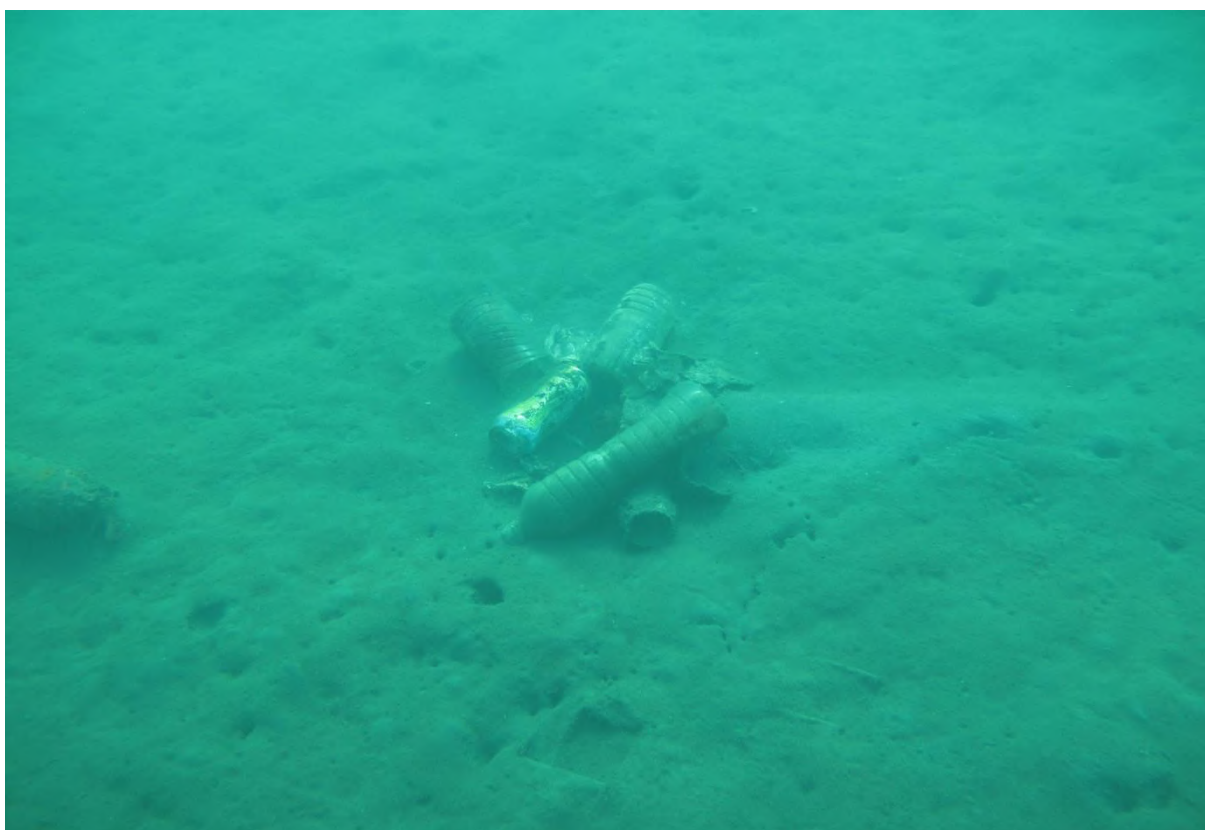
REGIONE AUTONOMA DE SARDIGNA
REGIONE AUTONOMA DELLA SARDEGNA

La cooperazione al cuore del Mediterraneo
La coopération au coeur de la Méditerranée



Dépollution des fonds marins dans la limite administrative du Port de Plaisance Charles Ornano

	Dépollution des fonds marins dans la limite administrative du Port de Plaisance Charles Ornano
Lieu Luogo	<i>Port de plaisance Charles Ornano - Ajaccio</i>
Durée de l'opération Durata dell'azione	<i>Juin 2020 à Décembre 2020</i>
Description de l'action Descrizione dell'azione	<i>Des équipes de scaphandriers devront dépolluer et traiter l'ensemble des macro déchets, encombrants et épaves déposés sur les fonds marins dans l'enceinte du port Charles Ornano.</i> <i>Le Qualitatif et le quantitatif des résultats obtenus fera l'objet d'une analyse post opératoire avec l'ensemble des partenaires environnementaux concernés.</i> <i>Un rapport photographique et/ou vidéo devra être transmis par le prestataire titulaire du marché de dépollution à la fin de l'opération.</i>
Coût de l'opération Costo dell'azione	114 191,94€ ttc







MEMOIRE TRANSFRONTALIER DES ACTIONS PILOTES

RICORDO TRANSFRONTALIERO DELLE AZIONI PILOTA



REGIONE AUTÒNOMA DE SARDIGNA
REGIONE AUTONOMA DELLA SARDEGNA

La cooperazione al cuore del Mediterraneo
La coopération au coeur de la Méditerranée



Diagnostic préalable à la dépollution sous-marine du plan d'eau du Port de Plaisance Charles Ornano

Diagnostic préalable à la dépollution sous-marine du plan d'eau du Port de Plaisance Charles Ornano	
Lieu Luogo	Port de plaisance Charles Ornano - Ajaccio
Durée de l'opération Durata dell'azione	Mars 2019 à Septembre 2019
Description de l'action Descrizione dell'azione	Une équipe de scaphandriers analysera les fonds marins dans la limite administrative du Port de Plaisance Charles Ornano afin d'identifier et localiser l'ensemble des déchets sous-marins à évacuer et traiter, dans la zone portuaires via un Rapport écrit et photographique. La zone d'étude couvre une superficie d'environ 21 ha. En raison de la taille de la zone et des profondeurs, l'analyse a été concentrée sur les zones denses en bateaux, ce qui correspond à toute la partie intérieure du port et la partie avant-port. Tout en restant dans la limite administrative portuaire. - La zone intérieure à une concentration de macro déchets le long des quais, de la digue où le passage est important (proximité du public) avec des déchets bien ciblés : chaise, pied de parasol, vélo, poubelle, bouteille, pneu. On y trouve également plus éloigné sous les bateaux des batteries. Par les dommages causés par les différentes tempêtes, on trouve les débris de bateaux, épaves dans les zones les plus exposées. - La zone avant-port est polluée par la prolifération des années de mouillages non organisé avec des débris et des épaves. <i>Estimatif</i> - Zone intérieure Dépollution du site intérieur, 10 jours - Zone avant-port Dépollution du site extérieur dans sa totalité corps et épaves, 45 jours
Coût de l'opération Costo dell'azione	6 890€ ht



MEMOIRE TRANSFRONTALIER DES ACTIONS PILOTES

RICORDO TRANSFRONTALIERO DELLE AZIONI PILOTA



REGIONE AUTONOMA DE SARDIGNA
REGIONE AUTONOMA DELLA SARDEGNA

La cooperazione al cuore del Mediterraneo
La coopération au coeur de la Méditerranée



ACQUISITION Matériels de dépollution

Acquisition de divers matériels pour le stockage des déchets, leur gestion et la protection du port

ACQUISITION Matériels de dépollution

*Absorbant Granulé minéral, terre de diatomée calcinée grains fins
Coussin plat absorbant Hydrocarbure
Rouleau absorbant hydrocarbures 40X40
Kit d'intervention pour hydrocarbures, capacité 800 litres
Bac à batteries usagées*

Lieu Luogo	<i>Port de plaisance Charles Ornano - Ajaccio</i>
Durée de l'opération Durata dell'azione	<i>Août 2019 à Octobre 2019</i>

Description de l'action <i>Descrizione dell'azione</i>	<i>L'acquisition de l'ensemble des matériels liés au traitement des pollutions, va permettre aux agents techniques et environnementaux du port de plaisance Charles Ornano, d'intervenir rapidement et efficacement sur les pollutions aux hydrocarbures et autres huiles maritimes et terrestres. Ainsi que sur la gestion et le traitement des déchets de types : batteries & filtres à huiles.</i> <i>L'acquisition des matériels liés au traitement des pollutions, va permettre aux agents portuaires d'intervenir rapidement et efficacement sur l'ensemble des pollutions maritimes et terrestres dans la limite administrative portuaire afin de confiner et traiter les zones à dépolluer. Depuis Octobre 2019, 3 interventions terrestres ont été effectuées avec des Rouleau absorbant hydrocarbures et des granulés de terre de diatomée.</i> <i>Les bacs à batteries ont permis de récupérer et traiter environ 200 batteries usagées et environ 280 filtres à huiles, depuis Octobre 2019.</i>
Coût de l'opération <i>Costo dell'azione</i>	11 193,40€ ht





La cooperazione al cuore del Mediterraneo
La coopération au coeur de la Méditerranée



La cooperazione al cuore del Mediterraneo
La coopération au coeur de la Méditerranée



MEMOIRE TRANSFRONTALIER DES ACTIONS PILOTES

RICORDO TRANSFRONTALIERO DELLE AZIONI PILOTA



REGIONE AUTÒNOMA DE SARDIGNA
REGIONE AUTONOMA DELLA SARDEGNA

La cooperazione al cuore del Mediterraneo
La coopération au coeur de la Méditerranée



Nurseries - Port de Plaisance Charles Ornano

	Acquisition d'habitats artificiels (nurseries), pour contribuer au maintien de la biodiversité de l'écosystème aquatique.
Lieu Luogo	Port de plaisance Charles Ornano - Ajaccio
Durée de l'opération Durata dell'azione	Février 2021 à Mars 2021
Description de l'action Descrizione dell'azione	<i>Il d'agit de réhabiliter la fonction écologique de nurserie des petits fonds rocheux et sableux qui ont été dégradés par la construction d'aménagements portuaires, ainsi que de sensibiliser tous les publics à la biodiversité marine à l'aide de supports de communication.</i> <i>Le but étant en outre d'impliquer les citoyens par des actions concrètes de science participative en mettant le port au coeur du territoire avec notamment des formations lors de journées à thème, ainsi que des visites d'installations.</i> Afin d'être plus précis, le procédé vise à restaurer le service éco systémique de nurserie, en protégeant les post-larves et les jeunes recrues de la prédation, leur permettant ainsi d'atteindre « la taille refuge » afin de contribuer efficacement à l'accroissement des populations adultes. L'habitat artificiel pour le port, est une conception qui fournit habitat et nourriture aux jeunes larves et recrues de poissons entrant dans les ports. Il s'agit d'un procédé simple, constitué d'une cage en acier remplie d'un matériau recyclé, associé à une autre cage, vide celle-ci, qui protège les larves et les jeunes recrues quand, agressées par des prédateurs, elles cherchent à se rapprocher naturellement de l'habitat.
Coût de l'opération Costo dell'azione	2 658,96 € TTC





La cooperazione al cuore del Mediterraneo
La coopération au coeur de la Méditerranée



MEMOIRE TRANSFRONTALIER DES ACTIONS PILOTES

RICORDO TRANSFRONTALIERO DELLE AZIONI PILOTA



REGIONE AUTONOMA DE SARDIGNA
REGIONE AUTONOMA DELLA SARDEGNA

La cooperazione al cuore del Mediterraneo
La coopération au coeur de la Méditerranée



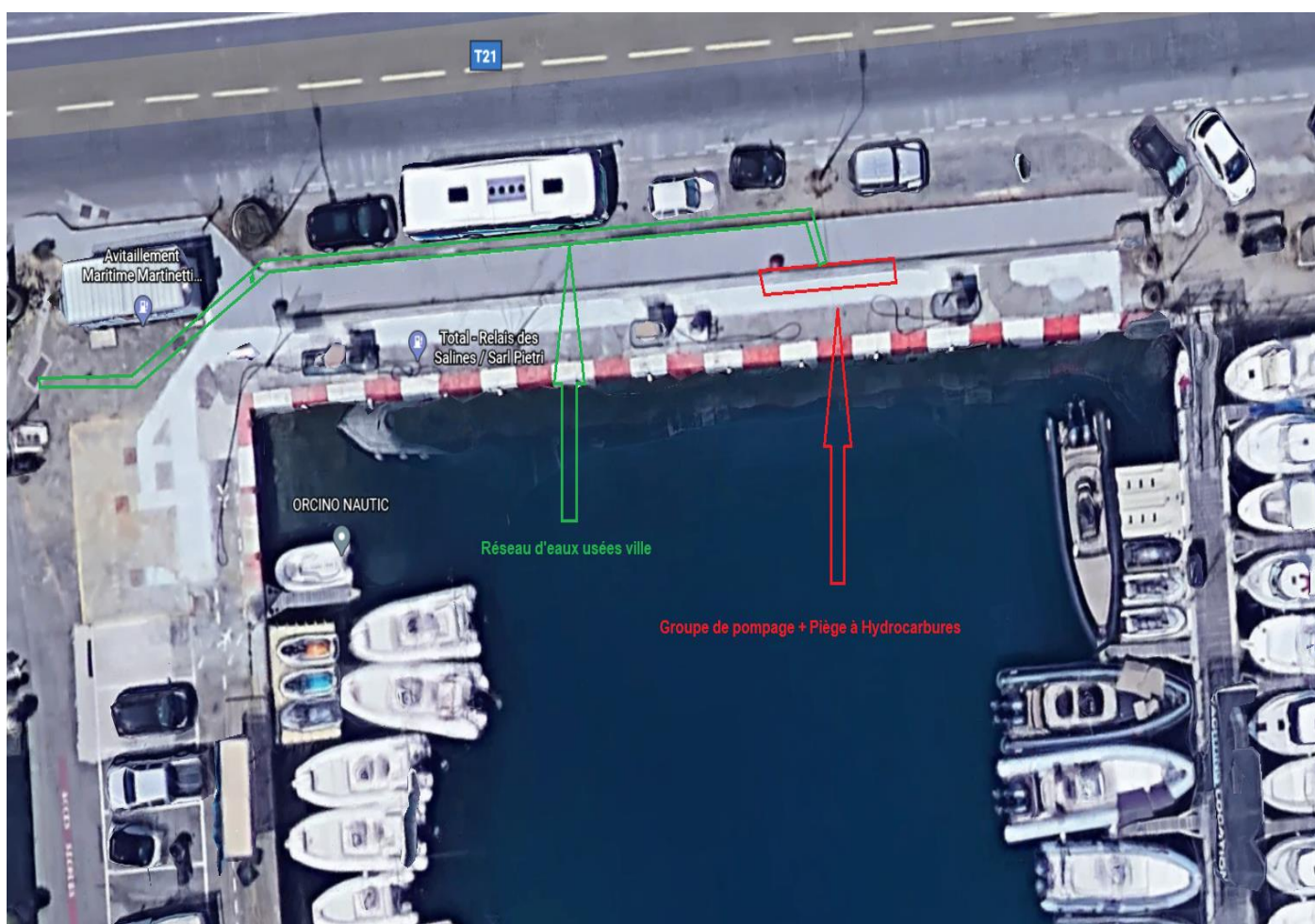
Acquisition, Pose et Raccordement de pompes de récupération des eaux grises, noires et fond de cale.

Acquisition, Pose et Raccordement de pompes de récupération des eaux grises, noires et fond de cale.	
Lieu Luogo	Port de plaisance Charles Ornano - Ajaccio
Durée de l'opération Durata dell'azione	Janvier 2020 à Octobre 2020
Description de l'action Descrizione dell'azione	Les pompes de récupération des eaux grises, noires et fond de cales seront installées au niveau de la station d'avitaillement du port Charles Ornano. Service gratuit. Cette sensibilisation environnementale sera effective pour l'ensemble des propriétaires de bateaux, avec une plus value en gain de temps (possibilité d'avitaillement et de pomper en même temps). Les eaux grises et noires seront évacuées vers les réseaux de la commune. Les eaux hydrocarburées seront traitées par un prestataire externe. Le but étant d'éliminer tous rejets des eaux grises, noires et fond de cales dans le milieu naturel. Les indicateurs quantitatifs feront l'objet d'analyses statistiques tous les deux mois en période hivernale et tous les mois en période estivale en collaboration avec les services de la Direction Départementale des Territoires et de la Mer (Cellule POLMAR)
Coût de l'opération Costo dell'azione	38 160,50€ ht



La cooperazione al cuore del Mediterraneo
La coopération au coeur de la Méditerranée







MEMOIRE TRANSFRONTALIER DES ACTIONS PILOTES

RICORDO TRANSFRONTALIERO DELLE AZIONI PILOTA



REGIONE AUTONOMA DE SARDIGNA
REGIONE AUTONOMA DELLA SARDEGNA

La cooperazione al cuore del Mediterraneo
La coopération au coeur de la Méditerranée

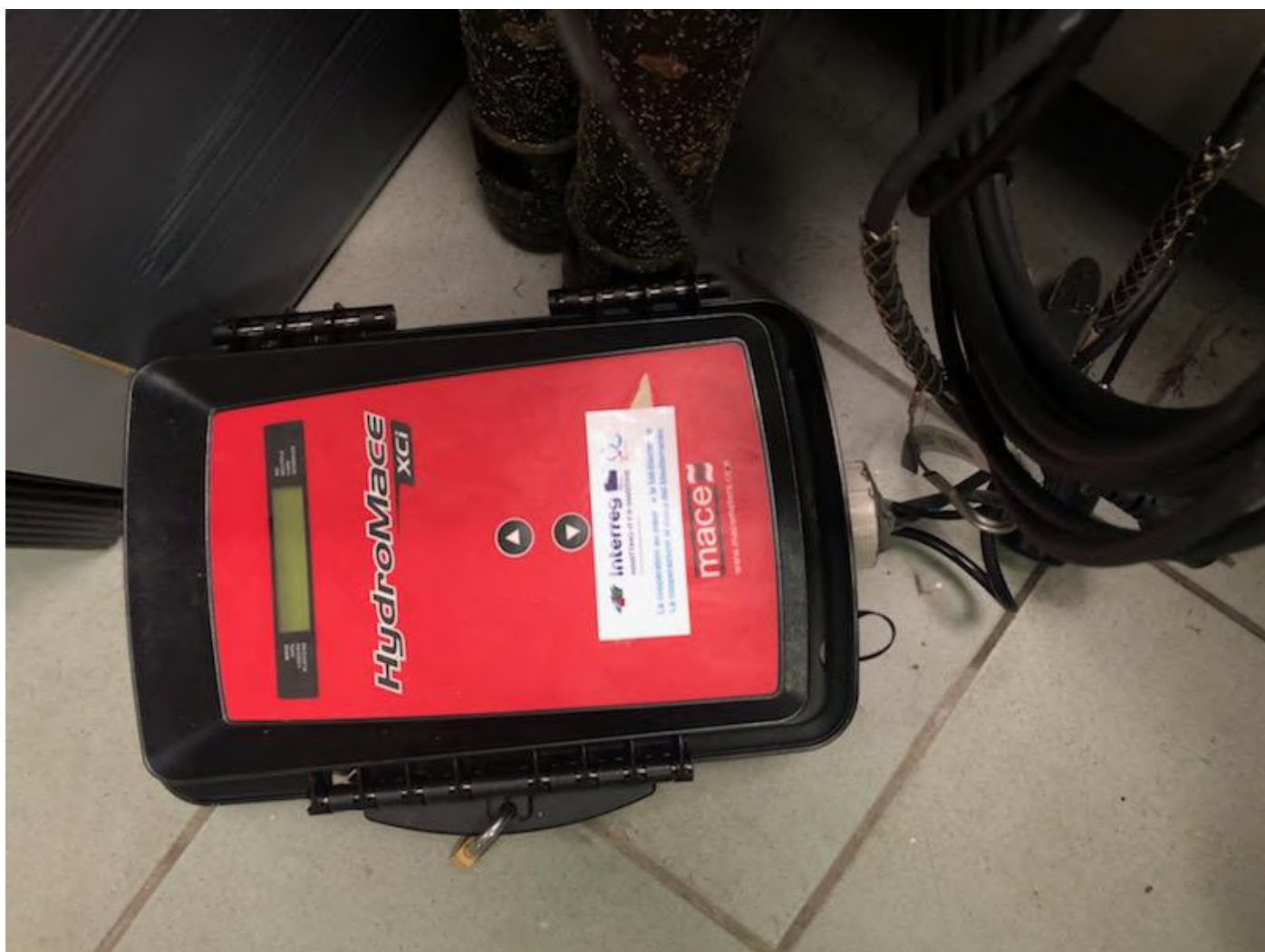


Acquisition de Matériels innovants : Capteurs d'Analyse et d'Alerte de pollutions maritimes portuaires

	Acquisition de Matériels innovants : Capteurs d'Analyse et d'Alerte de pollutions maritimes portuaires
Lieu Luogo	Port de plaisance Charles Ornano - Ajaccio
Durée de l'opération Durata dell'azione	Mars 2019 à mars 2021
Description de l'action Descrizione dell'azione	Acquisition et installation sur plan d'eau du port Charles Ornano, de capteurs de pollutions maritimes afin de : - Analyser la qualité des eaux du port - Déclencher des alertes pollutions aux hydrocarbures via une application mobile, pour permettre aux agents du port d'intervenir rapidement, les confiner et les traiter. L'objectif est de sensibiliser les usagers à travers l'application mobile, pour accéder en direct aux informations liées à la qualité environnementale des eaux du bassin portuaire. Ce travail se fait en collaboration avec le centre de recherche universitaire de Corse et la cellule POLMAR (DDTM), afin d'analyser mensuellement les retours d'informations sur la qualité des eaux portuaires.
Coût de l'opération Costo dell'azione	85 000€ ht



La cooperazione al cuore del Mediterraneo
La coopération au coeur de la Méditerranée





MEMOIRE TRANSFRONTALIER DES ACTIONS PILOTES

RICORDO TRANSFRONTALIERO DELLE AZIONI PILOTA



REGIONE AUTONOMA DE SARDIGNA
REGIONE AUTONOMA DELLA SARDEGNA

La cooperazione al cuore del Mediterraneo
La coopération au coeur de la Méditerranée



Acquisition d'un système innovant de gestion des flux de bateaux et des pontons dans l'enceinte portuaire.

	Acquisition d'un système innovant de gestion des flux de bateaux et des pontons dans l'enceinte portuaire.
Lieu Luogo	Port de plaisance Charles Ornano - Ajaccio
Durée de l'opération Durata dell'azione	Juin 2020 à Décembre 2020
Description de l'action Descrizione dell'azione	<i>Ce système innovant de supervision portuaire, permettra à la capitainerie du port de suivre son plan d'eau en ayant connaissance de la présence ou non des navires résidents sur les emplacements de stationnement.</i> <i>Télé relève instantanément le nombre de mouvements de navires en contrat annuel ou en passages dans l'enceinte portuaire.</i> <i>Lors d'une sortie du port d'un plaisancier utilisant l'application, la capitainerie a la faculté de demander au plaisancier de communiquer sa date de retour prévue.</i> <i>Lors d'une demande d'escale, le module « Escales » permet d'identifier les places disponibles en fonction de la catégorie du navire après avoir saisi les dimensions, le type de bateau et les dates d'escale souhaitées.</i> <i>Le module « Plaisanciers » permet à la Capitainerie de consulter la liste des résidents et d'être informé en temps réel des déclarations d'absence des plaisanciers et des dates de retour prévues, ainsi que de comptabiliser le nombre de nuits d'absence déclarée qui auront pu être relouées.</i> <i>Le module « Notifications » permet d'adresser des communications aux plaisanciers.</i>
Coût de l'opération Costo dell'azione	50 955 € ht



MEMOIRE TRANSFRONTALIER DES ACTIONS PILOTES

RICORDO TRANSFRONTALIERO DELLE AZIONI PILOTA



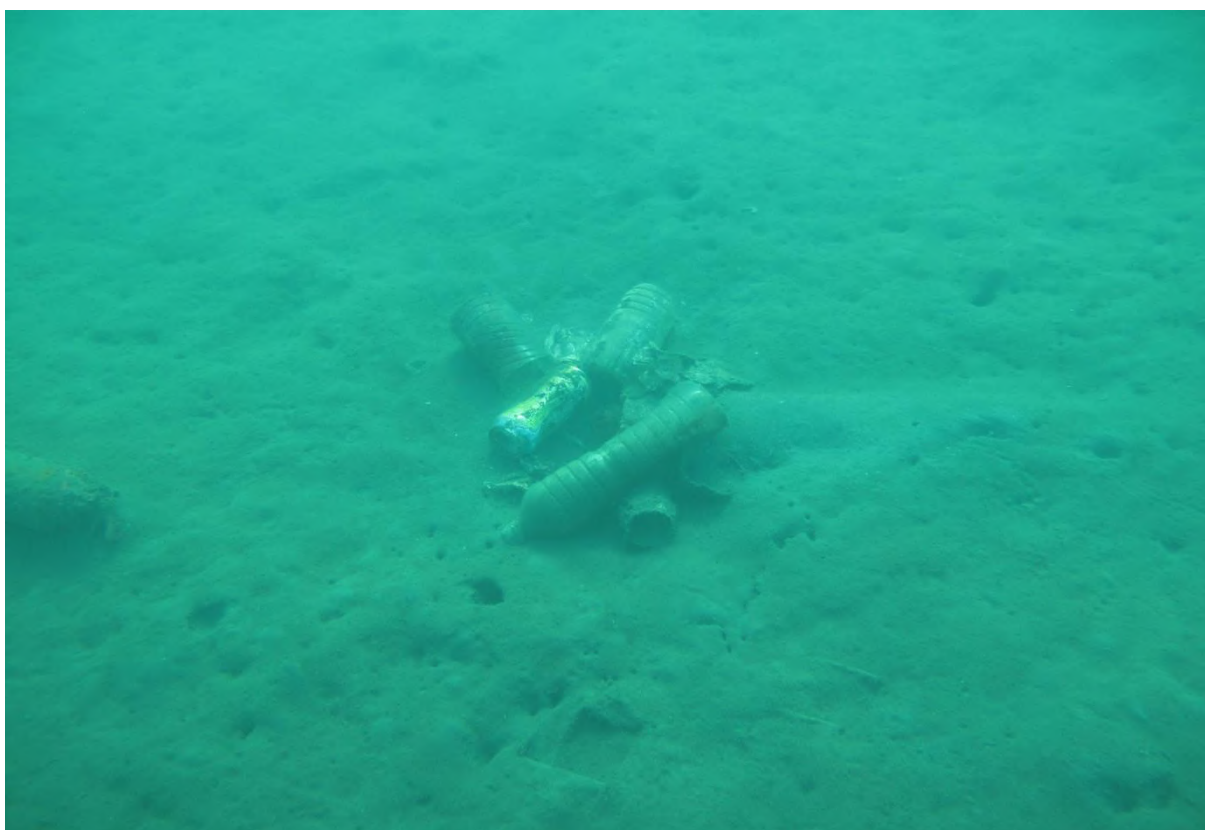
REGIONE AUTONOMA DE SARDIGNA
REGIONE AUTONOMA DELLA SARDEGNA

La cooperazione al cuore del Mediterraneo
La coopération au coeur de la Méditerranée



Disinquinamento dei fondali marini entro il limite amministrativo della Marina Carlo Ornano

<i>Disinquinamento dei fondali entro il limite amministrativo della Marina Carlo Ornano</i>	
Lieu Luogo	Port de plaisance Charles Ornano - Ajaccio
Durée de l'opération Durata dell'azione	Da giugno 2020 a dicembre 2020
Description de l'action Descrizione dell'azione	Le squadre subacquee dovranno ripulire e trattare tutti i macro rifiuti, oggetti ingombranti e relitti depositati sul fondo del mare nel recinto di Porto Carlo Ornano. I risultati qualitativi e quantitativi ottenuti saranno oggetto di un'analisi postoperatoria con tutti i partner ambientali interessati. Al termine dell'operazione il fornitore di servizi titolare del contratto di bonifica dovrà inviare un report fotografico e / o video.
Coût de l'opération Costo dell'azione	114 191,94€ ttc







MEMOIRE TRANSFRONTALIER DES ACTIONS PILOTES

RICORDO TRANSFRONTALIERO DELLE AZIONI PILOTA



REGIONE AUTÒNOMA DE SARDIGNA
REGIONE AUTONOMA DELLA SARDEGNA

La cooperazione al cuore del Mediterraneo
La coopération au coeur de la Méditerranée



Diagnosi preliminare al disinquinamento sottomarino dello specchio d'acqua di Charles Ornano Marina

Diagnosi preliminare al disinquinamento sottomarino dello specchio d'acqua di Charles Ornano Marina	
Lieu Luogo	<i>Port de plaisance Charles Ornano - Ajaccio</i>
Durée de l'opération Durata dell'azione	<i>Da marzo 2019 a settembre 2019</i>
Description de l'action Descrizione dell'azione	Un team di sommozzatori analizzerà i fondali entro il limite amministrativo della Marina Charles Ornano al fine di identificare e localizzare tutti i rifiuti sottomarini da rimuovere e trattare, nell'area portuale tramite un report scritto e fotografico. L'area di studio si estende su una superficie di circa 21 ha. A causa delle dimensioni dell'area e delle profondità, l'analisi si è concentrata sulle aree dense di barche, che corrispondono a tutta la parte interna del porto e la parte esterna del porto. Pur rimanendo entro il limite della porta amministrativa. • L'area interna con una concentrazione di macro rifiuti lungo le banchine, la diga dove il passaggio è importante (vicinanza al pubblico) con rifiuti ben mirati: sedia, base ombrellone, bicicletta, pattumiera, bottiglia, pneumatico. Ci sono anche batterie più lontane sotto le barche. Attraverso i danni provocati dalle varie mareggiate, troviamo i detriti delle barche, relitti nelle zone più esposte. • La zona del porto esterno è inquinata dalla proliferazione di anni di ancoraggi disorganizzati con detriti e relitti. Stima • Zona interna Pulizia del sito interno, 10 giorni • Area del porto anteriore Bonifica dell'intero sito esterno, corpi e relitti, 45 giorni
Coût de l'opération Costo dell'azione	6 890€ ht



MEMOIRE TRANSFRONTALIER DES ACTIONS PILOTES

RICORDO TRANSFRONTALIERO DELLE AZIONI PILOTA



REGIONE AUTONOMA DE SARDIGNA
REGIONE AUTONOMA DELLA SARDEGNA

La cooperazione al cuore del Mediterraneo
La coopération au coeur de la Méditerranée



ACQUISIZIONE Attrezzature per il controllo dell'inquinamento

Acquisizione di vari materiali per lo stoccaggio, la gestione e la protezione dei porti.

ACQUISIZIONE Attrezzature per il controllo dell'inquinamento Granulo minerale assorbente, farina fossile calcinata a grani fini Tampone piano assorbente idrocarburi.

Rotolo assorbente idrocarburi 40X40 Kit di intervento per idrocarburi, capacità 800 litri Scatola batteria usata

Lieu
Luogo

Port de plaisance Charles Ornano - Ajaccio

Durée de
l'opération
Durata
dell'azione

Da agosto 2019 a ottobre 2019

Description de l'action Descrizione dell'azione	L'acquisizione di tutte le attrezzature relative al trattamento dell'inquinamento consentirà ai responsabili tecnici e ambientali della marina Charles Ornano di intervenire con rapidità ed efficacia sull'inquinamento provocato da idrocarburi e altri oli marittimi e terrestri. Così come la gestione e il trattamento dei tipi di rifiuti: batterie e filtri dell'olio L'acquisizione di attrezzature relative al trattamento dell'inquinamento consentirà agli agenti portuali di intervenire in modo rapido ed efficace su tutto l'inquinamento marittimo e terrestre entro il limite amministrativo portuale al fine di confinare e curare le aree da bonificare. Da ottobre 2019 sono stati effettuati 3 interventi a terra con rulli assorbitori di idrocarburi e granuli di farina fossile. I box batterie hanno permesso di recuperare e trattare circa 200 batterie usate e circa 280 filtri olio, da ottobre 2019
Coût de l'opération Costo dell'azione	11 193,40€ ht





La cooperazione al cuore del Mediterraneo
La coopération au coeur de la Méditerranée



La cooperazione al cuore del Mediterraneo
La coopération au coeur de la Méditerranée



MEMOIRE TRANSFRONTALIER DES ACTIONS PILOTES

RICORDO TRANSFRONTALIERO DELLE AZIONI PILOTA



REGIONE AUTÒNOMA DE SARDIGNA
REGIONE AUTONOMA DELLA SARDEGNA

La cooperazione al cuore del Mediterraneo
La coopération au coeur de la Méditerranée



Vivai - Port de Plaisance Charles Ornano

	Acquisizione di habitat artificiali (vivai), per aiutare a mantenere la biodiversità dell'ecosistema acquatico.
Luogo	Marina Charles Ornano - Ajaccio
Durata dell'azione	Da febbraio 2021 a marzo 2021
Descrizione dell'azione	<i>Si tratta di riabilitare la funzione ecologica di vivaio dei piccoli fondali rocciosi e sabbiosi degradati dalla realizzazione di impianti portuali, nonché di sensibilizzare tutto il pubblico sulla biodiversità marina attraverso i mezzi di comunicazione.</i> <i>L'obiettivo è anche quello di coinvolgere i cittadini attraverso azioni concrete di scienza partecipata ponendo il porto al centro del territorio con, in particolare, la formazione durante giornate a tema, nonché visite alle strutture.</i> <i>Più precisamente, il processo mira a ripristinare il servizio vivaistico ecosistemico, proteggendo dalla predazione le post-larve e le giovani reclute, consentendo loro di raggiungere la "dimensione del rifugio" per contribuire efficacemente all'aumento delle popolazioni adulte.</i> <i>L'habitat del porto artificiale è un progetto che fornisce habitat e cibo per le giovani larve e le reclute di pesci che entrano nei porti.</i> <i>Si tratta di un processo semplice, costituito da una gabbia d'acciaio riempita di materiale riciclato, associata ad un'altra gabbia, svuotare questa, che protegge le larve e le giovani reclute quando, attaccate dai predatori, cercano di avvicinarsi naturalmente all'habitat.</i>
Costo dell'azione	2 658,96 € TTC







MEMOIRE TRANSFRONTALIER DES ACTIONS PILOTES

RICORDO TRANSFRONTALIERO DELLE AZIONI PILOTA



REGIONE AUTONOMA DE SARDIGNA
REGIONE AUTONOMA DELLA SARDEGNA

La cooperazione al cuore del Mediterraneo
La coopération au coeur de la Méditerranée

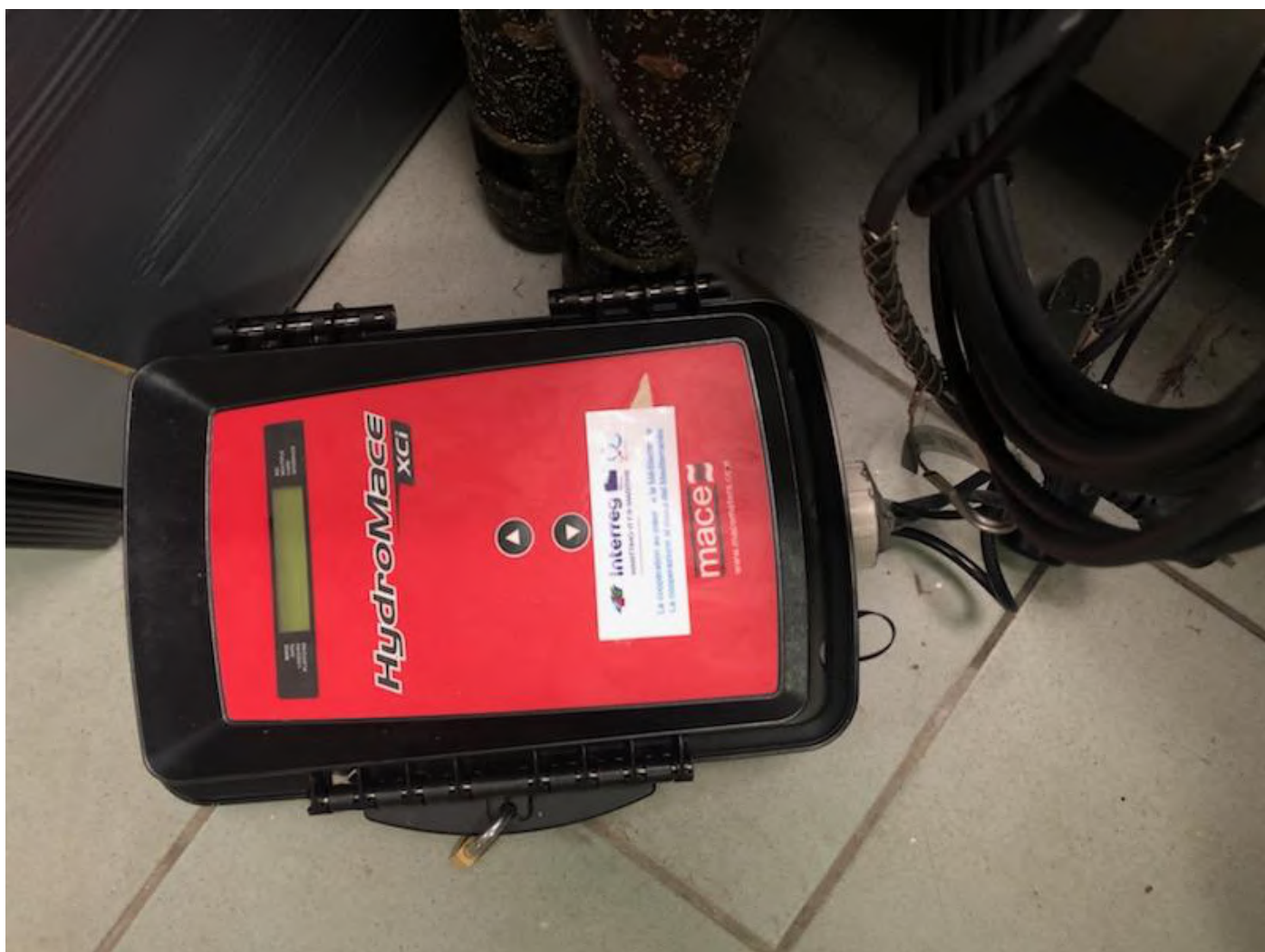


Acquisizione di apparecchiature innovative: analisi e sensori di allarme di inquinamento nei porti marittimi

	Acquisizione di apparecchiature innovative: analisi e sensori di allarme di inquinamento marittimo portuale
Lieu Luogo	<i>Port de plaisance Charles Ornano - Ajaccio</i>
Durée de l'opération Durata dell'azione	Da marzo 2019 a marzo 2021
Description de l'action Descrizione dell'azione	Acquisizione e installazione a livello dell'acqua del porto Charles Ornano, di sensori di inquinamento marino al fine di: - Analizza la qualità dell'acqua del porto - Attivare allarmi di inquinamento da idrocarburi tramite un'applicazione mobile, per consentire agli agenti portuali di intervenire rapidamente, contenerli e trattarli. L'obiettivo è educare gli utenti attraverso l'applicazione mobile, ad avere accesso diretto alle informazioni relative alla qualità ambientale delle acque del bacino portuale. <i>Questo lavoro viene svolto in collaborazione con il centro di ricerca universitario della Corsica e l'unità POLMAR (DDTM), al fine di analizzare il feedback mensile sulla qualità dell'acqua portuale.</i>
Coût de l'opération Costo dell'azione	85 000€ ht



La cooperazione al cuore del Mediterraneo
La coopération au coeur de la Méditerranée





MEMOIRE TRANSFRONTALIER DES ACTIONS PILOTES

RICORDO TRANSFRONTALIERO DELLE AZIONI PILOTA



REGIONE AUTONOMA DE SARDIGNA
REGIONE AUTONOMA DELLA SARDEGNA

La cooperazione al cuore del Mediterraneo
La coopération au coeur de la Méditerranée



Acquisizione di un sistema innovativo per la gestione del flusso di imbarcazioni e pontoni in area portuale.

	Acquisizione di un sistema innovativo per la gestione del flusso di imbarcazioni e pontili nell'area portuale
Lieu Luogo	<i>Port de plaisance Charles Ornano - Ajaccio</i>
Durée de l'opération Durata dell'azione	<i>Da giugno 2020 a dicembre 2020</i>
Description de l'action Descrizione dell'azione	Questo innovativo sistema di supervisione portuale consentirà alla Capitaneria di Porto di monitorare il proprio specchio d'acqua pur essendo consapevole della presenza o meno di imbarcazioni residenti nei parcheggi. Télé registra istantaneamente il numero di movimenti di navi con contratto annuale o in passaggi all'interno del porto. Quando un diportista esce dal porto utilizzando l'applicazione, la Capitaneria di porto ha la possibilità di chiedere al diportista di comunicare la data prevista per il rientro. Quando si richiede uno scalo, il modulo "Scali" permette di identificare i posti disponibili in base alla categoria della nave dopo aver inserito le dimensioni, il tipo di imbarcazione e le date di scalo desiderate. Il modulo "Diportisti" consente alla Capitaneria di Porto di consultare l'elenco dei residenti e di essere informato in tempo reale delle dichiarazioni di assenza dei diportisti e delle date previste di rientro, nonché di conteggiare il numero di notti di assenza dichiarate che avrebbe potuto essere nuovamente affittato. Il modulo "Notifiche" viene utilizzato per inviare comunicazioni ai diportisti
Coût de l'opération Costo dell'azione	50 955 € ht



MEMOIRE TRANSFRONTALIER DES ACTIONS PILOTES

RICORDO TRANSFRONTALIERO DELLE AZIONI PILOTA



REGIONE AUTONOMA DE SARDIGNA
REGIONE AUTONOMA DELLA SARDEGNA

La cooperazione al cuore del Mediterraneo
La coopération au coeur de la Méditerranée



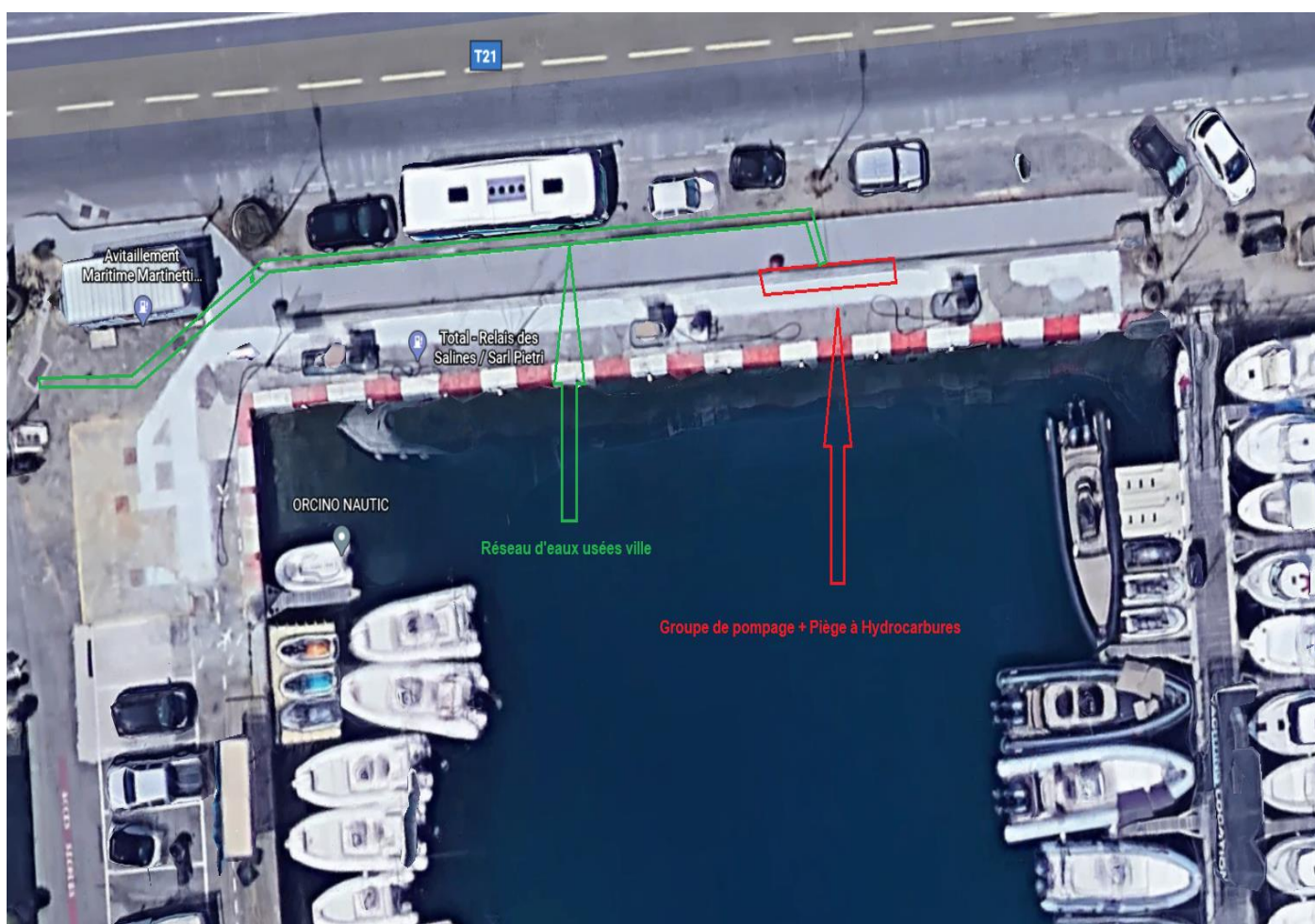
Acquisizione, installazione e collegamento di pompe di recupero acque grigie, nere e di sentina.

Acquisizione, installazione e collegamento di pompe di recupero acque grigie, nere e di sentina	
Lieu Luogo	Port de plaisance Charles Ornano - Ajaccio
Durée de l'opération Durata dell'azione	Da gennaio 2020 a ottobre 2020
Description de l'action Descrizione dell'azione	Le pompe per il recupero delle acque grigie, nere e di sentina saranno installate presso la stazione di rifornimento nel porto di Charles Ornano. Servizio gratuito. Questa consapevolezza ambientale sarà efficace per tutti i proprietari di barche, con un valore aggiunto nel risparmio di tempo (possibilità di rifornimento e pompaggio allo stesso tempo). emps (possibilità di rifornimento e pompaggio allo stesso tempo). Le acque grigie e nere saranno evacuate alle reti comunali. L'acqua idrocarburica sarà trattata da un fornitore di servizi esterno. L'obiettivo è eliminare tutti gli scarichi di acque grigie, nere e di sentina nell'ambiente naturale. Gli indicatori quantitativi saranno oggetto di analisi statistiche bimestrali nel periodo invernale e mensili nel periodo estivo in collaborazione con i servizi della Direzione Dipartimentale Territori e Mare (Unità POLMAR)
Coût de l'opération Costo dell'azione	38 160,50€ ht



La cooperazione al cuore del Mediterraneo
La coopération au coeur de la Méditerranée







MEMOIRE TRANSFRONTALIER DES ACTIONS PILOTES

RICORDO TRANSFRONTALIERO DELLE AZIONI PILOTA



REGIONE AUTONOMA DE SARDIGNA
REGIONE AUTONOMA DELLA SARDEGNA

La cooperazione al cuore del Mediterraneo
La coopération au coeur de la Méditerranée



ACQUISIZIONE Protezioni per container rifiuti domestici, plastica e cartone marrone

Acquisizione di vari materiali per lo stoccaggio, la gestione e la protezione dei porti:

Acquisizione di rifiuti domestici, protezione contenitori in plastica e cartone marrone

Lieu Luogo	<i>Port de plaisance Charles Ornano - Ajaccio</i>
Durée de l'opération Durata dell'azione	Da agosto 2019 a novembre 2019
Description de l'action Descrizione dell'azione	Acquisizione e installazione di 2 protezioni contenitori in OM, per raccolta rifiuti e cernita selettiva. L'installazione delle pensiline per container ha consentito l'integrazione armoniosa dei punti di scarico OM e lo smistamento selettivo nell'area portuale. Lo scarico di rifiuti a terra è completamente scomparso. L'individuazione di questi punti di riconsegna ha inoltre consentito di aumentare lo smistamento selettivo al porto di circa il 30%.
Coût de l'opération Costo dell'azione	20 900€ ht



La cooperazione al cuore del Mediterraneo
La coopération au coeur de la Méditerranée





MEMOIRE TRANSFRONTALIER DES ACTIONS PILOTES

RICORDO TRANSFRONTALIERO DELLE AZIONI PILOTA



REGIONE AUTÒNOMA DE SARDIGNA
REGIONE AUTONOMA DELLA SARDEGNA

La cooperazione al cuore del Mediterraneo
La coopération au coeur de la Méditerranée



ACQUISIZIONE ROBOT JELLYFISHBOT

	Acquisizione di vari materiali per lo stoccaggio, la gestione e la protezione dei porti: ROBOT DI ACQUISIZIONE Jellyfishbot
Lieu Luogo	<i>Port de plaisance Charles Ornano - Ajaccio</i>
Durée de l'opération Durata dell'azione	Da giugno 2019 a settembre 2019
Description de l'action Descrizione dell'azione	Il Jellyfishbot è un piccolo robot di superficie alimentato elettricamente in grado di raccogliere diversi tipi di inquinamento dalla superficie dell'acqua. Tipo catamarano, il robot raccoglie i rifiuti galleggianti e gli idrocarburi in una rete rimovibile trainata dietro il robot. Quando si sposta il robot in avanti, i rifiuti / idrocarburi passano tra i suoi due galleggianti e vengono raccolti dalla rete. Un radiocomando consente di controllare il robot a distanza. L'utilizzo del robot Jellyfishbot può raccogliere quantitativamente da 20kg a 80kg di rifiuti galleggianti sull'acqua del porto turistico Charles Ornano. La frequenza di utilizzo è di 3 volte a settimana e anche di più se necessario. Il suo utilizzo, in termini di sensibilizzazione alle buone pratiche, ha un impatto diretto sugli utenti del porto oltre che sugli escursionisti. Ad ogni utilizzo, infatti, il tecnico portuale dialoga con gli osservatori sull'efficacia e l'utilità dell'azione di conservazione ambientale del robot nel porto.
Coût de l'opération Costo dell'azione	24 990€ ht



La cooperazione al cuore del Mediterraneo

La coopération au coeur de la Méditerranée



Progetto finanziato dal Programma di Cooperazione Transfrontaliera Italia-Francia Marittima 2014-2020
Projet financé par le Programme de Coopération Transfrontalière Italie-France Maritime 2014-2020





MEMOIRE TRANSFRONTALIER DES ACTIONS PILOTES

RICORDO TRANSFRONTALIERO DELLE AZIONI PILOTA



REGIONE AUTONOMA DE SARDIGNA
REGIONE AUTONOMA DELLA SARDEGNA

La cooperazione al cuore del Mediterraneo
La coopération au coeur de la Méditerranée



Acquisizione e installazione di una pompa di sollevamento - Area carenatura

	Acquisizione e installazione di una pompa di sollevamento - Area carenatura
Lieu Luogo	<i>Port de plaisance Charles Ornano - Ajaccio</i>
Durée de l'opération Durata dell'azione	Maggio 2020 e giugno 2020
Description de l'action Descrizione dell'azione	La pompa di sollevamento consentirà di respingere l'acqua di lavaggio dalle imbarcazioni ed i residui di idrocarburi dalla zona di carenatura ad una stazione di filtrazione e trattamento.
Coût de l'opération Costo dell'azione	6 988€ ht



MEMOIRE TRANSFRONTALIER DES ACTIONS PILOTES

RICORDO TRANSFRONTALIERO DELLE AZIONI PILOTA



REGIONE AUTONOMA DE SARDIGNA
REGIONE AUTONOMA DELLA SARDEGNA

La cooperazione al cuore del Mediterraneo
La coopération au coeur de la Méditerranée



Acquisition et Installation d'une Pompe de relevage- Zone de Carénage

	Acquisition et Installation d'une Pompe de relevage- Zone de Carénage
Lieu Luogo	<i>Port de plaisance Charles Ornano - Ajaccio</i>
Durée de l'opération Durata dell'azione	<i>Mai 2020 et Juin 2020</i>
Description de l'action Descrizione dell'azione	<i>La pompe de relevage va permettre de Refouler les eaux de lavage des bateaux et les résidus hydrocarbonés de la zone de carénage vers une station de filtration et de traitement.</i>
Coût de l'opération Costo dell'azione	6 988€ ht



MEMOIRE TRANSFRONTALIER DES ACTIONS PILOTES

RICORDO TRANSFRONTALIERO DELLE AZIONI PILOTA



REGIONE AUTONOMA DE SARDIGNA
REGIONE AUTONOMA DELLA SARDEGNA

La cooperazione al cuore del Mediterraneo
La coopération au coeur de la Méditerranée



ACQUISITION Protèges conteneurs déchets ménagers, plastiques et cartons bruns

	<i>Acquisition de divers matériels pour le stockage des déchets, leur gestion et la protection du port :</i> <i>Acquisition protèges conteneurs déchets ménagers, plastiques et cartons bruns</i>
Lieu Luogo	<i>Port de plaisance Charles Ornano - Ajaccio</i>
Durée de l'opération Durata dell'azione	<i>Août 2019 à Novembre 2019</i>
Description de l'action Descrizione dell'azione	<i>Acquisition et installation de 2 protèges containers à OM, pour la collecte des déchets et le tri sélectif.</i> <i>L'installation des abris containers a permis l'intégration harmonieuse des points de dépose des OM et du tri sélectif dans l'enceinte portuaire.</i> <i>Le déversement des déchets au sol à complètement disparu.</i> <i>L'identification de ces points de dépose, a aussi permis d'augmenter d'environ 30% le tri sélectif sur le port.</i>
Coût de l'opération Costo dell'azione	20 900€ ht



La cooperazione al cuore del Mediterraneo
La coopération au coeur de la Méditerranée





MEMOIRE TRANSFRONTALIER DES ACTIONS PILOTES

RICORDO TRANSFRONTALIERO DELLE AZIONI PILOTA



REGIONE AUTÒNOMA DE SARDIGNA
REGIONE AUTONOMA DELLA SARDEGNA

La cooperazione al cuore del Mediterraneo
La coopération au coeur de la Méditerranée



ACQUISITION ROBOT JELLYFISHBOT

Acquisition de divers matériels pour le stockage des déchets, leur gestion et la protection du port :

ACQUISITION ROBOT Jellyfishbot

Lieu Luogo	Port de plaisance Charles Ornano - Ajaccio
Durée de l'opération Durata dell'azione	Juin 2019 à Septembre 2019
Description de l'action Descrizione dell'azione	Le Jellyfishbot est un petit robot de surface à propulsion électrique capable de collecter différents types de pollution à la surface de l'eau. De type catamaran, le robot récupère les déchets flottants et les hydrocarbures dans un filet amovible tracté à l'arrière du robot. Lors du déplacement du robot en marche avant, les déchets/hydrocarbures passent entre ses deux flotteurs et sont collectés par le filet. Une radiocommande permet de contrôler le robot à distance. L'utilisation du robot Jellyfishbot permet quantitativement de récolter de 20kg à 80kg de déchets flottant sur le plan d'eau du port de plaisance Charles Ornano. La fréquence d'utilisation est de 3 fois par semaine et plus si nécessaire. Son utilisation, en terme de sensibilisation des gestes de bonne pratique, à un impact direct sur les usagers du port ainsi que sur les promeneurs. En effet, à chaque utilisation, le technicien portuaire échange avec les observateurs sur l'efficacité et l'utilité de l'action de préservation environnementale du robot dans le port.
Coût de l'opération Costo dell'azione	24 990€ ht



La cooperazione al cuore del Mediterraneo

La coopération au coeur de la Méditerranée



Progetto finanziato dal Programma di Cooperazione Transfrontaliera Italia-Francia Marittima 2014-2020
Projet financé par le Programme de Coopération Transfrontalière Italie-France Maritime 2014-2020





MEMOIRE TRANSFRONTALIER DES ACTIONS PILOTES

RICORDO TRANSFRONTALIERO DELLE AZIONI PILOTA



REGIONE AUTONOMA DE SARDIGNA
REGIONE AUTONOMA DELLA SARDEGNA

La cooperazione al cuore del Mediterraneo
La coopération au coeur de la Méditerranée

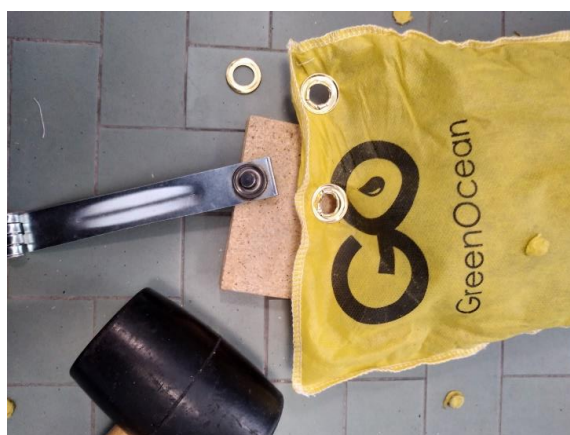


Action Pilote au port touristique de Cavo (Municipalité de Rio - Île d'Elbe) visant à expérimenter une activité de Mycoremédiation pour améliorer la qualité des eaux portuaires

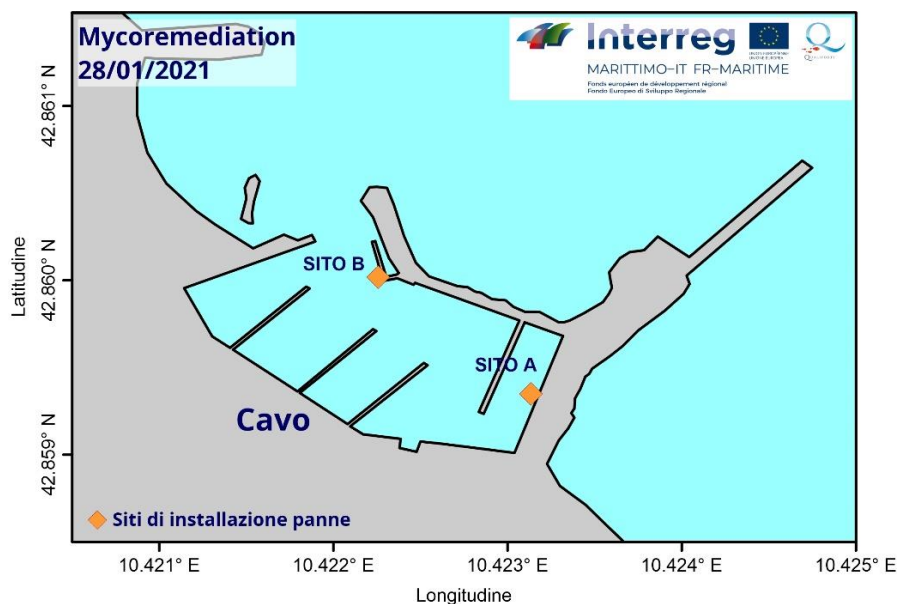
Azione Pilota presso il porto turistico di Cavo (Comune di Rio - Isola d'Elba) finalizzata a sperimentare un'attività di Mycoremediation per il miglioramento della qualità delle acque portuali

	Détails / Dettagli
Lieu Luogo	Port de Cavo (Municipalité de Rio, Île d'Elbe) Porto di Cavo (Comune di Rio, Isola d'Elba)
Durée de l'opération Durata dell'azione	de / dal 14/01/2021 à / al 31/08/2021
Description de l'action Descrizione dell'azione	Dans le cadre de QUALIPORTI, l'Université de Gênes a réalisé une "installation pilote" pour la décontamination <i>in situ</i> des eaux portuaires des métaux toxiques (lourds) dans le port touristique de Cavo, et pour effectuer des tests de décontamination <i>ex situ</i> des eaux portuaires même de la pollution substances organiques (hydrocarbures totaux, IPA, BTEX). Ces activités ont été réalisées en construisant des outils de confinement <i>ad hoc</i> pour les contaminants : des barrages absorbantes ont été réalisées à partir de matière végétale additionnée de micromycètes. Les résultats ont montré comment les barrages, positionnées en deux points distincts du Port, agissent comme des accumulateurs de métaux lourds qui sont ainsi retirés de l'environnement, contribuant à maintenir la propreté de l'eau à l'intérieur du Port. Parallèlement, la turbidité de l'eau a été vérifiée tous les quinze jours. Dans ce cas également, le suivi a montré de faibles valeurs de matières en suspension, avec une augmentation de la quantité au fur et à mesure que la saison avance vers la période touristique estivale. Nell'ambito di QUALIPORTI l'Università di Genova si è occupata di realizzare un impianto pilota di decontaminazione <i>in situ</i>

	delle acque portuali da metalli tossici (pesanti) nel Porto turistico di Cavo, e di condurre saggi di decontaminazione <i>ex situ</i> delle acque portuali stesse da sostanze organiche inquinanti (idrocarburi totali, IPA, BTEX). Queste attività sono state svolte costruendo strumenti di contenimento dei contaminanti <i>ad hoc</i>: sono state realizzate panne assorbenti costituite da materiale vegetale addizionato con microfunghi. I risultati hanno dimostrato come le panne, posizionate in due punti distinti del Porto, agiscano da accumulatori di metalli pesanti che vengono così sottratti all'ambiente, contribuendo a mantenere pulita l'acqua interna la Porto. Contestualmente è stata verificata con cadenza quindicinale la torbidità dell'acqua. Anche in questo caso il monitoraggio ha evidenziato bassi valori di materiale sospeso, con un incremento della quantità col progredire della stagione verso il periodo turistico estivo
Coût de l'opération (présumé) Costo dell'azione (presunto)	€ 88.403,48#



Préparation des barrages absorbants en laboratoire.
 Preparazione delle panne assorbenti in laboratorio



Carte des sites d'installation des barrages.
 Mappa dei siti di installazione delle panne.



Site A
Sito A



Site B
Sito B



Prélèvement de sous-échantillons pour les analyses chimiques et Contenu d'un barrage absorbant pendant le sous-échantillonnage.

Prelievo sub-campioni per le analisi chimiche e Contenuto di una panna durante il sub-campionamento



Activité de surveillance hivernale (février)
 Attività di monitoraggio invernale (febbraio) in corso



Activité de surveillance printanière (mai)
 Attività di monitoraggio primaverile (maggio)



Activité de surveillance estivale (juin-juillet)
 Attività di monitoraggio estivo (giugno-luglio)



Image sous-marine des barrages du site B.
 Immagine subacquea delle panne nel sito B.



Capitalisation des Projets Interreg Maritime : SINAPSI - QUALIPORTI - GEREMIA
Capitalizzazione dei Progetti Interreg Marittimo: SINAPSI - QUALIPORTI - GEREMIA



Affiche explicative du Projet QUALIPORTI positionnée sur le front de mer de Cavo
 Cartellone esplicativo del Progetto QUALIPORTI posizionato sul lungo-mare di Cavo

QUALIPORTI

Qualità delle Acque attraverso azioni di Limitazione e Identificazione degli inquinanti nei Porti e Organizzazione delle Risorse Transfrontaliere Innovative

Qualité des eaux par des Actions de Limitation et d'Identification des polluants dans les Ports et l'Organisation de Ressources Transfrontalières Innovantes



PORTO DI CAVO

ATTIVITA' PILOTA SVOLTE DALL'UNIVERSITA' DI GENOVA-DISTAV PER CONTO DELLA PROVINCIA DI LIVORNO, IN COLLABORAZIONE CON CAPITANERIA DI PORTO E CIRCOLO NAUTICO CAVO
ACTIVITÉS PILOTES MENÉES PAR L'UNIVERSITÉ DE GENÈS-DISTAV POUR LE COMPTE DE LA PROVINCE DE LIVOURNE EN COLLABORATION AVEC CAPITAINEURIE DU PORT ET CLUB NAUTIQUE CAVO

MONITORAGGIO DELLA QUALITÀ DELLE ACQUE PORTUALI
LE CONTRÔLE DE LA QUALITÉ DES EAUX PORTUAIRES



Attività a cadenza quindicinale
svolta nel periodo 02-05/2021
Activités bimensuelles réalisées
au cours de la période 02-05/2021

Partners del progetto:
Partenaires du projet:



BIORISANAMENTO DELLE ACQUE PORTUALI TRAMITE PIANE ASSORBENTI ENRICCHITE CON MICROFUNGHI
LA BIORÉMÉDIATION DES EAUX PORTUAIRES AU MOYEN DE BARRAGES ABSORBANTS ENRICHIS EN MICROMYCETES



Attività svolta nel
periodo 02-05/2021
Activités réalisées au cours
de la période 02-05/2021

Soggetto coinvolto nelle attività:
Entité participant aux activités:



Con la collaborazione di:
Avec la collaboration de:



La cooperazione al cuore del Mediterraneo
La coopération au coeur de la Méditerranée

Détail de l'affiche explicative positionnée à Cavo
Dettaglio del cartellone esplicativo posizionato a Cavo

La cooperazione al cuore del Mediterraneo
La coopération au coeur de la Méditerranée

UNIVERSITÀ DI GENOVA / Progetto Europeo del Programma Interreg Italia-Francia Marittimo 2014-20 per accrescere la protezione delle acque marine nei porti

QUALIPORTI, per la qualità delle acque portuali

Dal DISTAV un esempio di applicazioni di metodologie innovative naturali per ridurre la contaminazione ed eliminare le criticità

I porti commerciali sono spesso inseriti in un contesto urbano e quindi sono ambienti particolarmente impattati da fonti di inquinamento di diversa natura, sia di origine strettamente portuale sia derivante dai centri urbani a cui sono legati. È così che scarichi cittadini, foci di ri e di fiumi, scarichi di attività commerciali e industriali, acque di dilavamento delle strade e delle banchine coinvolgono tutti nelle acque dei bacini portuali. L'ambiente marino portuale diventa quindi collettore di inquinanti e, tramite le imboccature, possibile fonte di inquinamento per le acque marine esterne alle dighe foranee. Spesso nei porti commerciali si inseriscono anche i porticcioli turistici e le marine, parte integrante del sistema portuale. Ecco perché il progetto QUALIPORTI (Qualità dell'Acqua attraverso azioni di limitazione e identificazione degli inquinanti nei Porti e Organizzazione di Risorse Transfrontaliere Innovative), finanziato dal programma Interreg Italia-Francia Marittimo 2014-2020, si è impegnato, inizialmente, a studiare la morfologia e le attività dei porti coinvolti e analizzare le acque così da determinarne il grado di contaminazione, identificandone le principali fonti. Questa fase è stata asso-



Attività di monitoraggio dei parametri fisici nel Porto di Cavo

ciata all'individuazione delle buone pratiche esistenti per il monitoraggio e il trattamento delle acque portuali che ha permesso di definire strategie comuni ai partner di progetto per la creazione di una forma concertata di azione. Ciò ha permesso l'elaborazione di un piano d'azione congiunto per la riduzione e l'eliminazione delle acque di scarico. I Partner che fanno parte del progetto sono la Città di Ajaccio, in qualità di Capofila, la Provincia di Livorno, il Comune di Portoferraio, il Comune di Olbia, il Comune di Savona e la Regione autonoma della Sardegna. Il Progetto è inizia-

to ad aprile 2018 e terminerà a ottobre 2021, ed è stato finanziato per oltre 1,7 milioni di euro. "Ogni porto, o marina, coinvolto dal Progetto - spiega Irene Nicotra, responsabile di QUALIPORTI per la Provin-

cia di Livorno - ha realizzato un'azione pilota per il miglioramento della qualità delle acque portuali in rapporto con il piano d'azione congiunto creato dai Partner. Tra gli altri, il Porto di Cavo, nel Comune di Rio



Loghi del Programma Marittimo, del Progetto QUALIPORTI e dei Partner del Progetto



Le panne assorbenti posizionate nel porto di Cavo



La collaborazione tra progetti Marittimo

Il monitoraggio delle acque marine di Cavo

Il monitoraggio delle acque del Porto di Cavo - racconta Marco Capello, docente di Oceanografia fisica all'Università di Genova - è stato realizzato a cadenza quindicinale con l'impiego di una sonda multiparametrica dotata di diversi sensori per la misura di parametri che caratterizzano in generale le masse d'acqua, tra i quali temperatura, salinità, ossigeno disciolto, clorofilla-a, e cianobatteri, e parametri che sono invece più strettamente correlati alle attività umane e quindi agli impatti antropici come torbidità, rodanina e irradiazione. Le attività di monitoraggio nel Porto di Cavo si sono svolte grazie alla collaborazione del Circolo Nautico Cavo e dell'Ufficio Locale della Capitaneria di Porto. La prima campagna di monitoraggio è stata realizzata il 28 gennaio 2021 e le misure andranno avanti fino a luglio 2021. "La cadenza quindicinale delle misure, che si protrarranno fino a fine luglio - continua Marco Capello - permetterà di seguire l'evoluzione delle stagioni e l'eventuale aumento dell'impatto dovuto all'aumento del numero di persone che, con l'inizio dell'estate e della stagione balneare, frequenteranno l'Isola d'Elba e in particolare l'area di Cavo".

La mycoremediation delle acque di Cavo

La mycoremediation, o micorisanamento, sfrutta le capacità degradative e accumulative di specifici ceppi fungini, e rappresenta una nuova strategia economica, ecologica ed efficace per combattere il problema sempre crescente dell'inquinamento del suolo e delle acque. "Molte delle caratteristiche dei funghi - spiega Mirca Zotti, docente di Micologia all'Università di Genova - quali la capacità di crescere molto rapidamente, lo sviluppo di una fitta rete di cellule filiformi dette ife, la produzione di enzimi lignolitici extracellulari versatili, l'alto rapporto superficie-volume, la resistenza ai metalli pesanti, l'adattabilità a pH e temperatura fluttuanti e la presenza di proteine leganti i metalli, fanno dei funghi i candidati ideali per la bonifica di vari inquinanti. Numerose applicazioni e sperimentazioni dimostrano come i funghi possano degradare vari inquinanti recalcitranti, persistenti e dannosi come gli idrocarburi policiclici aromatici, i pesticidi, gli erbicidi, gli insetticidi, i detergenti e i farmaci". Nel Porto di Cavo sono state installate panne assorbenti riempite con sabbia e micro e macro funghi per la rimozione dei metalli presenti nelle acque portuali e la degradazione degli idrocarburi e dei solventi organici. "I primi risultati ottenuti dalle analisi chimiche - continua Mirca Zotti - hanno mostrato come il metodo sia efficace soprattutto sulla rimozione di metalli come il ferro e l'alluminio. Dobbiamo altresì evidenziare come le acque portuali di Cavo siano particolarmente poco contaminate: questo ci permette di apprezzare ancora di più l'attività portata avanti dai funghi che devono «lavorare» con quantità limitate di metalli pesanti e altri contaminanti".

Marina sull'Isola d'Elba, è stato così coinvolto sia in un'attività di monitoraggio delle acque sia in un'attività di risanamento delle acque. Per realizzare queste azioni, la Provincia di Livorno si è avvalsa dell'esperienza sul tema dei Riceratori del Dipartimento di Scienze della Terra, dell'Ambiente e della Vita (DISTAV) dell'Università di Genova. Il gruppo di lavoro di Genova, capitanato da Marco Capello, docente di Oceanografia Fisica, a partire da gennaio 2021 si è occupato di monitorare la qualità delle acque a cadenza quindicinale tramite l'impiego di una sonda multiparametrica e di trattare le acque portuali a mezzo di un sistema innovativo di panne assorbenti arricchite con micro e macro-funghi. "Le informazioni raccolte nel Porto di Cavo - prosegue Irene Nicotra - permetteranno di individuare eventuali criticità presenti nell'area e l'azione di trattamento delle acque, ora sviluppata e messa in opera a scala pilota, permetterà sia di migliorare lo

stato delle acque sia di mettere le basi per uno sviluppo futuro di azioni di risanamento a scala più estesa. L'azione di trattamento delle acque realizzata a Cavo deriva dall'esperienza e dalle buone pratiche ideate e messe in opera nell'ambito del Progetto Marittimo GEREMIA (Gestione dei Rifiuti per il Miglioramento delle Acque portuali) di cui l'Università di Genova è capofila. "Questa collaborazione tra i due progetti - spiega Marco Capello - nasce proprio grazie allo spirito di cooperazione promosso dal Programma Marittimo 2014-2020 che ha come slogan proprio «La cooperazione al cuore del Mediterraneo», e dalla condivisione di idee e azioni che continuamente avviene tra i soggetti coinvolti nei diversi progetti del Programma. È così che per esempio, in una giornata di azione condivisa, tre progetti Marittimo (QUALIPORTI, GEREMIA e SINAPSI) si sono dati appuntamento a Cavo per collaborare, condividere, capitalizzare e comunicare insieme".

Article paru dans Il Sole - 24 Ore, dans l'encart "Scenari - Programmi e Progetti" ("Scénarios - Programmes et Projets") du 28.06.2021

Articolo apparso su Il Sole - 24 Ore, nell'inserto "Scenari - Programmi e Progetti" del 28.06.2021

La cooperazione al cuore del Mediterraneo
La coopération au cœur de la Méditerranée

L'esperienza del Progetto QUALIPORTI nel risanamento delle acque portuali

Marco Capello¹, Irene Nicotra², Laura Califano², Grazia Cecchi¹, Riccardo Ciabatti²,
Laura Cutroneo¹, Irene Geneselli¹, Anna Reboa¹, Mirca Zotti¹

¹ DISTAV, Università degli Studi di Genova

² Provincia di Livorno, Servizio Sviluppo strategico, Pianificazione, T.P.L.



Evento Finale Progetto GEREMIA
Genova - Palazzo San Giorgio, 20 Luglio 2021

La cooperazione al cuore del Mediterraneo
La coopération au cœur de la Méditerranée

Présentation sur invitation faite lors de l'Événement Final du Projet Interreg Maritime GEREMIA, qui s'est tenu à Gênes le 20.06.2021

Presentazione ad invito effettuata all'Evento Finale del Progetto Interreg Marittimo GEREMIA, svoltosi a Genova il 20.06.2021



MEMOIRE TRANSFRONTALIER DES ACTIONS PILOTES

RICORDO TRANSFRONTALIERO DELLE AZIONI PILOTA



REGIONE AUTÒNOMA DE SARDIGNA
REGIONE AUTONOMA DELLA SARDEGNA

La cooperazione al cuore del Mediterraneo
La coopération au coeur de la Méditerranée



INSTALLATION DE SEABINS POUR LA COLLECTE DES DÉCHETS DANS LES EAUX DU GOLFE POSA IN OPERA DEI SEABIN PER LA RACCOLTA DEI RIFIUTI NELLE ACQUE DEL GOLFO

	Détails / Dettagli
Lieu Luogo	(Ville de Olbia, Sardaigne, Italie) (Città di Olbia, Regione Sardegna, Italia)
Durée de l'opération Durata dell'azione	de 09/09/2020 à 30/06/2021 dal 09/09/2020 al 30/06/2021
Description de l'action Descrizione dell'azione	L'action menée consiste à placer des poubelles de collecte des déchets appelées «Seabin» (littéralement «poubelle de la mer») dans des zones spécifiquement identifiées du golfe, destinées à servir de balayeur dans un environnement clos tel qu'un port où s'accumulent les déchets. Les "Seabins" travaillent 24 heures sur 24, sept jours sur sept, ils ont été immergés dans l'eau et fixés aux jetées ou quais avec le haut de l'appareil au niveau de la surface de l'eau; grâce à la position stratégique, au vent et aux courants, les débris sont transportés à l'intérieur de l'appareil, l'eau qui entre est filtrée et expulsée par une pompe électrique, tandis que les déchets restent à l'intérieur du conteneur, même les plus petites fibres. Pour le succès de l'action, il était nécessaire d'impliquer les marinas / débarquements / ports touristiques du golfe d'Olbia avec lesquels des accords spéciaux de libre utilisation ont été signés. L'action comprend la collecte bihebdomadaire et l'élimination des déchets provenant de la vidange des Seabin. A cette fin, des bacs à carellates et des enveloppes transparentes ont été livrés aux marines membres pour les déposer dans les mêmes déchets collectés par les Seabin. Les déchets ainsi collectés avant l'apport ont fait l'objet d'une vérification pour déterminer les types de fractions marchandologiques qui y sont consentis. Au total, 800

kg de déchets ont été collectés de septembre 2020 à juin 2021, dont environ 39 % de plastique, de papier et de verre.

L'action s'est achevée d'octobre 2020 à mai 2021, des analyses sur la qualité des eaux du golfe ont été effectuées avec des échantillonnages mensuels en trois points de prélèvement. Les résultats de cette activité sont enfermés, avec les analyses effectuées dans les autres ports partenaires du projet, dans le produit final « Résultats du suivi et de l'analyse transfrontaliers » relevant de la municipalité d'Olbia.

L'azione realizzata consiste nel posizionamento in aree del golfo specificatamente individuate dei cestini di raccolta dei rifiuti denominati "Seabin" (letteralmente "bidone del mare"), destinati a fungere da spazzino in un ambiente chiuso come un porto dove i rifiuti si accumulano. I "Seabin" lavorano 24 ore su 24, sette giorni su sette sono stati immersi in acqua e fissati ai pontili o alle banchine con la parte superiore del dispositivo al livello della superficie dell'acqua; grazie alla posizione strategica, al vento ed alle correnti, i detriti vengono convogliati all'interno del dispositivo, l'acqua che entra viene filtrata ed espulsa mediante una pompa elettrica, mentre i rifiuti restano all'interno del contenitore, anche le fibre più piccole. Per la buona riuscita dell'azione è stato necessario il coinvolgimento delle marine/approdi/porti turistici presenti nel Golfo di Olbia con i quali sono state sottoscritte apposite convenzioni di utilizzo gratuito.

Nell'azione è compresa la raccolta bisettimanale e il conferimento a smaltimento dei rifiuti provenienti dallo svuotamento dei Seabin. Per tale scopo sono stati consegnati alle marine aderenti appositi bidoni carellati e buste trasparenti per il deposito negli stessi dei rifiuti raccolti tramite i Seabin. I rifiuti così raccolti prima del conferimento sono stati oggetto di verifica per determinare le tipologie di frazione merceologiche contenute in essi. In totale si dal settembre 2020 al giugno 2021 si sono raccolti 800 Kg. di rifiuti, di cui circa il 39% costituito da plastica, carta e vetro.

A completamento dell'azione dall'ottobre 2020 al maggio 2021 si sono svolte analisi sulla qualità delle acque del golfo con campionamenti mensili in tre punti di prelievo. I risultati di tale attività sono racchiusi,

	unitamente alle analisi effettuate neigli altri porti partner di progetto, nel prodotto finale "Risultati del monitoraggio e dell'analisi transfrontaliera" di competenza del Comune di Olbia.
Coût de l'opération Costo dell'azione	(€ 114.342,10) (€ 114.342,10)



Lega Navale



Lega Navale



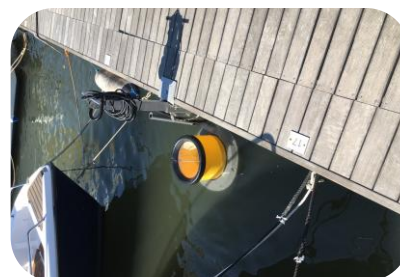
Circolo Nautico



Marina di Olbia



Marina di Olbia



Marina Sacra Famiglia



SEABIN



Bidoni raccolta specifica
da SEABIN



Cartello informativo
progetto



Cartello informativo
Circolo Nautico



La cooperazione al cuore del Mediterraneo

La coopération au coeur de la Méditerranée



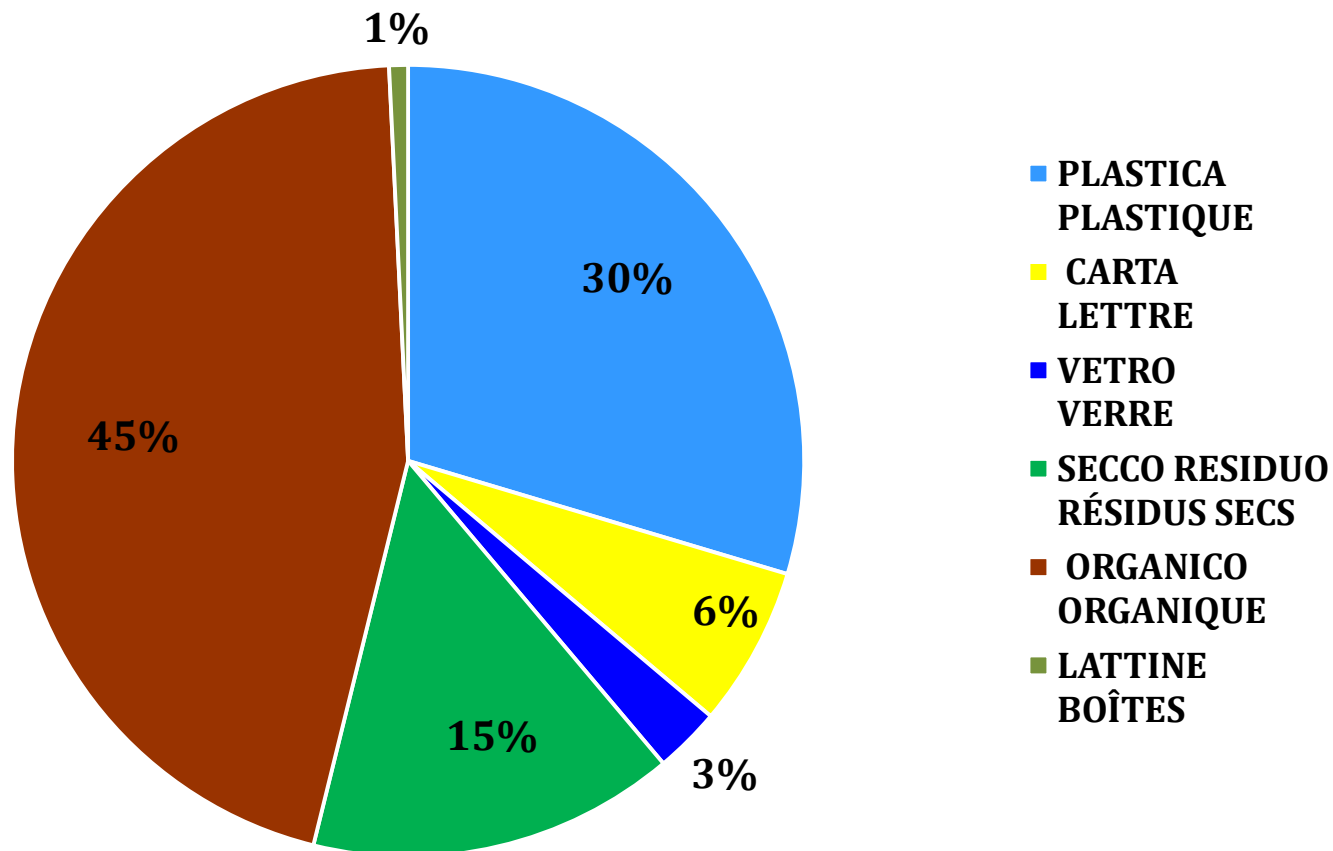
Progetto finanziato dal Programma di Cooperazione Transfrontaliera Italia-Francia Marittimo 2014-2020
Projet financé par le Programme de Coopération Transfrontalière Italie-France Maritime 2014-2020

VERIFICA RIFIUTI RACCOLTI VÉRIFICATION DES DÉCHETS COLLECTÉS



La cooperazione al cuore del Mediterraneo
 La coopération au coeur de la Méditerranée

COMPOSIZIONE RIFIUTI SMALTITI COMPOSITION DES DÉCHETS ÉLIMINÉS



La cooperazione al cuore del Mediterraneo

La coopération au coeur de la Méditerranée



Progetto finanziato dal Programma di Cooperazione Transfrontaliera Italia-Francia Marittimo 2014-2020
 Projet financé par le Programme de Coopération Transfrontalière Italie-France Maritime 2014-2020

COMPONENTE T2/COMPONSANTE T2

ATTIVITA' T2.1/ACTIVITÉ T2.1

PRODOTTO T2.1.1/LIVRABLE T2.1.1

Report dell'azione pilota di Portoferraio

Comune di Portoferraio

30/6/2021

La cooperazione al cuore del Mediterraneo
La coopération au coeur de la Méditerranée



INDICE DEL DOCUMENTO

1. Introduzione	3
2. Fase preliminare	4
<u>2.1. Ispezione dei popolamenti bentonici all'interno della Darsena Medicea</u>	4
<u>2.2. Identificazione di specie di spugne utilizzabili per la realizzazione dell'impianto sperimentale di bio-filtraggio</u>	9
2.2.1. Definizione dello stato metabolico e caratterizzazione fisiologica di <i>Ircinia oros</i> e <i>Petrosia ficiformis</i>	11
2.2.2. Bioaccumulo di composti inorganici	12
2.2.3. Bioaccumulo di composti organici	13
2.2.4. Valutazione sperimentale della capacità di bioaccumulo di contaminanti inorganici e organici e relative risposte fisiologiche in <i>Ircinia oros</i> e <i>Petrosia ficiformis</i>	14
2.2.5. Valutazione sperimentale della capacità di filtrazione di microrganismi batterici da parte di <i>Ircinia oros</i> e <i>Petrosia ficiformis</i>	18
2.2.6. Valutazione sperimentale della risposta di spugne a stress termico	19
2.2.7. Risposta fisiologica di <i>Petrosia ficiformis</i> all'esposizione a microplastiche	20
3. Fase operativa	23
<u>3.1. Progettazione di moduli per la realizzazione dell'impianto sperimentale di bio-filtraggio e bio-monitoraggio</u>	23
<u>3.2. Messa in opera dell'impianto di bio-filtraggio</u>	23
<u>3.3. Monitoraggio degli effetti dell'azione pilota</u>	28
3.3.1. Analisi sulle spugne	29
3.3.1.1. Analisi biologiche	29
3.3.1.2. Concentrazione di microrganismi batterici nelle spugne	34
3.3.1.3. Bioaccumulo di composti inorganici	35
3.3.1.4. Bioaccumulo di composti organici	37
3.3.2. Effetti sulla qualità delle acque: comparazione tra impianto e zone di controllo ed all'interno della Darsena Medicea	40
3.3.2.1. Componente batterica	40
3.3.2.2. Inquinanti inorganici	41
3.3.2.3. Inquinanti organici	42
<u>3.4. Effetti delle spugne sulla colonizzazione di substrati artificiali</u>	44
3.4.1. Test di laboratorio	44
3.4.2. Esperimento sul campo	48
4. Conclusioni	50
5. Bibliografia	53

1. Introduzione

Il progressivo sviluppo costiero ha causato una notevole alterazione delle condizioni chimico-fisiche delle acque e la perdita di habitat naturali, con importanti ripercussioni sulla diversità ed il funzionamento delle comunità marine del bacino Mediterraneo e sui servizi ecosistemici che queste forniscono (García-Nieto et al. 2018). Sebbene l'importanza degli ecosistemi urbani sia ampiamente riconosciuta in ambienti terrestri, l'interesse verso la fauna e la flora marina di aree portuali o fortemente urbanizzate è stato tradizionalmente scarso. Nell'ultimo decennio, si è tuttavia assistito ad un cambiamento di tendenza, generato dal progressivo riconoscimento che queste aree possano contribuire alla conservazione della biodiversità marina e fornire importanti funzioni e servizi ecosistemici (Bulleri, 2006, 2020). Ad esempio, è stato dimostrato come l'inclusione di principi ecologici (eco-engineering) durante la fase di pianificazione ed installazione di infrastrutture urbane e portuali, quali dighe frangiflutti, banchine, pontili galleggianti, piloni, etc. possa contribuire a generare habitat per organismi marini, incluse specie di interesse conservazionistico o commerciale (Bulleri & Chapman, 2010; Firth et al. 2016).

Queste attività sono generalmente inquadrare in piani di sviluppo delle aree urbane costiere più ampi che prevedono azioni volte a migliorare la qualità chimico-fisica delle acque e dei sedimenti, a coniugare gli interessi di vari gruppi di stakeholders e a favorire la diffusione della cultura ambientale. Notevoli esempi sono rappresentati dal World Harbour Project (<http://www.worldharbourproject.org/>) e dal Billion Oysters Project (<https://billionoysterproject.org/>). In questo ambito, il ripristino di specifiche comunità marine, quali quelle costituite da organismi filtratori, rappresentano un punto chiave (Hughes et al., 2005; Grizzle et al., 2008). Infatti, filtratori quali bivalvi e spugne possono fornire molteplici servizi: i) filtrazione dell'acqua con conseguente riduzione della concentrazione di metalli, del carico batterico e di sostanza organica particolata; ii) formazione di habitat per invertebrati e vertebrati, iii) costituire una risorsa economica. Tale prospettiva si colloca all'interno di politiche di conservazione basate sull'utilizzo di specie che siano in grado di sostenere la biodiversità ed il funzionamento degli ecosistemi in scenari futuri, caratterizzati dalla progressiva alterazione delle condizioni ambientali (nature-based solutions; Bulleri et al. 2018).

I Poriferi (spugne di mare), in quanto filtratori, possono accumulare metalli, in particolare il rame contenuto in vernici anti-fouling (Ferrante et al. 2018), che sono spesso presenti in acque interessate da attività nautiche, quali porti commerciali e turistici (de Mestre et al. 2012, Gentric et al. 2016, Ferrante et al. 2018). La capacità di accumulo di inquinanti non si limita ad i soli metalli, ma si estende anche ad inquinanti di natura organica. Le spugne hanno un alto contenuto di lipidi che favoriscono l'accumulo di composti idrofobici. Ad esempio, *Spongia officinalis* è in grado di accumulare i policlorobifenili, noti con la sigla PCB (Perez et al. 2003). In modo simile, *Hymeniacidon heliophila* sembra essere un buon candidato per il monitoraggio della qualità delle acque in quanto i livelli di idrocarburi policiclici aromatici (IPA) nei tessuti di questa spugna sono

correlati con i livelli ambientali (Batista et al. 2013). È importante notare che, in alcuni casi, la capacità di bioaccumulo di questi contaminanti da parte di spugne di mare è superiore a quella dei bivalvi, organismi spesso utilizzati come bioindicatori. Inoltre, le spugne di mare mostrano un'alta ritenzione di particelle di taglia inferiore ad 1 μm che sono quelle che rientrano nell'intervallo di taglia emesso dalla combustione, mentre i bivalvi catturano più efficientemente particelle di taglia superiore a 100 μm (Riisgard et al., 1996).

Le spugne possono anche accumulare microorganismi, inclusi agenti potenzialmente patogeni quali i coliformi e gli streptococchi fecali ed alcuni vibrioni, e rappresentare quindi uno strumento per la rilevazione di contaminazioni microbiologiche delle acque marine (Milanese et al. 2003, Stabili et al. 2008, Longo et al. 2010). Ulteriori vantaggi dell'impegno di spugne di mare come strumento di bio-monitoraggio sono rappresentati dalla loro ampia distribuzione, facile reperibilità e capacità di riproduzione attraverso frammentazione.

Infine, le spugne possono essere fonte di un'ampia varietà di metaboliti biologicamente attivi, molti dei quali di interesse per l'industria farmaceutica. Ad esempio, *Chondrosia reniformis*, presente nell'area di studio, è un'importante fonte naturale di collagene (Gökalp et al. 2019).

L'azione pilota condotta dal Dipartimento di Biologia si è quindi incentrata sulla valutazione dell'utilizzo di poriferi come strumento per la depurazione delle acque di porti turistici. In una **fase preliminare**, sono state condotte una serie di attività sul campo ed in laboratorio per ottenere le informazioni necessarie alla **fase operativa**, ovverossia la messa a mare dell'impianto sperimentale di bio-filtraggio e per il monitoraggio degli effetti prodotti.

2. Fase preliminare

2.1. Ispezione dei popolamenti bentonici all'interno della Darsena Medicea

In prima istanza, è stata analizzata la struttura dei popolamenti bentonici presenti sulle strutture artificiali (pontili e banchine) all'interno della Darsena Medicea, un aspetto critico per determinare la fattibilità dell'azione pilota. Quattro siti all'interno della Darsena Medicea sono stati esaminati mediante tecniche fotografiche e prelievo di campioni in data 15/01/2020 (Fig. 1).



Figura 1. Siti di campionamento all'interno della Darsena Medicea di Portoferraio

Ad una indagine visiva, il pontile situato presso il sito 1 (Lat. 42°48.766'N; Long. 010°19.822'E) è risultato colonizzato da briozoi, principalmente appartenenti alle specie *Cradoscrupocellaria reptans* e *Schizobrachiella sanguinea* e da idrozoi, quali quelli appartenenti al genere *Sertulariella* (Fig. 2a,b). La colonizzazione da parte di tale specie prosegue anche lungo le catenarie, sulle quali sono state rilevate anche alcune specie di incrostanti di spugne, tra cui *Crambe crambe* (Fig. 2c,d).

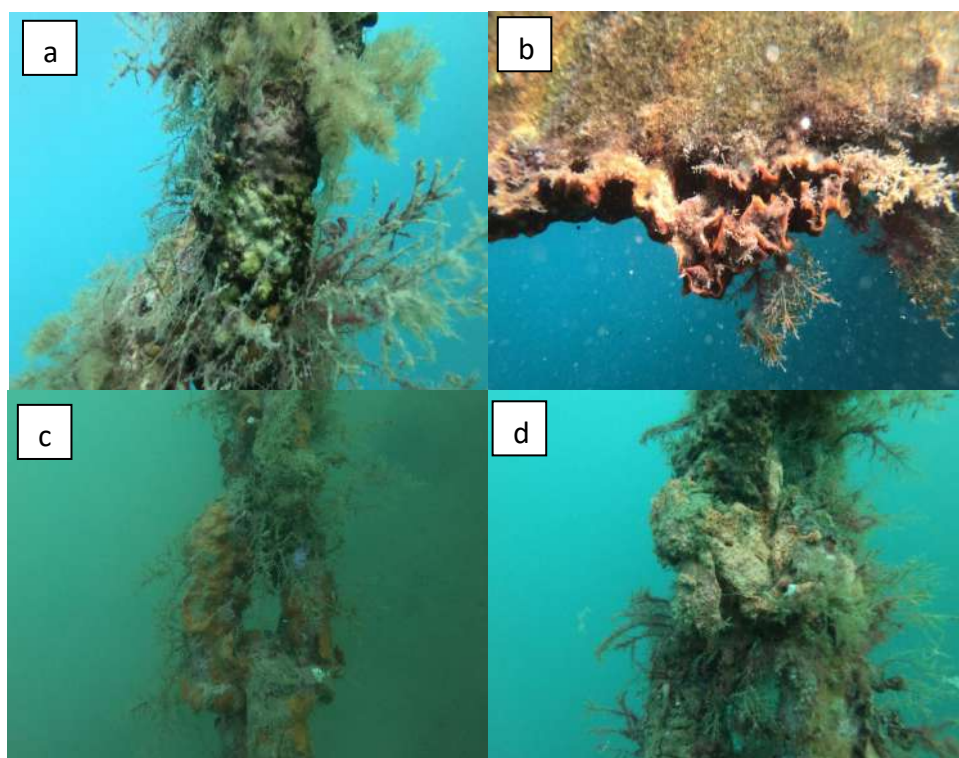


Figura 2. Popolamenti di briozoi ed idrozoi presenti (a) sulle catene e (b) sul pontile galleggiante. Spugne incrostanti presenti sulle catene (c, d).

La colonizzazione del pontile collocato presso il sito 2 (Lat. 42°48.738'N, Long. 010°19.800'E) e delle catene è risultata simile a quella del pontile presso il sito 1. Una terza specie di spugna, appartenente al genere *Ircinia*, è stata rinvenuta a circa 5 metri di profondità (Fig. 3).



Figura 3. Spugna del genere *Ircinia*

Presso il sito 3 (Lat. 42°48.798'N; 010°19.866'E), è stato esaminato il pontile denominato “dei residenti”, caratterizzato da una profondità massima di 8 metri. La superficie inferiore del pontile fornisce un ambiente sciafilo e, oltre che da briozoi, è colonizzato dallo spirografo *Sabella spallanzanii* e da ascidie appartenenti al genere *Clavelina* (Fig. 4). Sul fondale sono presenti alcuni esemplari del madreporario *Cladocora caespitosa*.



Figura 4. Popolamenti bentonici sulla superficie inferiore del pontile galleggiante

Presso il sito 4 (Lat. 42°48.844'N; Long. 010°19.770'E) è stata eseguita lungo la banchina in muratura presso il lato NW della Darsena Medicea. Anche in questo sito, è presente la *Cladocora caespitosa*. Lungo la parete sono presenti oltre sono state rilevate due specie di spugne incrostanti, una delle quali appartenente al genere *Crambe* (Fig. 5). Da notare è la scarsa presenza di bivalvi, ed in particolare di *Mytilus galloprovincialis*, all'interno della Darsena Medicea.



Figura 5. Spugne incrostanti

I popolamenti di invertebrati (epifauna sessile e vagile) associati alle strutture artificiali presso i Siti 1, 3 e 4 sono stati studiati in maggior dettaglio, mediante il prelievo di 10 campioni (superficie standard di 10 x 10 cm) che sono stati successivamente esaminati presso i laboratori dell'Unità di Biologia ed Ecologia del Dipartimento di Biologia. Gli individui presenti sono stati in seguito identificati con l'ausilio di un microscopio binoculare. Tali popolamenti di invertebrati sono caratterizzati da una elevata ricchezza di specie, essendo costituiti da rappresentanti di 5 phyla, per un numero complessivo di specie pari a 58 (Tabella 1). I gruppi più numerosi sono risultati essere gli anellidi, i crostacei ed i molluschi (Fig. 6).



Figura 6. Anellidi policheti (pannello di sinistra) molluschi e crostacei (pannello di destra) identificati all'interno della Darsena Medicea

L'elevata diversità dei popolamenti bentonici all'interno della Darsena Medicea ha suggerito che il sito non sia generalmente interessato da perturbazioni di natura antropica di notevole entità.

Tabella 1. Epifauna sessile e vagile rilevata nella Darsena Medicea di Portoferraio

Taxa	Specie	Sito 1	Sito 3	Sito 4
Nemertea	<i>Cephalothrix rufifrons</i>	+	+	+
	<i>Tubulanus nothus</i>	+		
Mollusca	<i>Aequipecten opercularis</i>		+	
	<i>Alvania lineata</i>			+
	Aeolidiidae n.d.		+	
	<i>Cratena peregrina</i>	+		
	<i>Diodora gibberula</i>	+		
	<i>Elysia gordanæ</i>	+		
	<i>Hiatella</i> sp.			+
	<i>Musculus costulatus</i>	+	+	+
	<i>Mytilaster minimus</i>		+	
	<i>Mytilus galloprovincialis</i>		+	
	<i>Spondylus gaederopus</i>			+
	<i>Striarca lactea</i>		+	+
	<i>Williamia gussoni</i>			+
Annelida	<i>Amphiglena mediterranea</i>		+	
	<i>Armandia polyophtalma</i>		+	
	<i>Aspidosiphon muelleri</i>	+	+	
	<i>Ceratonereis costae</i>	+	+	
	<i>Chrysopetalum debile</i>	+	+	+
	<i>Dasybranchus gajolae</i>		+	
	<i>Dipolydora armata</i>		+	
	<i>Dodecaceria concharum</i>	+		+
	<i>Eurysyllis tuberculata</i>	+		
	<i>Exogone naidina</i>	+	+	+
	<i>Haplosyllis spongicola</i>	+	+	+
	<i>Harmothoe areolata</i>	+		
	<i>Harmothoe extenuata</i>		+	
	<i>Hydroides elegans</i>		+	
	<i>Lumbrineris</i> cf. <i>perkinsi</i>		+	+
	<i>Lysidice unicornis</i>	+		
	<i>Myrianida prolifera</i>	+	+	
	<i>Nereiphylla</i> cf. <i>lugens</i>	+	+	+
	<i>Odontosyllis fulgurans</i>	+		
	<i>Oxydromus flexuosus</i>		+	
	<i>Parasabella tommasi</i>	+	+	
	<i>Phascolosoma agassizii</i>	+		
	<i>Platynereis dumerilii</i>	+		
	<i>Polyophtalmus pictus</i>	+	+	+
	<i>Proceratea aurantiaca</i>	+	+	
	<i>Sabella spallanzanii</i>		+	
	<i>Schistomeringos rudolphi</i>		+	
	<i>Sphaerosyllis taylori</i>	+	+	
	<i>Syllis gracilis</i>	+	+	
	<i>Syllis prolifera</i>	+		+
	<i>Syllis truncata cryptica</i>	+	+	
	<i>Synmerosyllis lamelligera</i>		+	
	<i>Vermiliopsis striaticeps</i>	+		
Arthropoda	<i>Alpheus glaber</i>	+	+	
	<i>Chondrochelia savignyi</i>	+	+	+
	<i>Corophium</i> sp.	+	+	+
	<i>Gnathia</i> sp.		+	
	<i>Hippolyte</i> sp.		+	
	<i>Pilumnus hirtellus</i>	+	+	
	<i>Pisidia longicornis</i>	+	+	
	<i>Stenothoe</i> sp.	+	+	+
Echinodermata	<i>Amphiura chiajei</i>		+	
	<i>Ophiothryx fragilis</i>		+	

2.2. Identificazione di specie di spugne utilizzabili per la realizzazione dell'impianto sperimentale di bio-filtraggio

Un presupposto fondamentale alla base della realizzazione di un impianto sperimentale di bio-depurazione è quello di utilizzare specie ampiamente reperibili in loco, evitando l'introduzione di specie o genotipi non presenti nella regione. A questo scopo, una prima ispezione dei popolamenti di spugne presenti su substrati rocciosi naturali lungo il tratto di costa compreso tra Capo Vita e Nisportino è stata effettuata mediante prospezioni subacquee in gennaio 2020 (Fig. 7).

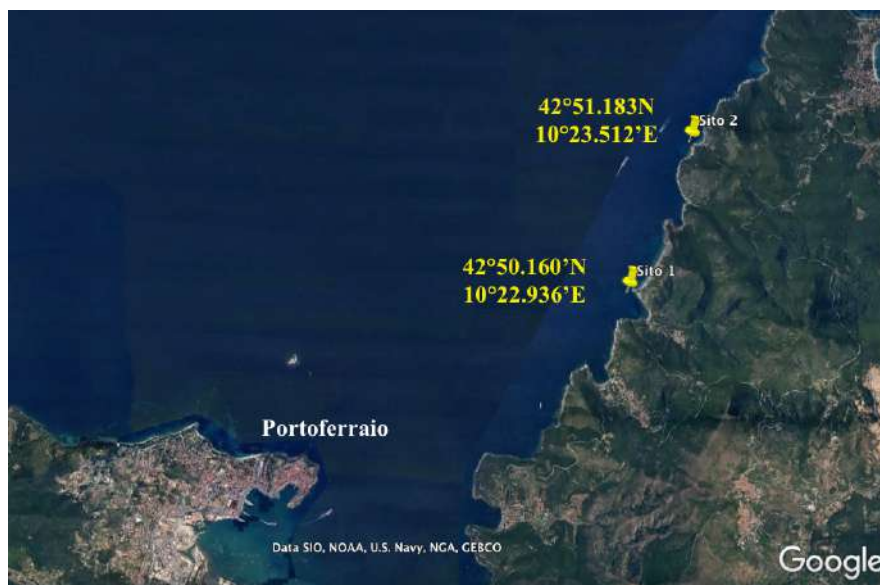


Figura 7. Siti ispezionati all'esterno della Darsena Medicea di Portoferraio

A profondità comprese tra i 3 ed i 12 metri, i popolamenti di poriferi sono risultati molto diversificati presso entrambi i siti ispezionati. Specie appartenenti ai generi *Agelas*, *Spongia*, *Ircinia*, *Petrosia* e *Crambe* (Fig. 8) sono risultate comuni ed alcune di esse presenti con elevati valori di abbondanza presso entrambi i siti. Alcune di queste specie di spugne, quali *Agelas*, *Spongia* sp., *Ircinia* spp., *Chondrosia reniformis* e *Crambe crambe* sono state allevate con successo in varie regioni del Mediterraneo (Pronzato 1999, Mercurio et al. 2003, Osinga et al. 2010, Ledda et al. 2014, Padiglia et al. 2018, Gökalp et al. 2019). Ad esempio, *Chondrosia reniformis* è stata allevata con successo utilizzando come supporti materiali economici, quali reti in PVC (Gökalp et al. 2019). Di particolare interesse è che alcune specie, quali quelle appartenenti al genere *Agelas* ed *Ircinia*, sono state allevate a profondità ridotte anche in porti turistici interessati dallo scarico di acque reflue e da attività connesse alla nautica da diporto e professionale (Ledda et al. 2014). In tali condizioni ambientali, queste specie si sono dimostrate capaci di mantenere alti tassi di filtrazione dell'acqua (Ledda et al. 2014).



Figura 8. Popolamenti di poriferi presso i siti campionati lungo il tratto di costa compreso tra Nisporto e Capo Vita. Esemplari appartenenti alle specie *Petrosia ficiformis* e *Ircinia oros* sono indicati dalla freccia rossa e dalla freccia arancione, rispettivamente.

L'ampia diffusione di poriferi nella zona di studio e l'evidenza dell'elevata capacità di filtrazione ed accumulo di inquinanti da parte di questi organismi, ottenuta da attività di ricerca bibliografica nel periodo dicembre 2019 - gennaio 2020 hanno permesso quindi di identificare questi organismi come candidati ideali per la realizzazione di un impianto sperimentale di filtratori all'interno della Darsena Medicea di Portoferraio. In particolare, per la loro elevata abbondanza, due specie appartenenti ai generi *Ircinia* e *Petrosia* sono state oggetto di ulteriori indagini allo scopo di stabilire la loro adeguatezza ad essere impiegate nell'impianto sperimentale di bio-depurazione delle acque.

In febbraio 2020, presso il sito 1, sono stati campionati 5 frammenti di spugne (~50 g peso fresco ciascuno) appartenenti *Ircinia oros* (Schmidt, 1864) e *Petrosia ficiformis* (Poiret, 1789), ad una profondità di 5-7 metri. I campioni sono stati trasportati in laboratorio all'interno di contenitori refrigerati. Ciascuno dei campioni è stato suddiviso in tre parti, di cui ~1 g per il riconoscimento

tassonomico, ~40 g per le analisi strumentali/analitiche di bioaccumulo ed il rimanente per analisi biologiche.

L'allestimento dei preparati per il riconoscimento tassonomico è stato effettuato direttamente sul campione fresco lo stesso giorno di prelievo. Ogni frammento è stato conservato in alcool al 70% e spedito al Dipartimento di Biologia dell'Università di Genova, dove, in collaborazione con il Dott. Marco Bertolino, sono state condotte analisi strutturali al microscopio ottico hanno supportato le precedenti analisi morfologiche, confermando l'appartenenza dei frammenti analizzati alle specie *Ircinia oros* e *Petrosia ficiformis* (Fig. 8).

2.2.1. Definizione dello stato metabolico e caratterizzazione fisiologica di *Ircinia oros* e *Petrosia ficiformis*

Una batteria di markers specifici è stata applicata ai frammenti di spugne di entrambe le specie, al fine di valutare il loro stato metabolico e di effettuare una loro caratterizzazione fisiologica. In particolare, è stato valutato il contenuto di riserve energetiche (contenuto di glicogeno: GLY), danno cellulare (perossidazione lipidica delle membrane: LPO) e le attività di enzimi antiossidanti e di biotrasformazione (superossido dismutasi: SOD) e glutatione S-transferasi; GSTs). In laboratorio, tali attività sono state determinate in aliquote di 0.5 g peso fresco di tessuto, omogeneizzate con POTTER -ELVEHJEM GLASS TEFLON in 4 volumi (w/v) di tampone fosfato (K_2HCO_4) (50mM diidrogeno fosfato di potassio, 50mM di-potassio fosfato, pH 8.00) e infine centrifugate a $9.000 \times g$ per 20' a 4 °C, ottenendo la frazione citosolica (S9). Il surnatante è stato conservato a -80°C o utilizzato nell'immediato. Tutte le risposte biochimiche sono state registrate da un lettore di micro-piastre BioTek Synergy HT.

In generale, dai valori di ogni marker analizzato si è ricavata una specificità di risposta (Tabella 2). Il contenuto di glicogeno (GLY), che funge da riserva energetica glucidica per l'organismo, è risultato significativamente maggiore nei frammenti appartenenti alla specie *I. oros*. La perossidazione lipidica (LPO), processo generato dalle specie reattive dell'ossigeno (ROS) che causano l'ossidazione dei lipidi di membrana e l'attività di enzimi antiossidanti (SOD) non sono risultate statisticamente differenti tra le due specie. Diversamente, dai valori degli enzimi di biotrasformazione sono emerse attività più elevate nella specie *P. ficiformis* rispetto a *I. oros*.

Tabella 2. Valori medi dei biomarker ($\pm$ d.s.), determinati nei frammenti appartenenti alle specie *Ircinia oros* e *Petrosia ficiformis* prelevati in data 17/02/2020 presso il sito 1. Contenuto di glicogeno (GLY) (mg/mL); perossidazione lipidica delle membrane (LPO) (nmol/MDA/g FW); attività superossido dismutasi (SOD) (U/mL); attività glutatione S-transferasi (GSTs) (U/mg prot). Le differenze statisticamente significative (Unpaired t-test) tra le due specie sono riportate con l'asterico: * $p < 0.05$

Biomarker	Unità di misura	17 febbraio 2020	
		<i>I. oros</i>	<i>P. ficiformis</i>
GLY	mg/mL	3.92 $\pm$ 0.19*	2.63 $\pm$ 0.18*
LPO	nmol/MDA/g FW	3.30 $\pm$ 1.35	3.74 $\pm$ 1.93
SOD	U/mL	0.55 $\pm$ 0.14	0.77 $\pm$ 0.15
GSTs	U/mg prot	0.12 $\pm$ 0.02*	1.33 $\pm$ 0.03*

2.2.2. Bioaccumulo di composti inorganici

Sono state analizzate le concentrazioni di alcune classi di composti organici e inorganici al fine di stimare la potenzialità di bioaccumulo da parte di ciascuna delle due specie di spugne.

Sono stati analizzati i seguenti elementi: arsenico (As) cadmio (Cd), cromo (Cr), rame (Cu), ferro (Fe), manganese (Mn), nichel (Ni), piombo (Pb), vanadio (V), zinco (Zn) e mercurio (Hg). La mineralizzazione dei campioni è stata effettuata su circa 0.5 mg di campione tal quale (corrispondenti a circa 0.350 mg di sostanza secca (s.s.)) mediante un sistema di digestione a microonde opportunamente programmato. Per la determinazione di Hg è stato seguito il metodo EPA7473. Il campione è stato sottoposto a trattamento termico per eliminare qualsiasi fase di pretrattamento del campione stesso, potendolo così analizzare tal quale. Il particolare procedimento di decomposizione porta alla riduzione chimica del metallo, alla sua successiva pre-concentrazione su un amalgama d'oro e, infine, alla sua analisi quantitativa in assorbimento atomico (DMA-80 Analizzatore Diretto del Mercurio). Le determinazioni di Cd e Pb sono state effettuate mediante spettroscopia di assorbimento atomico in fornello di grafite (Varian Spectra AA-220 Z), secondo la procedura EPA7010. Le concentrazioni dei restati elementi in traccia sono state determinate mediante spettrofotometria ad emissione atomica al plasma (Varian Liberty AX ICP-AES) seguendo il metodo EPA6010C. L'accuratezza delle procedure di digestione e di analisi dei campioni è stata verificata impiegando i materiali standard di riferimento PACS-2 Harbour sediment. I valori sono stati espressi in mg/kg di s.s.

I risultati hanno evidenziato un elevato accumulo di tutti gli elementi in traccia analizzati da parte di entrambe le specie, in particolare per quanto riguarda As, Cu, Fe, Mn, Ni, Zn e V (Tabella 3). Confrontando il bioaccumulo tra le due specie oggetto d'indagine, *I. oros* ha presentato concentrazioni superiori di Ni e V rispetto a quelle rilevate in *P. ficiformis*. Al contrario, le

concentrazioni di As e Fe sono risultate maggiori in *P. ficiformis*. I dati ottenuti hanno permesso di determinare la capacità di bioaccumulo delle due specie oggetto d'indagine.

Tabella 3. Concentrazioni di composti inorganici (mg/kg s.s.) presenti nei frammenti appartenenti alle specie *Ircinia oros* e *Petrosia ficiformis* prelevati in data 17/02/2020 presso il sito 1. LOQ: Limiti di Quantificazione

17 febbraio 2020					
Categorie	Parametro	Unità di misura	LOQ	<i>I. oros</i>	<i>P. ficiformis</i>
Inorganici	As	mg/kg s.s.	1	51.7	96.7
	Cd	mg/kg s.s.	0.02	0.2	1.7
	Cr	mg/kg s.s.	1	<1	<1
	Cu	mg/kg s.s.	1	43.8	39.8
	Fe	mg/kg s.s.	30	3626.6	434.2
	Ni	mg/kg s.s.	1	276.9	15.2
	Mn	mg/kg s.s.	1	30.9	41.4
	Pb	mg/kg s.s.	1	4.5	1.8
	V	mg/kg s.s.	1	10.8	1.3
	Zn	mg/kg s.s.	1	56.7	51.9
	Hg	mg/kg s.s.	0.1	0.2	0.4

2.2.3. Bioaccumulo di composti organici

Per la determinazione degli Idrocarburi Policiclici Aromatici (IPA) e degli idrocarburi pesanti (C>12), le analisi sono state eseguite su un'aliquota di ~20 g (peso umido), mentre una seconda aliquota è stata utilizzata per la determinazione del peso secco. La determinazione degli IPA (16 come indicati dall'EPA) e C>12 è stata effettuata mediante gas cromatografia. Anche in questo caso, i componenti sono stati rilevati con la tecnica FID (rilevatore a ionizzazione di fiamma). Il limite di rilevabilità dello strumento e quello della metodica corrispondono rispettivamente a 0.05 µg di solvente e 0.002 mg/kg di campione s.s. I valori sono stati espressi in µg/kg di s.s.

Dalle analisi di bioaccumulo, in entrambe le specie le concentrazioni di C>12 e IPA sono risultate al di sotto del limite di rilevabilità del metodo (LOQ) ad esclusione di Fluorantene, Indeno[1,2,3,c,d]pirene e Naftalene, con valori leggermente più elevati nella specie *I. oros* rispetto a *P. ficiformis* (Tabella 4). Anche in questo caso, i risultati ottenuti hanno permesso di comprendere la capacità di bioaccumulo di ciascuna delle due specie.

Tabella 4. Concentrazioni di composti organici ($\mu\text{g/kg s.s.}$) presenti nei frammenti appartenenti alle specie *Ircinia oros* e *Petrosia ficiformis* prelevati in data 17/02/2020 presso il sito 1. LOQ: Limiti di Quantificazione

Categorie	17 febbraio 2020				
	Parametro	Unità di misura	LOQ	<i>I. oros</i>	<i>P. ficiformis</i>
Organici	IC>12	$\mu\text{g/kg s.s.}$	1512.2	<1512.2	<1512.2
	Acenaftalene	$\mu\text{g/kg s.s.}$	4.13	<4.13	<4.13
	Acenaftene	$\mu\text{g/kg s.s.}$	4.13	<4.13	<4.13
	Antracene	$\mu\text{g/kg s.s.}$	4.13	<4.13	<4.13
	Benz[a]antracene	$\mu\text{g/kg s.s.}$	4.13	<4.13	<4.13
	Benzo[a]pirene	$\mu\text{g/kg s.s.}$	4.13	<4.13	<4.13
	Benzo[b]fluorantene	$\mu\text{g/kg s.s.}$	4.13	<4.13	<4.13
	Benzo[ghi]perilene	$\mu\text{g/kg s.s.}$	4.13	<4.13	<4.13
	Benzo[k]Fluorantene	$\mu\text{g/kg s.s.}$	4.13	<4.13	<4.13
	Crisene	$\mu\text{g/kg s.s.}$	4.13	<4.13	<4.13
	Dibenzo[a,h]antracene	$\mu\text{g/kg s.s.}$	4.13	<4.13	<4.13
	Fenantrene	$\mu\text{g/kg s.s.}$	4.13	<4.13	<4.13
	Fluorantene	$\mu\text{g/kg s.s.}$	4.13	7.7	5.1
	Fluorene	$\mu\text{g/kg s.s.}$	4.13	<4.13	<4.13
	Indeno[1,2,3,c,d]pirene	$\mu\text{g/kg s.s.}$	4.13	12.6	5.4
	Naftalene	$\mu\text{g/kg s.s.}$	4.13	10.2	5.5
	Pirene	$\mu\text{g/kg s.s.}$	4.13	<4.13	<4.13

2.2.4. Valutazione sperimentale della capacità di bioaccumulo di contaminanti inorganici e organici e relative risposte fisiologiche in *Ircinia oros* e *Petrosia ficiformis*

Nei mesi di giugno e luglio 2020, sono stati condotti anche due esperimenti in condizioni controllate per valutare le capacità di bioaccumulo e le possibili risposte biologiche di entrambe le specie esposte a composti inorganici e organici.

I. oros e *P. ficiformis* sono state esposte per 7 giorni (7gg) a due concentrazioni ambientali rilevanti di Benzo[a]pirene (0.002 e 0.02 $\mu\text{g/L}$) e piombo (5 e 50 $\mu\text{g/L}$). Quindici frammenti (~50 g peso fresco l'uno) di ciascuna specie sono stati prelevati lungo il tratto di costa compreso tra Nisportino e Capo Vita, ad una profondità di 5-7 metri, e trasportati in laboratorio in contenitori refrigerati. I frammenti sono stati acclimatati per 4 giorni (4gg) in acqua naturale filtrata 0.45 μm (NSW) (salinità 38 PSU), ossigenata in continuo, con una esposizione di fotoperiodo di 12:12 e temperatura: $23 \pm 2^\circ\text{C}$. Nessun tipo di alimentazione è stato somministrato per l'intera durata del periodo di acclimatazione e durante il test. Il test è stato allestito in 3 repliche (3 L ogni replica) per trattamento (**CTRL**: 1 frammento per specie- assenza di contaminante; **Pb 5**: 1 frammento per specie esposto a 5 $\mu\text{g/L}$ di piombo; **Pb 50**: 1 frammento per specie esposto a 50 $\mu\text{g/L}$ di piombo; **B[a]P 0.002**: 1 frammento per specie esposto a 0.002 $\mu\text{g/L}$ di Benzo[a]pirene; **B[a]P 0.02**: 1 frammento per specie esposto a 0.02 $\mu\text{g/L}$ di Benzo[a]pirene) (Fig. 9). pH, salinità e ossigeno disciolto sono stati misurati con cadenza giornaliera.



Figura 9. Esposizione di *Ircinia oros* a Pb (5 e 50 $\mu\text{g/L}$) e B[a]P (0.002 e 0.02 $\mu\text{g/L}$)

Al termine dei 7 gg di esposizione, gli organismi sono stati congelati a -80°C . Successivamente, sono state effettuate: I) analisi di risposte biologiche; II) analisi di bioaccumulo nei tessuti di entrambi i composti seguendo le medesime modalità precedentemente riportate nella sezione 3.2.2. e II) analisi di quantificazione di entrambi i composti in matrice acquosa all' inizio (t_0) e alla fine del test (t_7). Per le analisi biologiche è stato valutato il contenuto di riserve energetiche (contenuto di glicogeno: GLY), danno cellulare (perossidazione lipidica delle membrane: LPO) e attività di enzimi antiossidanti e di biotrasformazione (superossido dismutasi: SOD e glutathione S-transferasi: GSTs). È stata inoltre valutata la loro capacità metabolica (sistema di trasporto degli elettroni: ETS) e il possibile danno al corredo genico (DNA ssB). La capacità metabolica è stata determinata in aliquote di 0.3 g peso fresco di tessuto, omogeneizzate con POTTER -ELVEHJEM GLASS TEFLON in 4 volumi (w/v) di tampone BSS (0.1 M Tris-HCl pH 8.5 con 15% (w/v) PVP, 153 μM di solfato di magnesio (MgSO_4) e 0.2% (v/v) di Triton X-100). e infine centrifugate a $3.000 \times g$ per 20' a 4°C ottenendo la frazione mitocondriale. Il danno al DNA (DNAssB) è stato determinato in aliquote di 0.1 g peso fresco di tessuto, omogeneizzate con POTTER -ELVEHJEM GLASS TEFLON in 10 volumi (w/v) di tampone TE (pH 7.4, Tris-HCl 10mM, EDTA 1M). Tutte le risposte biochimiche sono state registrate mediante un lettore di micro-piastre BioTek Synergy HT.

In entrambe le specie ed alle più alte concentrazioni di Pb e B[a]P, si è osservato una riduzione della loro capacità metabolica (ETS), riduzione delle riserve energetiche (GLY) (Figura 10), danno cellulare (LPO), danno al corredo genico (DNAssB) (Figura 11) e inattivazione delle difese antiossidanti (SOD) e di biotrasformazione (GSTs) (Figura 12). Confrontando le risposte tra *I. oros* e *P. ficiformis* esposte alle stesse condizioni, differenze statisticamente apprezzabili sono state riscontrate in tutti markers analizzati, mostrando la specie *I. oros* più sensibile in termini di capacità metabolica, danno cellulare e attivazione e/o inibizione di enzimi antiossidanti. Risultati opposti sono stati osservati in termini di danno al DNA, con un maggiore danno a carico della specie *P. ficiformis*. I risultati ottenuti hanno permesso di determinare: I) i meccanismi che operano a livello di strutture

cellulari quando le spugne sono esposte a contaminanti comunemente ritrovati in ambienti portuali;
II) possibili differenze tra le due specie in termine di sensibilità quando esposti ad agenti inquinanti.

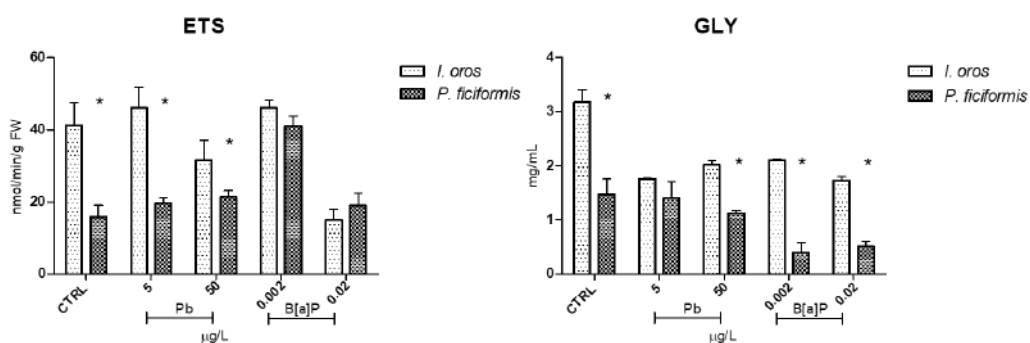


Figura 10. Sistema di trasporto degli elettroni (ETS) (nmol/min/mg prot) e contenuto di glicogeno (GLY) (mg/mL). Differenze statisticamente significative (Two-way ANOVA) tra le specie sono riportate con l'asterisco: * $p < 0.05$

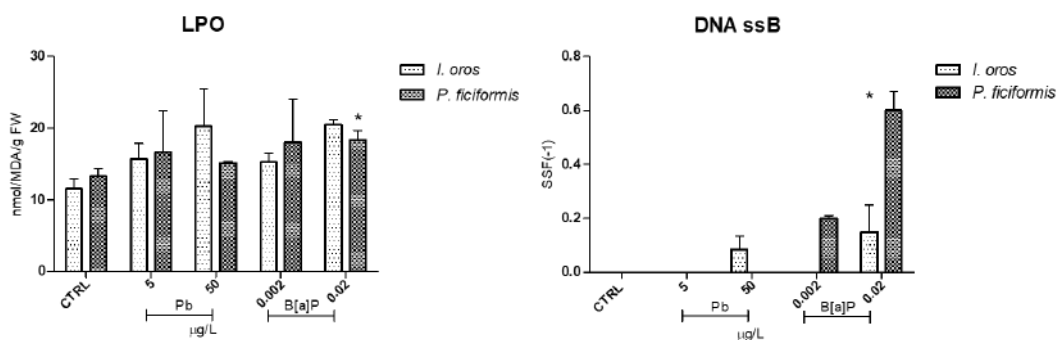


Figura 11. Perossidazione lipidica delle membrane (LPO) (nmol/MDA/g FW) e Danno al DNA (DNA ssB) (Standard Scissor Factor (-1)). Differenze statisticamente significative (Two-way ANOVA) tra le specie sono riportate con l'asterisco: * $p < 0.05$.

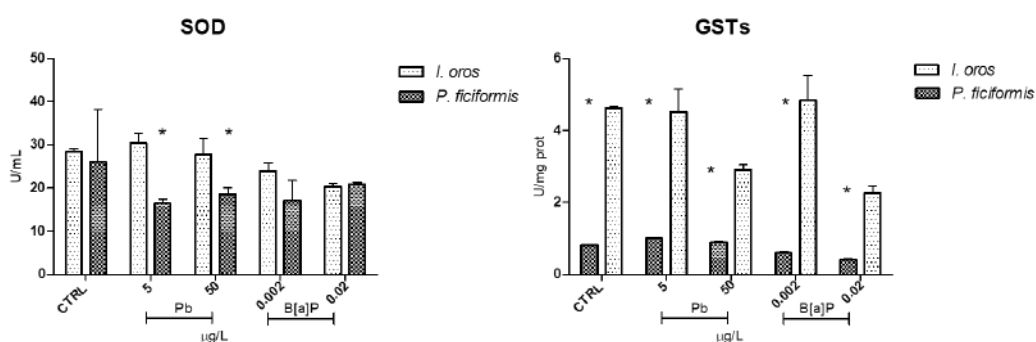


Figura 12. Attività superossido dismutasi (SOD) (U/mL) e attività glutazione S-transferasi (GSTs) (U/mg prot). Differenze statisticamente significative (Two-way ANOVA) tra le specie sono riportate con l'asterisco: * $p < 0.05$.

Significativi livelli di Pb sono stati ritrovati in entrambe le specie, con una maggiore capacità di bioaccumulo da parte di *P. ficiformis* (~10 volte) rispetto a *I. oros* (~4 volte) quando esposta a 50 µg/L. Al contrario, le quantità di idrocarburi aromatici presenti in entrambi gli organismi sono risultate

inferiori ai limiti di quantificazione (<LOQ), probabilmente a causa delle basse concentrazioni utilizzate durante il test o dal breve periodo di esposizione (Tabella 5).

Tabella 5. Valori di Pb (mg/kg s.s.) (5 e 50 µg/L) e B[a]P (µg/kg s.s.) (0.002 e 0.02 µg/L) accumulati in *Ircinia oros* e *Petrosia ficiformis* dopo 7 giorni di esposizione.

Parametro	Trattati	Unità di misura	LOQ	Specie	
				<i>I. oros</i>	<i>P. ficiformis</i>
Pb	0.0 µg/L	mg/kg s.s.	1.0	2.5	2.3
	5.0 µg/L	mg/kg s.s.	1.0	7.1	8.8
	50.0 µg/L	mg/kg s.s.	1.0	8.4	23.4
B[a]P	0.0 µg/L	µg/kg s.s.	1.0	<1.0	<1.0
	0.002 µg/L	µg/kg s.s.	1.0	<1.0	<1.0
	0.02 µg/L	µg/kg s.s.	1.0	<1.0	<1.0

In matrice acquosa, entrambe le concentrazioni nominali di Pb sono apparse superiori ai limiti di quantificazione (LOQ) sia al t0 che a t7. Tuttavia, dopo 7 giorni di esposizione, il metallo ha esibito un trend decrescente nel trattamento 50 µg/L, con valori dalle 5 alle 12 volte inferiori per i trattati con *I. oros* e *P. ficiformis* rispettivamente (Tabella 6). Per quanto riguarda il B[a]P, i valori sono risultati al di sotto del limite di rilevabilità dello strumento. Questi risultati hanno confermato le elevate proprietà filtranti e di bioaccumulo da parte di entrambe le spugne, con particolare attenzione per *P. ficiformis*.

Tabella 6. Concentrazioni nominali (Conc. Nominali) di Pb (µg/L) e B[a]P (µg/L) nei campioni di acqua raccolti al tempo zero (t0) e finale (t7).

			<i>I. oros</i>			
			t0		t7	
Parametro	Trattati	Unità di misura	LOQ	Conc. nominali	LOQ	Conc. nominali
Pb	5.0 µg/L	µg/L	1	1.5	1	1.2
	50.0 µg/L	µg/L	1	17.6	1	3.3
B[a]P	0.002 µg/L	µg/L	0.001	<0.001	0.001	<0.001
	0.02 µg/L	µg/L	0.001	<0.001	0.001	<0.001
			<i>P. ficiformis</i>			
			t0		t7	
Parametro	Trattati	Unità di misura	LOQ	Conc. nominali	LOQ	Conc. nominali
Pb	5.0 µg/L	µg/L	1	1.7	1	0.9
	50.0 µg/L	µg/L	1	28.6	1	2.3
B[a]P	0.002 µg/L	µg/L	0.001	<0.001	0.001	<0.001
	0.02 µg/L	µg/L	0.001	<0.001	0.001	<0.001

2.2.5. Valutazione sperimentale della capacità di filtrazione di microorganismi batterici da parte di *Ircinia oros* e *Petrosia ficiformis*

Nei mesi di novembre e dicembre 2020, sono stati eseguiti due esperimenti per valutare la capacità di entrambe le specie nel filtrare i batteri liberi presenti in colonna d'acqua. Sedici frammenti di ciascuna specie di spugna (~30 g peso fresco l'uno) sono stati campionati lungo la costa di Nisporto, ad una profondità di 5-7 metri e trasportati in laboratorio in contenitori refrigerati. In laboratorio i campioni sono stati posizionati in 8 acquari (2 frammenti *per* acquario) contenenti 3 L di acqua di mare artificiale (ASW) (salinità 37 PSU) ed un ossigenatore.

Dopo 4 gg di acclimatazione, ad entrambe le specie, è stata inoculata una concentrazione nota del batterio fecale *Escherichia coli*. Al termine del periodo di esposizione, durato 7 gg, i tessuti sono stati omogenizzati in acqua peptonata, filtrati a 0.22 µm. Successivamente, sia gli omogenizzati ottenuti che le acque sono stati piastrati per inclusione su un terreno di coltura (Modified Scholten Agar (MSA)) e lasciati ad incubare per 24 ore (24h). Le colonie batteriche formatesi sulle piastre sono state contate utilizzando il metodo delle unità formanti colonie (CFU). La densità batterica è stata espressa come unità formanti colonie su grammi (CFU/g) per i campioni di spugna e come unità formanti colonie su litri (CFU/L) per i campioni di acqua.

Nei frammenti della specie *P. ficiformis*, la carica batterica è risultata significativamente maggiore rispetto ai frammenti non esposti. Contrariamente, nessuna differenza significativa è stata rilevata tra frammenti esposti e i non esposti di *I. oros* (Fig. 13). Confrontando le due specie, non sono state riscontrate differenze statisticamente significative né tra i controlli né tra gli esposti. Relativamente ai campioni d'acqua prelevati da entrambi gli esperimenti (*I. oros*: ACQ I; *P. ficiformis*: ACQ P), non sono state riscontrate differenze statisticamente significative in termini di densità batteriche tra trattati (CTRL e *E. coli*) (Fig. 14). Al contrario, confrontando il contenuto batterico tra i due esperimenti, concentrazioni significativamente maggiori sono state ritrovate nei campioni d'acqua contenenti *P. ficiformis*.

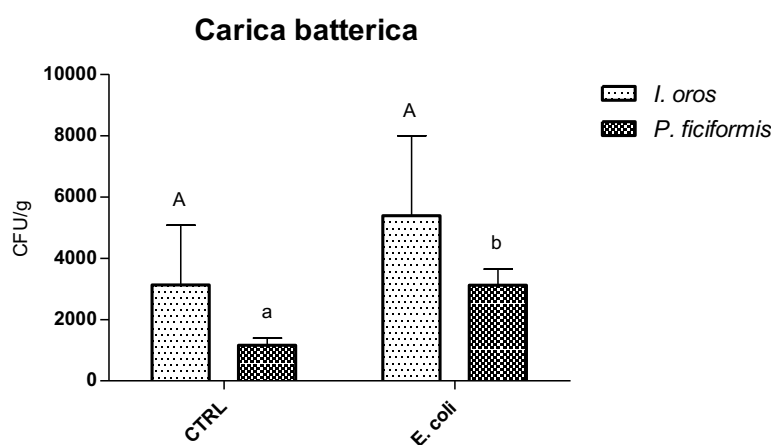


Figura 13. Confronto della carica batterica tra frammenti di controllo (CTRL) ed esposti (*E. coli*) di *Ircinia oros* e *Petrosia ficiformis*. Differenze statisticamente significative (Unpaired t-test) tra trattati (CTRL e *E. coli*) sono riportate con lettere maiuscole e minuscole per le specie *Ircinia oros* e *Petrosia ficiformis*, rispettivamente. $p < 0.01$

Dai risultati ottenuti, si è ipotizzata o ad una contaminazione dell'acqua dovuta al rilascio di batteri simbiotici causata del deterioramento di alcuni frammenti o ad una filtrazione, da parte di entrambe le specie, di popolamenti microbici liberi nella colonna d'acqua che hanno generato un aumento, in termini di concentrazione, della carica batterica nei tessuti.

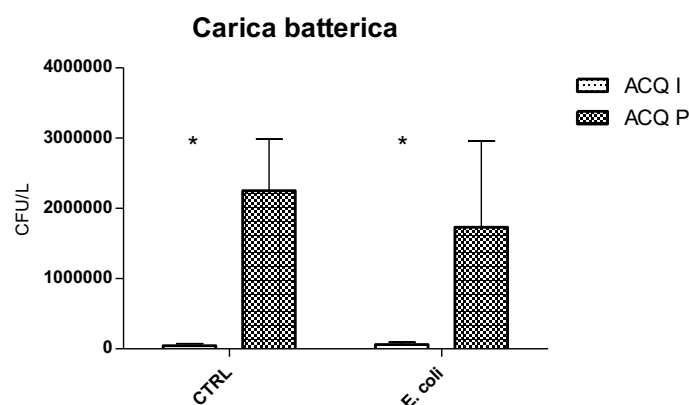


Figura 14. Confronto della carica batterica tra acque di controllo (CTRL) ed esposte (*E. coli*) a frammenti di *Ircinia oros* (ACQ I) e *Petrosia ficiformis* (ACQ P). Differenze statisticamente significative (Unpaired t-test) tra le acque sperimentali (ACQ I e ACQ P) sono riportate con l'asterisco: * $p < 0.05$.

2.2.6. Valutazione sperimentale della risposta di spugne a stress termico

Nel mese di luglio 2020, è stato condotto un esperimento per valutare l'efficienza di filtrazione nella specie *I. oros* esposta a stress termico. Alcuni individui sono stati raccolti ad una profondità compresa tra 5 e 10 metri e trasportati in laboratorio in contenitori refrigerati. In laboratorio, gli individui sono stati tagliati in modo da ottenere 27 frammenti, ognuno con almeno un osculo, e posizionati in 9 acquari (3 frammenti *per* acquario) contenenti 8 L di NSW filtrata a 0.45 μm , un ossigenatore, una pompa per il ricircolo dell'acqua e un termostato per regolare la temperatura. Durante il periodo di acclimatazione l'acqua è stata mantenuta alla temperatura di controllo di 21°C. Al termine di questo periodo, la temperatura di alcuni acquari (3 *per* trattamento) è stata aumentata gradualmente fino al raggiungimento delle temperature richieste per il test (26° e 30° C). La durata del test è stata di 7 gg. All'inizio dell'esperimento (t0), dopo 24h (t1), 72h (t3) e alla fine del test (t7), sono stati prelevati 10 mL di acqua in prossimità dei pori (acqua inalata IN) e degli osculi (acqua espulsa EX) e, utilizzando la camera di burker, è stato conteggiato il numero di cellule algali stimandone la concentrazione. Ottenuto questo dato, l'efficienza di filtrazione (EF) è stata calcolata secondo la formula matematica:

$$EF = \frac{IN - EX}{IN} \times 100$$

Valori di EF negativi all'inizio dell'esperimento indicano uno stress causato dalla manipolazione degli individui. Il progressivo aumento dell'EF suggerisce un possibile recupero delle

funzionalità dopo 7 gg. Alla fine dell'esperimento, sono stati raggiunti valori di EF positivi, significativamente maggiori rispetto agli altri trattamenti di temperatura, solamente nei frammenti di spugna mantenuti a 26° C. (Fig. 15).

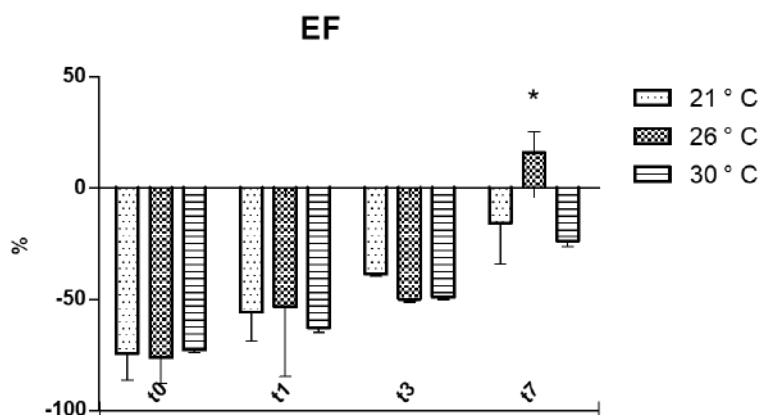


Figura 15. Efficienza di filtrazione dei frammenti di *Ircinia oros* esposti a diverse temperature: (21°C, 26°C e 30 °C) nei diversi tempi di esposizione. Differenze statisticamente significative (Two-way ANOVA) tra i trattamenti sono indicati con l'asterisco: * $p < 0.05$.

2.2.7. Risposta fisiologica di *Petrosia ficiformis* all'esposizione a microplastiche

In data 05/04/2021, è stato avviato un esperimento in condizioni controllate per valutare la capacità di filtrazione di microplastiche da parte delle spugne e la loro risposta fisiologica. Ventuno frammenti (~50 g peso fresco l'uno) appartenenti alla specie *P. ficiformis* sono stati campionati lungo il tratto di costa compreso tra Nisportino e Capo Vita, ad una profondità di 5-7 metri, e trasportati in laboratorio in contenitori refrigerati. I frammenti sono stati acclimatati per 4 giorni in NSW filtrata 0.45 µm (salinità 38 PSU), ossigenata in continuo, con una esposizione di fotoperiodo di 12:12 e mantenuti ad una temperatura di $16 \pm 2^\circ\text{C}$. Nessun tipo di alimentazione è stato somministrato per l'intera durata del periodo di acclimatazione e durante il test. I frammenti sono stati successivamente esposti a 500 ng/mL di Polietilene (PE) (<63 µm) per 24h e 72h. Infine, l'acqua è stata rinnovata eliminando il contaminante (72hR), valutando dopo altre 72h la capacità di recupero dei frammenti precedente esposti. Il test è stato allestito in 4 repliche (3 L ogni replica) per trattamento e 9 repliche per il controllo con un frammento, dotato di un osculo (Fig. 16), per replica. Dopo 24h, 72h e 72hR, 3 frammenti per trattato ed i 2 rispettivi controlli (CTRL) sono stati quindi utilizzati per valutare risposte biologiche a breve termine quali i tassi di filtrazione (FR) e di respirazione (RR). Al termine delle analisi, i campioni sono stati seccati in stufa a 48°C per 72h. I rimanenti frammenti (1 per trattamento e rispettivo controllo) sono stati conservati a -20°C per analisi istologiche finalizzate a valutare la presenza/assenza di frammenti di PE nei tessuti. Sono stati prelevati 50 mL d'acqua per trattamento per effettuare delle misurazioni del diametro idrodinamico del materiale plastico (stato

di aggregazione) attraverso il dynamic light scattering (DLS); la restante acqua è stata filtrata attraverso membrane in nitrato di cellulosa 0.45 µm per la conta delle particelle presenti in colonna.



Figura 16. Frammento di *Petrosia ficiformis* con osculo

Il tasso di filtrazione (o clearance rate) è stato espresso come il volume di acqua da cui, grazie all'attività di filtrazione dell'animale, sono rimosse, nell'unità di tempo, tutte le particelle in sospensione. L'alga impiegata è stata *Isochrysis. galbana* alla concentrazione di 30000 cell/mL. Per la misurazione è stato adottato un approccio statico ed è stata effettuata individualmente su 5 frammenti (3 per trattamento e 2 per il rispettivo controllo) mantenuti in beakers. La filtrazione è stata misurata su un volume di 300 µL per una durata di 90 min. Per il conteggio della concentrazione algale, un'aliquota di 1 mL è stata prelevata ad intervalli regolari (30 min) ed è stata determinata mediante spettrofotometro JENWAY GENOVA PLUS. Il tasso di filtrazione (FR) è stato calcolato con la seguente formula:

$$FR = V/t \times \ln(C_0/C_t)$$

dove C_0 e C_t rappresentano le concentrazioni algali all'inizio e alla fine di ciascun periodo t ; V è il volume d'acqua in ogni beaker. Dai risultati ottenuti, si è evince come la capacità di filtrazione delle spugne sia stata influenzata significativamente dalla presenza delle microplastiche. Confrontando le risposte ottenute alle diverse condizioni saggiate, si è osservato una significativa riduzione del tasso di filtrazione dopo 72h di esposizione rispetto al controllo (Fig. 17).

Contrariamente, dopo 72h di depurazione (72hR), si è assistito un significativo aumento del FR, ipotizzando ad un incremento dell'apporto energetico a seguito di un possibile recupero da parte della spugna delle proprie funzioni fisiologiche (Fig. 17). Il tasso di respirazione (RR) è stato misurato utilizzando un ossigrafo HANSATECH OXYGRAPH+ dotato di un elettrodo per ossigeno polarografico di tipo S1 Clark ad alta sensibilità, montato all'interno di una camera DW1/AD e collegato all'unità di controllo Oxygraph Plus. La misurazione è stata effettuata individualmente su 5 frammenti (3 per trattamento e 2 per il rispettivo controllo). Il consumo di ossigeno disciolto (nM/min) è stato misurato nell'arco di tempo di 2h e rapportato al peso secco di ogni frammento analizzato (DW).

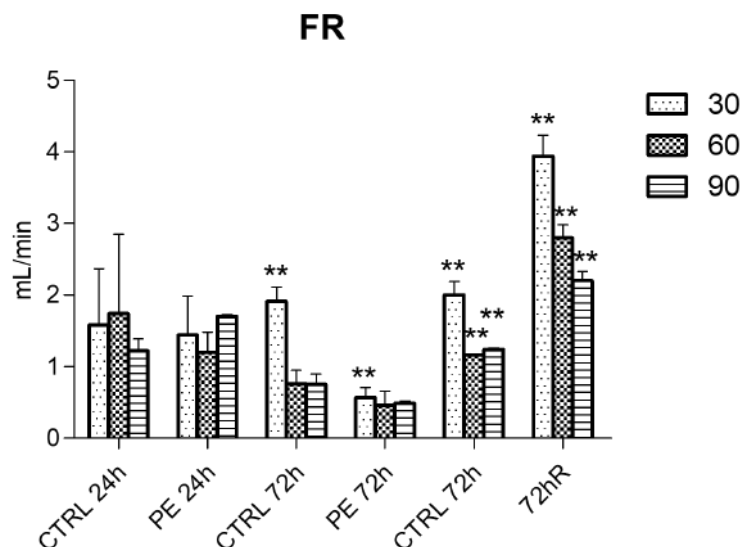


Figura 17. Confronto nei diversi tempi di misurazione (30, 60 e 90 min) tra il tasso di filtrazione (FR) (mL/min) calcolato nei frammenti di *Petrosia ficiformis* esposti a PE dopo 24h (PE 24h), 72h (PE 72h), 72h di recupero (72hR) e i rispettivi controlli. I Valori sono espressi come media $\pm$ deviazione standard. Differenze statisticamente significative (Two-way ANOVA) sono riportate con l'asterisco: * $p<0.05$; ** $p<0.01$; *** $p<0.001$

Anche la respirazione è stata influenzata in modo significativo dalla presenza di microplastiche. Il tasso di respirazione tra frammenti esposti e non esposti è rimasto invariato per le prime 24h, mentre si è assistito ad un calo dopo 72h. Differenze sono state osservate anche dopo 72h di depurazione (72hR), con valori di respirazione significativamente più bassi per i frammenti depurati (Fig. 18). La presenza di microplastiche di ridotte dimensioni appare quindi un fattore limitante dell'attività di filtrazione dell'acqua da parte delle spugne.

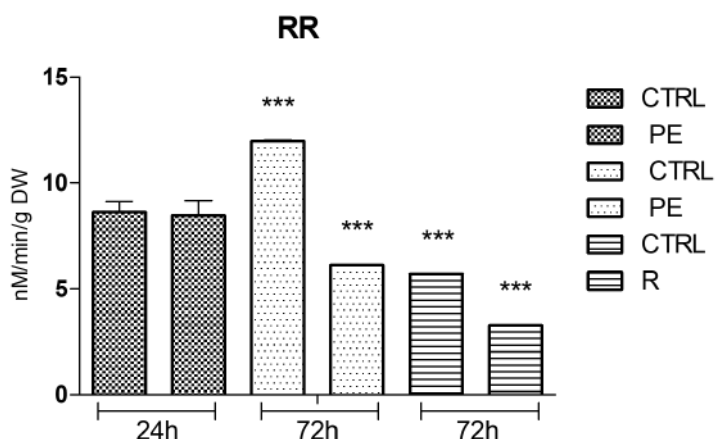


Figura 18. Confronto tra il tasso di respirazione (RR) (nM/min/g DW) calcolato nei frammenti di *Petrosia ficiformis* esposti a PE dopo 24h (PE 24h), 72h (PE 72h), 72h di recupero (72hR) e i rispettivi controlli. I Valori sono espressi come media $\pm$ deviazione standard. Differenze statisticamente significative (Two-way ANOVA) sono riportate con l'asterisco: * $p<0.05$; ** $p<0.01$; *** $p<0.001$.

3. Fase operativa

3.1. Progettazione di moduli per la realizzazione dell'impianto sperimentale di bio-filtraggio e bio-monitoraggio

Per valutare l'utilizzo di spugne di mare per incrementare la qualità delle acque marine e come strumento di bio-monitoraggio in porti turistici, sono stati realizzati alcuni sistemi di supporto sperimentali sui quali installare frammenti di *I. oros* e *P. ficiformis*. In particolare, sono state realizzate due tipologie di strutture: telai in ferro zincato e reti in fibra vegetale. I telai sono stati inizialmente disegnati in modo da poter supportare le spugne in quattro ripiani sovrapposti (Fig. 19). Ogni telaio è composto da 4 golfari sulla parte superiore e 4 piedi forati nella parte inferiore; questi ultimi sono stati utilizzati per fissare la struttura a delle catenarie e dei corpi morti già presenti sul fondo. Il fissaggio è stato effettuato tramite sagole e cinghie di ancoraggio.

Il secondo sistema è composto da reti in fibra vegetale di circa 1.5 m x 1.5 m, regolabili in tensione, sui nodi delle quali le spugne sono state fissate tramite fil di ferro (Fig. 19). Tali reti sono state disegnate per poter essere applicate in posizione verticale alla superficie inferiore di pontili galleggianti. Entrambi i tipi di supporto strutture sono state progettate e realizzate per essere facilmente applicabili alle strutture artificiali che si trovano comunemente in ambienti portuali.

3.2. Messa in opera dell'impianto di bio-filtraggio

In data 25/06/2020, sono stati dislocati nei pressi del pontile dei residenti (Sito 3 in Fig. 1) alcuni prototipi di moduli per la realizzazione della stazione di filtraggio. Un telaio è stato fissato alla catenaria, che si trova a circa 20 metri dal pontile galleggiante, mediante cinghie di ancoraggio ed una rete alla faccia inferiore del pontile, in posizione verticale e ad una profondità di 3.5 metri. Lungo il tratto di costa all'esterno di Nisporto, ad una profondità di 7-10 metri, sono stati prelevati alcuni frammenti di *I. oros* e *P. ficiformis* e trasportati al Sito 3 in contenitori refrigerati. Sei frammenti di ciascuna specie (dimensioni: circa 3 x 3 cm) sono stati disposti all'interno di reti in ferro zincato successivamente fissate a ciascun ripiano del telaio, mediante fascette autobloccanti biodegradabili. I frammenti di *P. ficiformis* sono stati collocati sul ripiano superiore, quelli di *I. oros* nei due ripiani sottostanti. I restanti frammenti sono stati fissati alla rete mediante filo metallico. La funzionalità dell'ancoraggio di entrambi i sistemi di supporto e la sopravvivenza delle spugne sono stati esaminati in data 09/07/2020. Sia il telaio che la rete sono stati ritrovati in posizione, indicando una buona efficienza del metodo di fissaggio. Tuttavia, le spugne collocate sul ripiano superiore del telaio non sono sopravvissute, mentre quelle nei ripiani sottostanti sono risultate vitali senza segni evidenti di stress. Tutte le spugne applicate alla rete sono sopravvissute durante il periodo preso in esame e non hanno mostrato evidenti segni di stress.



Figura 19. Telaio ancorato alla catenaria con reti metalliche fissate a ciascun ripiano (sinistra) e rete in fibra vegetale (destra) fissato sotto al pontile dei residenti.

Data la buona performance di entrambi i sistemi di supporto, nella stessa data, sono stati dislocati altri 5 telai in corrispondenza della catenaria precedentemente utilizzata (Fig. 20). Allo scopo di ridurre la mortalità dei frammenti di spugna disposti sul ripiano superiore, la rete metallica di tale ripiano è stata sostituita da rivestimento ombreggiante, garantendo una copertura diretta alle spugne dai raggi solari ed una riduzione del tasso di sedimentazione, ipotizzati essere la principale causa di mortalità.

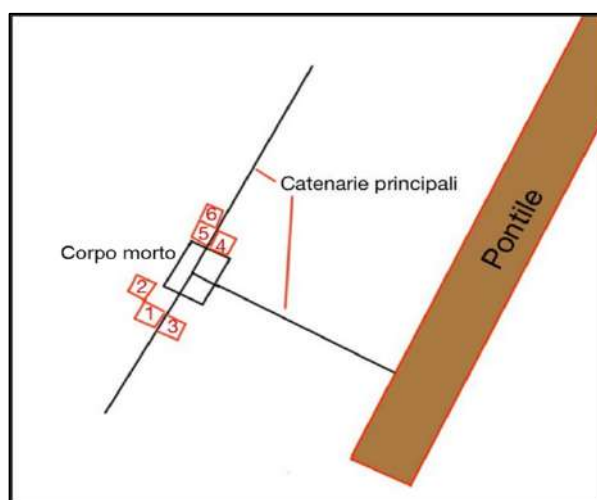


Figura 20. Rappresentazione schematica della dislocazione dei 6 telai nei pressi del pontile dei residenti, Sito 3 all'interno della Darsena Medicea.

In data 08/09/2020, lungo il tratto di costa compreso tra Nisportino e Capo Vita, sono stati prelevati 100 frammenti per ciascuna specie mediante l'utilizzo di un bisturi chirurgico, ad una profondità di 5-7 metri. Dieci individui di ciascuna delle due specie, dai quali è stata prelevata una porzione (Fig. 21A), sono stati marcati mediante l'utilizzo di fascette autobloccanti, allo scopo di

valutare la loro sopravvivenza e capacità rigenerativa. Tali individui sono stati successivamente esaminati dopo circa 2 e 7 mesi (T1: 09/11/2021; T2: 23/04/2021). In entrambe le specie, la sopravvivenza è stata del 100% ed i tessuti non hanno mostrato segni evidenti di patologie o la presenza di fenomeni di necrosi. Sette mesi dopo prelievo, la maggior parte degli esemplari marcati ha mostrato una completa cicatrizzazione della zona interessata dal taglio (Fig. 21B, C).

I frammenti di spugna sono stati immediatamente trasportati in contenitori refrigerati presso il Sito 3 (“pontile dei residenti”), all’interno della Darsena Medicea. Il fissaggio dei frammenti di *I. oros* e *P. ficiformis* sui moduli di supporto precedentemente installati è avvenuto seguendo le stesse modalità descritte precedentemente. Su 5 dei sei telai in ferro zincato sono stati collocati 18 frammenti di spugna, 6 per ciascuno dei tre ripiani in rete, per un totale di 90 frammenti. La composizione in specie di spugne di ciascun telaio è riportata nella Tabella 7. Una rete ombreggiante è stata applicata sulla parte superiore di tutti i telai (Fig. 22).

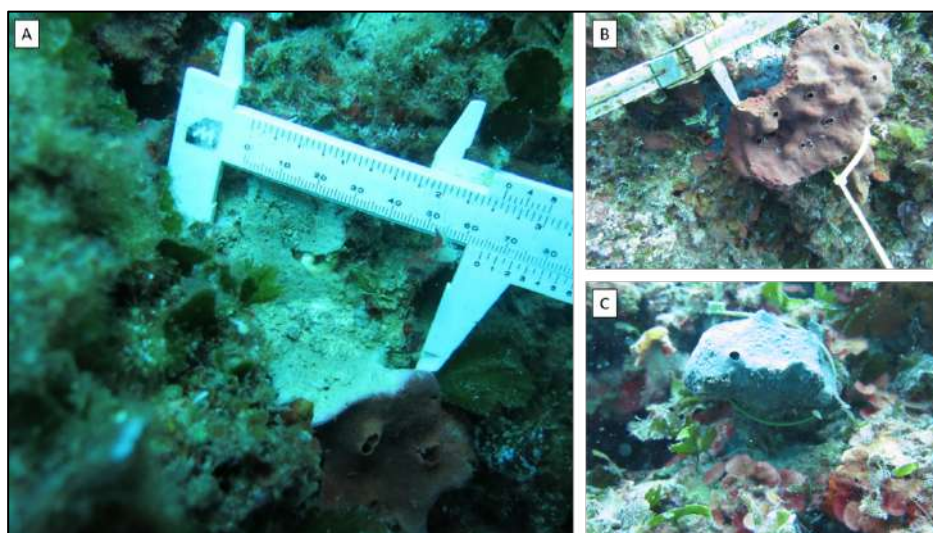


Figura 21. Esemplare di *Petrosia ficiformis* da cui è stato appena un frammento (A) in data 08/09/2020 e (B) dopo circa 7 mesi (09/11/2020). Esempio di cicatrizzazione dei tessuti in *Ircinia oros* 7 mesi dopo il prelievo (C).

Tabella 7. Dettagli relativi all’installazione dei telai e successivo posizionamento di frammenti di spugne.

Telaio	Data installazione	Specie di spugna	N. frammenti	Note
1	26_06_2020	<i>Ircinia oros</i> + <i>Petrosia ficiformis</i>	18 (6 x 3 ripiani)	No rete ombreggiante
2	8_09_2020	<i>Petrosia ficiformis</i>	18 (6 x 3 ripiani)	Rete ombreggiante
3	8_09_2020	<i>Ircinia oros</i> + <i>Petrosia ficiformis</i>	18 (6 x 3 ripiani)	Rete ombreggiante
4	8_09_2020	<i>Ircinia oros</i> + <i>Petrosia ficiformis</i>	18 (6 x 3 ripiani)	Rete ombreggiante
5	8_09_2020	<i>Petrosia ficiformis</i>	18 (6 x 3 ripiani)	Rete ombreggiante

Due reti in canapa, (numero 4 e 5 in Fig. 23A) sono state collocate in corrispondenza della zona di incrocio di due catenarie nella sezione prossima alla testa del pontile. Inoltre, per mantenere in posizione altre reti al di sotto del pontile è stato realizzato un sistema di supporto costituito da tiranti in cima sintetica applicati a catene e supporti del pontile già presenti. Questo ha permesso il posizionamento di altre 3 reti in fibra vegetale, in canapa o juta (1, 2 e 3 in Fig. 23A).

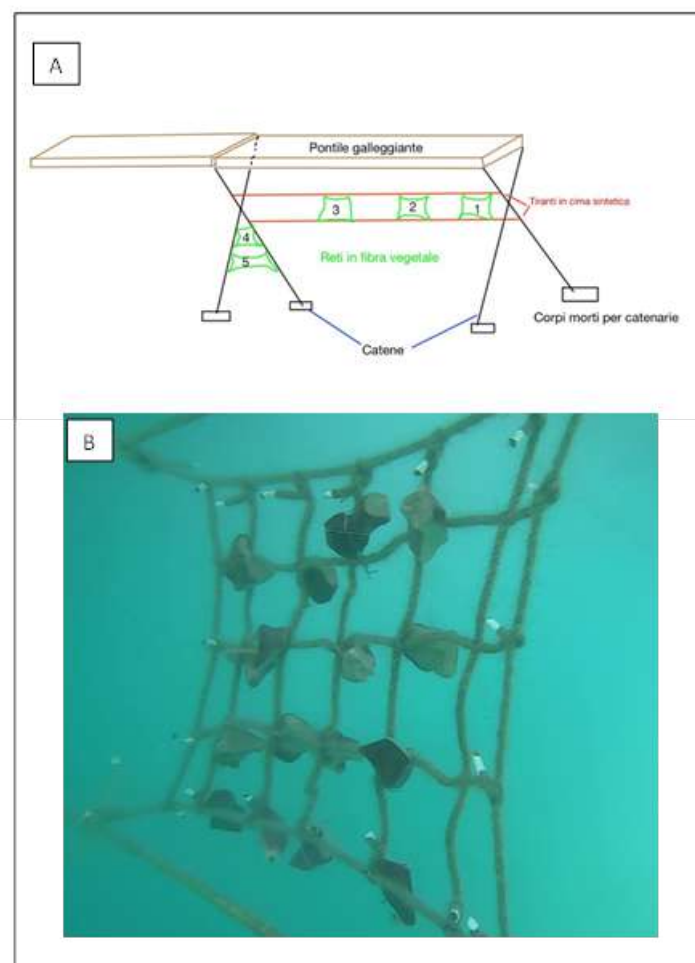
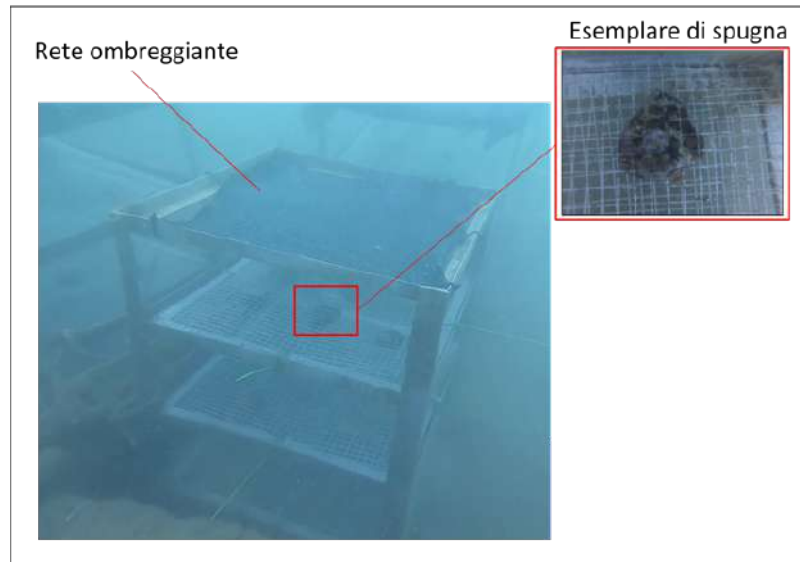


Figura 23. A. Rappresentazione schematica dell'applicazione di reti in fibra vegetali al pontile galleggiante; B. Esempio di posizionamento di frammenti di *Petrosia ficiformis* su di una rete.

I dettagli, in termini di numero di frammenti e composizione specifica delle spugne fissate alle reti mediante filo metallico (Fig. 23B), sono riportati nella Tabella 8.

Tabella 8. Dettagli relativi all'installazione delle reti e successivo posizionamento di frammenti di spugne.

Rete	Data installazione	Specie di spugna	N. frammenti	Note
1	8_09_2020	<i>Ircinia oros</i>	27	Rete in juta
2	8_09_2020	<i>Petrosia ficiformis</i>	16	Rete in juta
3	8_09_2020	<i>Petrosia ficiformis</i>	7	Rete in juta
4	26_6_2020	<i>Ircinia oros</i> + <i>Petrosia ficiformis</i>	10	Rete in canapa
5	8_09_2020	Nessuna	0	Rete in canapa

La temperatura e la luce in prossimità dei telai e delle reti è stata monitorata in continuo nel periodo novembre 2020 – maggio 2021 mediante l'utilizzo di loggers (HOBO® PendantTemperature/Light Data Logger UA-002-XX), applicati mediante fascette autobloccanti biodegradabili (Fig. 24). I dati relativi all'intensità luminosa sono stati raccolti per un periodo più breve, in quanto la colonizzazione da parte di organismi marini sessili (fouling) riduce generalmente l'attendibilità dei dati dopo un periodo di circa 3 mesi.



Figura 24. Immagine di HOBO Pendant® Temperature/Light data logger.

I dati registrati indicano l'assenza di differenze di rilievo tra i valori di temperatura in corrispondenza dei telai e delle reti (Fig. 25A). Al contrario, si nota come le reti, in seguito all'ombreggiamento da parte del pontile galleggiante, siano esposti ad una minore intensità luminosa rispetto ai telai (Fig. 25B).

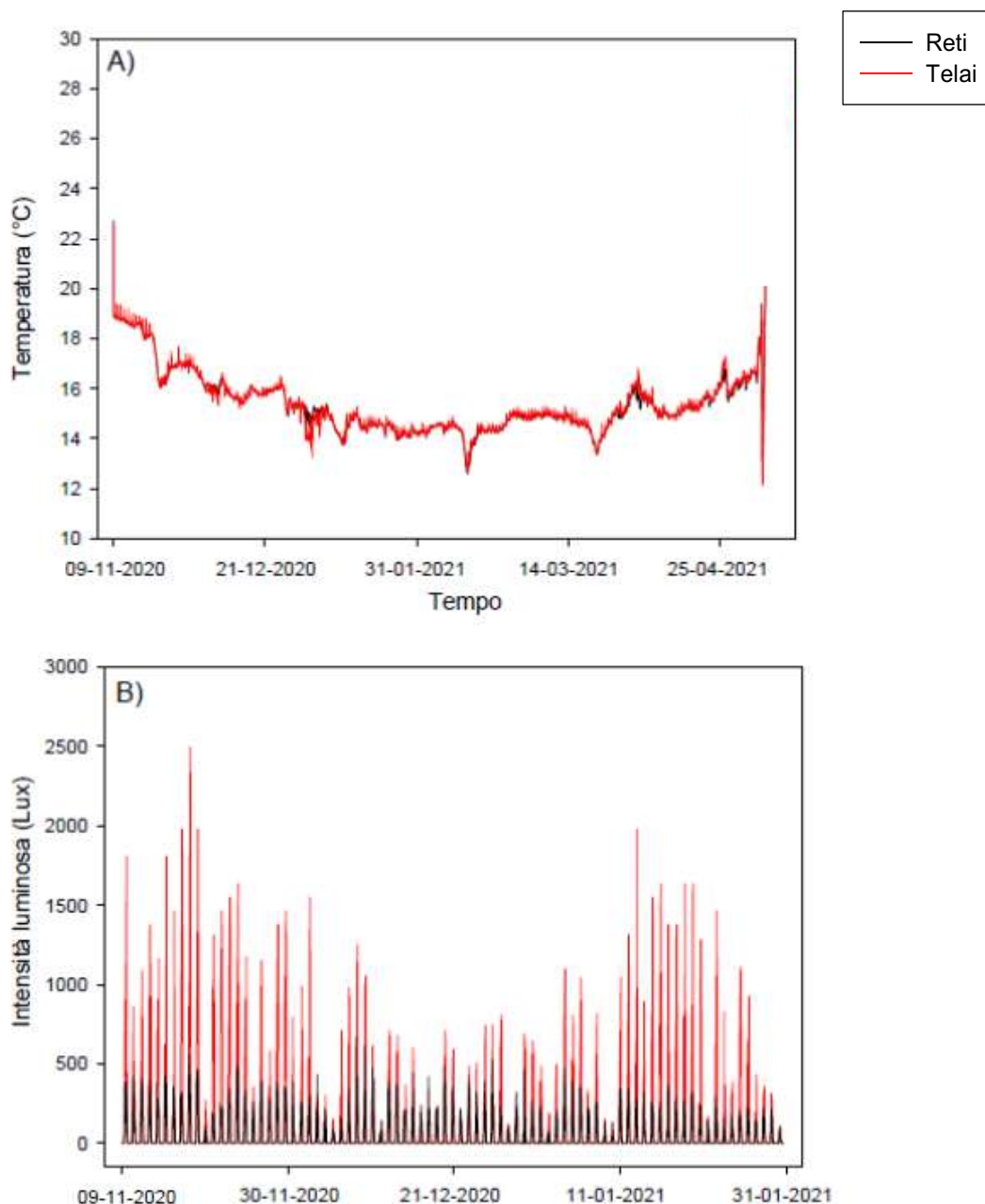


Figura 25. (A) temperatura e (B) intensità luminosa registrati in corrispondenza dei telai e delle reti nella Darsena Medicea di Portoferraio. Si noti la differenza in scala degli assi x ed y tra i due grafici.

3.3. Monitoraggio degli effetti dell'azione pilota

3.3.1. Analisi sulle spugne

Dodici frammenti di ciascuna specie (circa 10 g ciascuno) tra quelli prelevati in occasione della messa in opera dell'impianto di bio-filtraggio (8 settembre 2020) sono stati trasportati in laboratorio per analizzarne lo stato di salute, la concentrazione di composti organici e inorganici

(tempo iniziale – T0). Nel mese di ottobre 2020 (12/10/2020), gennaio (21/01/2021) ed aprile 2021 (23/04/2021) sono stati effettuati il primo (T1), il secondo (T2) ed il terzo (T3) monitoraggio, con lo scopo di valutare nel tempo l'efficacia di funzionamento della stazione di filtraggio, esaminando la sopravvivenza delle spugne e la loro capacità di filtrazione sia di inquinanti organici e inorganici che di componenti batteriche e virali.

3.3.1.1. Analisi biologiche

Per valutare lo stato di salute di *I. oros* e *P. ficiformis*, per ogni data di monitoraggio, sono stati prelevati in modo casuale da entrambi i sistemi di supporto (telai e reti) 3 frammenti per ciascuna specie (circa 10 g ciascuno), analizzandone il contenuto di riserve energetiche (contenuto di glicogeno: GLY), la capacità metabolica (sistema di trasporto degli elettroni: ETS), il danno cellulare (perossidazione lipidica delle membrane: LPO), il danno al corredo genico (DNA ssB) e l'attività di enzimi antiossidanti e di biotrasformazione (superossido dismutasi: SOD) e glutatione S-transferasi: GSTs). A causa dell'assenza di frammenti di *I. oros* sulle reti in occasione del terzo monitoraggio (T3), non è stato possibile effettuare le analisi su questa specie.

In generale, i frammenti di *I. oros*, quando trapiantati su entrambi i sistemi di supporto, hanno mostrato nel tempo un'alterazione delle loro capacità metaboliche e riserve energetiche, un maggiore danno cellulare ed al corredo genico ed un'alterazione delle difese antiossidanti e di biotrasformazione. Dai risultati ottenuti, l'utilizzo delle reti in fibra vegetale sembrerebbe la soluzione migliore per la realizzazione della stazione di filtraggio. Tuttavia, è da notare il progressivo calo fisiologico in *I. oros* all'aumentare del tempo di permanenza su entrambi i tipi di supporto.

In dettaglio, nonostante non siano state riscontrate differenze statisticamente significative tra reti e telai in termini di riserve energetiche (Figura 26 AII), è emersa un'elevata variabilità nel contenuto di GLY nel tempo nei frammenti posizionati sui telai (Figura 26 AI). Al contrario, sono emerse variazioni significative nell'ETS in funzione dei diversi sistemi di supporto (Figura 26 BI) e del tempo (Figura 26 BII); tuttavia, in entrambi i casi, le capacità metaboliche della spugna è risultata significativamente maggiore rispetto al T0, suggerendo che tali variazioni possano essere legate a fluttuazioni stagionali nelle condizioni ambientali. Significativi danni cellulari e al corredo genico sono stati ritrovati nei frammenti trapiantati su entrambi i sistemi (Fig. 27 AI, BI); sia i valori di LPO che di danno al DNA sono risultati essere maggiormente elevati al tempo T2 per i frammenti presenti sulle reti e al T3 per quelli sui telai (Fig. 27 AII, BII).

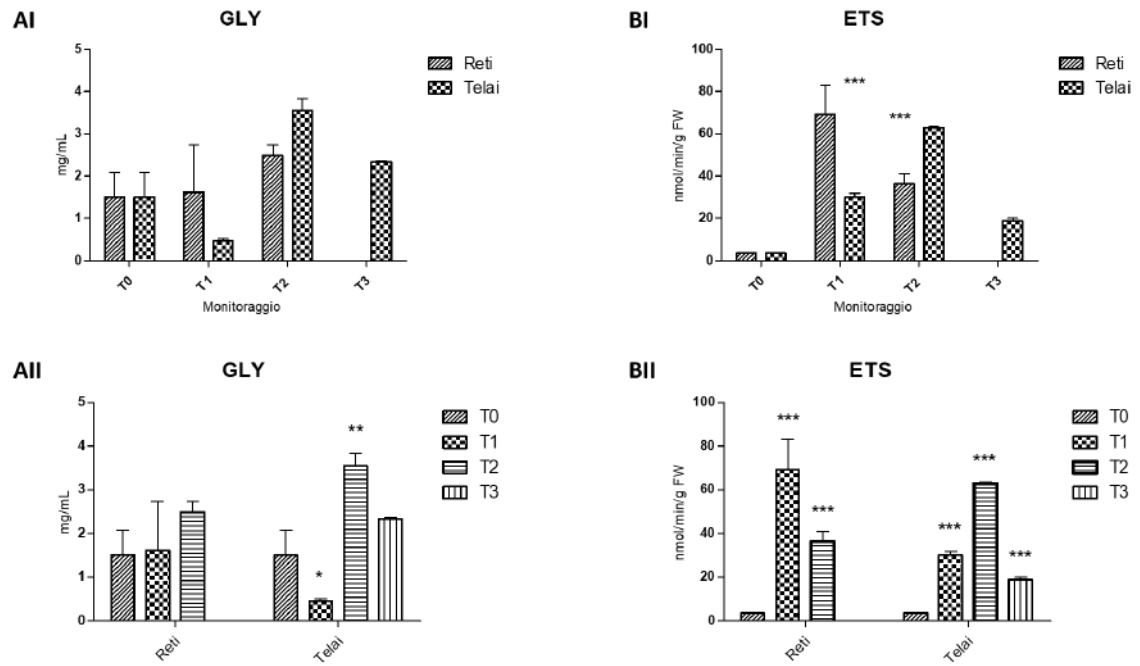


Figura 26. Contenuto di glicogeno (GLY) (mg/mL) e sistema di trasporto degli elettroni (ETS) (nmol/min/mg prot) in *I. oros*. Confronto tra sistemi di supporto (AI-BI) e tempi di monitoraggio (AII-BII). Differenze statisticamente significative (Two-way ANOVA) sono riportate con l'asterisco: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$.

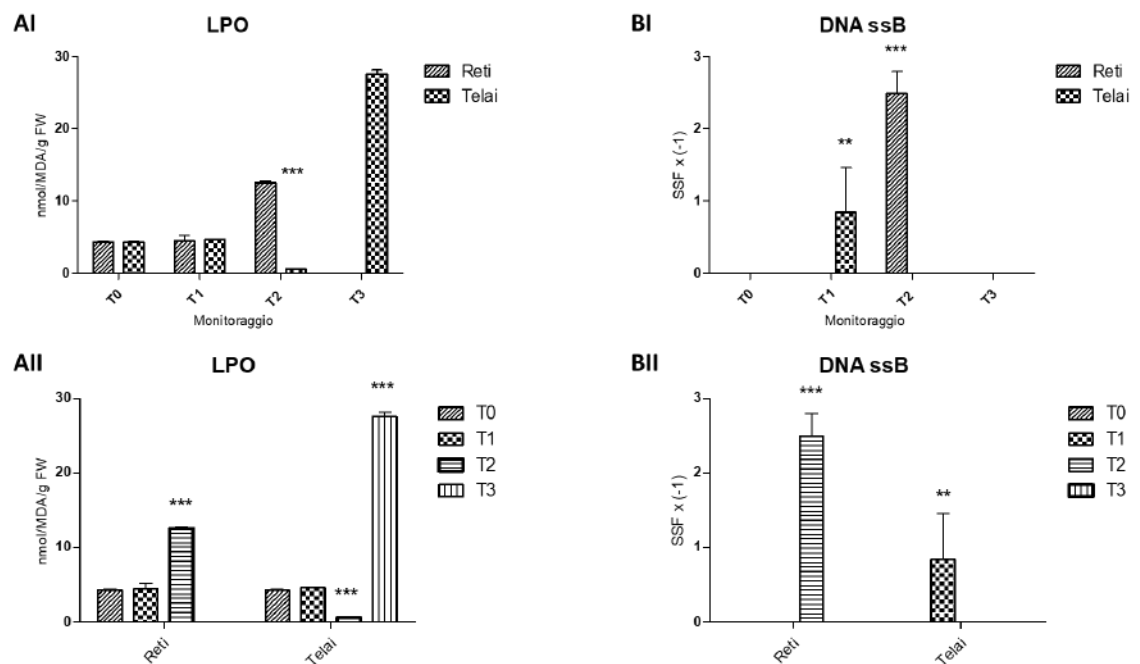


Figura 27. Perossidazione lipidica delle membrane (LPO) (nmol/MDA/g FW) e Danno al DNA (DNA ssB) (Standard Scissor Factor (-1)) in *I. oros*. Confronto tra sistemi di supporto (AI-BI) e tempi di monitoraggio (AII-BII). Differenze statisticamente significative (Two-way ANOVA) sono riportate con l'asterisco: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$.

L'attivazione del sistema enzimatico antiossidante è risultato essere significativamente maggiore nei frammenti trapiantati sui telai e prelevati ad ottobre (T1) (Fig. 28 AI). Tuttavia, nelle spugne campionate da entrambi i supporti, è stata osservata una significativa diminuzione dell'efficienza dei sistemi di difesa (Fig. 28 AII). Un' inibizione tempo-dipendente nei frammenti di entrambi i sistemi di supporto è stata osservata anche per quanto riguarda l'attività di biotrasformazione (Fig. 28 BII). Non si sono evidenziate differenze statisticamente significative tra telai e reti (Fig. 28 BI).

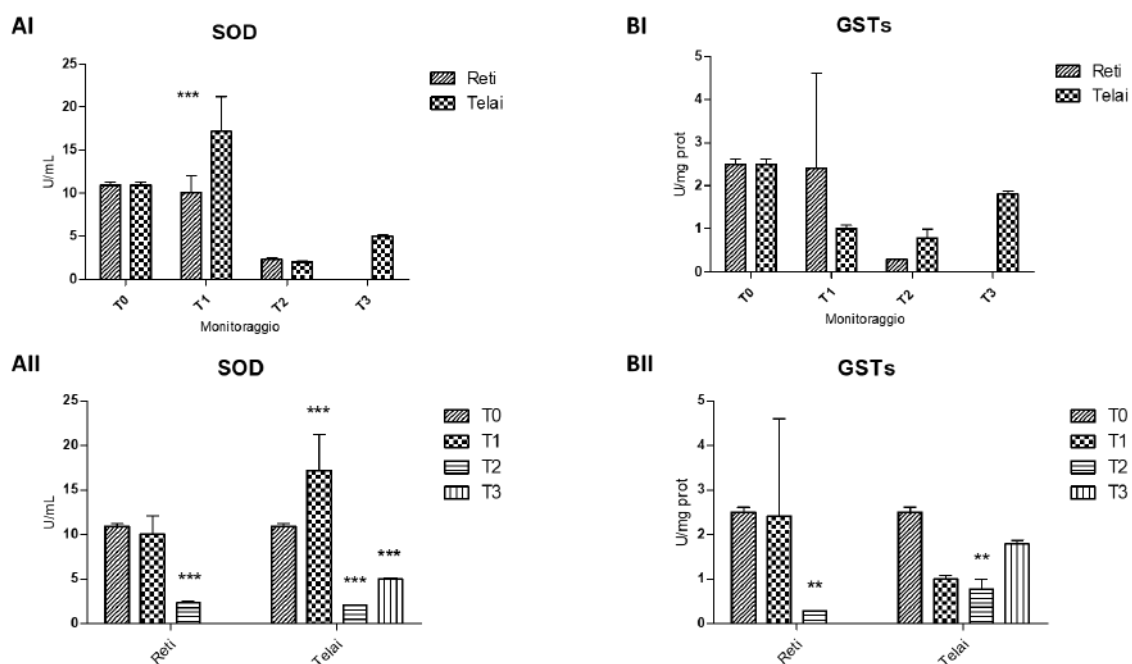


Figura 28. Attività superossido dismutasi (SOD) (U/mL) e attività glutazione S-transferasi (GSTs) (U/mg prot) in *I. oros*. Confronto tra sistemi di supporto (AI-BI) e tempi di monitoraggio (AII-BII). Differenze statisticamente significative (Two-way ANOVA) sono riportate con l'asterisco: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$

Come per *I. oros*, anche i frammenti di *P. ficiformis* trapiantati su entrambi i sistemi di supporto hanno subito nel tempo un'alterazione delle loro riserve energetiche, un maggiore danno cellulare e al corredo genico e un'alterazione delle difese antiossidanti e di biotrasformazione rispetto al T0. Nessuna differenza invece è stata osservata in termini di capacità metaboliche (Fig. 29). I dati ottenuti convalidano le ipotesi formulate precedentemente riguardo la migliore funzionalità delle reti in fibra vegetale come supporti per la realizzazione della stazione di filtraggio. Anche in questo caso, è necessario tenere in considerazione il calo delle attività fisiologiche della spugna durante il periodo invernale. In linea generale, questa specie ha esibito una funzionalità fisiologica migliore sulle reti

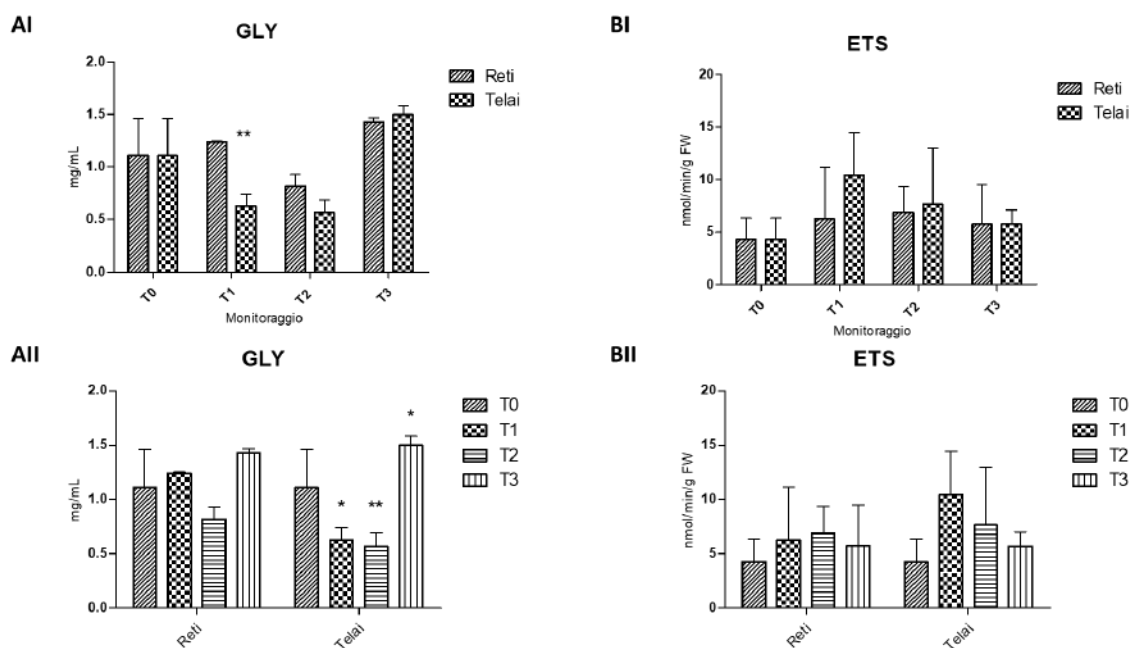


Figura 29. Contenuto di glicogeno (GLY) (mg/mL) e sistema di trasporto degli elettroni (ETS) (nmol/min/mg prot) in *P. ficiformis*. Confronto tra sistemi di supporto (AI-BI) e tempi di monitoraggio (AII-BII). Differenze statisticamente significative (Two-way ANOVA) sono riportate con l'asterisco: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$

Significativi danni cellulari e al corredo genico sono stati ritrovati nei frammenti trapiantati su entrambi i sistemi (Fig. 30 AI, BI); sia i valori di LPO che di danno al DNA sono risultati essere significativamente elevati al tempo T2 per i frammenti presenti sulle reti e al T2 e T3 per quelli sui telai (Fig. 30 AII, BII). In merito alle difese antiossidanti e di biotrasformazione, differenze statisticamente significative tra i due sistemi sono state ritrovate al tempo T1 e T3 con l'attivazione della SOD e GSTs nei frammenti prelevati dai telai (Fig. 31 AI, BI); tuttavia, entrambi gli enzimi hanno subito un'inibizione tempo-dipendente delle loro attività (Fig. 31 AII, BII).

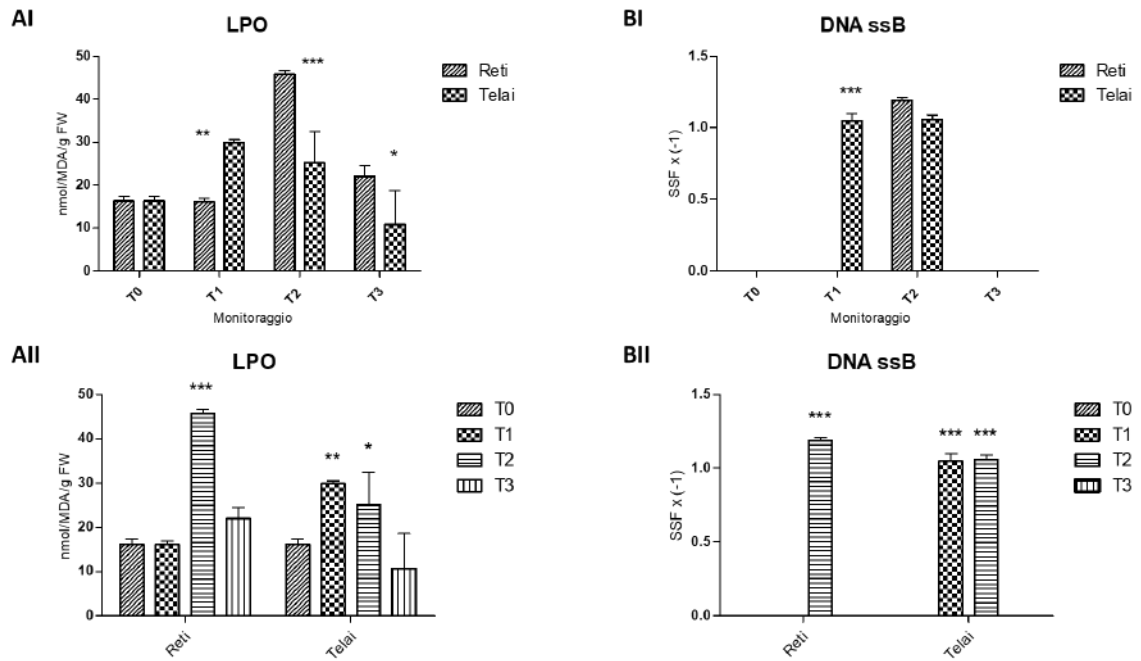


Figura 30. Perossidazione lipidica delle membrane (LPO) (nmol/MDA/g FW) e Danno al DNA (DNA ssB) (Standard Scissor Factor (-1)) in *P. ficiformis*. Confronto tra sistemi di supporto (AI-BI) e tempi di monitoraggio (AII-BII). Differenze statisticamente significative (Two-way ANOVA) sono riportate con l'asterisco: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$

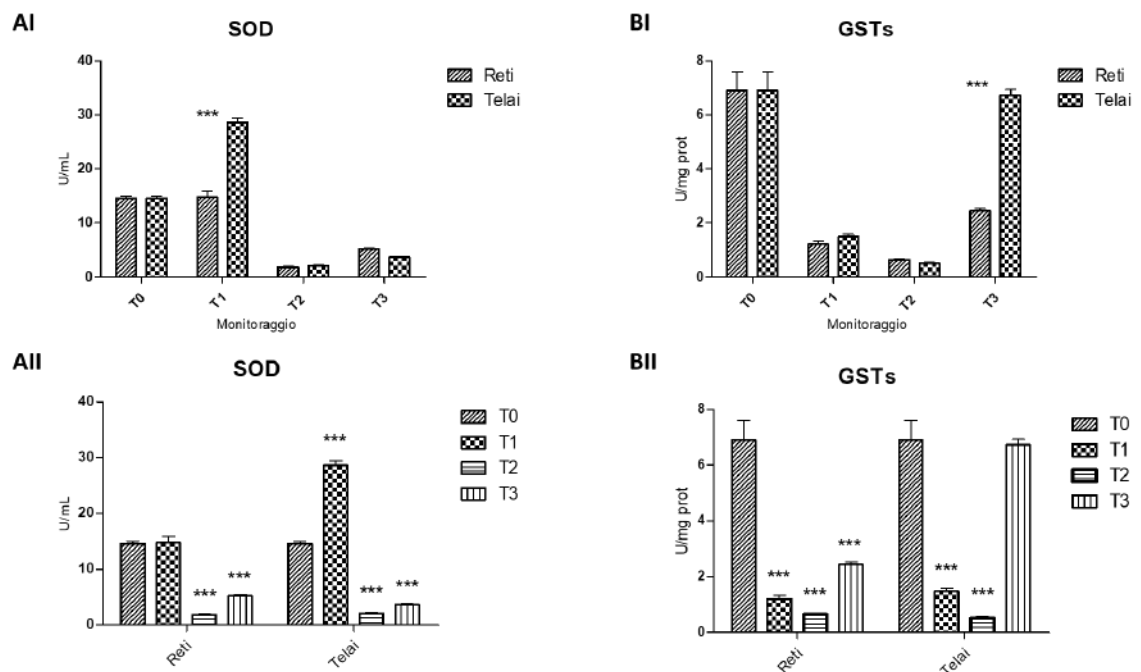


Figura 31. Attività superossido dismutasi (SOD) (U/mL) e attività glutazione S-transferasi (GSTs) (U/mg prot) in *P. ficiformis*. Confronto tra sistemi di supporto (AI-BI) e tempi di monitoraggio (AII-BII). Differenze statisticamente significative (Two-way ANOVA) sono riportate con l'asterisco: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$

3.3.1.2. Concentrazione di microrganismi batterici nelle spugne

Per ciascun evento di monitoraggio, sono stati prelevati in modo casuale 2 frammenti per specie (ciascuno di circa 10 g di peso fresco) da ciascun sistema di supporto. In laboratorio, ogni frammento è stato diluito in 90 mL di acqua peptonata e omogenizzato tramite un frullatore a immersione. L'omogenato è stato filtrato su una garza (porosità 0.22 µm) e piastrato per inclusione su due terreni di coltura selettivi: I) terreno di coltura PCA per rilevare la carica batterica totale e II) terreno Mc Conkie per rilevare gli enterobatteri. Tutte le piastre ottenute sono state incubate a 37°C per 24h. Dopo il periodo di incubazione, le colonie sono state contate utilizzando il metodo delle unità formanti colonie (CFU). Le densità batteriche sono state espresse come unità formanti colonie su grammi (CFU/g). Al terzo monitoraggio (T3), i frammenti di *I. oros* precedentemente collocati sulle reti non sono stati analizzati in quanto terminati nei precedenti prelievi. Non sono state riscontrate differenze statisticamente significative nella carica batterica totale media nei frammenti di *I. oros* né tra i sistemi di supporto né tra i diversi tempi di monitoraggio (Figura 32AI, AII).

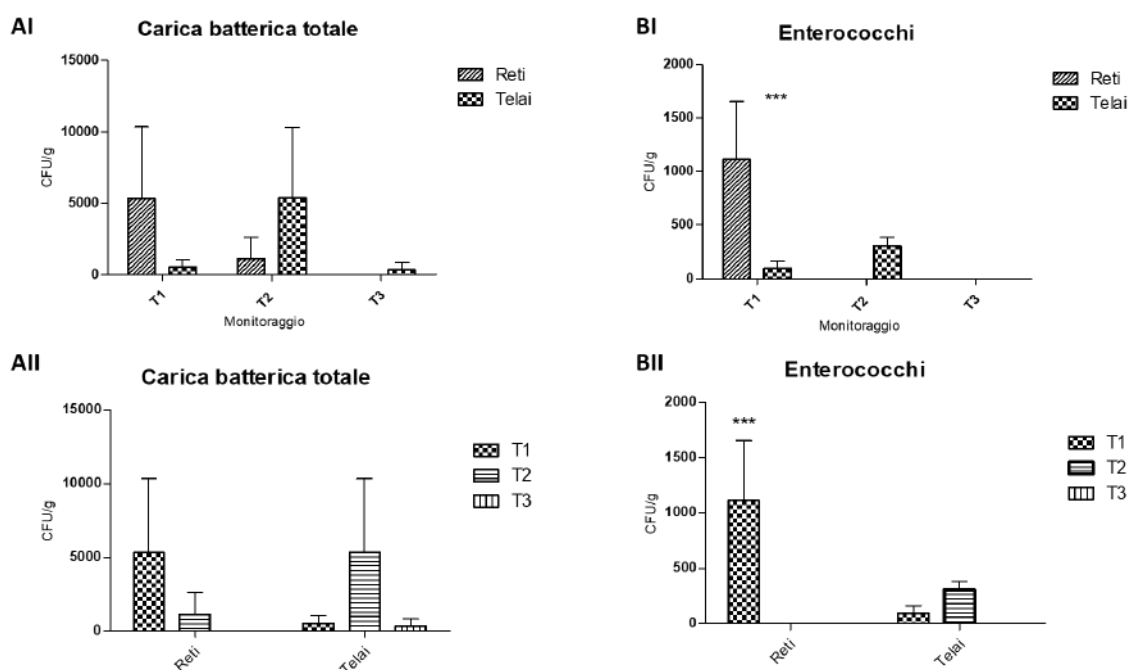


Figura 32. Confronto della carica batterica totale (CFU/g) e della carica enterobatterica (CFU/g) rilevata nei frammenti di *Ircinia oros* tra sistemi di supporto (AI-BI) e tempi di monitoraggio (AII-BII). I Valori sono espressi come media $\pm$ deviazione standard. Differenze statisticamente significative (Two-way ANOVA) sono riportate con l'asterisco: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$

Al contrario, la densità degli enterococchi nei frammenti prelevati dalle reti ad ottobre 2020 (T1), è risultata statisticamente superiore rispetto a quella nei frammenti posizionati sui telai. Nel mese di gennaio 2021 (T2), è stata rilevata una carica enterobatterica solo nei frammenti di *I. oros* disposti sui telai, assente invece nell'ultimo monitoraggio (Figura 32 BI, BII).

La carica batterica totale e quella enterobatterica nei frammenti di *P. ficiformis* non sono risultate statisticamente differenti tra i due tipi di supporti né tra i vari tempi di campionamento (Fig. 33 AI, AII, BI e BII). In generale, i valori registrati per entrambe le unità batteriche analizzate sono risultati comparabili a quelli riscontrati in *I. oros*. In maniera analoga, è da evidenziare una certa variabilità tra le date di campionamento, che potrebbe riflettere fluttuazioni nella concentrazione di batteri nelle acque della Darsena, come emerso da campionamento trimestrale.

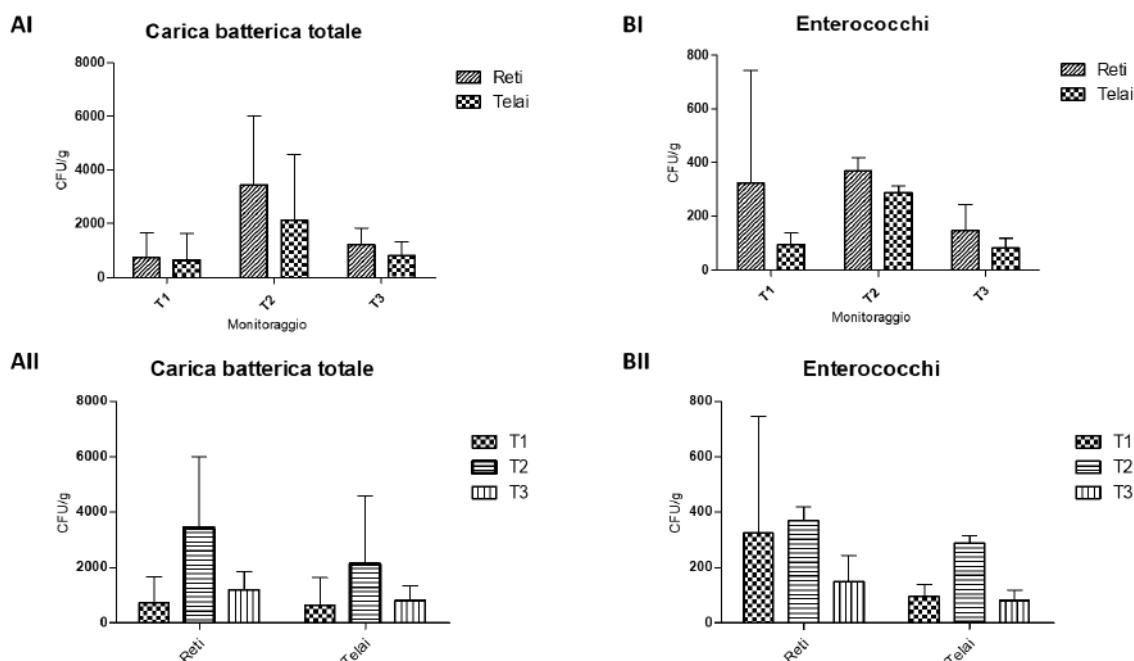


Figura 33. Confronto della carica batterica totale (CFU/g) e della carica enterobatterica (CFU/g) rilevata nei frammenti di *Petrosia ficiformis* tra sistemi di supporto (AI-BI) e tempi di monitoraggio (AII-BII). I Valori sono espressi come media $\pm$ deviazione standard. Differenze statisticamente significative (Two-way ANOVA) sono riportate con l'asterisco: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$

3.3.1.3. Bioaccumulo di composti inorganici

Per ogni evento di monitoraggio, sono stati prelevati in modo casuale da entrambi i sistemi di supporto 2 frammenti per ciascuna specie (circa 10 g di peso fresco ciascuno). Il confronto delle concentrazioni di composti inorganici nei frammenti di entrambe le specie di spugne prelevati della zona compresa tra Nisportino e Capo Vita a settembre 2020 (T0) con quelli prelevati da entrambi i tipi di supporto nei diversi tempi di monitoraggio (T1, T2, T3) indica il potenziale un bioaccumulo dipendente dal tempo di esposizione, con un incremento dei valori di concentrazione fino 100 volte rispetto al T0 (Tabella 9 e 10).

Tabella 9. Concentrazioni (mg/kg s.s.) di inquinanti inorganici accumulati nei frammenti di *Ircinia oros* prelevati all'inizio pilota (T0) dalla zona esterna alla Darsena e nel mese di ottobre 2020 (T1), gennaio (T2) ed aprile 2021 (T3) dai sistemi di supporto (reti e telai) collocati presso il Sito 3

<i>Ircinia oros</i>							
Categorie	Reti						
	Parametro	Unità di misura	LOQ	T0	T1	T2	T3
Inorganici	As	mg/kg s.s.	1.0	5.0	9.5	59.5	-
	Cd	mg/kg s.s.	0.02	0.5	0.05	0.3	-
	Cr	mg/kg s.s.	1.0	11.8	21.6	14.8	-
	Cu	mg/kg s.s.	1.0	29.4	67.8	75.9	-
	Fe	mg/kg s.s.	30.0	1911.5	8643.9	15297.1	-
	Mn	mg/kg s.s.	1.0	688.8	162.8	191.4	-
	Ni	mg/kg s.s.	1.0	71.4	21.9	29.7	-
	Pb	mg/kg s.s.	1.0	1.4	75.7	18.9	-
	V	mg/kg s.s.	1.0	8.8	17.8	15.8	-
	Zn	mg/kg s.s.	1.0	73.6	420.4	194.5	-
	Hg	mg/kg s.s.	0.005	0.1	0.3	0.4	-
	Telai						
	Parametro	Unità di misura	LOQ	T0	T1	T2	T3
	As	mg/kg s.s.	1.0	5.0	2.3	20.6	18.8
	Cd	mg/kg s.s.	0.02	0.5	0.2	0.3	0.05
	Cr	mg/kg s.s.	1.0	11.8	14.1	48.5	42.4
	Cu	mg/kg s.s.	1.0	29.4	40.8	159.3	96.7
	Fe	mg/kg s.s.	30.0	1911.6	1800.8	14919.0	82199.0
	Mn	mg/kg s.s.	1.0	688.8	52.2	296.8	469.5
	Ni	mg/kg s.s.	1.0	71.4	16.6	44.8	30.15
	Pb	mg/kg s.s.	1.0	1.5	16.8	94.7	40.6
	V	mg/kg s.s.	1.0	8.8	6.3	46.4	70.4
	Zn	mg/kg s.s.	1.0	73.6	>9000	>3000	414.3
	Hg	mg/kg s.s.	0.005	0.3	0.3	0.3	0.5

In particolar modo, sia in *I. oros* che in *P. ficiformis*, è stato osservato un incremento tra le concentrazioni di As, Cu, Fe, V, Zn e Hg al T0 e quelle al T2 (7 mesi), indicativo di un bioaccumulo di questi metalli. Le concentrazioni di composti inorganici al T3 indicano un incremento più modesto rispetto ai precedenti eventi di monitoraggio, ad esclusione del V, la cui concentrazione risulta incrementata sia in *I. oros* che in *P. ficiformis*.

Da evidenziare la concentrazione particolarmente elevata di Fe ritrovata in frammenti di entrambe le specie, prelevati da entrambi i tipi di supporto. Al contrario, non è stato più riscontrato un bioaccumulo di Mn e Ni, particolarmente evidente nei frammenti della specie *I. oros*, per entrambi i tipi di supporti. Non sono evidenti differenze di rilievo nella concentrazione di composti inorganici registrata in spugne disposte sui due tipi di supporti, suggerendo che sia le reti che i telai possano costituire una valida soluzione per la realizzazione di stazioni di filtraggio all'interno di porti turistici.

Tabella 10. Concentrazioni (mg/kg s.s.) di inquinanti inorganici accumulati nei frammenti di *P. ficiformis* prelevati all'inizio dell'azione pilota (T0) dalla zona esterna alla Darsena e nel mese di ottobre 2020 (T1), gennaio (T2) ed aprile 2021 (T3) dai sistemi di supporto (reti e telai) collocati presso il Sito 3.

<i>Petrosia ficiformis</i>							
Categorie	Reti						
	Parametro	Unità di misura	LOQ	T0	T1	T2	T3
Inorganici	As	mg/kg s.s.	1.0	42.2	55.0	35.7	59.5
	Cd	mg/kg s.s.	0.02	0.9	1.8	0.7	1.4
	Cr	mg/kg s.s.	1.0	4.9	2.8	14.4	8.5
	Cu	mg/kg s.s.	1.0	32.4	50.4	79.4	43.5
	Fe	mg/kg s.s.	30.0	955.7	1896.9	3355.9	1472.6
	Mn	mg/kg s.s.	1.0	416.1	8.5	334.6	43.9
	Ni	mg/kg s.s.	1.0	28.5	21.3	22.1	9.5
	Pb	mg/kg s.s.	1.0	13.4	6.2	18.6	10.2
	V	mg/kg s.s.	1.0	4.9	1.3	9.0	138.3
	Zn	mg/kg s.s.	1.0	55.4	60.3	61.6	0.4
	Hg	mg/kg s.s.	0.005	0.3	0.6	0.4	
	Telai						
	Parametro	Unità di misura	LOQ	T0	T1	T2	T3
	As	mg/kg s.s.	1.0	42.2	62.5	58.2	33.4
	Cd	mg/kg s.s.	0.02	0.9	1.4	1.4	1.3
	Cr	mg/kg s.s.	1.0	4.9	5.5	6.3	5.6
	Cu	mg/kg s.s.	1.0	32.4	22.7	52.2	82.7
	Fe	mg/kg s.s.	30.0	955.7	371.1	1064.3	5650.3
	Mn	mg/kg s.s.	1.0	416.2	5.3	29.0	25.3
	Ni	mg/kg s.s.	1.0	28.4	18.4	8.2	11.7
	Pb	mg/kg s.s.	1.0	13.3	5.0	5.5	6.9
	V	mg/kg s.s.	1.0	4.9	0.7	3.6	4.1
	Zn	mg/kg s.s.	1.0	55.3	329.6	79.0	45.7
	Hg	mg/kg s.s.	0.005	0.3	0.3	0.3	0.4

3.3.1.4. Bioaccumulo di composti organici

Il confronto tra le concentrazioni registrate in frammenti di ciascuna delle due specie prelevati da ciascun sistema di supporto al tempo T1e T2 con quelli di riferimento (T0), il potenziale di bioaccumulo per tutti gli IPA è risultato dipendente dal tempo di esposizione, raggiungendo valori dai 10 alle 100 volte maggiori rispetto al controllo (Tabella 11 e 12). Al contrario, al tempo T3, i valori sono risultati simili o più bassi rispetto a quelli osservati nei monitoraggi precedenti. Il minor bioaccumulo registrato nell'ultimo periodo di monitoraggio potrebbe essere imputabile ad un calo fisiologico nelle spugne o a variazioni stagionali nelle condizioni ambientali. Per quanto concerne gli IC>12, nella specie *I. oros* i valori sono risultati simili o poco più altri rispetto a T0. Nella specie *P. ficiformis* gli IC>12 non hanno mostrato evidenti segnali di bioaccumulo nel corso del monitoraggio anche se sporadicamente sono state osservate delle eccezioni. I risultati ottenuti confermano l'utilizzo di *I. oros* e *P. ficiformis* come strumento di biomonitoraggio dell'inquinamento da composti

organici all'interno di porti turistici e l'efficacia da parte di entrambi i tipi di supporto per la realizzazione di una stazione di bio-filtraggio e bio-monitoraggio.

Tabella 11. Concentrazioni ($\mu\text{g/kg}$ s.s.) di inquinanti organici accumulati nei frammenti di *Ircinia oros* prelevati all'inizio dell'azione pilota (T0) dalla zona esterna alla Darsena e nel mese di ottobre 2020 (T1), gennaio (T2) e aprile 2021 (T3) dai sistemi di supporto (reti e telai) collocati presso il Sito 3.

<i>Ircinia oros</i>							
Categorie	Reti						
	Parametro	Unità di misura	LOQ	T0	T1	T2	T3
Organici	IC>12	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	10.0	37.1	38.6	38.8	-
	Acenaftalene	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	1.0	<1.0	1.1	15.1	-
	Acenaftene	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	1.0	1.1	13.2	183.7	-
	Antracene	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	1.0	1.4	10.3	170.3	-
	Benz[a]antracene	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	1.0	2.8	105.0	555.6	-
	Benzo[a]pirene	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	1.0	4.0	97.0	773.0	-
	Benzo[b]fluorantene	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	1.0	7.5	132.8	862.7	-
	Benzo[ghi]perilene	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	1.0	2.2	24.0	351.0	-
	Benzo[k]Fluorantene	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	1.0	3.8	150.9	454.0	-
	Crisene	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	1.0	3.3	76.4	510.4	-
	Dibenzo[a,h]antracene	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	1.0	<1	12.3	109.3	-
	Fenantrene	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	1.0	10.5	232.3	1167.3	-
	Fluorantene	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	1.0	<1	4.4	41.5	-
	Fluorene	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	1.0	3.4	75.2	534.9	-
	Indeno[1,2,3,c,d]pirene	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	1.0	4.1	15.0	23.9	-
	Naftalene	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	1.0	3.9	32.8	211.3	-
	Pirene	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	1.0	5.9	112.8	883.9	-
	Telai						
	Parametro	Unità di misura	LOQ	T0	T1	T2	T3
	IC>12	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	10.0	37.1	52.1	51.0	47.8
	Acenaftalene	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	1.0	<1	1.6	4.1	2.6
	Acenaftene	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	1.0	1.1	11.8	65.2	29.9
	Antracene	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	1.0	1.4	4.5	71.9	12.6
	Benz[a]antracene	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	1.0	2.8	23.7	240.6	64.9
	Benzo[a]pirene	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	1.0	4.0	62.8	304.7	101.0
	Benzo[b]fluorantene	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	1.0	7.5	154.5	350.6	415.4
	Benzo[ghi]perilene	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	1.0	2.2	52.2	127.5	28.1
	Benzo[k]Fluorantene	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	1.0	3.8	77.7	184.8	201.3
	Crisene	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	1.0	3.3	25.0	213.6	56.8
	Dibenzo[a,h]antracene	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	1.0	<1	15.7	41.2	15.2
	Fenantrene	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	1.0	10.5	78.3	470.2	152.2
	Fluorantene	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	1.0	<1	1.8	12.7	4.6
	Fluorene	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	1.0	3.4	71.9	190.7	79.6
	Indeno[1,2,3,c,d]pirene	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	1.0	4.1	6.2	10.1	14.9
	Naftalene	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	1.0	3.9	9.9	73.0	12.9
	Pirene	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	1.0	5.9	41.8	363.6	71.5

Tabella 12. Concentrazioni ($\mu\text{g/kg}$ s.s.) di inquinanti organici accumulati nei frammenti di *Petrosia ficiformis* prelevati all'inizio dell'azione pilota (T0) dalla zona esterna alla Darsena e nel mese di ottobre 2020 (T1), gennaio (T2) ed aprile 2021 (T3) dai sistemi di supporto (reti e telai) collocati presso il Sito 3.

<i>Petrosia ficiformis</i>							
Categorie	Reti						
	Parametro	Unità di misura	LOQ	T0	T1	T2	T3
Organici	IC>12	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	10.0	26.4	35.5	18.3	10.1
	Acenaftalene	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	1.0	<1	1.1	2.5	21.0
	Acenaftene	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	1.0	1.0	10.3	39.5	10.3
	Antracene	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	1.0	<1	1.9	32.7	1.6
	Benz[a]antracene	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	1.0	0.8	6.1	103.5	6.9
	Benzo[a]pirene	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	1.0	8.7	24.1	179.0	29.8
	Benzo[b]fluorantene	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	1.0	8.3	71.3	302.5	84.6
	Benzo[ghi]perilene	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	1.0	3.1	19.8	123.1	36.3
	Benzo[k]Fluorantene	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	1.0	3.7	39.4	164.7	29.5
	Crisene	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	1.0	1.1	6.7	91.3	8.0
	Dibenzo[a,h]antracene	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	1.0	<1	5.3	39.2	8.3
	Fenantrene	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	1.0	13.4	41.3	204.2	43.9
	Fluorantene	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	1.0	1.1	1.3	6.9	<1.0
	Fluorene	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	1.0	11.7	36.2	241.6	52.1
	Indeno[1,2,3,c,d]pirene	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	1.0	5.3	6.0	9.7	3.0
	Naftalene	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	1.0	4.2	3.7	35.9	2.6
	Pirene	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	1.0	3.5	31.9	159.9	18.9
	Telai						
	Parametro	Unità di misura	LOQ	T0	T1	T2	T3
	IC>12	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	10.0	26.4	56.2	16.4	20.8
	Acenaftalene	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	1.0	<1	1.1	0.8	<1
	Acenaftene	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	1.0	1.0	8.6	15.6	7.9
	Antracene	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	1.0	<1	2.1	6.5	1.6
	Benz[a]antracene	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	1.0	0.8	16.8	38.6	5.9
	Benzo[a]pirene	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	1.0	8.7	30.0	68.9	9.9
	Benzo[b]fluorantene	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	1.0	8.3	81.0	160.3	27.8
	Benzo[ghi]perilene	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	1.0	3.1	19.3	41.3	9.9
	Benzo[k]Fluorantene	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	1.0	3.7	40.7	86.8	12.3
	Crisene	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	1.0	1.1	19.8	39.1	6.7
	Dibenzo[a,h]antracene	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	1.0	<1	6.0	11.8	2.2
	Fenantrene	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	1.0	13.4	83.0	51.8	34.2
	Fluorantene	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	1.0	1.1	1.9	3.4	1.2
	Fluorene	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	1.0	11.7	30.7	67.3	14.9
	Indeno[1,2,3,c,d]pirene	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	1.0	5.3	4.2	7.0	3.0
	Naftalene	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	1.0	4.2	9.0	11.1	3.8
	Pirene	$\mu\text{g/kg}$ s.s.	1.0	3.5	43.8	39.4	17.2

3.3.2. Effetti sulla qualità delle acque: comparazione tra impianto e zone di controllo ed all'interno della Darsena Medicea

Allo scopo di valutare l'efficacia del sistema di bio-filtraggio nell'abbattere la concentrazione di inquinanti organici e inorganici e di microrganismi, sono state effettuate analisi quantitative su campioni d'acqua prelevati in prossimità dell'impianto di filtrazione ed in siti di riferimento (non influenzati dall'impianto) all'interno della Darsena Medicea. A tale scopo, il campionamento, effettuato in concomitanza con la raccolta dei frammenti delle spugne dalle reti e dai telai durante il primo (T1), secondo (T2) e terzo monitoraggio (T3) descritto nella sezione 4, ha previsto il prelievo di campioni d'acqua per l'analisi di unità batteriche (1L), composti inorganici (50 mL) ed organici (2L). Il prelievo è stato effettuato in prossimità dei frammenti di spugna (a circa 3-4 cm di distanza) posizionati all'interno di entrambi i sistemi di supporto, per mezzo di siringhe dosatrici in plastica con tappo sterile (60 mL), ed in due zone di controllo (CTRL 1 e CTRL 2 a circa 15 m di distanza dall'impianto di bio-filtraggio) all'interno della Darsena Medicea, tramite l'utilizzo di una bottiglia di campionamento Niskin, ad una profondità di circa 3-4 metri.

3.3.2.1. Componente batterica

Dalle analisi effettuate dopo il primo (T1) e secondo monitoraggio (T2), le concentrazioni della carica batterica totale ed enterobatterica nelle due zone di controllo (CTRL 1 e CTRL 2) sono risultate nettamente più elevate di quelle riscontrate nei campioni d'acqua prelevati in prossimità dei sistemi di supporto delle spugne (TELAI e RETI) (Tabelle 13 e 14), stimando una potenzialità di biofiltrazione pari al 98-100%. Diversamente, una riduzione della capacità di abbattimento della carica batterica è stata osservata al tempo T3 con concentrazioni maggiori sia di batteri totali che di enterococchi in entrambe le acque campionate in prossimità dei sistemi di supporto (Tabella 15).

Tabella 13. Concentrazioni della carica batterica totale (CFU/L) e della carica enterobatterica (CFU/L) presenti in campioni d'acqua prelevati in data 12/10/2020 (monitoraggio T1) presso due siti all'interno della Darsena Medicea (CTRL 1, CTRL 2) e in prossimità dei sistemi di supporto (RETI e TELAI)

Categorie	Unità di misura	Monitoraggio T1			
		CTRL 1	CTRL 2	RETI	TELAI
Carica batterica totale	CFU/L	80000.0	21000.0	0.0	0.0
Enterococchi	CFU/L	90000.0	23000.0	2000.0	3000.0

Tabella 14. Concentrazioni della carica batterica totale (CFU/L) e della carica enterobatterica (CFU/L) presenti in campioni d'acqua prelevati in data 21/01/2021 (monitoraggio T2) presso due siti all'interno della Darsena Medicea (CTRL 1, CTRL 2) e in prossimità dei sistemi di supporto (RETI e TELAI)

Categorie	Unità di misura	Monitoraggio T2			
		CTRL 1	CTRL 2	RETI	TELAI
Carica batterica totale	CFU/L	4000.0	42000.0	0	0
Enterococchi	CFU/L	36000.0	23000.0	0	0

Tabella 15. Concentrazioni della carica batterica totale (CFU/L) e della carica enterobatterica (CFU/L) presenti in campioni d'acqua prelevati in data 24/04/2021 (monitoraggio T3) presso due siti all'interno della Darsena Medicea (CTRL 1, CTRL 2) e in prossimità dei sistemi di supporto (RETI e TELAI)

Categorie	Monitoraggio T3				
	Unità di misura	CTRL 1	CTRL 2	RETI	TELA I
Carica batterica totale	CFU/L	9000.0	7000.0	10000.0	31000.0
Enterococchi	CFU/L	1000.0	0.0	4000.0	2000.0

3.3.2.2. Inquinanti inorganici

In tutti i siti campionati, alcuni metalli, ad esclusione di Pb (T1, T2 e T3), Cu, Ni, Mn, V e Zn (T2 e T3), sono stati ritrovati in concentrazioni inferiori i limiti di quantificazione (LOQ) (Tabelle 16, 17 e 18). Considerando i metalli rintracciati in matrice, le concentrazioni riscontrate nelle due zone di controllo si sono rivelate molto simili a quelle in prossimità dei sistemi di supporto in tutti i tempi di monitoraggio, ad esclusione dello Zn e Mn, ritrovati in concentrazioni molto più alte presso i telai al tempo T3 (Tabella 16). L'alta concentrazione di zinco in corrispondenza dei telai potrebbe essere, almeno in parte, spiegata dal rilascio da parte delle reti zincate utilizzate per il posizionamento delle spugne, suggerendo che l'utilizzo di reti in materiale plastico potrebbe rappresentare una valida alternativa. L'elevata capacità di bioaccumulo di alcuni composti inorganici nel tempo da parte delle spugne e le basse concentrazioni rilevate nell'acqua, hanno confermato l'ipotesi di partenza, ovvero un'alta efficienza delle specie oggetto d'indagine di iper-accumulare composti inorganici anche in ambienti con basse concentrazioni.

Tabella 16. Concentrazioni di composti inorganici (µg/L) presenti in campioni d'acqua prelevati in data 12/10/2020 (monitoraggio T1) presso due siti all'interno della Darsena Medicea (CTRL 1, CTRL 2) e in prossimità dei sistemi di supporto (RETI e TELAI) LOQ: Limiti di Quantificazione

Categorie	Monitoraggio T1						
	Parametro	Unità di misura	LOQ	CTRL 1	CTRL 2	RETI	TELA I
Inorganici	As	µg/L	2.5	<2.5	<2.5	<2.5	<2.5
	Cd	µg/L	0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2
	Cr	µg/L	1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0
	Cu	µg/L	2.5	<2.5	<2.5	<2.5	<2.5
	Ni	µg/L	5.0	<5.0	<5.0	<5.0	<5.0
	Mn	µg/L	2.5	<2.5	<2.5	<2.5	<2.5
	Pb	µg/L	1.0	2.7	2.4	2.7	1.8
	V	µg/L	1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0
	Zn	µg/L	1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0
	Hg	µg/L	0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1

Tabella 17. Concentrazioni di composti inorganici ($\mu\text{g/L}$) presenti in campioni d'acqua prelevati in data 21/01/2021 (monitoraggio T2) presso due siti all'interno della Darsena Medicea (CTRL 1, CTRL 2) e in prossimità dei sistemi di supporto (RETI e TELAI) LOQ: Limiti di Quantificazione

Monitoraggio T2							
Categorie	Parametro	Unità di misura	LOQ	CTRL 1	CTRL 2	RETI	TELA I
Inorganici	As	$\mu\text{g/L}$	2.5	<2.5	<2.5	<2.5	<2.5
	Cd	$\mu\text{g/L}$	0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2
	Cr	$\mu\text{g/L}$	1.0	<1	<1	<1	<1
	Cu	$\mu\text{g/L}$	2.5	6.3	6	6.8	7.3
	Ni	$\mu\text{g/L}$	5.0	6.8	3.6	2.1	5.6
	Mn	$\mu\text{g/L}$	2.5	5.9	5.3	5.4	5.9
	Pb	$\mu\text{g/L}$	1.0	1.2	1.1	0.9	0.9
	V	$\mu\text{g/L}$	1.0	1.7	1.5	2.0	2.1
	Zn	$\mu\text{g/L}$	1.0	2.0	1.2	1.2	2.0
	Hg	$\mu\text{g/L}$	0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1

Tabella 18. Concentrazioni di composti inorganici ($\mu\text{g/L}$) presenti in campioni d'acqua prelevati in data 24/04/2021 (monitoraggio T3) presso due siti all'interno della Darsena Medicea (CTRL 1, CTRL 2) e in prossimità dei sistemi di supporto (RETI e TELAI) LOQ: Limiti di Quantificazione

Monitoraggio T3							
Categorie	Parametro	Unità di misura	LOQ	CTRL 1	CTRL 2	RETI	TELA I
Inorganici	As	$\mu\text{g/L}$	2.5	<2.5	<2.5	<2.5	<2.5
	Cd	$\mu\text{g/L}$	0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2
	Cr	$\mu\text{g/L}$	1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0
	Cu	$\mu\text{g/L}$	2.5	9.6	9.9	9.5	9.9
	Ni	$\mu\text{g/L}$	5.0	<5.0	<5.0	<5.0	<5.0
	Mn	$\mu\text{g/L}$	2.5	6.1	6.0	10.3	19.2
	Pb	$\mu\text{g/L}$	1.0	3.3	3.2	3.5	4.0
	V	$\mu\text{g/L}$	1.0	2.4	1.8	2.5	4.2
	Zn	$\mu\text{g/L}$	1.0	5.0	6.4	20.7	109.3
	Hg	$\mu\text{g/L}$	0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1

3.3.2.3. Inquinanti organici

In tutti i tempi di monitoraggio e presso tutti i siti di studio, sia gli IPA che i IC>12 hanno mostrato concentrazioni molto basse o inferiori i limiti di quantificazione (LOQ) (Tabella 19, 20 e 21). Come per i composti inorganici, anche per gli organici le concentrazioni riscontrate nelle zone di controllo si sono rivelate molto simili a quelle in prossimità dei sistemi di supporto. Le elevate concentrazioni di inquinanti organici rilevate nei tessuti di entrambe le specie di spugne confermano comunque la loro efficienza nell'accumulare inquinanti presenti in tracce nella colonna d'acqua e quindi difficilmente rilevabili mediante analisi strumentali.

Tabella 19. Concentrazioni di composti organici ($\mu\text{g/L}$) presenti in campioni d'acqua prelevati in data 12/10/2020 (monitoraggio T1) presso due siti all'interno della Darsena Medicea (CTRL 1, CTRL 2) e in prossimità dei sistemi di supporto (RETI e TELAI) LOQ: Limiti di Quantificazione

Categorie	Monitoraggio T1						
	Parametro	Unità di misura	LOQ	CTRL 1	CTRL 2	RETI	TELA I
Organici	IC>12	$\mu\text{g/L}$	333.3	<333.3	<333.3	<333.3	<333.3
	Acenafalene	$\mu\text{g/L}$	0.005	0.01	0.01	0.01	0.01
	Acenafene	$\mu\text{g/L}$	0.005	<0.005	<0.005	<0.005	0.04
	Antracene	$\mu\text{g/L}$	0.005	<0.005	<0.005	<0.005	0.02
	Benz[a]antracene	$\mu\text{g/L}$	0.005	<0.005	<0.005	<0.005	0.06
	Benzo[a]pirene	$\mu\text{g/L}$	0.005	0.01	<0.005	0.01	0.09
	Benzo[b]fluorantene	$\mu\text{g/L}$	0.005	0.01	<0.005	0.01	0.08
	Benzo[ghi]perilene	$\mu\text{g/L}$	0.005	0.01	0.01	0.01	0.09
	Benzo[k]Fluorantene	$\mu\text{g/L}$	0.005	<0.005	<0.005	<0.005	0.05
	Crisene	$\mu\text{g/L}$	0.005	<0.005	<0.005	<0.005	0.05
	Dibenzo[a,h]antracene	$\mu\text{g/L}$	0.005	<0.005	<0.005	<0.005	0.06
	Fluorantene	$\mu\text{g/L}$	0.005	<0.005	<0.005	<0.005	0.01
	Fluorene	$\mu\text{g/L}$	0.005	0.02	0.01	0.01	0.01
	Indeno[1,2,3,c,d]pirene	$\mu\text{g/L}$	0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
	Naftalene	$\mu\text{g/L}$	0.005	<0.005	<0.005	<0.005	0.01
	Fenantrene	$\mu\text{g/L}$	0.005	0.01	0.01	<0.005	0.03
	Pirene	$\mu\text{g/L}$	0.005	0.01	0.01	0.01	0.01

Tabella 20. Concentrazioni di composti organici ($\mu\text{g/L}$) presenti in campioni d'acqua prelevati in data 21/01/2021 (monitoraggio T2) presso due siti all'interno della Darsena Medicea (CTRL 1, CTRL 2) e in prossimità dei sistemi di supporto (RETI e TELAI) LOQ: Limiti di Quantificazione

Categorie	Monitoraggio T2						
	Parametro	Unità di misura	LOQ	CTRL 1	CTRL 2	RETI	TELA I
Organici	IC>12	$\mu\text{g/L}$	333.3	<333.3	<333.3	<333.3	<333.3
	Acenafalene	$\mu\text{g/L}$	0.005	<0.005	<0.005	<0.005	0.01
	Acenafene	$\mu\text{g/L}$	0.005	<0.005	<0.005	0.009	0.09
	Antracene	$\mu\text{g/L}$	0.005	<0.005	<0.005	0.03	0.03
	Benz[a]antracene	$\mu\text{g/L}$	0.005	<0.005	<0.005	0.04	0.04
	Benzo[a]pirene	$\mu\text{g/L}$	0.005	<0.005	<0.005	0.04	0.04
	Benzo[b]fluorantene	$\mu\text{g/L}$	0.005	<0.005	<0.005	0.01	0.20
	Benzo[ghi]perilene	$\mu\text{g/L}$	0.005	<0.005	<0.005	0.01	0.24
	Benzo[k]Fluorantene	$\mu\text{g/L}$	0.005	<0.005	<0.005	0.02	0.24
	Crisene	$\mu\text{g/L}$	0.005	<0.005	<0.005	0.03	0.30
	Dibenzo[a,h]antracene	$\mu\text{g/L}$	0.005	<0.005	<0.005	<0.005	0.06
	Fluorantene	$\mu\text{g/L}$	0.005	<0.005	<0.005	0.06	0.69
	Fluorene	$\mu\text{g/L}$	0.005	<0.005	<0.005	<0.005	0.01
	Indeno[1,2,3,c,d]pirene	$\mu\text{g/L}$	0.005	<0.005	<0.005	0.02	0.02
	Naftalene	$\mu\text{g/L}$	0.005	<0.005	0.005	<0.005	0.02
	Fenantrene	$\mu\text{g/L}$	0.005	<0.005	<0.005	0.01	0.09
	Pirene	$\mu\text{g/L}$	0.005	0.005	<0.005	0.04	0.04

Tabella 21. Concentrazioni di composti organici ($\mu\text{g/L}$) presenti in campioni d'acqua prelevati in data 24/04/2021 (monitoraggio T3) presso due siti all'interno della Darsena Medicea (CTRL 1, CTRL 2) e in prossimità dei sistemi di supporto (RETI e TELAI) LOQ: Limiti di Quantificazione

Categorie	Monitoraggio T3						
	Parametro	Unità di misura	LOQ	CTRL 1	CTRL 2	RETI	TELA
Organici	IC>12	$\mu\text{g/L}$	333.3	<333.3	<333.3	<333.3	<333.3
	Acenafthalene	$\mu\text{g/L}$	0.005	0.005	0.006	0.005	<0.005
	Acenafthene	$\mu\text{g/L}$	0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
	Antracene	$\mu\text{g/L}$	0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
	Benz[a]antracene	$\mu\text{g/L}$	0.005	<0.005	<0.005	0.007	<0.005
	Benzo[a]pirene	$\mu\text{g/L}$	0.005	<0.005	0.009	<0.005	<0.005
	Benzo[b]fluorantene	$\mu\text{g/L}$	0.005	<0.005	0.009	<0.005	<0.005
	Benzo[ghi]perilene	$\mu\text{g/L}$	0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
	Benzo[k]Fluorantene	$\mu\text{g/L}$	0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
	Crisene	$\mu\text{g/L}$	0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
	Dibenzo[a,h]antracene	$\mu\text{g/L}$	0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
	Fluorantene	$\mu\text{g/L}$	0.005	<0.005	<0.005	0.01	<0.005
	Fluorene	$\mu\text{g/L}$	0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
	Indeno[1,2,3,c,d]pirene	$\mu\text{g/L}$	0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
	Naftalene	$\mu\text{g/L}$	0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
	Fenantrene	$\mu\text{g/L}$	0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
	Pirene	$\mu\text{g/L}$	0.005	<0.005	<0.005	0.01	<0.005

3.4. Effetti delle spugne sulla colonizzazione di substrati artificiali

Considerando la capacità delle spugne di produrre composti (metaboliti secondari) che agiscono nei meccanismi di difesa chimica contro la predazione o nelle strategie di competizione per lo spazio inibendo l'insediamento del micro-macro fouling e dei parassiti, a partire dal periodo di dicembre 2020 fino ad aprile 2021 sono stati realizzati una serie di test sia in condizioni controllate che in campo per esaminare le possibili proprietà antifouling da parte della specie *Ircinia oros*.

3.4.1. Test di laboratorio

Tra dicembre 2020 e febbraio 2021, si è proceduto all'isolamento di biocidi naturali prodotti dalla spugna *I. oros*, successivamente utilizzati per effettuare un'indagine ecotossicologica attraverso la misurazione di diversi endpoint quali: l'inibizione della bioluminescenza del batterio Gram negativo *Aliivibrio fischeri*, l'inibizione della crescita della diatomea *Phaeodactylum tricornutum* e risposte biologiche a diversi stati di sviluppo (inibizione della motilità spermatica e dello sviluppo larvale, danno cellulare e genotossicità) nell'anellide polichete marino *Ficopomatus enigmaticus*, specie invasiva in grado di colonizzare substrati sommersi (chiglie delle barche, banchine, formando enormi biocostruzioni la cui rimozione comporta notevoli costi economici).

In data 18/12/2020, è stato prelevato lungo la costa compresa tra Nisportino e Capo Vita un frammento di spugna con peso fresco di circa 250 g, ad una profondità di 5 metri. L'isolamento di diversi tipi di biocidi naturali è stato effettuato per mezzo di metodi di estrazione "classica" con

solventi organici, o in miscele di diversi solventi (di diversa polarità) in presenza o meno di acidi e/o di agenti complessati. Una porzione di frammento è stata essiccata (20-40 g peso secco) e macerata con MeOH/CH₂Cl₂ 1:1 (v: v) per 24-48 h. La soluzione è stata successivamente filtrata, evaporata attraverso un evaporatore rotante Heidolph e partizionata con esano (hexane) (solvente non polare) (**DH**) ed etanolo etilacetato (AcOEt) (solvente semi-polare) (**DA**). Una seconda porzione di frammento (102-120 g peso fresco) è stata direttamente macerata e partizionata come descritto in precedenza (hexane: **WH**; AcOEt: **WA**). Gli estratti (10 mg/mL) sono stati risospesi in DMSO e conservati a -20°C previo utilizzo. Le soluzioni ottenute sono state quindi diluite in acqua di mare artificiale (ASW), secondo la metodologia riportata dall' ISO 10253 (2016). Per ciascuno dei quattro estratti è stato utilizzato un range di concentrazioni nominali (100-50-25-10-5-1-0.5-0.25-0,1-0.05 µg/mL) al fine di determinare il limite di tolleranza di ciascuna specie testata (EC_{10/20/50}).

Il saggio di inibizione della bioluminescenza del batterio *A. fischeri* è stato eseguito secondo la metodologia ISO11348:2007. In un primo momento, è stato effettuato un *saggio preliminare* di screening esponendo le sospensioni ricostituite di *A. fischeri* alle massime concentrazioni (100%) di tutti gli estratti e misurando dopo 30 min le differenze nell'emissione di bioluminescenza (percentuale di inibizione della bioluminescenza – I %). Successivamente, ciascuna concentrazione di ogni estratto è stata saggiata conducendo da un minimo di tre ad un massimo di sei repliche per garantire una migliore rilevanza statistica del saggio (*Saggio definitivo di tipo standard*) Tutte le misurazioni sono state eseguite con un luminometro M500, l'acquisizione e l'elaborazione dei dati (EC_{10/20/50} calcolata con il metodo Least Square) sono state effettuate con il software Microtox® Omni 1.16.

Dai risultati ottenuti non è stata rilevata inibizione della bioluminescenza in risposta a tutte le concentrazioni nominali testate di ogni estratto (<12% di inibizione a 100 µg/mL), ipotizzando ad una bassa sensibilità del test.

Il saggio di inibizione della crescita di *P. tricornutum* è stato eseguito secondo la metodologia ISO 10253 (2006), la quale prevede di eseguire la lettura del mezzo algale di partenza per conoscerne la concentrazione iniziale e dopo 72 h al fine di ottenere la concentrazione algale finale. La preparazione dei mezzi di coltura è stata effettuata a partire da una soluzione madre di acqua marina sintetica secondo ricetta ISO 10253 al quale sono state aggiunte le diverse concentrazioni di ogni estratto. La densità ottica delle sospensioni indagate è stata determinata in cuvette mediante spettrofotometro JENWAY GENOVA PLUS. I valori di EC_{10/20/50} (±limiti di confidenza 95%) per tutti gli estratti sono stati calcolati con il software Linear Interpolation Method for Sublethal Toxicity (U.S.EPA,1993).

Dalle analisi effettuate, è emersa la capacità da parte degli estratti di spugna di inibire la crescita algale (Tabella 22). Gli effetti di inibizione sono stati particolarmente evidenti per gli estratti non polari (con hexane) rispetto a quelli semi-polari (AcOEt), rivelando il seguente ordine crescente di effetti: DA > WA > WH > DH.

Tabella 22. Inibizione della crescita in *Phaeodactylum tricornutum* espressa come valori di concentrazione effettiva ($EC_{10/20/50}$) $\pm$ limiti di confidenza (DA: spugne seccate ed estratte con AcOEt; WA: spugne non seccate estratte con AcOEt.; WH: spugne seccate ed estratte con hexane; DH: spugne non seccate estratte con hexane)

Estratti	EC_{10}	C.L. (95%)	EC_{20}	C.L. (95%)	EC_{50}	C.L. (95%)
DA	27.71	20.76-28.68	31.53	28.82-32.35	42.99	41.84-43.41
WA	8.22	6.95-10.0	16.85	10.33-20.75	38.26	36.86-40.38
WH	5.29	5.04-5.48	6.79	6.55-6.95	12.17	11.79-12.50
DH	0.79	0.46-1.07	6.09	4.08-5.27	9.70	9.02-10.56

Per valutare le risposte biologiche, quali inibizione della motilità, danno cellulare e genotossicità nei gameti generate da ogni estratto, esemplari di *F. enigmaticus* sono stati acclimati al laboratorio per 10 giorni in vasche a circuito chiuso con NSW filtrata 0.45 μ m alla temperatura stagionale di 12°C e salinità 30 PSU. A seguire è stata indotta una stimolazione meccanica all'emissione di uova e di spermatozoi. Quest'ultimi sono stati quindi incubati per 30 min alle diverse concentrazioni di ogni estratto ed è stata immediatamente misurata la concentrazione spermatica (per definirne la quantità ottimale) e la motilità.

La motilità spermatica è stata valutata utilizzando il sistema CASA plugin (computer-assisted sperm analysis system, University of California and Howard Hughes Medical Institute, USA) di ImageJ software (<http://imagej.nih.gov/ij/>). In dettaglio, le sospensioni spermatiche sono state diluite in NSW filtrata 0.45 μ m, in modo da ottenere una concentrazione di 100 mln di spermatozoi/mL, ed incubate con ogni concentrazione per estratto a 18 ± 1 °C per circa 30 min. Per l'osservazione è stato utilizzato un microscopio ZEISS con obiettivo 40X a contrasto di fase dotato di una fotocamera MC120-HD. La motilità è stata stimata immediatamente dopo aver collocato un volume noto di ciascun campione nella camera. Per ridurre l'attrito e favorire il movimento, sul vetrino porta-oggetto è stata posta l'albumina di siero bovina (BSA) all'1%, in rapporto 1:1 con il campione. Le immagini in movimento delle soluzioni spermatiche sono state registrate dalla fotocamera per 5 sec. (100 frame/s) (tre video per trattamento), successivamente digitalizzate ed elaborate utilizzando il sistema CASA plugin.

Il danno cellulare che comprende la perossidazione lipidica, LPO e le specie reattive dell'ossigeno (ROS) e la genotossicità (DNAssB) sono stati valutati mediante spettrofluorimetro e spettrometro, rispettivamente.

Per l'LPO, ogni spermatozoo è stato marcato con un fluoroforo (C11 BODIPY® 581/591), intrinsecamente lipofilo, comunemente utilizzato per rilevare la perossidazione lipidica nelle membrane e successivamente letto allo spettrofluorimetro settando la lunghezza d'onda di eccitazione a 490 nm e lo spettro di emissione in un intervallo di 500-650 nm. La perossidazione lipidica è stata valutata mediante il rapporto tra il valore del picco di fluorescenza a ~520 e la somma dei valori dei picchi a ~520 e a ~590 nm.

Per i ROS, ogni spermatozoo è stato marcato con un fluoroforo diidrotetidio (DHE) in grado di rilevare specifiche specie ossidanti e successivamente letto allo spettrofluorimetro con una lunghezza d'onda di eccitazione a 350 nm e quella di emissione in un intervallo di 400-670 nm. L'aumento della produzione di ROS nella cellula è stato monitorato effettuando una media tra i valori dei picchi a ~600 nm.

La genotossicità è stata determinata valutando il danno al DNA. Dai risultati ottenuti si è dedotto che tutti gli estratti alle più alte concentrazioni producono un'inibizione della motilità spermatica (Figura 34 AI). Differenze statisticamente significative tra trattati e controlli sono state ritrovate anche in termini di danno cellulare, con livelli di perossidazione delle membrane e produzione di specie reattive dell'ossigeno maggiori in spermatozoi incubati con le più alte concentrazioni di DA, WA e WH (Figura 34 AII, AIII). Al contrario, estratti di spugne non seccate e partizionate con hexane (DH) non hanno generato danno cellulare. In merito alla genotossicità, il danno al DNA è stato causato da entrambi gli estratti semi-polari (AcOEt), con differenze statisticamente significative tra le concentrazioni più alte e i rispettivi controlli (Figura 34 AIV).

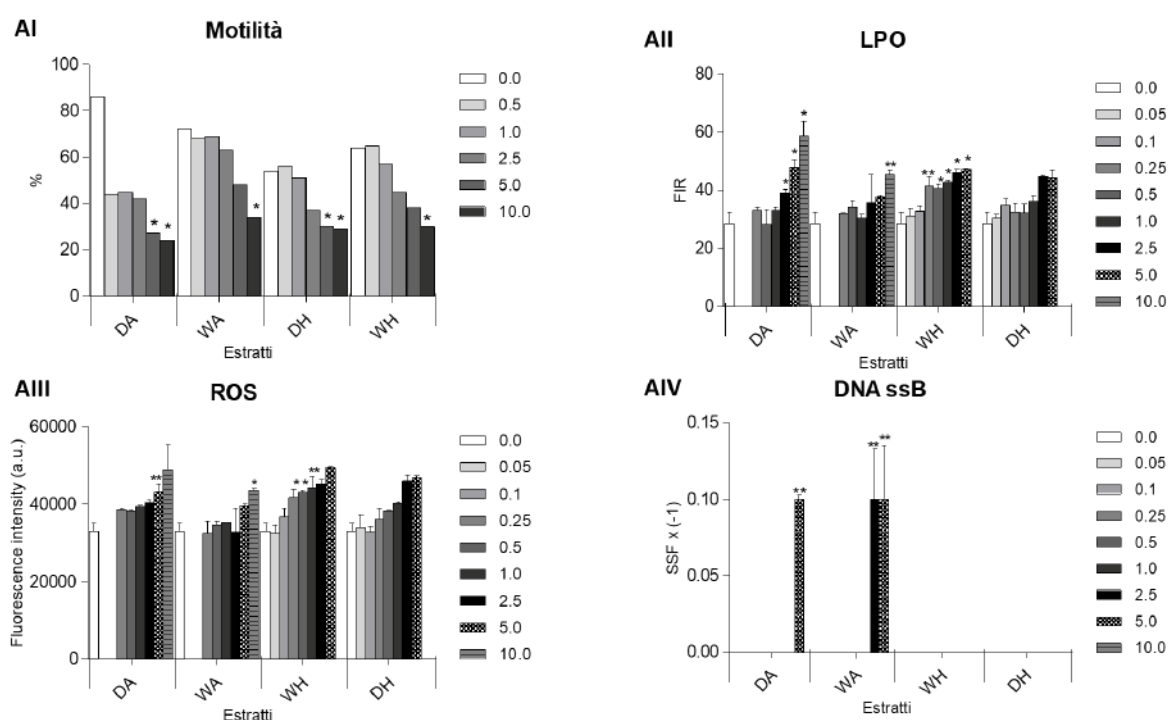


Figura 34. AI: Inibizione della motilità (%); AII: Perossidazione lipidica (LPO) (FIR); AIII: Specie reattive dell'ossigeno (ROS) (Fluorescence intensity (a.u.)); AIV: Danno al DNA (DNAssB) (Standard Scissor Factor x (-1)) in cellule spermatiche di *Ficopomatus enigmaticus* esposte a diverse concentrazioni di estratti di spugne (DA: spugne seccate ed estratte con AcOEt; WA: spugne non seccate estratte con AcOEt.; WH: spugne seccate ed estratte con hexane; DH: spugne non seccate estratte con hexane). I Valori sono espressi come media $\pm$ deviazione standard. Differenze statisticamente significative tra trattati e rispettivi controlli (Two-way ANOVA) sono riportate con l'asterisco: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$

Come ultimo endpoint, è stata esaminata la tossicità relativa alle sostanze testate basandosi sulla percentuale di larve (primo stadio della larva veliger) anormali di *F. enigmaticus* trovate dopo la fecondazione delle uova. La fecondazione dei gameti è avvenuta unendo al cilindro graduato contenente le uova della sospensione di sperma filtrato; la sospensione è stata miscelata mediante un agitatore per garantirne l'omogeneità. A seguire, 1 mL di sospensione è stata pipettata in falcon di vetro contenenti 9 mL di soluzione (diluizioni delle sostanze da testare ed il controllo negativo) e riposta nella cella termostatica a $18 \pm 1^\circ\text{C}$ per 48 h, al fotoperiodo di 16 h di luce: 8 h di buio. Per ciascuna concentrazione e per il controllo sono state eseguite tre repliche. Al termine del periodo di esposizione in cella termostatica, i campioni sono stati fissati con un paio di gocce di formalina tamponata al 40%; in ultimo si è proceduto con la lettura dei campioni al microscopio.

Differenze statisticamente significative in termini di larve malformate sono state osservate alle massime concentrazioni saggiate di tutti gli estratti, con valori di inibizione dello sviluppo pari al 100% (Fig. 35).

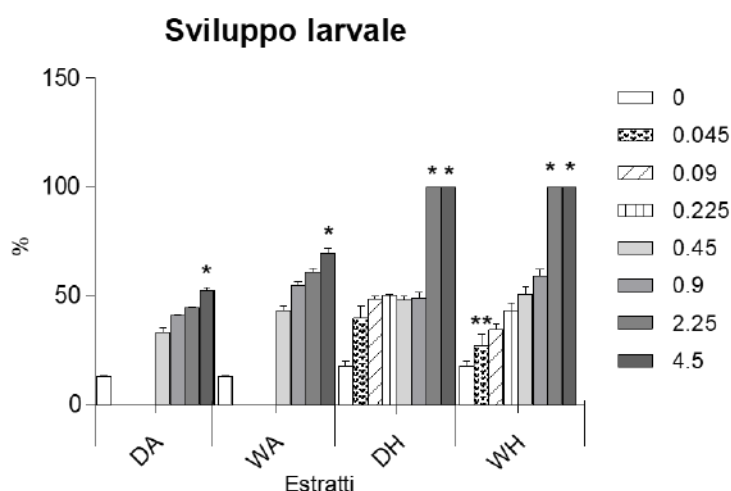


Figura 35. Percentuale di larve non sviluppate in *Ficopomatus enigmaticus* esposto a diverse concentrazioni nominali di estratti di spugne (DA: spugne seccate ed estratte con AcOEt; WA: spugne non seccate estratte con AcOEt; WH: spugne seccate ed estratte con hexane; DH: spugne non seccate estratte con hexane). I Valori sono espressi come media $\pm$ deviazione standard. Differenze statisticamente significative tra trattati e rispettivi controlli (Two-way ANOVA) sono riportate con l'asterisco: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$

3.4.2. Esperimento sul campo

Per valutare le proprietà antifouling delle spugne presenti sui sistemi di supporto, è stato posizionato su alcune reti in fibra vegetale un sistema di substrati artificiali, rappresentati da pannelli in PVC ($15 \times 15 \text{ cm}^2$) sui quali potesse aver luogo lo sviluppo spontaneo di comunità di organismi che producesse una successione ecologica tipica dei substrati artificiali che si trovano in ambiente portuale. In totale sono stati utilizzati 24 pannelli (4 per rete), posizionati su reti precedentemente dislocate al di sotto del pontile galleggiante: 5 caratterizzate dalla presenza di frammenti di spugne e 1 priva di spugne (controllo negativo). I pannelli sono stati ancorati mediante l'utilizzo di fascette

biodegradabili (Figura 36). L'attività di campionamento, iniziata il 27/01/ 2021 si è conclusa il 23/04/2021. Al termine, sono state acquisite delle fotografie di entrambi le facce di ciascun pannello (Figura 37). I pannelli sono stati quindi trasposti in laboratorio per mezzo di contenitori refrigerati ed è stata determinata l'abbondanza (in termini di copertura percentuale) dei principali gruppi tassonomici, fornendo un'analisi quantitativa della capacità di insediamento e di colonizzazione in presenza ed assenza di frammenti di spugne.

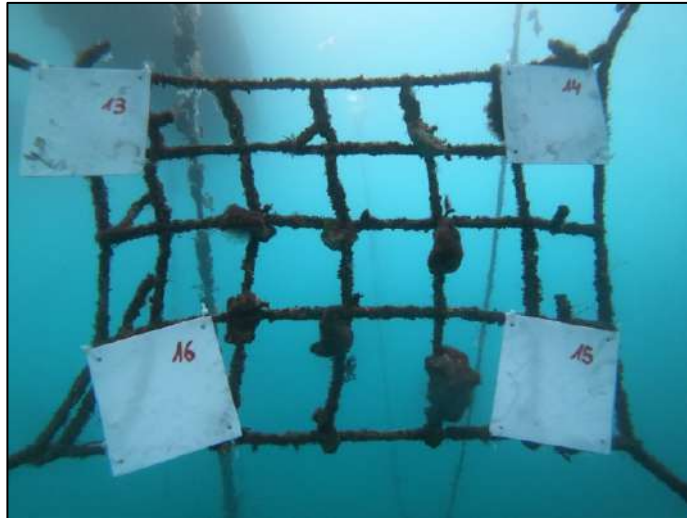


Figura 36. Sistema di ancoraggio di pannelli in PVC su reti in fibra vegetale (gennaio 2021)



Figura 37. Colonizzazione dei pannelli in PVC (lato sud) al termine dell'attività di campionamento (aprile 2021)

In generale, lo spazio colonizzato da specie bentoniche è risultato maggiore sulle facce dei pannelli esposte a sud che su quelle esposte a nord. In particolare, sui pannelli esposti a sud, circa il 60% della superficie è stata colonizzata (40% di ascidie coloniali, briozi e policheti serpulidi; 20%

alghe filamentose), mentre sul lato esposto a nord solamente il 20%. Questi risultati suggeriscono che l'esposizione alla luce solare per un periodo maggiore possa aver stimolato la colonizzazione della faccia dei pannelli esposta a sud, in particolare, da parte di alghe filamentose. Sebbene l'analisi statistica (analisi della varianza asimmetrica) abbia rilevato differenze marginalmente significative ($p = 0.061$) è da notare che la copertura percentuale degli invertebrati sulla faccia esposta a nord dei pannelli su reti con spugne (media $\pm$ deviazione standard = 30.5 ± 22.7) ha mostrato una tendenza ad essere maggiore rispetto a quella dei pannelli applicati a reti prive di spugne (media $\pm$ deviazione standard = 11.1 ± 10.5). Questi risultati suggeriscono che, nonostante, una densità di spugne relativamente bassa, la loro presenza potrebbe aver ridotto la capacità di insediamento di varie specie di invertebrati, in linea con i risultati ottenuti dall'esperimento di laboratorio.

4. Conclusioni

Le caratteristiche biotiche ed abiotiche della Darsena Medicea di Portoferraio sono apparse dunque tali da poter intraprendere la valutazione dell'utilizzo di invertebrati filtratori come strumento per incrementare la qualità delle acque e di bio-monitoraggio. Ispezioni lungo il tratto di costa compreso tra Nisportino e Capo Vita hanno evidenziato la presenza di popolamenti di spugne di mare caratterizzati da un'alta diversità di specie e, per alcune di queste, elevati valori di densità. In particolare, due specie, *Petrosia ficiformis* e *Ircinia oros*, sono risultate particolarmente abbondanti e quindi identificate come potenzialmente utili al fine di realizzare un impianto sperimentale di bio-filtraggio/bio-monitoraggio all'interno della Darsena Medicea.

Frammenti di entrambe le specie di spugne disposte sui supporti sono risultate capaci di filtrare microrganismi, confermando i risultati degli esperimenti di laboratorio. E' da evidenziare un aumento tra il primo ed il secondo evento di monitoraggio della carica batterica totale e di quella di Enterococchi in *P. ficiformis*, più evidente in frammenti disposti sulle reti. Al contrario il numero di colonie sviluppatesi a partire dai campioni prelevati in occasione dell'ultimo evento di monitoraggio è risultato minore. Tale variabilità tra le date di campionamento potrebbe riflettere le fluttuazioni nella concentrazione di batteri nelle acque della Darsena, come emerso da campionamento trimestrale; in alternativa, potrebbe essere legata a cambiamenti nella fisiologia delle spugne all'interno della Darsena.

Lo studio della distribuzione degli inquinanti organici ed inorganici ha sottolineato un elevato accumulo da parte di entrambe le specie di spugne di idrocarburi policiclici aromatici (IPA) e di alcuni elementi in traccia, tra cui As, Cu, Fe, V, Zn e Hg che tende tuttavia a diminuire nel tempo, risultato imputabile ad un calo fisiologico nelle spugne o a variazioni stagionali nelle condizioni ambientali. Assente invece appare l'accumulo di idrocarburi pesanti (IC>12) nel corso del monitoraggio, con i valori simili o poco più altri rispetto al tempo iniziale in entrambe le specie. Vista l'efficienza di accumulo e la resistenza testata in condizioni di laboratorio, è possibile asserire che entrambe le specie oggetto d'indagine possano essere utilizzate come ottimi bio-accumulatori sia in piani di bio-

monitoraggio che di recupero ambientale (Batista et al., 2013). Inoltre, le mancate differenze di rilievo nella concentrazione di inquinanti registrate in spugne disposte sui due tipi di supporti, suggerendo che sia le reti che i telai possano costituire una valida soluzione per la realizzazione di stazioni di filtraggio all'interno di porti turistici.

Dalle analisi puntuali effettuate in matrice acquosa, le concentrazioni riscontrate di composti inorganici nelle due zone di controllo all'interno della Darsena si sono rivelate molto basse e simili a quelle in prossimità dei sistemi di supporto in tutti i tempi di monitoraggio. Unica eccezione, la concentrazione di Zn in corrispondenza dei telai al tempo T3, risultato probabilmente imputabile al rilascio dello stesso da parte delle reti zincate utilizzate per il posizionamento delle spugne. Come per i composti inorganici, anche per gli organici, le concentrazioni riscontrate nelle zone di controllo si sono rivelate molto simili a quelle in prossimità dei sistemi di supporto, confermando, come già emerso nel monitoraggio trimestrale, una contaminazione molto ridotta dell'area di studio. Dai risultati emerge una correlazione positiva tra la concentrazione di composti organici ed inorganici (bassa) presenti nell'acqua e l'accumulo degli stessi (elevato) negli organismi esposti.

La frazione bio-disponibile e bio-accumulata di inquinanti organici, inorganici e microbiologici ha in parte generato nelle spugne una risposta biologica, questa evidenziata da una batteria di biomarkers specifici come strumento prognostico nella comprensione degli effetti a tali agenti contaminanti. La capacità di tollerare concentrazioni medio-elevate di contaminanti e la possibilità di valutare lo stato di salute delle spugne è stato identificato come un presupposto fondamentale per il loro impiego nella stazione di filtraggio. I risultati sperimentali hanno confermato le elevate proprietà filtranti e di bioaccumulo da parte di entrambe le specie e, in particolare, di *P. ficiformis*. Esperimenti di laboratorio hanno rivelato una carica batterica significativamente maggiore in frammenti di *P. ficiformis* esposta a concentrazioni elevate del batterio, *E.coli*, rispetto ai frammenti non esposti. Al contrario, nessuna differenza significativa è stata osservata tra frammenti esposti e non esposti ad un incremento della concentrazione di *E.coli* in *I. oros*. Quest'ultima è comunque risultata capace di sopravvivere all'esposizione a temperature elevate per periodi di tempo prolungati (7 giorni), pur esibendo una ridotta efficienza di filtrazione. Sebbene durante la fase esplorativa del progetto si potesse ipotizzare una migliore efficienza da parte di *P. ficiformis* in termini di filtrazione ed accumulo di contaminanti, differenze di efficienza tra le due specie hanno portato alla decisione di utilizzarle entrambe nel tentativo di innescare effetti di complementarità, ovvero sia massimizzare il numero e la quantità di contaminanti sequestrate attraverso l'azione combinata delle due specie.

In generale, i frammenti di *I. oros*, quando trapiantati su entrambi i sistemi di supporto, hanno mostrato una notevole variabilità nel tempo delle loro capacità metaboliche e riserve energetiche, ed un insorgere dello stato di stress ossidativo in occasione dell'ultimo campionamento. Complessivamente, le analisi biologiche suggeriscono un decremento dello stato fisiologico di *I. oros* con il passare del tempo. Nonostante ciò, le capacità metaboliche dei frammenti di questa specie

sono risultati, per alcune date di monitoraggio significativamente maggiori rispetto al T0, suggerendo che alcune variazioni possano essere legate a fluttuazioni stagionali nelle condizioni ambientali. Anche i frammenti di *P. ficiformis*, su entrambi i sistemi di supporto hanno subito nel tempo un'alterazione delle loro riserve energetiche, un maggiore danno cellulare ed al corredo genico e un'alterazione delle difese antiossidanti e di biotrasformazione rispetto al T0, ma non un calo delle loro capacità metaboliche. Studi a lungo termine sarebbero comunque necessari per stabilire se le variazioni emerse nel tempo nello stato fisiologico in *P. ficiformis* siano da attribuire a fluttuazioni stagionali nelle condizioni ambientali. Nel complesso, la sopravvivenza di entrambe le specie di spugne è stata elevata sia sulle reti che sui telai per tutta la durata della fase sperimentale. In particolare, nessuno dei frammenti trapiantati è andato incontro a morte nel periodo di studio. La capacità di una specie di accumulare grandi quantitativi di contaminate pur non modificando l'organizzazione morfostrutturale rappresenta sicuramente un grande vantaggio nel campo delle biotecnologie che mirano al risanamento ambientale.

È altresì necessario tenere in considerazione come le variazioni delle risposte biologiche osservate in entrambe le specie possano essere state influenzate anche da normali cicli biologici e riproduttivi di questi organismi o da altri fattori inquinanti quali per esempio le microplastiche, oggi considerati uno dei maggiori contaminanti in ambiente marino. Questa ipotesi è stata confermata dai risultati ottenuti dall'analisi effettuate sul contenuto di microplastiche all'interno della Darsena, evidenziando una concentrazione maggiore di frammenti in PET, PP e PU nelle acque superficiali. Poiché le microplastiche sono considerate uno tra i più comuni contaminanti emergenti (Guzzetti et al., 2018), analisi di laboratorio effettuate per studiare i loro possibili impatti, hanno mostrato come la capacità di filtrazione e metabolica delle spugne sia stata influenzata significativamente dalla presenza delle microplastiche in acqua in meno di 72 ore.

Un ulteriore problema delle zone portuali riguarda le incrostazioni biologiche (fouling), in grado di colonizzare substrati sommersi (chiglie delle barche, banchine) formando consistenti bio-costruzioni la cui rimozione comporta notevoli costi economici. Sono state quindi valutate le possibili proprietà antifouling delle spugne presenti sui sistemi di supporto all'interno della Darsena, esaminando le capacità dei popolamenti bentonici di colonizzare substrati artificiali in presenza ed assenza di spugne. In generale, è emerso una tendenza per un minor insediamento di invertebrati (ascidie coloniali, briozoi e policheti serpulidi) sui substrati artificiali fissati in presenza di spugne.

In conclusione, l'azione pilota condotta a Portoferraio dimostra che le spugne di mare, per la loro elevata capacità di filtrazione ed accumulo di contaminanti, possano rappresentare una soluzione naturale per il miglioramento della qualità delle acque ed il bio-monitoraggio di inquinanti in porti turistici. La possibilità di allestire impianti di bio-filtraggio utilizzando come supporti principali le strutture artificiali che si trovano comunemente in questi ambienti (pontili galleggianti, banchine,

corpi morti), riducendo notevolmente i costi ed incrementando la trasferibilità della soluzione stessa, rappresenterebbe un punto di forza di questa strategia. Sebbene siano necessari ulteriori studi per il passaggio da una fase sperimentale pilota ad una operativa, i risultati ottenuti aprono nuove prospettive per il ripristino e la conservazione della biodiversità marina e dei servizi ecosistemici che essa fornisce in aree urbane.

6. Bibliografia

- Bulleri, F. (2006) Is it time for urban ecology to include the marine realm? *Trends in Ecology & Evolution* 21: 658-659.
- Bulleri, F., and Chapman, M.G. (2010) The introduction of coastal infrastructure as a driver of change in marine environments. *Journal of Applied Ecology* 47: 26-35.
- Bulleri, F., Eriksson, B.K., Queirós, et al. (2018) Harnessing positive species interactions as a tool against climate-driven loss of coastal biodiversity. *PLoS Biology* 16(9): e2006852.
- Bulleri, F., Batten, S., Connell, S.D., et al. (2020). Human pressures and the emergence of novel marine ecosystems. *Oceanography and Marine Biology: an Annual Review* 57: 456-535.
- Firth, L. B., Knights, A. M., Bridger, D., et al. (2016). Ocean sprawl: Challenges and opportunities for biodiversity management in a changing world. *Oceanography and Marine Biology: An Annual Review*, 54: 193–269.
- Grizzle, R.E., Greene, J.K., Coen, L.D. (2008) Seston removal by natural and constructed intertidal eastern oyster (*Crassostrea virginica*) reefs: A comparison with previous laboratory studies, and the value of in situ methods. *Estuaries and Coasts* 31: 1208-1220.
- Guzzetti, E., Sureda, A., Tejada, S., Faggio, C. (2018). Microplastic in marine organism: Environmental and toxicological effects. *Environmental toxicology and pharmacology*, 64, 164-171.
- Hughes, D.J., Cook, E.J., Sayer, M.D.J. (2005) Biofiltration and biofouling on artificial structures in Europe: The potential for mitigating organic impacts *Oceanography and Marine Biology: an Annual Review* 43: 123-172.
- Milanese, M., Chelossi, E., Manconi, R., et al. (2003) The marine sponge *Chondrilla nucula* Schmidt, 1862 as an elective candidate for bioremediation in integrated aquaculture. *Biomolecular Engineering* 20: 363-368.
- Batista, D., Tellini, K., Nudi, A.H., et al. (2013). Marine sponges as bioindicators of oil and combustion derived PAH in coastal waters. *Marine Environmental Research* 92:234-243.
- de Mestre, C., W. Maher, D. Roberts, et al. (2012). Sponges as sentinels: Patterns of spatial and intra-individual variation in trace metal concentration. *Marine Pollution Bulletin* 64: 80-89.
- Ferrante, M., M. Vassallo, A. Mazzola, et al. (2018). In vivo exposure of the marine sponge *Chondrilla nucula* Schmidt, 1862 to cadmium (Cd), copper (Cu) and lead (Pb) and its potential

- use for bioremediation purposes. *Chemosphere* 193: 1049-1057.
- Fontes, J., Afonso, P. (2017). Long-term residency and movements of yellowmouth barracuda (*Sphyraena viridensis*) at a shallow seamount. *Marine Biology* 164: 19.
- Garcia-Nieto, A.P., et al. (2018). Impacts of urbanization around Mediterranean cities: changes in ecosystem service supply. *Ecological Indicators* 91: 589-606.
- Gentric, C., Rehel, K., Dufour A., Sauleau, P. (2016). Bioaccumulation of metallic trace elements and organic pollutants in marine sponges from the South Brittany Coast, France. *Journal of Environmental Science and Health - Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering* 51:213-219.
- Ledda, F.D., Pronzato, R., Manconi, R. (2014). Mariculture for bacterial and organic waste removal: A field study of sponge filtering activity in experimental farming. *Aquaculture Research* 45: 1389-1401.
- Longo, C., Corriero, G., Licciano, M., Stabili, L. (2010). Bacterial accumulation by the Demospongiae *Hymeniacidon perlevis*: A tool for the bioremediation of polluted seawater. *Marine Pollution Bulletin* 60: 1182-1187.
- Mercurio, M., Longo, C., Nonnis Marzano, C. et al. (2003). L'allevamento di spugne commerciali nella Riserva Naturale Marina 'Isola di Ustica.' *Biologia Marina Mediterranea* 10:462–464.
- Osinga, R., Sidri, M., Cerig, E., et al. (2010). Sponge aquaculture trials in the East-Mediterranean Sea: new approaches to earlier ideas. *Open Marine Biology Journal* 4: 74-81
- Padiglia, A., Ledda, F.D., Padedda, B.M., et al.. 2018. Long-term experimental in situ farming of *Crambe crambe* (Demospongiae: Poecilosclerida). *PeerJ* 6:e4964.
- Perez, T., Wafo, E., Fourt, M., Vacelet, J. (2003). Marine sponges as biomonitor of polychlorobiphenyl contamination: Concentration and fate of 24 congeners. *Environmental Science and Technology* 37: 2152-2158.
- Pronzato, R. 1999. Sponge-fishing, disease and farming in the Mediterranean Sea. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 9: 485-493.
- Riisgård, H.U., Larsen, P.S. (1995). Filter-feeding in marine macro-invertebrates: pump characteristics, modelling and energy cost. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society (London)* 70: 67–106.
- Stabili, L., Licciano M., Longo, C., et al. (2008). Evaluation of microbiological accumulation capability of the commercial sponge *Spongia officinalis* var. *adriatica* (Schmidt) (Porifera, Demospongiae). *Water Research* 42: 2499-2506.

COMPONENTE T2/COMPONSANTE T2

ATTIVITA' T2.1/ACTIVITÉ T2.1

PRODOTTO T2.1.1/LIVRABLE T2.1.1

Rapport de l'action pilote de Portoferraio

Municipalité de Portoferraio

30/06/2021

La cooperazione al cuore del Mediterraneo
La coopération au coeur de la Méditerranée



TABLE DES MATIÈRES

1. Introduction	3
2. Phase préliminaire	4
<u>2.1. Inspection des peuplements benthiques à l'intérieur du quai Medicean</u>	4
<u>2.2. Identification des espèces d'éponges pouvant être utilisées pour la construction du système expérimental de biofiltration</u>	9
2.2.1. Définition du statut métabolique et caractérisation physiologique de <i>Ircinia oros</i> et <i>Petrosia ficiformis</i>	11
2.2.2. Bioaccumulation de composés inorganiques	12
2.2.3. Bioaccumulation de composés inorganiques	13
2.2.4. Évaluation expérimentale de la capacité de bioaccumulation des contaminants inorganiques et organiques et des réponses physiologiques connexes chez <i>Ircinia oros</i> et <i>Petrosia ficiformis</i>	14
2.2.5. Evaluation expérimentale de la capacité de filtration de microorganismes bactériens par <i>Ircinia oros</i> et <i>Petrosia ficiformis</i>	18
2.2.6. Évaluation expérimentale de la réponse des éponges aux contraintes thermiques	19
2.2.7. Réponse physiologique de <i>Petrosia ficiformis</i> à l'exposition aux microplastiques	20
3. Phase opérationnelle	23
<u>3.1. Conception de modules pour la réalisation de l'installation expérimentale de biofiltration et biosurveillance</u>	23
<u>3.2. Mise en place du système de biofiltration</u>	24
<u>3.3. Suivi des effets de l'action pilote</u>	29
3.3.1. Analyses sur les éponges	29
3.3.1.1. Analyses biologiques	30
3.3.1.2. Concentration de micro-organismes bactériens dans les éponges	35
3.3.1.3. Bioaccumulation de composés inorganiques	36
3.3.1.4. Bioaccumulation de composés inorganiques	38
3.3.2. Effets sur la qualité de l'eau : comparaison entre l'installation et les zones de contrôle et au sein du quai Medicean	41
3.3.2.1. Composante bactérienne	41
3.3.2.2. Polluants inorganiques	42
3.3.2.3. Polluants organiques	44
<u>3.4. Effets des éponges sur la colonisation des substrats artificiels</u>	46
3.4.1. Tests de laboratoire	46
3.4.2. Expérience sur le terrain	50
4. Conclusions	52
5. Bibliographie	55

1. Introduction

Le développement progressif du littoral a provoqué une altération significative des conditions chimiques et physiques des eaux et la perte d'habitats naturels, avec des répercussions importantes sur la diversité et le fonctionnement des communautés marines du bassin méditerranéen et sur les services écosystémiques qu'elles fournissent (García-Nieto et al. 2018). Bien que l'importance des écosystèmes urbains soit largement reconnue dans les environnements terrestres, l'intérêt pour la faune et la flore marines des zones portuaires ou fortement urbanisées a traditionnellement été faible. Au cours de la dernière décennie, cependant, on a assisté à un changement de tendance, généré par la reconnaissance progressive du fait que ces zones peuvent contribuer à la conservation de la biodiversité marine et fournir d'importantes fonctions et services écosystémiques (Bulleri, 2006, 2020). Par exemple, il a été démontré que l'inclusion de principes écologiques (éco-ingénierie) pendant la phase de planification et d'installation d'infrastructures urbaines et portuaires, telles que les brise-lames, les docks, les jetées flottantes, les pylônes, etc. peut contribuer à créer des habitats pour les organismes marins, y compris les espèces présentant un intérêt pour la conservation ou le commerce (Bulleri & Chapman, 2010 ; Firth et al. 2016).

Ces activités s'inscrivent généralement dans le cadre de plans de développement plus larges pour les zones urbaines côtières, qui prévoient des actions visant à améliorer la qualité physique et chimique de l'eau et des sédiments, à combiner les intérêts des différents groupes de parties prenantes et à promouvoir la diffusion de la culture environnementale. Des exemples notables sont le projet World Harbour (<http://www.worldharbourproject.org/>) et le projet Billion Oysters (<https://billionoysterproject.org/>). Dans ce contexte, la restauration de communautés marines spécifiques, telles que celles composées d'organismes filtreurs, est une question essentielle (Hughes et al., 2005 ; Grizzle et al., 2008). En fait, les filtreurs tels que les bivalves et les éponges peuvent rendre de multiples services : i) filtration de l'eau avec réduction conséquente de la concentration en métaux, de la charge bactérienne et de la matière organique particulaire ; ii) formation d'un habitat pour les invertébrés et les vertébrés, iii) constitution d'une ressource économique. Cette perspective s'inscrit dans le cadre de politiques de conservation fondées sur l'utilisation d'espèces capables de maintenir la biodiversité et le fonctionnement des écosystèmes dans des scénarios futurs, caractérisés par une altération progressive des conditions environnementales (solutions fondées sur la nature; Bulleri et al. 2018).

Les porifères (éponges de mer), en tant que filtreurs, peuvent accumuler des métaux, notamment le cuivre contenu dans les peintures antisalissures (Ferrante et al. 2018), que l'on retrouve souvent dans les eaux affectées par les activités nautiques, comme les ports commerciaux et les marinas (de Mestre et al. 2012, Gentric et al. 2016, Ferrante et al. 2018). La capacité d'accumulation des polluants ne se limite pas aux seuls métaux, mais s'étend également aux polluants de nature organique. Les éponges ont une forte teneur en lipides qui favorise

l'accumulation de composés hydrophobes. Par exemple, *Spongia officinalis* est capable d'accumuler des biphényles polychlorés, connus sous le nom de PCB (Perez et al. 2003). De même, *Hymeniacidon heliophila* semble être un bon candidat pour la surveillance de la qualité de l'eau car les niveaux d'hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) dans les tissus de cette éponge sont en corrélation avec les niveaux environnementaux (Batista et al. 2013). Il est important de noter que, dans certains cas, la capacité des éponges de mer à bioaccumuler ces contaminants est supérieure à celle des bivalves, organismes souvent utilisés comme bioindicateurs. En outre, les éponges de mer montrent une forte rétention des particules inférieures à 1 µm qui sont celles de la gamme de taille émise par la combustion, tandis que les bivalves capturent plus efficacement les particules supérieures à 100 µm (Riisgard et al., 1996).

Les éponges peuvent également accumuler des microorganismes, y compris des agents potentiellement pathogènes comme les coliformes et les streptocoques fécaux et certains vibrions, et représentent donc un outil de détection de la contamination microbiologique des eaux marines (Milanese et al. 2003, Stabili et al. 2008, Longo et al. 2010). D'autres avantages de l'utilisation des éponges de mer comme outil de biosurveillance sont leur large distribution, leur facilité d'accès et leur capacité à se reproduire par fragmentation.

Enfin, les éponges peuvent être une source d'une grande variété de métabolites biologiquement actifs, dont beaucoup présentent un intérêt pour l'industrie pharmaceutique. Par exemple, *Chondrosia reniformis*, qui est présente dans la zone d'étude, est une importante source naturelle de collagène (Gökalp et al. 2019).

L'action pilote menée par le département de biologie s'est donc concentrée sur l'évaluation de l'utilisation des porifères comme outil d'épuration des eaux de marina. Dans une **phase préliminaire**, une série d'activités ont été réalisées sur le terrain et en laboratoire afin d'obtenir les informations nécessaires à la **phase opérationnelle**, c'est-à-dire au lancement de l'installation expérimentale de biofiltration et au suivi des effets produits.

2. Phase préliminaire

2.1. Inspection des peuplements benthiques à l'intérieur du quai Medicean

Dans un premier temps, la structure des populations benthiques présentes sur les structures artificielles (quais et docks) au sein du quai Medicean a été analysée, un aspect critique pour déterminer la faisabilité de l'action pilote. Quatre sites au sein du quai Medicean ont été examinés à l'aide de techniques photographiques et d'un échantillonnage le 15/01/2020 (Fig. 1).



Figure 1. Sites d'échantillonnage à l'intérieur du quai Mediceo de Portoferraio
Après inspection visuelle, la jetée située sur le site 1 (Lat. 42°48.766'N ; Long. 010°19.822'E)

a été trouvée colonisée par des bryozoaires, appartenant principalement aux espèces *Cradoscrupocellaria reptans* et *Schizobrachiella sanguinea* et par des hydrozoaires, comme ceux appartenant au genre *Sertulariella* (Fig. 2a,b). La colonisation par cette espèce se poursuit également le long des caténaires, sur lesquelles un certain nombre d'espèces d'éponges encroûtantes ont également été détectées, notamment *Crambe crambe* (Fig. 2.c,d).

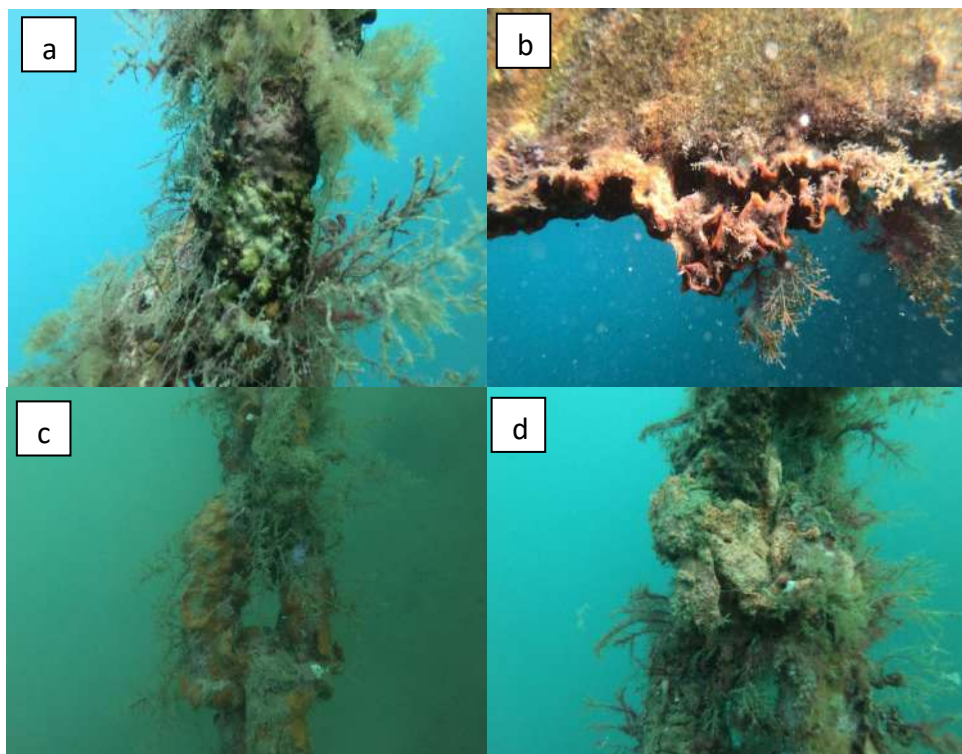


Figure 2. Populations de bryozoaires et d'hydrozoaires présentes (a) sur les chaînes et (b) sur le dock flottant. Éponges encroûtantes présentes sur les chaînes (c, d).

La colonisation de la jetée située sur le site 2 (Lat. 42°48.738'N, Long. 010°19.800'E) et les chaînes se sont avérées similaires à celles de la jetée du site 1. Une troisième espèce d'éponge, appartenant au genre *Ircinia*, a été trouvée à environ 5 m de profondeur (Fig. 3).



Figure 3. Éponge du genre *Ircinia*

Au site 3 (Lat. 42°48.798'N ; 010°19.866'E), la jetée appelée « des résidents », caractérisée par une profondeur maximale de 8 mètres, a été examinée. La surface inférieure de la jetée offre un environnement sciaphile et, en plus des bryozoaires, est colonisée par le spirographe *Sabella spallanzanii* et des ascidies appartenant au genre *Clavelina* (Fig. 4). Sur les fonds marins, on trouve quelques spécimens de la madrépore *Cladocora caespitosa*.



Figure 4. Populations benthiques sur la surface inférieure du dock flottant

Au site 4 (Lat. 42°48.844'N ; Long. 010°19.770'E) a été réalisée le long du quai en maçonnerie sur le côté NW du quai Medicean. Également sur ce site, *Cladocora caespitosa* est

présent. Deux espèces d'éponges encroûtantes sont présentes le long de la paroi, dont l'une appartient au genre *Crambe* (Fig. 5). Il faut noter la rareté de la présence de bivalves, et en particulier de *Mytilus galloprovincialis*, à l'intérieur du quai Medicean.



Figure 5. Éponges encroûtantes

Les populations d'invertébrés (épifaune sessile et vagile) associées aux structures artificielles des sites 1, 3 et 4 ont été étudiées plus en détail en prélevant 10 échantillons (surface standard de 10 x 10 cm) qui ont ensuite été examinés dans les laboratoires de l'Unité de Biologie et d'Écologie du Département de Biologie. Les individus présents ont ensuite été identifiés à l'aide d'un microscope binoculaire. Ces populations d'invertébrés sont caractérisées par une grande richesse en espèces, étant constituées de représentants de 5 phyla, pour un nombre total d'espèces égal à 58 (Tableau 1). Les groupes les plus nombreux étaient les annélides, les crustacés et les mollusques (Fig. 6).



Figure 6. Annélides polychètes (panneau de gauche), mollusques et crustacés (panneau de droite) identifiés dans le quai Medicean

La grande diversité des populations benthiques au sein du quai Medicean suggère que le site n'est généralement pas affecté par des perturbations anthropiques importantes.

Tableau 1. Épifaune sessile et vagile trouvée dans le quai Medicean de Portoferraio

Taxa	Specie	Sito 1	Sito 3	Sito 4
Nemertea	<i>Cephalothrix rufifrons</i>	+	+	+
	<i>Tubulanus nothus</i>	+		
Mollusca	<i>Aequipecten opercularis</i>		+	
	<i>Alvania lineata</i>			+
	Aeolidiidae n.d.		+	
	<i>Cratena peregrina</i>	+		
	<i>Diodora gibberula</i>	+		
	<i>Elysia gordanæ</i>	+		
	<i>Hiatella</i> sp.			+
	<i>Musculus costulatus</i>	+	+	+
	<i>Mytilaster minimus</i>		+	
	<i>Mytilus galloprovincialis</i>		+	
	<i>Spondylus gaederopus</i>			+
	<i>Striarca lactea</i>		+	+
	<i>Williamia gussoni</i>			+
Annelida	<i>Amphiglena mediterranea</i>		+	
	<i>Armandia polyophtalma</i>		+	
	<i>Aspidosiphon muelleri</i>	+	+	
	<i>Ceratonereis costae</i>	+	+	
	<i>Chrysopetalum debile</i>	+	+	+
	<i>Dasybranchus gajolae</i>		+	
	<i>Dipolydora armata</i>		+	
	<i>Dodecaceria concharum</i>	+		+
	<i>Eurysyllis tuberculata</i>	+		
	<i>Exogone naidina</i>	+	+	+
	<i>Haplosyllis spongicola</i>	+	+	+
	<i>Harmothoe areolata</i>	+		
	<i>Harmothoe extenuata</i>		+	
	<i>Hydroides elegans</i>		+	
	<i>Lumbrineris</i> cf. <i>perkinsi</i>		+	+
	<i>Lysidice unicornis</i>	+		
	<i>Myrianida prolifera</i>	+	+	
	<i>Nereiphylla</i> cf. <i>lugens</i>	+	+	+
	<i>Odontosyllis fulgurans</i>	+		
	<i>Oxydromus flexuosus</i>		+	
	<i>Parasabella tommasi</i>	+	+	
	<i>Phascolosoma agassizii</i>	+		
	<i>Platynereis dumerilii</i>	+		
	<i>Polyophtalmus pictus</i>	+	+	+
	<i>Proceræa aurantiaca</i>	+	+	
	<i>Sabella spallanzanii</i>		+	
	<i>Schistomeringos rudolphi</i>		+	
	<i>Sphaerosyllis taylori</i>	+	+	
	<i>Syllis gracilis</i>	+	+	
	<i>Syllis prolifera</i>	+		+
	<i>Syllis truncata cryptica</i>	+	+	
	<i>Synmerosyllis lamelligera</i>		+	
	<i>Vermiliopsis striaticeps</i>	+		
Arthropoda	<i>Alpheus glaber</i>	+	+	
	<i>Chondrochelia savignyi</i>	+	+	+
	<i>Corophium</i> sp.	+	+	+
	<i>Gnathia</i> sp.		+	
	<i>Hippolyte</i> sp.		+	
	<i>Pilumnus hirtellus</i>	+	+	
	<i>Pisidia longicornis</i>	+	+	
	<i>Stenothoe</i> sp.	+	+	+
Echinodermata	<i>Amphiura chiajei</i>		+	
	<i>Ophiothryx fragilis</i>		+	

2.2. Identification des espèces d'éponges pouvant être utilisées pour la réalisation de l'installation expérimentale de biofiltration

Une hypothèse fondamentale qui sous-tend la création d'une installation expérimentale de bio-purification est d'utiliser des espèces largement disponibles localement, en évitant d'introduire des espèces ou des génotypes qui ne sont pas présents dans la région. À cette fin, une première inspection des populations d'éponges présentes sur les substrats rocheux naturels le long du tronçon de côte entre Capo Vita et Nisportino a été réalisée par prospection sous-marine en janvier 2020 (Fig. 7).



Figure 7. Sites inspectés à l'extérieur du quai Medicean de Portoferraio

À des profondeurs comprises entre 3 et 12 mètres, les peuplements porifères se sont révélés très diversifiés sur les deux sites inspectés. Les espèces appartenant aux genres *Agelas*, *Spongia*, *Ircinia*, *Petrosia* et *Crambe* (Fig. 8) étaient communs et certains d'entre eux étaient présents avec des valeurs d'abondance élevées sur les deux sites. Certaines de ces espèces d'éponges, telles que *Agelas*, *Spongia* sp., *Ircinia* spp., *Chondrosia reniformis* et *Crambe crambe* ont été élevées avec succès dans diverses régions de la Méditerranée (Pronzato 1999, Mercurio et al. 2003, Osinga et al. 2010, Ledda et al. 2014, Padiglia et al. 2018, Gökalp et al. 2019). Par exemple, *Chondrosia reniformis* a été élevée avec succès en utilisant des matériaux peu coûteux tels que des filets en PVC comme supports (Gökalp et al.). 2019). Il est particulièrement intéressant de noter que certaines espèces, telles que celles appartenant au genre *Agelas* et *Ircinia*, ont été élevées à de faibles profondeurs également dans des marinas affectées par des rejets d'eaux usées et des activités liées à la navigation de plaisance et professionnelle (Ledda et al. 2014). Dans de telles conditions environnementales, il a été démontré que ces espèces sont capables de maintenir des taux élevés de filtration de l'eau (Ledda et al. 2014).



Figure 8. Populations porifères dans les sites échantillonnés le long du tronçon de côte entre Nisporto et Capo Vita. Les spécimens appartenant aux espèces *Petrosia ficiformis* et *Ircinia oros* sont indiqués par la flèche rouge et la flèche orange, respectivement.

La large diffusion des porifères dans la zone d'étude et les preuves de la grande capacité de filtration et d'accumulation des polluants par ces organismes, obtenues à partir d'activités de recherche bibliographique dans la période décembre 2019 - janvier 2020 ont donc permis d'identifier ces organismes comme des candidats idéaux pour la mise en place d'une installation de filtration expérimentale au sein du quai Medicean de Portoferraio. En particulier, en raison de leur grande abondance, deux espèces appartenant aux genres *Ircinia* et *Petrosia* ont été étudiées plus en détail afin d'établir leur aptitude à être utilisées dans l'installation expérimentale de biodépuration de l'eau.

En février 2020, sur le site 1, 5 fragments d'éponges (~50 g de poids frais chacun) appartenant à *Ircinia oros* (Schmidt, 1864) et *Petrosia ficiformis* (Poiret, 1789) ont été échantillonnés à une profondeur de 5-7 m. Les échantillons ont été transportés au laboratoire dans des conteneurs

réfrigérés. Chacun des échantillons a été divisé en trois parties, dont ~1 g pour la reconnaissance taxonomique, ~40 g pour les analyses instrumentales/analytiques de bioaccumulation, et le reste pour les analyses biologiques.

Les préparations pour la reconnaissance taxonomique ont été effectuées directement sur l'échantillon frais, le jour même de la collecte. Chaque fragment a été conservé dans de l'alcool à 70 % et envoyé au Département de Biologie de l'Université de Gênes, où, en collaboration avec le Dr. Marco Bertolino, des analyses structurales ont été réalisées au microscope optique ; elles ont confirmé l'appartenance des fragments analysés aux espèces *Ircinia oros* et *Petrosia ficiformis* (Fig. 8).

2.2.1. Définition du statut métabolique et caractérisation physiologique d'*Ircinia oros* et de *Petrosia ficiformis*

Une batterie de marqueurs spécifiques a été appliquée aux fragments d'éponge des deux espèces afin d'évaluer leur statut métabolique et d'effectuer une caractérisation physiologique. En particulier, le contenu des réserves énergétiques (teneur en glycogène) a été évalué : GLY), les dommages cellulaires (peroxydation lipidique des membranes : LPO) et les activités des enzymes antioxydantes et de biotransformation (superoxyde dismutase : SOD) et glutathion S-transférase ; GSTs). Au laboratoire, ces activités ont été déterminées dans des aliquotes de 0,5 g de poids frais de tissu, homogénéisés avec un TEFLON EN VERRE DE POTTER -ELVEHJEM dans 4 volumes (p/v) de tampon phosphate (K_2HCO_4) (dihydrogénophosphate de potassium 50mM, phosphate dipotassique 50mM, pH 8,00) et finalement centrifugés à 9000 x g pendant 20' à 4 °C, obtenant la fraction cytosolique (S9). Le surnageant a été conservé à -80°C ou utilisé immédiatement. Toutes les réponses biochimiques ont été enregistrées par un lecteur de microplaques BioTek Synergy HT.

En général, la spécificité de la réponse a été dérivée des valeurs de chaque marqueur analysé (Tableau 2). Le contenu en glycogène (GLY), qui sert de réserve d'énergie en glucose pour le corps, était significativement plus élevé dans les fragments appartenant à l'espèce *I. oros*. La peroxydation lipidique (LPO), un processus généré par les espèces réactives de l'oxygène (ROS) provoquant l'oxydation des lipides membranaires, et l'activité des enzymes antioxydantes (SOD) n'étaient pas statistiquement différentes entre les deux espèces. En revanche, les valeurs des enzymes de biotransformation ont montré des activités plus élevées chez les espèces de *P. ficiformis* que chez *I. oros*.

Tableau 2. Valeurs moyennes des biomarqueurs ($\pm$ d.s.) déterminées dans les fragments appartenant aux espèces *Ircinia oros* et *Petrosia ficiformis* prélevés le 17/02/2020 sur le site 1. Teneur en glycogène (GLY) (mg/mL) ; peroxydation lipidique membranaire (LPO) (nmol/MDA/g FW) ; activité superoxyde dismutase (SOD) (U/mL) ; activité glutathion S-transférase (GSTs) (U/mg prot). Les différences statistiquement significatives (Unpaired t-test) entre les deux espèces sont signalées par des astérisques : * $p < 0.05$

17 février 2020			
Biomarqueur	Unité de mesure	<i>I. oros</i>	<i>P. ficiformis</i>
GLY	mg/mL	3.92 $\pm$ 0.19*	2.63 $\pm$ 00:18*
LPO	nmol/MDA/g FW	3.30 $\pm$ 1.35	3.74 $\pm$ 1.93
SOD	U/mL	00:55 $\pm$ 00:14	0.77 $\pm$ 0.15
GSTs	U/mg prot	0.12 $\pm$ 0.02*	01:33 $\pm$ 00:03*

2.2.2. Bioaccumulation de composés inorganiques

Les concentrations de certaines classes de composés organiques et inorganiques ont été analysées afin d'estimer le potentiel de bioaccumulation par chacune des deux espèces d'éponges.

Les éléments suivants ont été analysés : arsenic (As), cadmium (Cd), chrome (Cr), cuivre (Cu), fer (Fe), manganèse (Mn), nickel (Ni), plomb (Pb), vanadium (V), zinc (Zn) et mercure (Hg). La minéralisation des échantillons a été effectuée sur environ 0,5 mg d'échantillon tel quel (correspondant à environ 0,350 mg de matière sèche (s.s.)) en utilisant un système de digestion par micro-ondes programmé de manière appropriée. Pour la détermination du Hg, la méthode EPA7473 a été suivie. L'échantillon a été soumis à un traitement thermique pour éliminer toute étape de prétraitement de l'échantillon lui-même, ce qui permet de l'analyser tel quel. Le processus particulier de décomposition conduit à la réduction chimique du métal, puis à sa concentration préalable sur un amalgame d'or et, enfin, à son analyse quantitative par absorption atomique (DMA-80 Direct Mercury Analyzer). Les déterminations de Cd et Pb ont été effectuées par spectroscopie d'absorption atomique dans un four en graphite (Varian Spectra AA-220 Z), selon la procédure EPA7010. Les concentrations des autres éléments traces ont été déterminées par spectrophotométrie d'émission atomique à plasma (Varian Liberty AX ICP-AES) selon la méthode EPA6010C. La précision des procédures de digestion et d'analyse des échantillons a été vérifiée en utilisant les matériaux de référence standard des sédiments du port PACS-2. Les valeurs ont été exprimées en mg/kg de poids corporel.

Les résultats ont montré une forte accumulation de tous les éléments traces analysés par les deux espèces, en particulier pour As, Cu, Fe, Mn, Ni, Zn et V (Tableau 3). En comparant la bioaccumulation entre les deux espèces étudiées, *I. oros* a présenté des concentrations de Ni et de

V plus élevées que celles détectées chez *P. ficiformis*. En revanche, les concentrations d'As et de Fe étaient plus élevées chez *P. ficiformis*. Les données obtenues ont permis de déterminer la capacité de bioaccumulation des deux espèces étudiées.

Tableau 3. Concentrations de composés inorganiques (mg/kg s.s.) présents dans les fragments appartenant aux espèces *Ircinia oros* et *Petrosia ficiformis* collectés le 17/02/2020 sur le site 1. LOQ : Limites de la quantification

Catégories	17 février 2020				
	Paramètre	Unité de mesure	LOQ	<i>I. oros</i>	<i>P. ficiformis</i>
Inorganiques	As	mg/kg s.s.	1	51.7	96.7
	Cd	mg/kg s.s.	0.02	0.2	1.7
	Cr	mg/kg s.s.	1	<1	<1
	Cu	mg/kg s.s.	1	43.8	39.8
	Fe	mg/kg s.s.	30	3626.6	434.2
	Ni	mg/kg s.s.	1	276.9	15.2
	Mn	mg/kg s.s.	1	30.9	41.4
	Pb	mg/kg s.s.	1	4.5	1.8
	V	mg/kg s.s.	1	10.8	1.3
	Zn	mg/kg s.s.	1	56.7	51.9
	Hg	mg/kg s.s.	0.1	0.2	0.4

2.2.3. Bioaccumulation de composés organiques

Pour la détermination des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) et des hydrocarbures lourds (C>12), les analyses ont été effectuées sur une aliquote de ~20 g (poids humide), tandis qu'une seconde aliquote a été utilisée pour la détermination du poids sec. La détermination des HAP (16 selon l'EPA) et des C>12 a été effectuée par chromatographie en phase gazeuse. Là encore, les composants ont été détectés à l'aide de la technique FID (détecteur à ionisation de flamme). La limite de détection de l'instrument et celle de la méthode correspondent respectivement à 0,05 µg de solvant et 0,002 mg/kg d'échantillon s.s.. Les valeurs ont été exprimées en µg/kg de poids corporel.

D'après les analyses de bioaccumulation, chez les deux espèces, les concentrations de C>12 et de HAP étaient inférieures à la limite de détection de la méthode (LOQ), sauf pour le Fluoranthène, l'Indeno[1,2,3,c,d]pyrène et le Naphtalène, avec des valeurs légèrement plus élevées chez l'espèce *I. oros* que chez *P. ficiformis* (Tableau 4). Là encore, les résultats obtenus ont permis de mieux comprendre la capacité de bioaccumulation de chacune des deux espèces.

Tableau 4. Concentrations de composés organiques (µg/kg s.s.) présents dans les fragments appartenant aux espèces *Ircinia oros* et *Petrosia ficiformis* collectés le 17/02/2020 sur le site 1. LOQ : Limites de la quantification

Catégories	17 février 2020				
	Paramètre	Unité de mesure	LOQ	<i>I. oros</i>	<i>P. ficiformis</i>
Organiques	IC>12	µg/kg s.s.	1512.2	<1512.2	<1512.2
	Acénaphthalène	µg/kg s.s.	4.13	<4.13	<4.13
	Acénaphthène	µg/kg s.s.	4.13	<4.13	<4.13
	Anthracène	µg/kg s.s.	4.13	<4.13	<4.13
	Benz[a]anthracène	µg/kg s.s.	4.13	<4.13	<4.13
	Benzo[a]pyrène	µg/kg s.s.	4.13	<4.13	<4.13
	Benzo[b]fluoranthène	µg/kg s.s.	4.13	<4.13	<4.13
	Benzo[ghi]pérylène	µg/kg s.s.	4.13	<4.13	<4.13
	Benzo[k]fluoranthène	µg/kg s.s.	4.13	<4.13	<4.13
	Chrysène	µg/kg s.s.	4.13	<4.13	<4.13
	Dibenzo[a,h]anthracène	µg/kg s.s.	4.13	<4.13	<4.13
	Phénanthrène	µg/kg s.s.	4.13	<4.13	<4.13
	Fluoranthène	µg/kg s.s.	4.13	7.7	5.1
	Fluorène	µg/kg s.s.	4.13	<4.13	<4.13
	Indéno[1,2,3,c,d]pyrène	µg/kg s.s.	4.13	12.6	5.4
	Naphtalène	µg/kg s.s.	4.13	10.2	5.5
	Pyrène	µg/kg s.s.	4.13	<4.13	<4.13

2.2.4. Évaluation expérimentale de la capacité de bioaccumulation de contaminants inorganiques et organiques et des réponses physiologiques associées chez *Ircinia oros* et *Petrosia ficiformis*

En juin et juillet 2020, deux expériences ont également été menées dans des conditions contrôlées pour évaluer les capacités de bioaccumulation et les éventuelles réponses biologiques des deux espèces exposées à des composés inorganiques et organiques.

I. oros et *P. ficiformis* ont été exposées pendant 7 jours (7j) à deux concentrations de Benzo[a]pyrène (0,002 et 0,02 µg/L) et de plomb (5 et 50 µg/L) pertinentes pour l'environnement. Quinze fragments (~50 g de poids frais chacun) de chaque espèce ont été collectés le long du littoral entre Nisportino et Capo Vita, à une profondeur de 5-7 m, et transportés au laboratoire dans des conteneurs réfrigérés. Les fragments ont été acclimatés pendant 4 jours (4j) dans de l'eau naturelle (NSW) filtrée à 0,45 µm (salinité 38 PSU), oxygénée en continu, avec une exposition à une photopériode de 12h/12h et une température de : 23±2°C. Aucune alimentation n'a été administrée pendant la période d'acclimatation et pendant le test. L'essai a été mis en place en 3 répliques (3 L par réplique) par traitement (**CTRL** : 1 fragment par espèce - aucun contaminant ; **Pb 5**: 1 fragment par espèce exposée à 5 µg/L de plomb ; **Pb 50** : 1 fragment par espèce exposée à 50 µg/L de plomb ; **B[a]P 0.002**: 1 fragment par espèce exposée à 0,002 µg/L de Benzo[a]pyrène ; **B[a]P 0,02**: 1 fragment par espèce exposée à 0,02 µg/L de Benzo[a]pyrène) (Fig. 9). Le pH, la salinité et l'oxygène dissous ont été mesurés quotidiennement.



Figure 9. Exposition d'*Ircinia oros* au Pb (5 et 50 $\mu\text{g/L}$) et au B[a]P (0,002 et 0,02 $\mu\text{g/L}$)

À la fin des 7 jours d'exposition, les organismes ont été congelés à -80°C . Ensuite, les opérations suivantes ont été réalisées : I) analyse des réponses biologiques ; II) analyse de la bioaccumulation dans les tissus des deux composés selon les mêmes modalités que celles rapportées précédemment dans la section 3.2.2. et II) analyse de la quantification des deux composés dans la matrice aqueuse au début (t_0) et à la fin de l'essai (t_7). Pour les analyses biologiques le contenu des réserves énergétiques a été évalué (teneur en glycogène : GLY), les dommages cellulaires (peroxydation lipidique des membranes : LPO) et les activités des enzymes antioxydantes et de biotransformation (superoxyde dismutase : SOD) et glutathion S-transférase : GSTs). Leur capacité métabolique (système de transport d'électrons : ETS) et les dommages possibles à l'ensemble des gènes (ADN ssB). La capacité métabolique a été déterminée dans des aliquotes de 0,3 g de poids frais de tissu, homogénéisés avec un TEFLON EN VERRE DE POTTER -ELVEHJEM dans 4 volumes (p/v) de tampon BSS (0,1 M Tris-HCl pH 8.5 avec 15 % (p/v) de PVP, 153 μM de sulfate de magnésium (MgSO_4) et 0,2 % (v/v) de Triton X-100) et enfin centrifugé à 3 000 $\times g$ pendant 20' à 4°C en obtenant la fraction mitochondriale. Les dommages à l'ADN (ADNssB) ont été déterminés dans des aliquotes de 0,1 g de poids frais de tissu, homogénéisés avec un TEFLON EN VERRE DE POTTER -ELVEHJEM dans 10 volumes (p/v) de tampon TE (pH 7,4, 10mM Tris-HCl, 1M EDTA). Toutes les réponses biochimiques ont été enregistrées par un lecteur de microplaques BioTek Synergy HT.

Chez les deux espèces et aux plus fortes concentrations de Pb et de B[a]P, on a observé une réduction de leur capacité métabolique (ETS), une réduction des réserves énergétiques (GLY) (Figure 10), des dommages cellulaires (LPO), des dommages au jeu de gènes (ADNssB) (Figure 11) et une inactivation des défenses antioxydantes (SODs) et de la biotransformation (GSTs) (Figure 12). En comparant les réponses entre *I. oros* et *P. ficiformis* exposés aux mêmes conditions, des différences statistiquement appréciables ont été trouvées dans tous les marqueurs analysés, montrant l'espèce *I. oros* plus sensible en termes de capacité métabolique, de dommages cellulaires

et d'activation et/ou d'inhibition des enzymes antioxydantes. Des résultats opposés ont été observés en termes de dommages à l'ADN, avec plus de dommages survenant dans l'espèce *P. ficiformis*. Les résultats obtenus ont permis de déterminer : (I) les mécanismes qui opèrent au niveau des structures cellulaires lorsque les éponges sont exposées aux contaminants communément trouvés dans les environnements portuaires ; (II) les différences éventuelles entre les deux espèces en termes de sensibilité lors de l'exposition aux polluants.

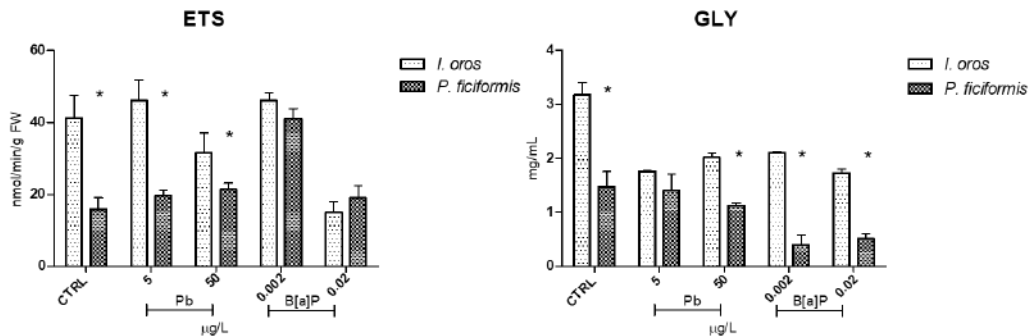


Figure 10. Système de transport d'électrons (ETS) (nmol/min/mg prot) et teneur en glycogène (GLY) (mg/mL). Les différences statistiquement significatives (ANOVA à deux voies) entre les espèces sont signalées par un astérisque : * $p < 0.05$

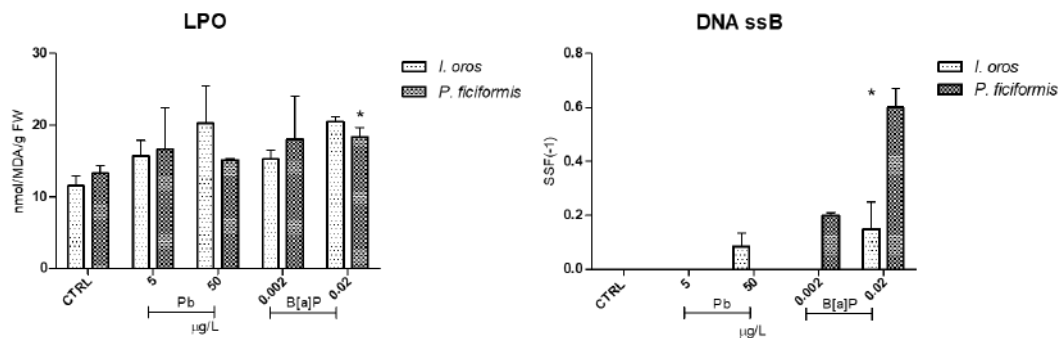


Figure 11. Peroxydation lipidique membranaire (LPO) (nmol/MDA/g FW) et dommages à l'ADN (ADN ssB) (facteur de ciseaux standard (-1)). Les différences statistiquement significatives (ANOVA à deux voies) entre les espèces sont signalées par un astérisque : * $p < 0.05$.

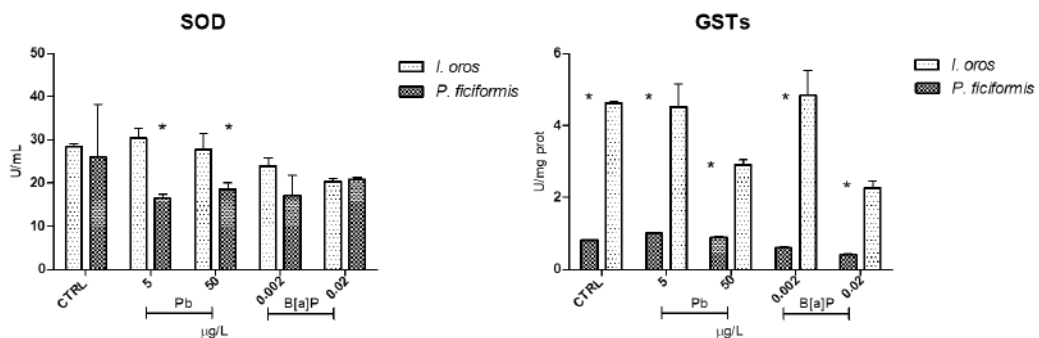


Figure 12. Activité superoxyde dismutase (SOD) (U/mL) et activité glutathion S-transférase (GST) (U/mg prot). Les différences statistiquement significatives (ANOVA à deux voies) entre les espèces sont signalées par un astérisque : * $p < 0.05$.

Des niveaux significatifs de Pb ont été trouvés dans les deux espèces, avec une plus grande capacité de bioaccumulation par *P. ficiformis* (~10 fois) que par *I. oros* (~4 fois) lorsqu'elle est exposée à 50 µg/L. En revanche, les quantités d'hydrocarbures aromatiques présentes dans les deux organismes étaient inférieures aux limites de quantification (<LOQ), probablement en raison des faibles concentrations utilisées pendant l'essai ou de la courte période d'exposition (tableau 5).

Tableau 5. Valeurs de Pb (mg/kg bw) (5 et 50 µg/L) et B[a]P (µg/kg de poids corporel) (0,002 et 0,02 µg/L) se sont accumulés dans *Ircinia oros* et *Petrosia ficiformis* après 7 jours d'exposition.

Paramètre	Traités	Unité de mesure	LOQ	Espèce	
				<i>I. oros</i>	<i>P. ficiformis</i>
Pb	0.0 µg/L	mg/kg s.s.	1.0	2.5	2.3
	5.0 µg/L	mg/kg s.s.	1.0	7.1	8.8
	50.0 µg/L	mg/kg s.s.	1.0	8.4	23.4
B[a]P	0.0 µg/L	µg/kg s.s	1.0	<1.0	<1.0
	0 002 µg/L	µg/kg s.s	1.0	<1.0	<1.0
	0.02 µg/L	µg/kg s.s	1.0	<1.0	<1.0

Dans la matrice aqueuse, les deux concentrations nominales de Pb semblaient être supérieures aux limites de quantification (LOQ) à la fois à t0 et à t7. Cependant, après 7 jours d'exposition, le métal a montré une tendance à la baisse dans le traitement à 50 µg/L, avec des valeurs 5 à 12 fois plus faibles pour ceux traités avec *I. oros* et *P. ficiformis* respectivement (Tableau 6). Pour le B[a]P, les valeurs étaient inférieures à la limite de détection de l'instrument. Ces résultats ont confirmé les propriétés de filtrage et de bioaccumulation élevées des deux éponges, avec une attention particulière pour *P. ficiformis*.

Tableau 6. Concentrations nominales (Conc. nominales) de Pb (µg/L) et B[a]P (µg/L) dans les échantillons d'eau collectés au temps zéro (t0) et final (t7).

			<i>I. oros</i>			
			t0		t7	
Paramètre	Traités	Unité de mesure	LOQ	Conc. nominales	LOQ	Conc. nominales
Pb	5.0 µg/L	µg/L	1	1.5	1	1.2
	50.0 µg/L	µg/L	1	17.6	1	3.3
B[a]P	0.002 µg/L	µg/L	0.001	<0.001	0.001	<0.001
	0.02 µg/L	µg/L	0.001	<0 001	0.001	<0 001
			<i>P. ficiformis</i>			

Paramètre	Traités	Unité de mesure	t0		t7	
			LOQ	Conc. nominales	LOQ	Conc. nominales
Pb	5.0 µg/L	µg/L	1	1.7	1	0.9
	50.0 µg/L	µg/L	1	28.6	1	2.3
B[a]P	0.002 µg/L	µg/L	0.001	<0.001	0 001	<0.001
	0.02 µg/L	µg/L	0 001	<0 001	0 001	<0 001

2.2.5. Évaluation expérimentale de la capacité de filtration de micro-organismes bactériens par *Ircinia oros* et *Petrosia ficiformis*

En novembre et décembre 2020, deux expériences ont été réalisées pour évaluer la capacité des deux espèces à filtrer les bactéries libres présentes dans la colonne d'eau. Seize fragments de chaque espèce d'éponge (~30 g de poids frais chacun) ont été échantillonnés le long de la côte de Nisporto à une profondeur de 5-7 m et transportés au laboratoire dans des conteneurs réfrigérés. Au laboratoire, les échantillons ont été placés dans 8 aquariums (2 fragments *par* aquarium) contenant 3 L d'eau de mer artificielle (ASW) (salinité 37 PSU) et un oxygénateur.

Après 4 jours d'acclimatation, les deux espèces ont été inoculées avec une concentration connue de la bactérie fécale *Escherichia coli*. À la fin de la période d'exposition, qui a duré 7 jours, les tissus ont été homogénéisés dans de l'eau peptonée, filtrée à 0,22 µm. Ensuite, les homogénats et les eaux obtenus ont été étalés par inclusion sur un milieu de culture (Modified Scholten Agar (MSA)) et laissés en incubation pendant 24 heures (24h). Les colonies bactériennes formées sur les plaques ont été comptées en utilisant la méthode des unités formant colonies (UFC). La densité bactérienne a été exprimée en unités formant colonie par gramme (UFC/g) pour les échantillons d'éponges et en unités formant des colonies par litre (UFC/L) pour les échantillons d'eau.

Dans les fragments de l'espèce *P. ficiformis*, la charge bactérienne était significativement plus élevée que dans les fragments non exposés. En revanche, aucune différence significative n'a été détectée entre les fragments exposés et les fragments non exposés de *I. oros* (Fig. 13). En comparant les deux espèces, aucune différence statistiquement significative n'a été trouvée entre les témoins et les exposés. Par rapport aux échantillons d'eau prélevés dans les deux expériences (*I. Oros* : ACQ I ; *P. ficiformis* : ACQ P), aucune différence statistiquement significative dans les densités bactériennes n'a été constatée entre les traitements (CTRL et *E. coli*) (Fig. 14). Au contraire, en comparant le contenu bactérien entre les deux expériences, des concentrations significativement plus élevées ont été trouvées dans les échantillons d'eau contenant *P. ficiformis*.

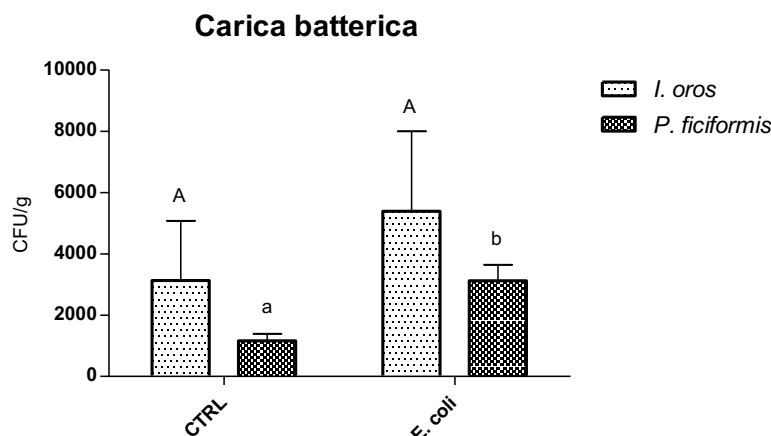


Figure 13. Comparaison de la charge bactérienne entre les fragments témoins (CTRL) et exposés (*E. coli*) d'*Ircinia oros* et de *Petrosia ficiformis*. Les différences statistiquement significatives (Unpaired t-test) entre les espèces traitées (CTRL et *E. coli*) sont signalées en lettres majuscules et minuscules pour les espèces *Ircinia oros* et *Petrosia ficiformis*, respectivement. $p < 0,01$

À partir des résultats obtenus, nous avons émis l'hypothèse soit d'une contamination de l'eau due à la libération de bactéries symbiotiques provoquée par la détérioration de certains fragments, soit d'une filtration, par les deux espèces, des populations microbiennes libres dans la colonne d'eau qui a généré une augmentation, en termes de concentration, de la charge bactérienne dans les tissus.

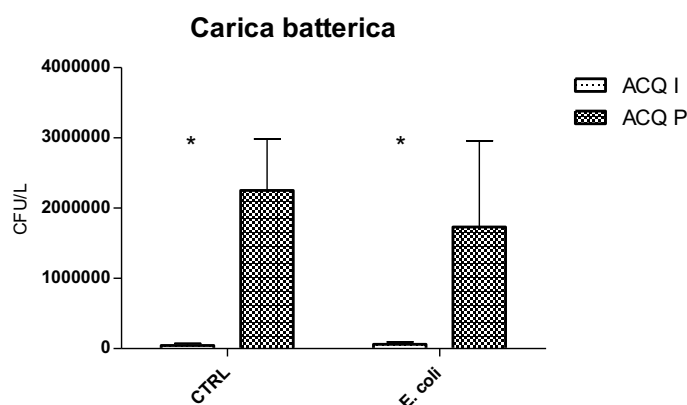


Figure 14. Comparaison de la charge bactérienne entre les fragments témoins (CTRL) et exposés (*E. coli*) à des fragments d'*Ircinia oros* (ACQ I) et de *Petrosia ficiformis* (ACQ P). Les différences statistiquement significatives (Unpaired t-test) entre les eaux expérimentales (ACQ I et ACQ P) sont signalées par un astérisque : * $p < 0.05$.

2.2.6. Évaluation expérimentale de la réponse des éponges aux contraintes thermiques

En juillet 2020, une expérience a été menée pour évaluer l'efficacité de la filtration chez les espèces d'*I. oros* exposées à un stress thermique. Certains individus ont été collectés à une profondeur de 5 à 10 m et transportés au laboratoire dans des conteneurs réfrigérés. Au laboratoire, les individus ont été coupés en 27 fragments, chacun avec au moins un oscule, et placés dans 9

aquariums (3 fragments *par* aquarium) contenant 8 L de NGS filtrée à 0,45 µm, un oxygénateur, une pompe pour recirculer l'eau, et un thermostat pour réguler la température. Pendant la période d'acclimatation, l'eau a été maintenue à la température de contrôle de 21°C. À la fin de cette période, la température de certains aquariums (3 *par* traitement) a été progressivement augmentée jusqu'à atteindre les températures requises pour le test (26° et 30° C). La durée du test était de 7 jours. Au début de l'expérience (t0), après 24h (t1), 72h (t3) et à la fin du test (t7), 10 mL d'eau ont été prélevés à proximité des pores (eau inhalée IN) et des oscules (eau expulsée EX) et, à l'aide de la chambre burker, le nombre de cellules d'algues a été compté en estimant leur concentration. Après avoir obtenu ces données, l'efficacité de filtration (EF) a été calculée selon la formule mathématique :

$$EF = \frac{IN-EX}{IN} \times 100$$

Des valeurs EF négatives au début de l'expérience indiquent un stress causé par la manipulation des individus. L'augmentation progressive de l'EF suggère une possible récupération de la fonction après 7 jours. À la fin de l'expérience, des valeurs positives de EF, significativement plus élevées que les autres traitements de température, ont été atteintes uniquement dans les fragments d'éponge maintenus à 26°C. (Fig. 15).

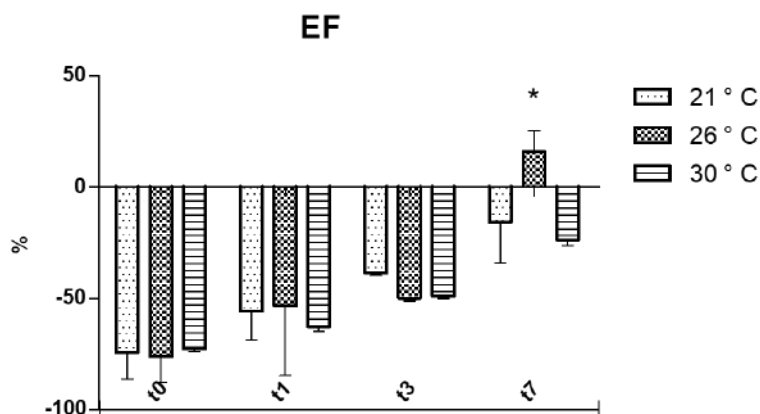


Figure 15. Efficacité de filtration des fragments d'*Ircinia oros* exposés à différentes températures : (21°C, 26°C et 30°C) à différents temps d'exposition. Les différences statistiquement significatives (ANOVA à deux voies) entre les traitements sont signalées par un astérisque : * $p < 0.05$.

2.2.7. Réponse physiologique de *Petrosia ficiformis* à l'exposition aux microplastiques

Le 05/04/2021, une expérience a été lancée dans des conditions contrôlées pour évaluer la capacité des éponges à filtrer les microplastiques et leur réponse physiologique. Vingt et un fragments (~ 50 g de poids frais chacun) appartenant à l'espèce *P. ficiformis* ont été échantillonnés le long de la bande côtière entre Nisportino et Capo Vita, à une profondeur de 5 à 7 mètres, et transportés au laboratoire dans des conteneurs réfrigérés. Les fragments ont été acclimatés pendant

4 jours dans une NSW filtrée à 0,45 µm (salinité de 38 PSU), oxygénée en continu, avec une photopériode de 12:12 et maintenue à une température de 16±2°C. Aucun type de régime n'a été administré pendant toute la durée de la période d'acclimatation et pendant le test. Les fragments ont ensuite été exposés à 500 ng/mL de polyéthylène (PE) (<63 µm) pendant 24h et 72h. Enfin, l'eau a été renouvelée en éliminant le contaminant (72hR), en évaluant après 72h supplémentaires la capacité de récupération des fragments précédemment exposés. Le test a été mis en place en 4 réplicats (3 L par réplicat) *par* traitement et 9 réplicats pour le contrôle avec un seul fragment, équipé d'un oscule (Fig. 16), *par* réplicat. Après 24h, 72h et 72hR, 3 fragments *par* traité et les 2 contrôles respectifs (CTRL) ont ensuite été utilisés pour évaluer les réponses biologiques à court terme telles que les taux de filtration (FR) et de respiration (RR). À la fin de l'analyse, les échantillons ont été séchés dans un four à 48° C pendant 72h. Les fragments restants (1 par traitement et contrôle respectif) ont été stockés à -20°C pour une analyse histologique afin d'évaluer la présence/absence de fragments de PE dans les tissus. Cinquante ml d'eau ont été prélevés pour le traitement afin d'effectuer des mesures du diamètre hydrodynamique de la matière plastique (état d'agrégation) par diffusion dynamique de la lumière (DLS) ; l'eau restante a été filtrée à travers des membranes en nitrate de cellulose de 0,45 µm pour compter les particules présentes dans la colonne.



Figure 16. Fragment de *Petrosia ficiformis* avec oscule

Le taux de filtration (ou taux d'élimination) a été exprimé comme le volume d'eau duquel, grâce à l'activité de filtration de l'animal, toutes les particules en suspension sont éliminées dans l'unité de temps. L'algue utilisée était *Isochrysis. galbana* à une concentration de 30000 cellules/mL. Une approche statique a été adoptée pour la mesure et a été effectuée individuellement sur 5 fragments (3 par traitement et 2 pour le contrôle respectif) maintenus dans des béciers. La filtration a été mesurée sur un volume de 300 µL pendant une durée de 90 min. Pour le comptage de la concentration d'algues, une aliquote de 1 mL a été prélevée à intervalles réguliers (30 min) et déterminée à l'aide du spectrophotomètre JENWAY GENOVA PLUS. Le taux de filtration (FR) a été calculé à l'aide de la formule suivante :

$$FR = V/t \times \ln(C_0/C_t)$$

où C_0 et C_t représentent les concentrations d'algues au début et à la fin de chaque période t ; V est le volume d'eau dans chaque bécher. Les résultats obtenus ont montré que la capacité de filtration des éponges était significativement affectée par la présence de microplastiques. En comparant les réponses obtenues dans les différentes conditions testées, une réduction significative du taux de filtration a été observée après 72h d'exposition par rapport au contrôle (Fig. 17).

En revanche, après 72h de purification (72hR), on observe une augmentation significative du FR, ce qui laisse supposer une augmentation de l'apport énergétique suite à une éventuelle récupération par l'éponge de ses fonctions physiologiques (Fig. 17). La fréquence respiratoire (RR) a été mesurée à l'aide d'un oxygraphe HANSATECH OXYGRAPH+ équipé d'une électrode polarographique à oxygène de type S1 Clark très sensible, monté à l'intérieur d'une chambre DW1/AD et connecté à l'unité de contrôle Oxygraph Plus. La mesure a été réalisée individuellement sur 5 fragments (3 par traitement et 2 pour le contrôle respectif). La consommation d'oxygène dissous (nM/min) a été mesurée pendant 2h et rapportée au poids sec de chaque fragment analysé (DW).

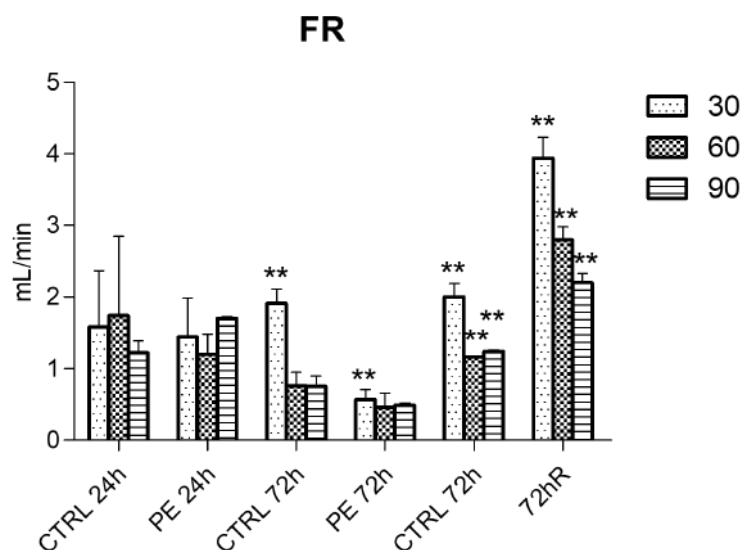


Figure 17. Comparaison à différents temps de mesure (30, 60 et 90 min) entre le taux de filtration (FR) (mL/min) calculé dans les fragments de *Petrosia ficiformis* exposés au PE après 24h (PE 24h), 72h (PE 72h), 72h de récupération (72hR) et les contrôles respectifs. Les valeurs sont exprimées en moyenne $\pm$ l'écart-type. Les différences statistiquement significatives (ANOVA à deux voies) sont signalées par un astérisque : * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$

La respiration a également été significativement affectée par la présence de microplastiques. Le taux de respiration entre les fragments exposés et non exposés est resté inchangé pendant les 24 premières heures, alors qu'il a diminué après 72 heures. Des différences ont également été observées après 72h de purification (72hR), avec des valeurs de respiration significativement plus faibles pour les fragments purifiés (Fig. 18). La présence de petits microplastiques semble donc être un facteur limitant l'activité de filtration de l'eau des éponges.

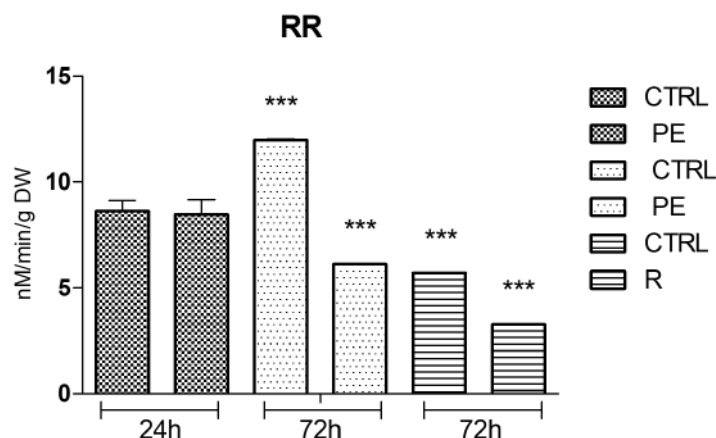


Figure 18. Comparaison entre la fréquence respiratoire (RR) (nM/min/g DW) calculée dans les fragments de *Petrosia ficiformis* exposés à la PE après 24h (PE 24h), 72h (PE 72h), 72h de récupération (72hR) et les contrôles respectifs. Les valeurs sont exprimées en moyenne $\pm$ l'écart-type. Les différences statistiquement significatives (ANOVA à deux voies) sont signalées par un astérisque : * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$.

3. Phase opérationnelle

3.1. Conception de modules pour la réalisation de l'installation expérimentale de biofiltration et de biosurveillance

Afin d'évaluer l'utilisation des éponges de mer pour améliorer la qualité de l'eau marine et comme outil de biosurveillance dans les marinas, quelques systèmes de support expérimentaux sur lesquels installer des fragments de *I. oros* et *P. ficiformis* ont été réalisés. En particulier, deux types de structures ont été construites : des cadres en fer galvanisé et des filets en fibre végétale. Les cadres étaient initialement conçus pour supporter les éponges sur quatre étagères se chevauchant (Fig. 19). Chaque cadre est composé de 4 boulons à œil sur la partie supérieure et de 4 pieds percés sur la partie inférieure ; ces derniers ont été utilisés pour fixer la structure aux caténaires et aux corps morts déjà présents sur le fond. La fixation a été effectuée au moyen de lignes et de sangles d'ancrage.

Le second système est composé de filets en fibre végétale d'environ 1,5 m x 1,5 m, réglables en tension, sur les nœuds desquels des éponges ont été fixées au moyen de fil de fer (Fig. 19). Ces filets sont conçus pour être appliqués en position verticale sur la surface inférieure des quais flottants. Les deux types de structures de support ont été conçus et fabriqués pour être facilement applicables aux structures artificielles que l'on trouve couramment dans les environnements portuaires.

3.2. Mise en place du système de biofiltration

Le 25/06/2020, ils ont été déployés près de la jetée des résidents (Site 3 dans la Fig. 1) quelques modules prototypes pour la réalisation de la station de filtrage. Un cadre a été fixé à la caténaire, qui se trouve à environ 20 mètres du dock flottant, au moyen de sangles d'ancrage et d'un filet sur la face inférieure du dock, en position verticale et à une profondeur de 3,5 mètres. Des fragments d'*I. oros* et de *P. ficiformis* ont été collectés le long de la partie de la côte située à l'extérieur de Nisporto à une profondeur de 7-10 m et transportés sur le Site 3 dans des conteneurs réfrigérés. Six fragments de chaque espèce (taille : environ 3 x 3 cm) ont été placés à l'intérieur de filets en fer galvanisé, puis fixés à chaque étagère du cadre au moyen de bandes autobloquantes biodégradables. Les fragments de *P. ficiformis* ont été placés sur l'étagère supérieure, ceux de *I. oros* dans les deux étagères inférieures. Les fragments restants ont été fixés au filet par du fil de fer. La fonctionnalité d'ancrage des deux systèmes de support et la survie des éponges ont été examinées le 09/07/2020. On a constaté que le cadre et le filet étaient tous deux en place, ce qui indique une bonne efficacité de la méthode de fixation. Cependant, les éponges situées sur l'étagère supérieure du cadre n'ont pas survécu, alors que celles des étagères inférieures étaient viables et ne présentaient aucun signe évident de stress. Toutes les éponges appliquées sur le filet ont survécu pendant la période examinée et n'ont montré aucun signe évident de stress.



Figure 19. Cadre ancré à la caténaire avec un grillage métallique fixé à chaque étagère (à gauche) et un grillage en fibre végétale (à droite) fixé sous le quai des résidents.

Étant donné la bonne performance des deux systèmes de support, à la même date, 5 autres cadres ont été déployés en correspondance avec la caténaire précédemment utilisée (Fig. 20). Afin de réduire la mortalité des fragments d'éponges disposés sur l'étagère supérieure, le grillage de cette étagère a été remplacé par une couverture d'ombrage, offrant une couverture directe aux éponges contre les rayons du soleil et réduisant le taux de sédimentation, supposé être la principale cause de mortalité.

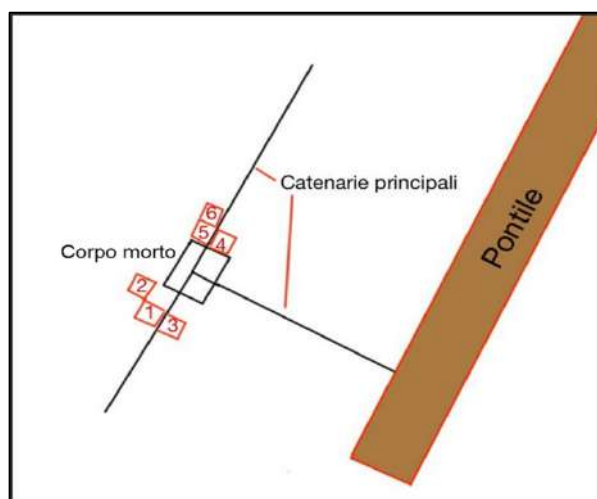


Figure 20. Représentation schématique de la dislocation des 6 cadres près du quai des résidents, Site 3 à l'intérieur du quai Medicean.

Le 08/09/2020, le long du littoral entre Nisportino et Capo Vita, 100 fragments de chaque espèce ont été prélevés à l'aide d'un scalpel chirurgical, à une profondeur de 5-7 mètres. Dix individus de chacune des deux espèces, dont une partie a été prélevée (Fig. 21A), ont été marqués au moyen de pinces autobloquantes, afin d'évaluer leur survie et leur capacité de régénération. Ces individus ont ensuite été examinés après environ 2 et 7 mois (T1 : 09/11/2021 ; T2 : 23/04/2021). Chez les deux espèces, le taux de survie était de 100 % et les tissus ne présentaient aucun signe évident de maladie ou de présence de nécrose. Sept mois après l'échantillonnage, la plupart des spécimens marqués présentaient une cicatrisation complète de la zone affectée par la coupe (Fig. 21B, C).

Les fragments d'éponge ont été immédiatement transportés dans des conteneurs réfrigérés vers le Site 3 (« quai des résidents »), dans le quai Medicean. La fixation des fragments de *I. oros* et de *P. ficiformis* sur les modules de support précédemment installés a été effectuée en suivant les mêmes méthodes que celles décrites ci-dessus. 18 fragments d'éponge ont été placés sur 5 des six cadres en fer galvanisé, 6 pour chacune des trois étagères en grillage, soit un total de 90 fragments. La composition des espèces d'éponges de chaque cadre est indiquée dans le tableau 7. Un filet d'ombrage a été appliqué au sommet de tous les cadres (Fig. 22).

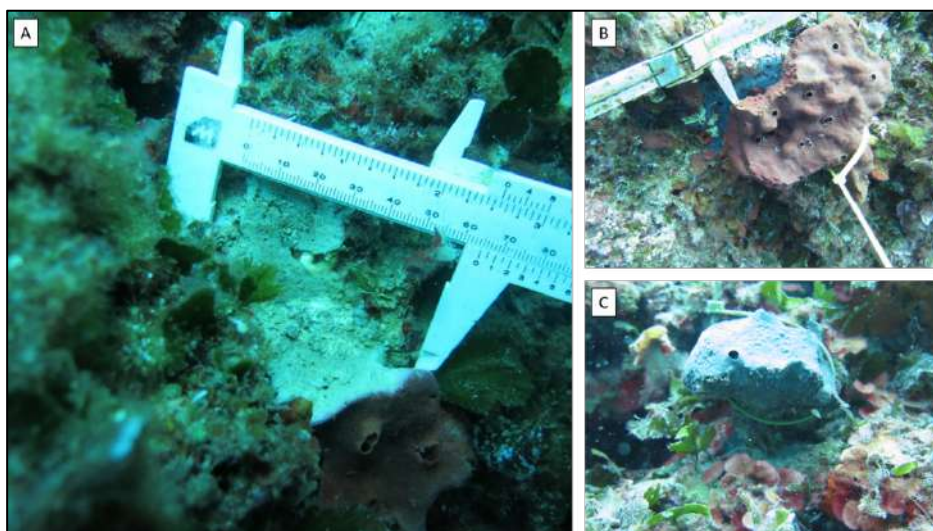


Figure 21. Spécimen de *Petrosia ficiformis* dont il ne restait qu'un fragment (A) le 08/09/2020 et (B) après environ 7 mois (09/11/2020). Exemple de cicatrisation des tissus chez *Ircinia oros* 7 mois après le prélèvement (C).

Tableau 7. Détails relatifs à l'installation des cadres et au placement ultérieur des fragments d'éponge.

Cadre	Date d'installation	Espèces d'éponge	N° de fragments	Remarques
1	26_06_2020	<i>Ircinia oros + Petrosia ficiformis</i>	18 (6 x 3 étagères)	Pas de filet d'ombrage
2	8_09_2020	<i>Petrosia ficiformis</i>	18 (6 x 3 étagères)	Filet d'ombrage
3	8_09_2020	<i>Ircinia oros + Petrosia ficiformis</i>	18 (6 x 3 étagères)	Filet d'ombrage
4	8_09_2020	<i>Ircinia oros + Petrosia ficiformis</i>	18 (6 x 3 étagères)	Filet d'ombrage
5	8_09_2020	<i>Petrosia ficiformis</i>	18 (6 x 3 étagères)	Filet d'ombrage

Deux filets de chanvre, (numéros 4 et 5 de la Fig. 23A) ont été placés au niveau du croisement de deux caténaires dans la section proche de la tête du quai. En outre, afin de maintenir les autres filets en place sous la jetée, un système de support composé de tiges supérieures synthétiques appliquées aux chaînes et aux supports de jetée existants a été créé. Cela a permis de placer 3 autres filets en fibre végétale, en chanvre ou en jute (1, 2 et 3 sur la Fig. 23A).

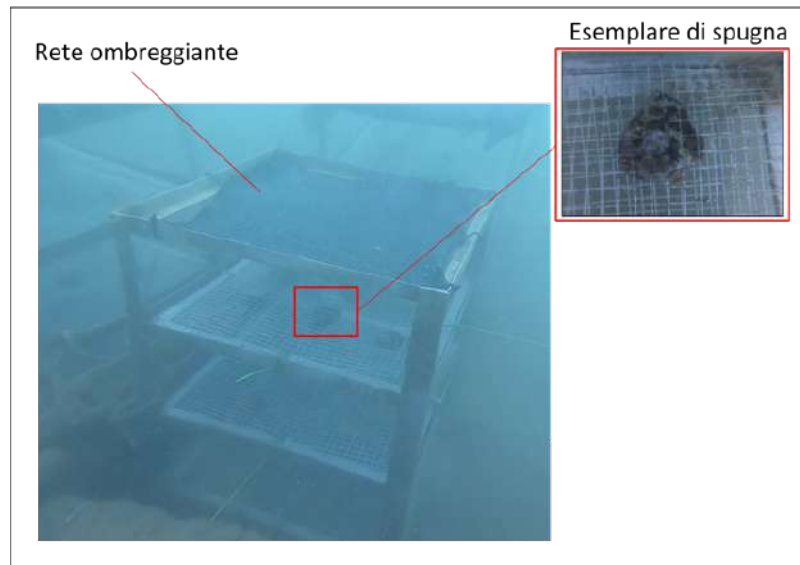


Figure 22. Cadres et fragment de *I. oros*

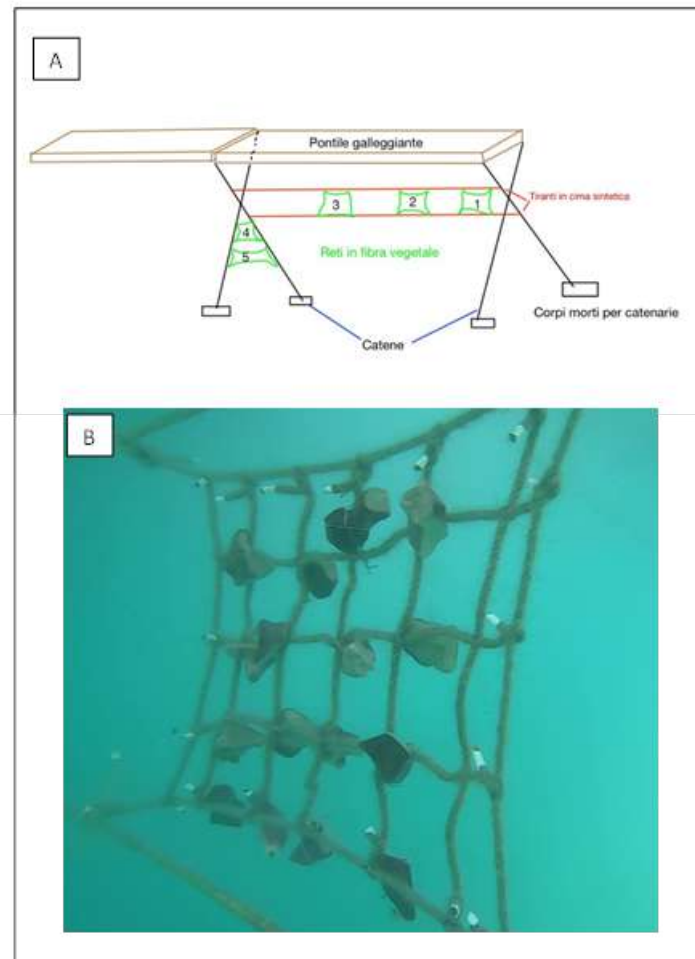


Figure 23. A. Représentation schématique de l'application des filets en fibre végétale sur le dock flottant ; B. Exemple de placement de fragments de *Petrosia ficiformis* sur un filet.

Les détails, en termes de nombre de fragments et de composition spécifique des éponges attachées aux filets par un fil en métal (Fig. 23B), sont présentés dans le Tableau 8.

Tableau 8. Détails relatifs à l'installation des filets et au placement ultérieur des fragments d'éponge.

Filet	Date d'installation	Espèces d'éponge	N° de fragments	Remarques
1	8_09_2020	<i>Ircinia oros</i>	27	Filet de jute
2	8_09_2020	<i>Petrosia ficiformis</i>	16	Filet de jute
3	8_09_2020	<i>Petrosia ficiformis</i>	7	Filet de jute
4	26_6_2020	<i>Ircinia oros</i> + <i>Petrosia ficiformis</i>	10	Filet de chanvre
5	8_09_2020	Aucun	0	Filet de chanvre

La température et la lumière à proximité des cadres et des filets ont été surveillées en continu pendant la période de novembre 2020 à mai 2021 à l'aide d'enregistreurs (HOBO® Pendant Temperature/Light Data Logger UA-002-XX), fixés à l'aide d'attaches autobloquantes biodégradables (Fig. 24). Les données d'intensité lumineuse ont été collectées pendant une période plus courte, car la colonisation par des organismes marins sessiles (encrassement) réduit généralement la fiabilité des données après une période d'environ 3 mois.



Figure 24. Photo de l'enregistreur de données température/lumière HOBO Pendant®.

Les données enregistrées indiquent l'absence de différences majeures entre les valeurs de température au niveau des cadres et des filets (Fig. 25A). Au contraire, on constate que les filets, du fait de l'ombrage du quai flottant, sont exposés à une intensité lumineuse moindre que les cadres (Fig. 25B).

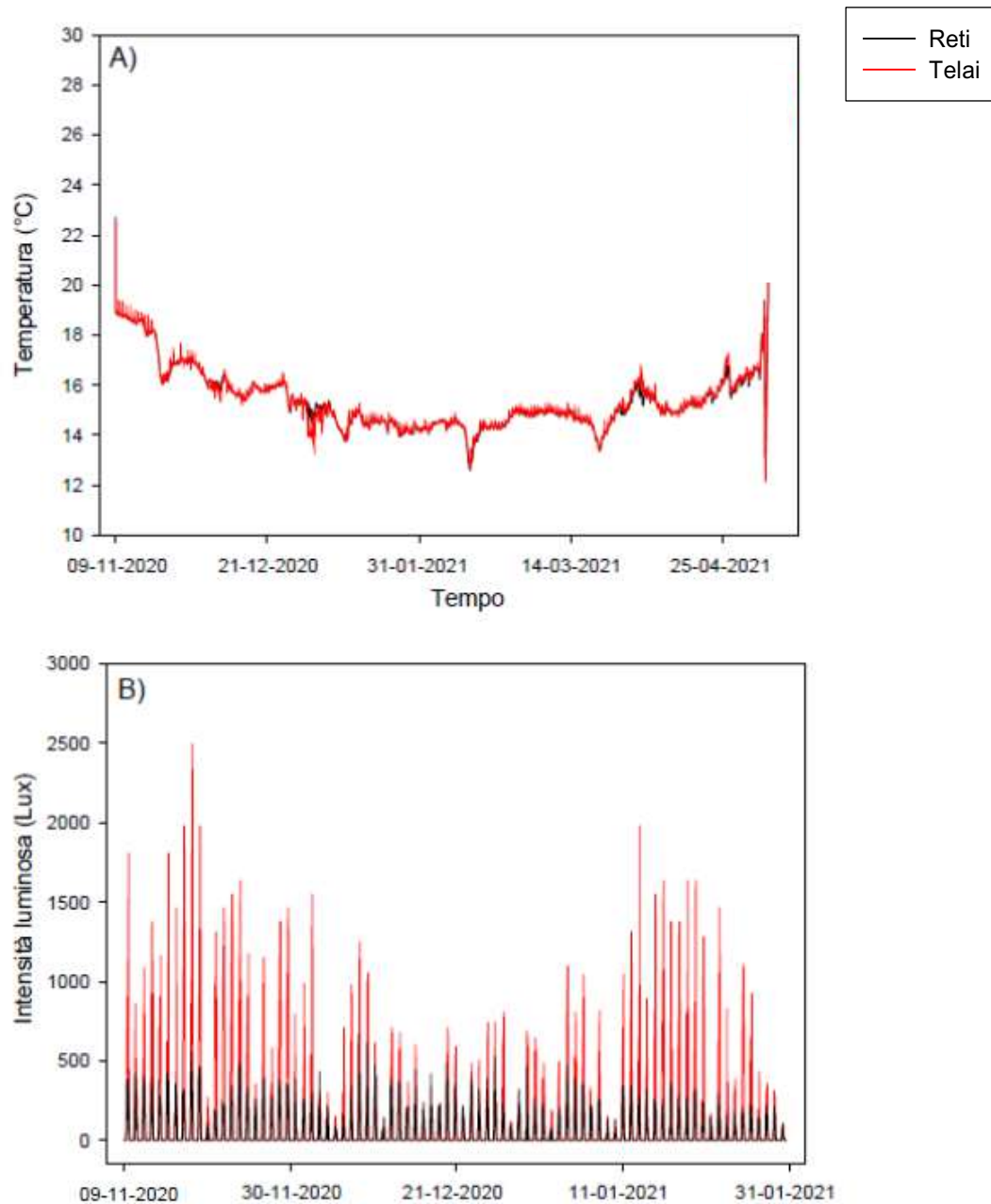


Figure 25. (A) température et (B) intensité lumineuse enregistrées au niveau des cadres et des filets dans le quai Medicean à Portoferraio. Notez la différence d'échelle des axes x et y entre les deux graphiques.

3.3. Suivi des effets de l'action pilote

3.3.1. Analyses sur les éponges

Douze fragments de chaque espèce (environ 10 g chacun) provenant de ceux prélevés lors de la mise en place de l'installation de biofiltration (8 septembre 2020) ont été transportés au laboratoire pour l'analyse de leur état de santé, de la concentration des composés organiques et inorganiques

(temps initial - T0). En octobre 2020 (12/10/2020), janvier (21/01/2021) et avril 2021 (23/04/2021), le premier (T1), le deuxième (T2) et le troisième (T3) contrôles ont été effectués, dans le but d'évaluer l'efficacité de fonctionnement de la station de filtration dans le temps en examinant la survie des éponges et leur capacité à filtrer les polluants organiques et inorganiques ainsi que les composants bactériens et viraux.

3.3.1.1. Analyses biologiques

Afin d'évaluer l'état de santé de *I. oros* et *P. ficiformis*, pour chaque date de suivi, 3 fragments ont été prélevés au hasard dans les deux systèmes de support (cadres et filets) pour chaque espèce (environ 10 g chacun), en analysant leur contenu en réserve énergétique (teneur en glycogène : (GLY) , leur capacité métabolique (système de transport d'électrons : ETS), les dommages cellulaires (peroxydation lipidique des membranes : LPO), les dommages au kit génétique (ADN ssB) et l'activité des enzymes antioxydantes et de biotransformation (superoxyde dismutase : SOD) et glutathion S-transférase : GSTs). En raison de l'absence de fragments de *I. oros* sur les filets lors du troisième suivi (T3), il n'a pas été possible de réaliser les analyses sur cette espèce.

En général, les fragments de *I. oros*, lorsqu'ils ont été transplantés sur les deux systèmes de support, ont montré au fil du temps une altération de leurs capacités métaboliques et de leurs réserves énergétiques, une augmentation des dommages cellulaires et du kit génétique, et une altération des défenses antioxydantes et de biotransformation. D'après les résultats obtenus, l'utilisation de filets en fibre végétale semble être la meilleure solution pour la mise en œuvre de la station de filtration. Cependant, il faut noter le déclin physiologique progressif de *I. oros* au fur et à mesure que le temps de séjour sur les deux types de support augmente.

Dans le détail, bien qu'aucune différence statistiquement significative n'ait été trouvée entre les filets et les cadres en termes de réserves énergétiques (Figure 26 AII), une forte variabilité de la teneur en GLY au cours du temps dans les fragments placés sur les cadres est apparue (Figure 26 AI). En revanche, des variations significatives de l'ETS sont apparues en fonction des différents systèmes de support (Figure 26 BI) et du temps (Figure 26 BII) ; cependant, dans les deux cas, les capacités métaboliques de l'éponge étaient significativement plus élevées qu'à T0, ce qui suggère que ces variations peuvent être liées aux fluctuations saisonnières des conditions environnementales. Des dommages cellulaires et génétiques significatifs ont été constatés dans les fragments transplantés sur les deux systèmes (Fig. 27 AI, BI) ; les valeurs de LPO et de dommages à l'ADN se sont avérées être les plus élevées au moment T2 pour les fragments présents sur les filets et au moment T3 pour ceux sur les cadres (Fig. 27 AII, BII).

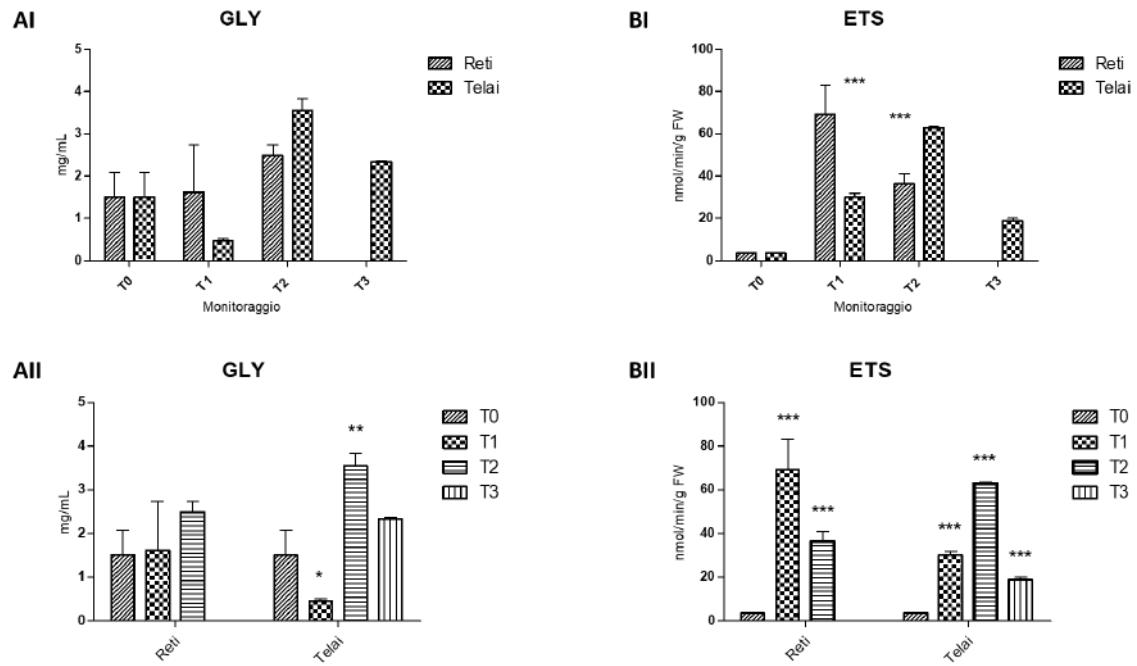


Figure 26. Contenu en glycogène (GLY) (mg/mL) et système de transport d'électrons (ETS) (nmol/min/mg prot) chez *I. oros*. Comparaison des systèmes de soutien (AI-BI) et des temps de suivi (AII-BII). Les différences statistiquement significatives (ANOVA à deux voies) sont signalées par un astérisque : * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$.

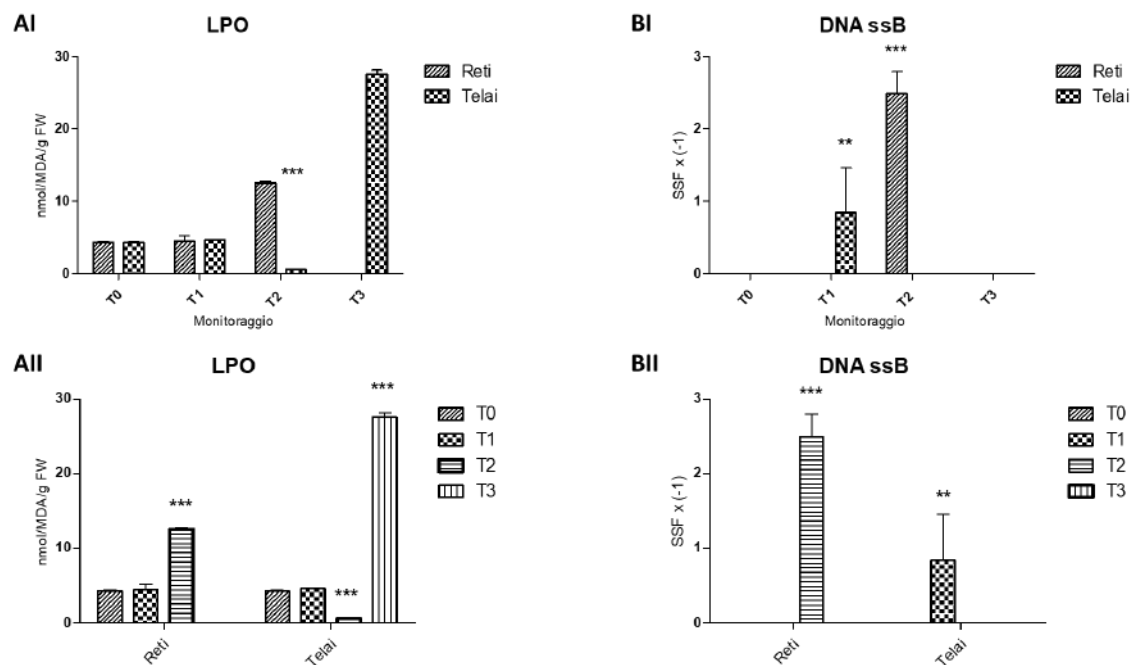


Figure 27. Peroxydation lipidique membranaire (LPO) (nmol/MDA/g FW) et dommages à l'ADN (ADN ssB) (facteur de ciseaux standard (-1)) chez *I. oros*. Comparaison des systèmes de soutien (AI-BI) et des temps de suivi (AII-BII). Les différences statistiquement significatives (ANOVA à deux voies) sont signalées par un astérisque : * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$.

L'activation du système enzymatique antioxydant s'est avérée significativement plus élevée dans les fragments transplantés sur des cadres et prélevés en octobre (T1) (Fig. 28 AI). Cependant, chez les éponges échantillonnées dans les deux milieux, une diminution significative de l'efficacité des systèmes de défense a été observée (Fig. 28 AII). Une inhibition dépendant du temps dans les fragments des deux systèmes de support a également été observée en ce qui concerne l'activité de biotransformation (Fig. 28 BII). Il n'y avait pas de différences statistiquement significatives entre les cadres et les filets (Fig. 28 BI).

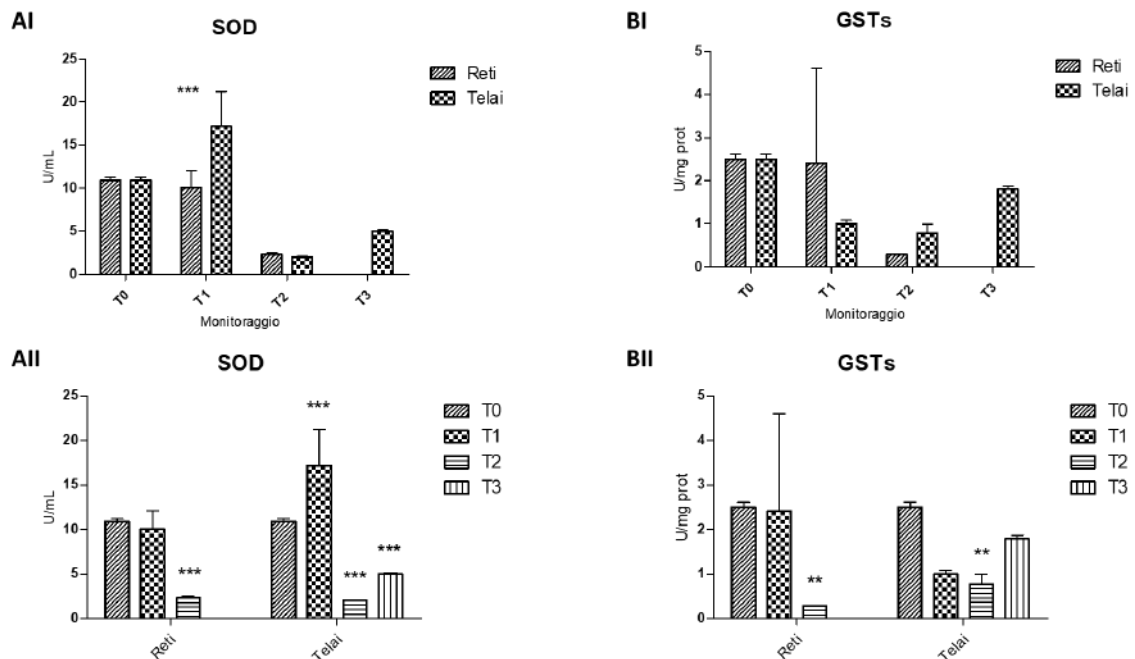


Figure 28. Activité superoxyde dismutase (SOD) (U/mL) et activité glutathion S-transférase (GST) (U/mg prot) chez *I. oros*. Comparaison des systèmes de soutien (AI-BI) et des temps de suivi (AII-BII). Les différences statistiquement significatives (ANOVA à deux voies) sont signalées par un astérisque : * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$

Quant à *I. oros*, les fragments de *P. ficiformis* transplantés sur les deux systèmes de support au fil du temps ont également subi une altération de leurs réserves énergétiques, des dommages cellulaires et génétiques plus importants et une altération des défenses antioxydantes et de biotransformation par rapport à T0. En revanche, aucune différence n'a été observée en termes de capacité métabolique (Fig. 29). Les données obtenues valident les hypothèses formulées précédemment concernant la meilleure fonctionnalité des filets de fibres végétales comme supports pour la réalisation de la station de filtration. Là encore, il faut tenir compte de la diminution des activités physiologiques de l'éponge pendant la période hivernale. En général, cette espèce a montré une meilleure fonction physiologique sur les filets

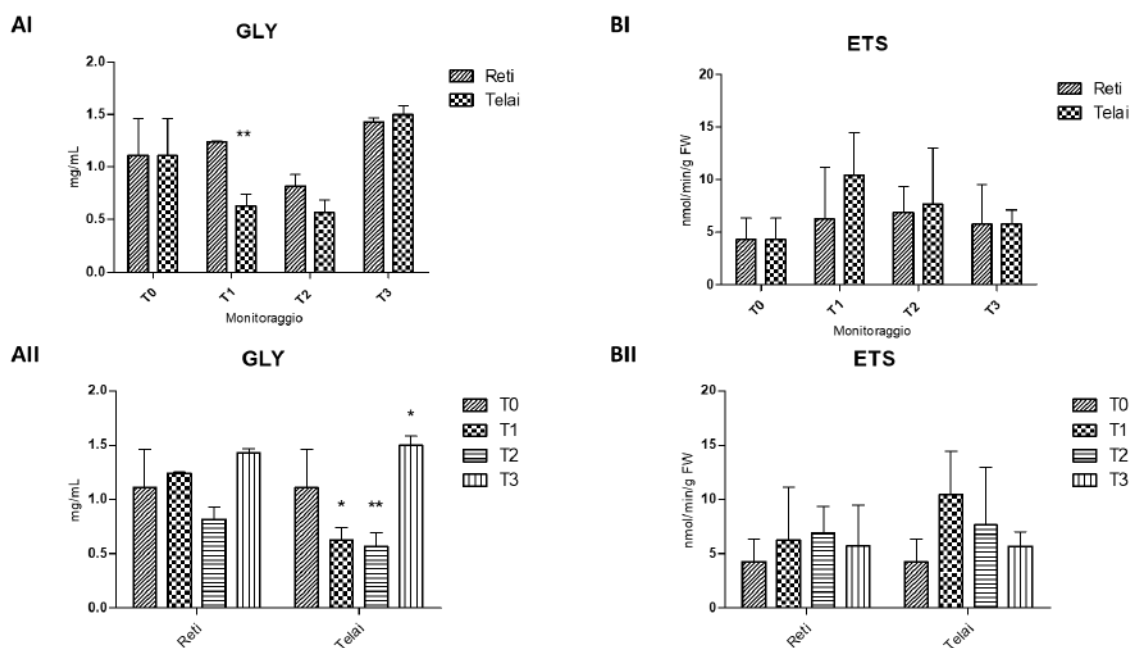


Figure 29. Contenu en glycogène (GLY) (mg/mL) et système de transport d'électrons (ETS) (nmol/min/mg prot) chez *P. ficiformis*. Comparaison des systèmes de soutien (AI-BI) et des temps de suivi (AII-BII). Les différences statistiquement significatives (ANOVA à deux voies) sont signalées par un astérisque : * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$

Des dommages cellulaires et génétiques significatifs ont été constatés dans les fragments transplantés sur les deux systèmes (Fig. 30 AI, BI) ; les valeurs de LPO et de dommages à l'ADN se sont avérées être les plus élevées au moment T2 pour les fragments présents sur les filets et au moment T2 et T3 pour ceux sur les cadres (Fig. 30 AII, BII). En ce qui concerne les défenses antioxydantes et la biotransformation, des différences statistiquement significatives entre les deux systèmes ont été trouvées aux temps T1 et T3 avec l'activation de la SOD et de la GSTs dans les fragments prélevés sur les cadres (Fig.). 31 AI, BI) ; toutefois, les deux enzymes ont subi une inhibition de leur activité en fonction du temps (Fig. 31 AII, BII).

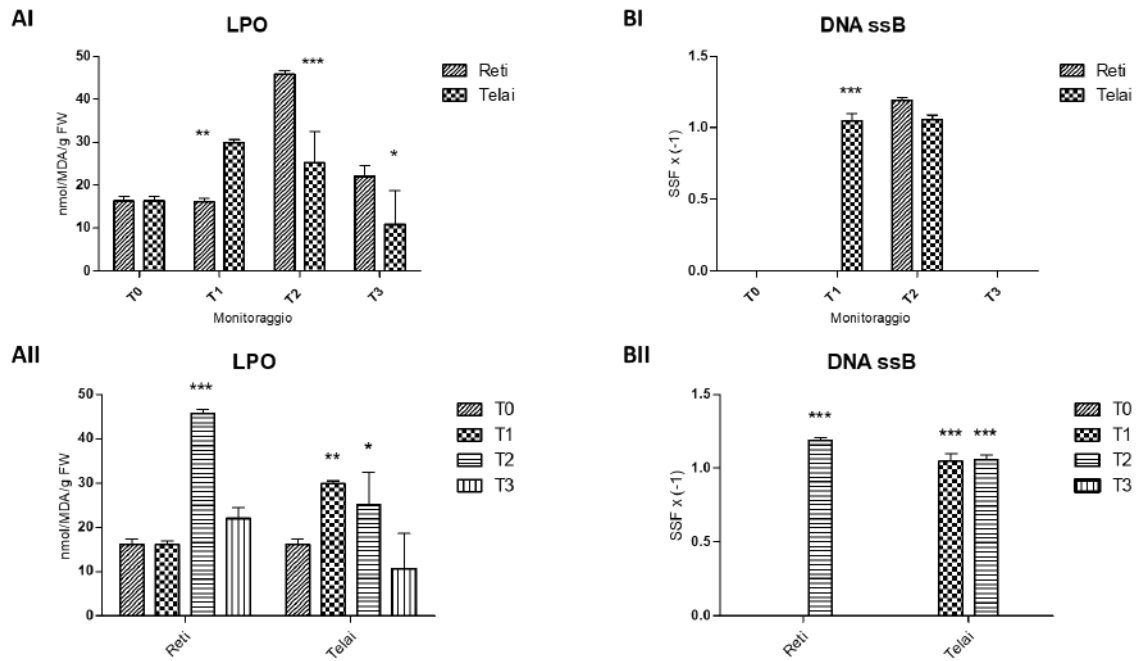


Figure 30. Peroxydation lipidique membranaire (LPO) (nmol/MDA/g FW) et dommages à l'ADN (ADN ssB) (facteur de ciseaux standard (-1)) chez *P. ficiformis*. Comparaison des systèmes de soutien (AI-BI) et des temps de suivi (AII-BII). Les différences statistiquement significatives (ANOVA à deux voies)) sont signalées par un astérisque : * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$

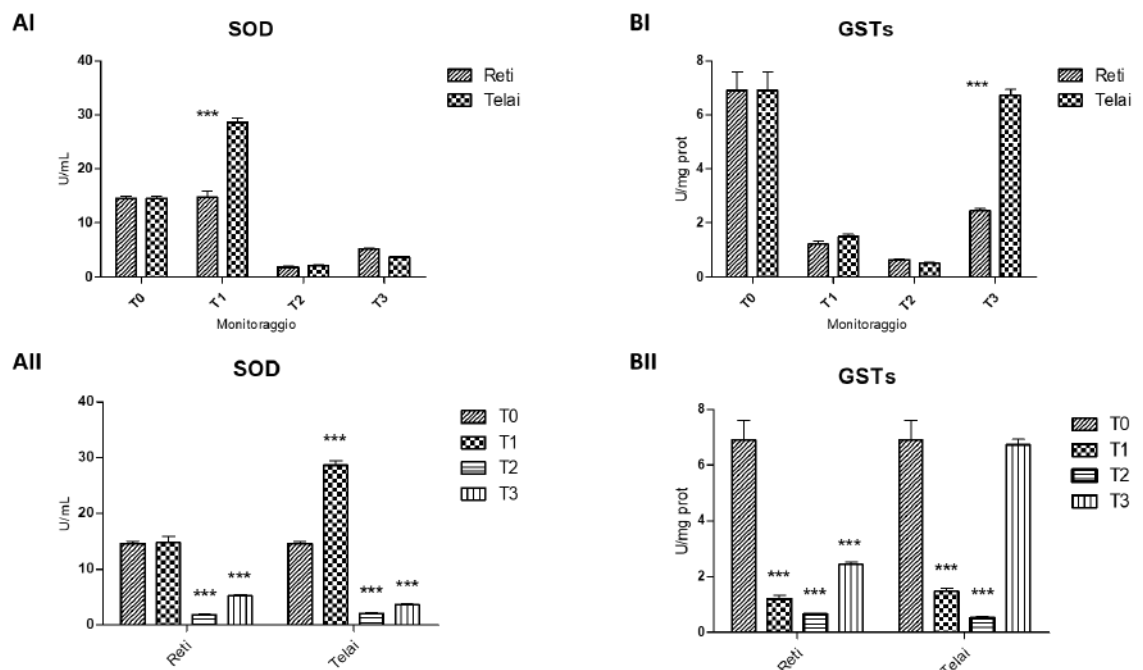


Figure 31. Activité superoxyde dismutase (SOD) (U/mL) et activité glutathion S-transférase (GST) (U/mg prot) chez *P. ficiformis*. Comparaison des systèmes de soutien (AI-BI) et des temps de suivi (AII-BII). Les différences statistiquement significatives (ANOVA à deux voies)) sont signalées par un astérisque : * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$

3.3.1.2. Concentration de micro-organismes bactériens dans les éponges

Pour chaque événement de surveillance, 2 fragments par espèce (chacun d'environ 10 g de poids frais) ont été collectés au hasard dans chaque système de support. Au laboratoire, chaque fragment a été dilué dans 90 ml d'eau peptonée et homogénéisé à l'aide d'un mélangeur à immersion. L'homogénat a été filtré sur une gaze (porosité de 0,22 µm) et ensemencé par inclusion sur deux milieux de culture sélectifs : (I) milieu PCA pour détecter la charge bactérienne totale et (II) milieu Mc Conkie pour détecter les entérobactéries. Toutes les plaques obtenues ont été incubées à 37°C pendant 24h. Après la période d'incubation, les colonies ont été comptées en utilisant la méthode des unités formant colonies (CFU). Les densités bactériennes ont été exprimées en unités formant colonies sur grammes (UFC/g). Lors du troisième contrôle (T3), les fragments d'*I. oros* précédemment placés sur les filets n'ont pas été analysés car ils ont été éliminés lors des échantillonnages précédents. Aucune différence statistiquement significative n'a été trouvée dans la charge bactérienne totale moyenne des fragments d'*I. oros*, que ce soit entre les systèmes de support ou entre les différents temps de surveillance (Figure 32AI, AII).

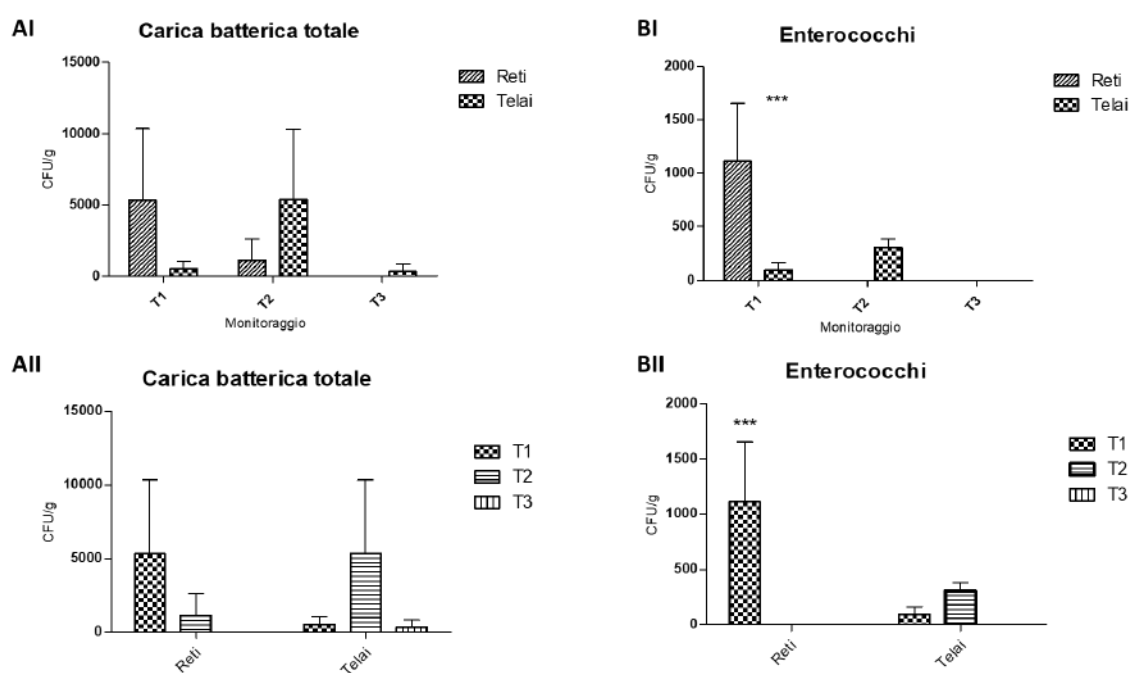


Figure 32. Comparaison de la charge bactérienne totale (UFC/g) et de la charge entérobactérienne (UFC/g) détectées dans les fragments d'*Ircinia oros* entre les systèmes de soutien (AI-BI) et les temps de surveillance (AII-BII). Les valeurs sont exprimées en moyenne $\pm$ l'écart-type. Les différences statistiquement significatives (ANOVA à deux voies) sont signalées par un astérisque : * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$

En revanche, la densité des entérocoques dans les fragments prélevés dans les filets en octobre 2020 (T1), était statistiquement plus élevée que dans les fragments placés sur des cadres. En janvier 2021 (T2), une charge entérobactérienne a été détectée uniquement dans les fragments de *I. oros* disposés sur les cadres, ce qui était absent lors du dernier suivi (Figure 32 BI, BII).

La charge bactérienne totale et entérobactérienne dans les fragments de *P. ficiformis* n'était pas statistiquement différente entre les deux types de milieux ni entre les différents temps d'échantillonnage (Fig. 33 AI, AII, BI e BII). En général, les valeurs enregistrées pour les deux unités bactériennes testées étaient comparables à celles trouvées chez *I. oros*. De même, on observe une certaine variabilité entre les dates d'échantillonnage, ce qui peut refléter les fluctuations des concentrations bactériennes dans les eaux du quai, comme le révèle l'échantillonnage trimestriel.

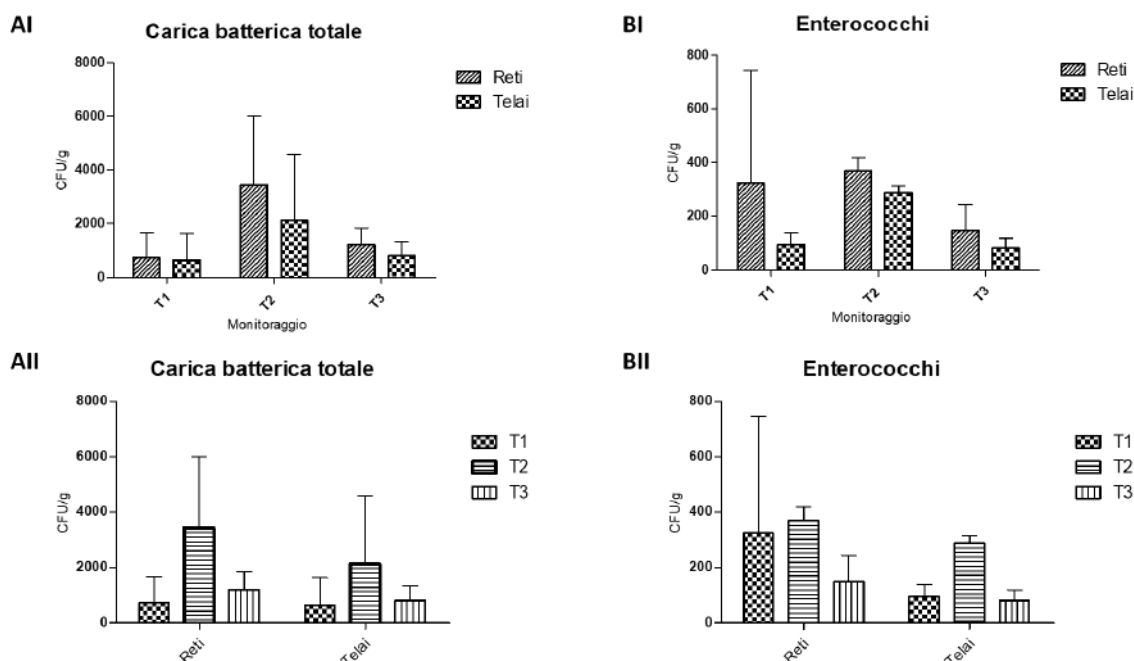


Figure 33. Comparaison de la charge bactérienne totale (UFC/g) et de la charge entérobactérienne (UFC/g) détectées dans les fragments de *Petrosia ficiformis* entre les systèmes de soutien (AI-BI) et les temps de surveillance (AII-BII). Les valeurs sont exprimées en moyenne $\pm$ l'écart-type. Les différences statistiquement significatives (ANOVA à deux voies) sont signalées par un astérisque : * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$

3.3.1.3. Bioaccumulation de composés inorganiques

Pour chaque événement de surveillance, 2 fragments ont été collectés au hasard dans les deux systèmes de support pour chaque espèce (environ 10 g de poids frais chacun). La comparaison des concentrations de composés inorganiques dans les fragments des deux espèces d'éponge prélevés dans la zone entre Nisportino et Capo Vita en septembre 2020 (T0) avec ceux prélevés dans les deux types de milieu à différents moments de la surveillance (T1, T2, T3) indique le potentiel de bioaccumulation en fonction du temps, avec des valeurs de concentration augmentant jusqu'à 100 fois par rapport à T0 (Tableaux 9 et 10).

Tableau 9. Concentrations (mg/kg p.c.) de polluants inorganiques accumulés dans des fragments d'*Ircinia oros* prélevés au début du projet pilote (T0) dans la zone située à l'extérieur du quai et en octobre 2020 (T1), janvier (T2) et avril 2021 (T3) dans les systèmes de support (filets et cadres) situés sur le Site 3

<i>Ircinia oros</i>							
Catégories	Filets						
	Paramètre	Unité de mesure	LOQ	T0	T1	T2	T3
Inorganiques	As	mg/kg s.s.	1.0	5.0	9.5	59.5	-
	Cd	mg/kg s.s.	0.02	0.5	0.05	0.3	-
	Cr	mg/kg s.s.	1.0	11.8	21.6	14.8	-
	Cu	mg/kg s.s.	1.0	29.4	67.8	75.9	-
	Fe	mg/kg s.s.	30.0	1911.5	8643.9	15297.1	-
	Mn	mg/kg s.s.	1.0	688.8	162.8	191.4	-
	Ni	mg/kg s.s.	1.0	71.4	21.9	29.7	-
	Pb	mg/kg s.s.	1.0	1.4	75.7	18.9	-
	V	mg/kg s.s.	1.0	8.8	17.8	15.8	-
	Zn	mg/kg s.s.	1.0	73.6	420.4	194.5	-
	Hg	mg/kg s.s.	0.005	0.1	0.3	0.4	-
	Cadres						
	Paramètre	Unité de mesure	LOQ	T0	T1	T2	T3
	As	mg/kg s.s.	1.0	5.0	2.3	20.6	18.8
	Cd	mg/kg s.s.	0.02	0.5	0.2	0.3	0.05
	Cr	mg/kg s.s.	1.0	11.8	14.1	48.5	42.4
	Cu	mg/kg s.s.	1.0	29.4	40.8	159.3	96.7
	Fe	mg/kg s.s.	30.0	1911.6	1800.8	14919.0	82199.0
	Mn	mg/kg s.s.	1.0	688.8	52.2	296.8	469.5
	Ni	mg/kg s.s.	1.0	71.4	16.6	44.8	30.15
	Pb	mg/kg s.s.	1.0	1.5	16.8	94.7	40.6
	V	mg/kg s.s.	1.0	8.8	6.3	46.4	70.4
	Zn	mg/kg s.s.	1.0	73.6	>9000	>3000	414.3
	Hg	mg/kg s.s.	0.005	0.3	0.3	0.3	0.5

Notamment, chez *I. oros* et *P. ficiformis*, une augmentation a été observée entre les concentrations d'As, Cu, Fe, V, Zn et Hg à T0 et celles à T2 (7 mois), indiquant une bioaccumulation de ces métaux. Les concentrations de composés inorganiques à T3 indiquent une augmentation plus modeste par rapport aux événements de surveillance précédents, à l'exception de V, dont la concentration est augmentée à la fois chez *I. oros* et *P. ficiformis*.

Il faut souligner la concentration particulièrement élevée de Fe trouvée dans les fragments des deux espèces, prélevés sur les deux types de support. En revanche, la bioaccumulation de Mn et Ni, particulièrement évidente dans les fragments de l'espèce *I. oros*, n'a plus été trouvée pour les deux types de supports. Aucune différence majeure n'est évidente dans la concentration de composites inorganiques enregistrée dans les éponges disposées sur les deux types de supports, ce qui suggère que les filets et les cadres peuvent constituer une solution viable pour la construction de stations de filtration dans les marinas.

Tableau 10. Concentrations (mg/kg p.c.) de polluants inorganiques accumulés dans des fragments de *P. ficiformis* prélevés au début de l'action pilote (T0) dans la zone située à l'extérieur du quai et en octobre 2020 (T1), janvier (T2) et avril 2021 (T3) dans les systèmes de support (filets et cadres) situés sur le Site 3

<i>Petrosia ficiformis</i>							
Catégories	Filets						
	Paramètre	Unité de mesure	LOQ	T0	T1	T2	T3
Inorganiques	As	mg/kg s.s.	1.0	42.2	55.0	35.7	59.5
	Cd	mg/kg s.s.	0.02	0.9	1.8	0.7	1.4
	Cr	mg/kg s.s.	1.0	4.9	2.8	14.4	8.5
	Cu	mg/kg s.s.	1.0	32.4	50.4	79.4	43.5
	Fe	mg/kg s.s.	30.0	955.7	1896.9	3355.9	1472.6
	Mn	mg/kg s.s.	1.0	416.1	8.5	334.6	43.9
	Ni	mg/kg s.s.	1.0	28.5	21.3	22.1	9.5
	Pb	mg/kg s.s.	1.0	13.4	6.2	18.6	10.2
	V	mg/kg s.s.	1.0	4.9	1.3	9.0	138.3
	Zn	mg/kg s.s.	1.0	55.4	60.3	61.6	0.4
	Hg	mg/kg s.s.	0.005	0.3	0.6	0.4	
	Cadres						
	Paramètre	Unité de mesure	LOQ	T0	T1	T2	T3
	As	mg/kg s.s.	1.0	42.2	62.5	58.2	33.4
	Cd	mg/kg s.s.	0.02	0.9	1.4	1.4	1.3
	Cr	mg/kg s.s.	1.0	4.9	5.5	6.3	5.6
	Cu	mg/kg s.s.	1.0	32.4	22.7	52.2	82.7
	Fe	mg/kg s.s.	30.0	955.7	371.1	1064.3	5650.3
	Mn	mg/kg s.s.	1.0	416.2	5.3	29.0	25.3
	Ni	mg/kg s.s.	1.0	28.4	18.4	8.2	11.7
	Pb	mg/kg s.s.	1.0	13.3	5.0	5.5	6.9
	V	mg/kg s.s.	1.0	4.9	0.7	3.6	4.1
	Zn	mg/kg s.s.	1.0	55.3	329.6	79.0	45.7
	Hg	mg/kg s.s.	0.005	0.3	0.3	0.3	0.4

3.3.1.4. Bioaccumulation de composés organiques

En comparant les concentrations enregistrées dans les fragments de chacune des deux espèces prélevés dans chaque système de support aux temps T1 et T2 avec celles de référence (T0), le potentiel de bioaccumulation de tous les HAP s'est avéré dépendant du temps d'exposition, atteignant des valeurs 10 à 100 fois supérieures à celles du témoin (Tableau 11 et 12). En revanche, au moment T3, les valeurs étaient similaires ou inférieures à celles observées lors de la surveillance précédente. La bioaccumulation plus faible enregistrée au cours de la dernière période de surveillance pourrait être due à un déclin physiologique des éponges ou à des variations saisonnières des conditions environnementales. En ce qui concerne IC>12, dans l'espèce *I. oros* les valeurs étaient similaires ou légèrement supérieures à T0. Chez l'espèce *P. ficiformis*, les CI>12 n'ont montré aucun signe évident de bioaccumulation pendant la surveillance, bien que des exceptions aient été sporadiquement observées. Les résultats obtenus confirment l'utilisation de *I. oros* et *P. ficiformis* comme outil de biosurveillance de la pollution par des composés organiques

dans les marinas et l'efficacité de ces deux types de support pour la mise en place d'une station de biofiltration et de biosurveillance.

Tableau 11. Concentrations (mg/kg p.c.) de polluants Organiques accumulés dans des fragments d'*Ircinia oros* prélevés au début de l'action pilote (T0) dans la zone située à l'extérieur du quai et en octobre 2020 (T1), janvier (T2) et avril 2021 (T3) dans les systèmes de support (filets et cadres) situés sur le Site 3

<i>Ircinia oros</i>							
Catégories	Filets						
	Paramètre	Unité de mesure	LOQ	T0	T1	T2	T3
Organiques	IC>12	µg/kg s.s.	10.0	37.1	38.6	38.8	-
	Acénaphthalène	µg/kg s.s.	1.0	<1.0	1.1	15.1	-
	Acénaphthène	µg/kg s.s.	1.0	1.1	13.2	183.7	-
	Anthracène	µg/kg s.s.	1.0	1.4	10.3	170.3	-
	Benz[a]anthracène	µg/kg s.s.	1.0	2.8	105.0	555.6	-
	Benzo[a]pyrène	µg/kg s.s.	1.0	4.0	97.0	773.0	-
	Benzo[b]fluoranthène	µg/kg s.s.	1.0	7.5	132.8	862.7	-
	Benzo[ghi]pérylène	µg/kg s.s.	1.0	2.2	24.0	351.0	-
	Benzo[k]fluoranthène	µg/kg s.s.	1.0	3.8	150.9	454.0	-
	Chrysène	µg/kg s.s.	1.0	3.3	76.4	510.4	-
	Dibenzo[a,h]anthracène	µg/kg s.s.	1.0	<1	12.3	109.3	-
	Phénanthrène	µg/kg s.s.	1.0	10.5	232.3	1167.3	-
	Fluoranthène	µg/kg s.s.	1.0	<1	4.4	41.5	-
	Fluorène	µg/kg s.s.	1.0	3.4	75.2	534.9	-
	Indéno[1,2,3,c,d]pyrène	µg/kg s.s.	1.0	4.1	15.0	23.9	-
	Naphtalène	µg/kg s.s.	1.0	3.9	32.8	211.3	-
	Pyrène	µg/kg s.s.	1.0	5.9	112.8	883.9	-
	Cadres						
	Paramètre	Unité de mesure	LOQ	T0	T1	T2	T3
	IC>12	µg/kg s.s.	10.0	37.1	52.1	51.0	47.8
	Acénaphthalène	µg/kg s.s.	1.0	<1	1.6	4.1	2.6
	Acénaphthène	µg/kg s.s.	1.0	1.1	11.8	65.2	29.9
	Anthracène	µg/kg s.s.	1.0	1.4	4.5	71.9	12.6
	Benz[a]anthracène	µg/kg s.s.	1.0	2.8	23.7	240.6	64.9
	Benzo[a]pyrène	µg/kg s.s.	1.0	4.0	62.8	304.7	101.0
	Benzo[b]fluoranthène	µg/kg s.s.	1.0	7.5	154.5	350.6	415.4
	Benzo[ghi]pérylène	µg/kg s.s.	1.0	2.2	52.2	127.5	28.1
	Benzo[k]fluoranthène	µg/kg s.s.	1.0	3.8	77.7	184.8	201.3
	Chrysène	µg/kg s.s.	1.0	3.3	25.0	213.6	56.8
	Dibenzo[a,h]anthracène	µg/kg s.s.	1.0	<1	15.7	41.2	15.2
	Phénanthrène	µg/kg s.s.	1.0	10.5	78.3	470.2	152.2
	Fluoranthène	µg/kg s.s.	1.0	<1	1.8	12.7	4.6
	Fluorène	µg/kg s.s.	1.0	3.4	71.9	190.7	79.6
	Indéno[1,2,3,c,d]pyrène	µg/kg s.s.	1.0	4.1	6.2	10.1	14.9
	Naphtalène	µg/kg s.s.	1.0	3.9	9.9	73.0	12.9
	Pyrène	µg/kg s.s.	1.0	5.9	41.8	363.6	71.5

Tableau 12. Concentrations (mg/kg p.c.) de polluants organiques accumulés dans des fragments de *Petrosia ficiformis* prélevés au début de l'action pilote (T0) dans la zone située à l'extérieur du quai et en octobre 2020 (T1), janvier (T2) et avril 2021 (T3) dans les systèmes de support (filets et cadres) situés sur le Site 3

<i>Petrosia ficiformis</i>							
Catégories	Filets						
	Paramètre	Unité de mesure	LOQ	T0	T1	T2	T3
Organiques	IC>12	µg/kg s.s.	10.0	26.4	35.5	18.3	10.1
	Acénaphthalène	µg/kg s.s.	1.0	<1	1.1	2.5	21.0
	Acénaphthène	µg/kg s.s.	1.0	1.0	10.3	39.5	10.3
	Anthracène	µg/kg s.s.	1.0	<1	1.9	32.7	1.6
	Benz[a]anthracène	µg/kg s.s.	1.0	0.8	6.1	103.5	6.9
	Benzo[a]pyrène	µg/kg s.s.	1.0	8.7	24.1	179.0	29.8
	Benzo[b]fluoranthène	µg/kg s.s.	1.0	8.3	71.3	302.5	84.6
	Benzo[ghi]pérylène	µg/kg s.s.	1.0	3.1	19.8	123.1	36.3
	Benzo[k]fluoranthène	µg/kg s.s.	1.0	3.7	39.4	164.7	29.5
	Chrysène	µg/kg s.s.	1.0	1.1	6.7	91.3	8.0
	Dibenzo[a,h]anthracène	µg/kg s.s.	1.0	<1	5.3	39.2	8.3
	Phénanthrène	µg/kg s.s.	1.0	13.4	41.3	204.2	43.9
	Fluoranthène	µg/kg s.s.	1.0	1.1	1.3	6.9	<1.0
	Fluorène	µg/kg s.s.	1.0	11.7	36.2	241.6	52.1
	Indéno[1,2,3,c,d]pyrène	µg/kg s.s.	1.0	5.3	6.0	9.7	3.0
	Naphtalène	µg/kg s.s.	1.0	4.2	3.7	35.9	2.6
	Pyrène	µg/kg s.s.	1.0	3.5	31.9	159.9	18.9
	Cadres						
	Paramètre	Unité de mesure	LOQ	T0	T1	T2	T3
	IC>12	µg/kg s.s.	10.0	26.4	56.2	16.4	20.8
	Acénaphthalène	µg/kg s.s.	1.0	<1	1.1	0.8	<1
	Acénaphthène	µg/kg s.s.	1.0	1.0	8.6	15.6	7.9
	Anthracène	µg/kg s.s.	1.0	<1	2.1	6.5	1.6
	Benz[a]anthracène	µg/kg s.s.	1.0	0.8	16.8	38.6	5.9
	Benzo[a]pyrène	µg/kg s.s.	1.0	8.7	30.0	68.9	9.9
	Benzo[b]fluoranthène	µg/kg s.s.	1.0	8.3	81.0	160.3	27.8
	Benzo[ghi]pérylène	µg/kg s.s.	1.0	3.1	19.3	41.3	9.9
	Benzo[k]fluoranthène	µg/kg s.s.	1.0	3.7	40.7	86.8	12.3
	Chrysène	µg/kg s.s.	1.0	1.1	19.8	39.1	6.7
	Dibenzo[a,h]anthracène	µg/kg s.s.	1.0	<1	6.0	11.8	2.2
	Phénanthrène	µg/kg s.s.	1.0	13.4	83.0	51.8	34.2
	Fluoranthène	µg/kg s.s.	1.0	1.1	1.9	3.4	1.2
	Fluorène	µg/kg s.s.	1.0	11.7	30.7	67.3	14.9
	Indéno[1,2,3,c,d]pyrène	µg/kg s.s.	1.0	5.3	4.2	7.0	3.0
	Naphtalène	µg/kg s.s.	1.0	4.2	9.0	11.1	3.8
	Pyrène	µg/kg s.s.	1.0	3.5	43.8	39.4	17.2

3.3.2. Effets sur la qualité de l'eau : comparaison entre les zones de plantation et les zones témoins et au sein du quai Medicean

Afin d'évaluer l'efficacité du système de biofiltration dans la réduction de la concentration des polluants organiques et inorganiques et des micro-organismes, des analyses quantitatives ont été effectuées sur des échantillons d'eau prélevés à proximité du système de filtration et dans des sites de référence (non influencés par le système) à l'intérieur du quai Medicean. À cette fin, l'échantillonnage, effectué en même temps que la collecte de fragments d'éponge dans les filets et les cadres pendant le premier (T1), le deuxième (T2) et le troisième suivi (T3) décrits dans la section 4, a impliqué la collecte d'échantillons d'eau pour l'analyse des unités bactériennes (1L), des composés inorganiques (50 mL) et des composés organiques (2L). L'échantillonnage a été effectué à proximité des fragments d'éponge (à une distance d'environ 3-4 cm) positionnés à l'intérieur des deux systèmes de support, au moyen de seringues de dosage en plastique avec des bouchons stériles (60 ml), et dans deux zones de contrôle (CTRL 1 et CTRL 2 à une distance d'environ 15 m de l'installation de biofiltration) à l'intérieur du quai Medicean, au moyen d'une bouteille d'échantillonnage Niskin, à une profondeur d'environ 3-4 m.

3.3.2.1. Composante bactérienne

D'après les analyses effectuées après le premier (T1) et le deuxième contrôle (T2), les concentrations de la charge bactérienne totale et entérobactérienne dans les deux zones de contrôle (CTRL 1 et CTRL 2) étaient significativement plus élevées que celles trouvées dans les échantillons d'eau prélevés près des systèmes de support des éponges (CADRES et FILETS) (Tableaux 13 et 14), estimant un potentiel de biofiltration de 98-100 %. En revanche, une réduction de la clairance bactérienne a été observée au temps T3 avec des concentrations plus élevées de bactéries totales et d'entérocoques dans les deux eaux échantillonnées à proximité des systèmes de support (Tableau 15).

Tableau 13. Concentrations de la numération bactérienne totale (UFC/L) et de la numération entérobactérienne (UFC/L) dans les échantillons d'eau prélevés le 12/10/2020 (surveillance T1) à deux endroits dans le quai Medicean (CTRL 1, CTRL 2) et près des systèmes de soutien (FILETS et CADRES)

Catégories	Unité de mesure	Surveillance T1			
		CTRL 1	CTRL 2	FILETS	CADRES
Charge bactérienne totale	UFC/L	80000.0	21000.0	0.0	0.0
Entérocoques	UFC/L	90000.0	23000.0	2000.0	3000.0

Tableau 14. Concentrations de la numération bactérienne totale (UFC/L) et de la numération entérobactérienne (UFC/L) dans les échantillons d'eau prélevés le 21/01/2021 (surveillance T2) à deux endroits dans le quai Medicean (CTRL 1, CTRL 2) et près des systèmes de soutien (FILETS et CADRES)

Catégories	Unité de mesure	Surveillance T2			
		CTRL 1	CTRL 2	FILETS	CADRES
Charge bactérienne totale	UFC/L	4000.0	42000.0	0	0
Entérocoques	UFC/L	36000.0	23000.0	0	0

Tableau 15. Concentrations de la numération bactérienne totale (UFC/L) et de la numération entérobactérienne (UFC/L) dans les échantillons d'eau prélevés le 24/04/2021 (surveillance T3) à deux endroits dans le quai Medicean (CTRL 1, CTRL 2) et près des systèmes de soutien (FILETS et CADRES)

Catégories	Unité de mesure	Surveillance T3			
		CTRL 1	CTRL 2	FILETS	CADRES
Charge bactérienne totale	UFC/L	9000.0	7000.0	10000.0	31000.0
Entérocoques	UFC/L	1000.0	0.0	4000.0	2000.0

3.3.2.2. Polluants inorganiques

Sur tous les sites échantillonnés, certains métaux, à l'exception du Pb (T1, T2 et T3), du Cu, du Ni, du Mn, du V et du Zn (T2 et T3), ont été trouvés à des concentrations inférieures aux limites de quantification (LQ) (Tableaux 16, 17 et 18). Si l'on considère les métaux tracés dans la matrice, les concentrations trouvées dans les deux zones de contrôle étaient très similaires à celles près des systèmes de support à tous les temps de surveillance, à l'exception du Zn et du Mn, trouvés en concentrations beaucoup plus élevées dans les cadres au temps T3 (Tableau 16). La concentration élevée de zinc au niveau des cadres pourrait être, au moins en partie, expliquée par le rejet des filets galvanisés utilisés pour le placement des éponges, ce qui suggère que l'utilisation de filets en plastique pourrait être une alternative viable. La forte capacité de bioaccumulation de certains composés inorganiques au fil du temps par les éponges et les faibles concentrations détectées dans l'eau ont confirmé l'hypothèse initiale, à savoir une grande efficacité des espèces étudiées à hyperaccumuler des composés inorganiques même dans des environnements à faibles concentrations.

Tableau 16. Concentrations de composés inorganiques (µg/L) présents dans les échantillons d'eau prélevés le 12/10/2020 (suivi T1) sur deux sites au sein du quai Medicean (CTRL 1, CTRL 2) et à proximité des systèmes de support (FILETS et CADRES) LOQ : Limites de la quantification

Catégories	Surveillance T1						
	Paramètre	Unité de mesure	LOQ	CTRL 1	CTRL 2	FILETS	CADRES
Inorganiques	As	µg/L	2.5	<2.5	<2.5	<2.5	<2.5
	Cd	µg/L	0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2
	Cr	µg/L	1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0
	Cu	µg/L	2.5	<2.5	<2.5	<2.5	<2.5
	Ni	µg/L	5.0	<5.0	<5.0	<5.0	<5.0
	Mn	µg/L	2.5	<2.5	<2.5	<2.5	<2.5
	Pb	µg/L	1.0	2.7	2.4	2.7	1.8
	V	µg/L	1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0
	Zn	µg/L	1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0
	Hg	µg/L	0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1

Tableau 17. Concentrations de composés inorganiques (µg/L) présents dans les échantillons d'eau prélevés le 21/01/2021 (suivi T2) sur deux sites au sein du quai Medicean (CTRL 1, CTRL 2) et à proximité des systèmes de support (FILETS et CADRES) LOQ : Limites de la quantification

Catégories	Surveillance T2						
	Paramètre	Unité de mesure	LOQ	CTRL 1	CTRL 2	FILETS	CADRES
Inorganiques	As	µg/L	2.5	<2.5	<2.5	<2.5	<2.5
	Cd	µg/L	0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2
	Cr	µg/L	1.0	<1	<1	<1	<1
	Cu	µg/L	2.5	6.3	6	6.8	7.3
	Ni	µg/L	5.0	6.8	3.6	2.1	5.6
	Mn	µg/L	2.5	5.9	5.3	5.4	5.9
	Pb	µg/L	1.0	1.2	1.1	0.9	0.9
	V	µg/L	1.0	1.7	1.5	2.0	2.1
	Zn	µg/L	1.0	2.0	1.2	1.2	2.0
	Hg	µg/L	0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1

Tableau 18. Concentrations de composés inorganiques (µg/L) présents dans les échantillons d'eau prélevés le 24/04/2021 (suivi T3) sur deux sites au sein du quai Medicean (CTRL 1, CTRL 2) et à proximité des systèmes de support (FILETS et CADRES) LOQ : Limites de la quantification

Catégories	Surveillance T3						
	Paramètre	Unité de mesure	LOQ	CTRL 1	CTRL 2	FILETS	CADRES
Inorganiques	As	µg/L	2.5	<2.5	<2.5	<2.5	<2.5
	Cd	µg/L	0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2
	Cr	µg/L	1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0
	Cu	µg/L	2.5	9.6	9.9	9.5	9.9
	Ni	µg/L	5.0	<5.0	<5.0	<5.0	<5.0
	Mn	µg/L	2.5	6.1	6.0	10.3	19.2
	Pb	µg/L	1.0	3.3	3.2	3.5	4.0
	V	µg/L	1.0	2.4	1.8	2.5	4.2
	Zn	µg/L	1.0	5.0	6.4	20.7	109.3
	Hg	µg/L	0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1

3.3.2.3. Polluants organiques

À toutes les périodes de surveillance et sur tous les sites de l'étude, les HAP et les IC>12 présentaient des concentrations très faibles ou inférieures aux limites de quantification (LOQ) (Tableaux 19, 20 et 21). Comme pour les composés inorganiques, les concentrations trouvées pour les substances organiques dans les zones de contrôle étaient très similaires à celles trouvées à proximité des systèmes de soutien. Les concentrations élevées de polluants organiques trouvées dans les tissus des deux espèces d'éponges confirment toutefois leur efficacité à accumuler les polluants présents à l'état de traces dans la colonne d'eau et donc difficiles à détecter par analyse instrumentale.

Tableau 19. Concentrations de composés organiques (µg/L) présents dans les échantillons d'eau prélevés le 12/10/2020 (suivi T1) sur deux sites au sein du quai Medicean (CTRL 1, CTRL 2) et à proximité des systèmes de support (FILETS et CADRES) LOQ : Limites de la quantification

Catégories	Surveillance T1						
	Paramètre	Unité de mesure	LOQ	CTRL 1	CTRL 2	FILETS	CADRES
Organiques	IC>12	µg/L	333.3	<333.3	<333.3	<333.3	<333.3
	Acénaphthalène	µg/L	0.005	0.01	0.01	0.01	0.01
	Acénaphthène	µg/L	0.005	<0.005	<0.005	<0.005	0.04
	Anthracène	µg/L	0.005	<0.005	<0.005	<0.005	0.02
	Benz[a]anthracène	µg/L	0.005	<0.005	<0.005	<0.005	0.06
	Benzo[a]pyrène	µg/L	0.005	0.01	<0.005	0.01	0.09
	Benzo[b]fluoranthène	µg/L	0.005	0.01	<0.005	0.01	0.08
	Benzo[ghi]pérylène	µg/L	0.005	0.01	0.01	0.01	0.09
	Benzo[k]fluoranthène	µg/L	0.005	<0.005	<0.005	<0.005	0.05
	Chrysène	µg/L	0.005	<0.005	<0.005	<0.005	0.05
	Dibenzo[a,h]anthracène	µg/L	0.005	<0.005	<0.005	<0.005	0.06
	Fluoranthène	µg/L	0.005	<0.005	<0.005	<0.005	0.01
	Fluorène	µg/L	0.005	0.02	0.01	0.01	0.01
	Indéno[1,2,3,c,d]pyrène	µg/L	0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
	Naphtalène	µg/L	0.005	<0.005	<0.005	<0.005	0.01
	Phénanthrène	µg/L	0.005	0.01	0.01	<0.005	0.03
	Pyrène	µg/L	0.005	0.01	0.01	0.01	0.01

Tableau 20. Concentrations de composés organiques (µg/L) présents dans les échantillons d'eau prélevés le 21/01/2021 (suivi T2) sur deux sites au sein du quai Medicean (CTRL 1, CTRL 2) et à proximité des systèmes de support (FILETS et CADRES) LOQ : Limites de la quantification

Catégories	Surveillance T2						
	Paramètre	Unité de mesure	LOQ	CTRL 1	CTRL 2	FILETS	CADRES
Organiques	IC>12	µg/L	333.3	<333.3	<333.3	<333.3	<333.3
	Acénaphthalène	µg/L	0 005	<0 005	<0 005	<0 005	0.01
	Acénaphthène	µg/L	0 005	<0 005	<0 005	0 009	0.09
	Anthracène	µg/L	0 005	<0 005	<0 005	0.03	0.03
	Benz[a]anthracène	µg/L	0 005	<0 005	<0 005	0.04	0.04
	Benzo[a]pyrène	µg/L	0 005	<0 005	<0 005	0.04	0.04
	Benzo[b]fluoranthène	µg/L	0 005	<0 005	<0 005	0.01	0.20
	Benzo[ghi]pérylène	µg/L	0 005	<0 005	<0 005	0.01	0.24
	Benzo[k]fluoranthène	µg/L	0 005	<0 005	<0 005	0.02	0.24
	Chrysène	µg/L	0 005	<0 005	<0 005	0.03	0.30
	Dibenzo[a,h]anthracène	µg/L	0 005	<0 005	<0 005	<0 005	0.06
	Fluoranthène	µg/L	0 005	<0 005	<0 005	0.06	0.69
	Fluorène	µg/L	0 005	<0 005	<0 005	<0 005	0.01
	Indéno[1,2,3,c,d]pyrène	µg/L	0 005	<0 005	<0 005	0.02	0.02
	Naphtalène	µg/L	0 005	<0 005	0 005	<0 005	0.02
	Phénanthrène	µg/L	0 005	<0 005	<0 005	0.01	0.09
	Pyrène	µg/L	0 005	0 005	<0 005	0.04	0.04

Tableau 21. Concentrations de composés organiques (µg/L) présents dans les échantillons d'eau prélevés le 24/04/2021 (suivi T3) sur deux sites au sein du quai Medicean (CTRL 1, CTRL 2) et à proximité des systèmes de support (FILETS et CADRES) LOQ : Limites de la quantification

Catégories	Surveillance T3						
	Paramètre	Unité de mesure	LOQ	CTRL 1	CTRL 2	FILETS	CADRES
Organiques	IC>12	µg/L	333.3	<333.3	<333.3	<333.3	<333.3
	Acénaphthalène	µg/L	0 005	0 005	0 006	0 005	<0 005
	Acénaphthène	µg/L	0 005	<0 005	<0 005	<0 005	<0 005
	Anthracène	µg/L	0 005	<0 005	<0 005	<0 005	<0 005
	Benz[a]anthracène	µg/L	0 005	<0 005	<0 005	0 007	<0 005
	Benzo[a]pyrène	µg/L	0 005	<0 005	0 009	<0 005	<0 005
	Benzo[b]fluoranthène	µg/L	0 005	<0 005	0 009	<0 005	<0 005
	Benzo[ghi]pérylène	µg/L	0 005	<0 005	<0 005	<0 005	<0 005
	Benzo[k]fluoranthène	µg/L	0 005	<0 005	<0 005	<0 005	<0 005
	Chrysène	µg/L	0 005	<0 005	<0 005	<0 005	<0 005
	Dibenzo[a,h]anthracène	µg/L	0 005	<0 005	<0 005	<0 005	<0 005
	Fluoranthène	µg/L	0 005	<0 005	<0 005	00:01	<0 005
	Fluorène	µg/L	0 005	<0 005	<0 005	<0 005	<0 005
	Indéno[1,2,3,c,d]pyrène	µg/L	0 005	<0 005	<0 005	<0 005	<0 005
	Naphtalène	µg/L	0 005	<0 005	<0 005	<0 005	<0 005
	Phénanthrène	µg/L	0 005	<0 005	<0 005	<0 005	<0 005
	Pyrène	µg/L	0 005	<0 005	<0 005	00:01	<0 005

3.4. Effets des éponges sur la colonisation des substrats artificiels

Compte tenu de la capacité des éponges à produire des composés (métabolites secondaires) qui agissent dans le cadre de mécanismes de défense chimique contre la prédation ou de stratégies de compétition pour l'espace en inhibant l'établissement de micro-macro-salissures et de parasites, une série de tests a été réalisée entre décembre 2020 et avril 2021, à la fois dans des conditions contrôlées et sur le terrain, pour examiner les éventuelles propriétés antisalissures de l'espèce *Ircinia oros*.

3.4.1. Tests de laboratoire

Entre décembre 2020 et février 2021, les biocides naturels produits par l'éponge *I. oros*, qui a ensuite été utilisé pour effectuer une enquête écotoxicologique en mesurant plusieurs paramètres tels que : inhibition de la bioluminescence de la bactérie à Gram négatif *Aliivibrio fischeri*, inhibition de la croissance de la diatomée *Phaeodactylum tricornutum* et réponses biologiques à différents états de développement (inhibition de la motilité des spermatozoïdes et du développement larvaire, dommages cellulaires et génotoxicité) chez l'annélide polychète marin *Ficopomatus enigmaticus*, une espèce invasive capable de coloniser des substrats immergés (quilles de bateaux, quais, formant d'énormes bioconstructions dont l'élimination entraîne des coûts économiques considérables.

Le 18/12/2020, un fragment d'éponge d'un poids frais d'environ 250 g a été prélevé le long de la côte entre Nisportino et Capo Vita à une profondeur de 5 mètres. L'isolement de différents types de biocides naturels a été effectué au moyen de méthodes d'extraction « classiques » avec des solvants organiques, ou dans des mélanges de différents solvants (de polarité différente) en présence ou en l'absence d'acides et/ou d'agents complexants. Une partie du fragment a été exsiccée (20 à 40 g de poids sec) et macérée avec MeOH/CH₂Cl₂ 1:1 (v : v) pendant 24 à 48 heures. La solution a ensuite été filtrée, évaporée à travers un évaporateur rotatif Heidolph et partagée avec de l'hexane (hexane) (solvant non polaire) (**DH**) et de l'éthanol (AcOEt) (solvant semi-polaire) (**DA**). Une seconde portion de fragment (102-120 g de poids frais) a été directement macérée et partitionnée comme décrit précédemment (hexane : **WH** ; AcOEt : **WA**). Les extraits (10 mg/mL) ont été resuspendus dans du DMSO et conservés à -20°C après utilisation. Les solutions obtenues ont ensuite été diluées dans de l'eau de mer artificielle (ASW), conformément à la méthodologie rapportée par la norme ISO 10253 (2016). Une gamme de concentrations nominales (100-50-25-10-5-1-0,5-0,25-0,1-0,05 µg/mL) a été utilisée pour chacun des quatre extraits afin de déterminer la limite de tolérance de chaque espèce testée (EC_{10/20/50}).

Le test d'inhibition de la bioluminescence de la bactérie *A. fischeri* a été réalisé selon la méthodologie ISO11348:2007. Dans un premier temps, un *test préliminaire* de criblage a été réalisé en exposant les suspensions reconstituées de *A. fischeri* aux concentrations les plus élevées (100 %) de tous les extraits et en mesurant après 30 minutes les différences d'émission de

bioluminescence (pourcentage d'inhibition de la bioluminescence - I %). Ensuite, chaque concentration de chaque extrait a été testée en effectuant un minimum de trois et un maximum de six répétitions pour garantir une meilleure signification statistique du test (*test standard final*) Toutes les mesures ont été réalisées avec un luminomètre M500, l'acquisition et le traitement des données ($EC_{10/20/50}$ calculé avec la méthode des moindres carrés) ont été effectués avec le logiciel Microtox® Omni 1.16.

D'après les résultats obtenus, aucune inhibition de la bioluminescence n'a été détectée en réponse à toutes les concentrations nominales testées de chaque extrait (<12 % d'inhibition à 100 µg/mL), ce qui laisse supposer une faible sensibilité du test.

Le test d'inhibition de la croissance de *P. tricornutum* a été réalisé selon la méthodologie ISO 10253 (2006), qui consiste à lire le milieu de départ des algues pour connaître sa concentration initiale et après 72 h pour obtenir la concentration finale des algues. La préparation des milieux de culture a été réalisée à partir d'une solution mère d'eau de mer synthétique selon la recette ISO 10253 à laquelle ont été ajoutées les différentes concentrations de chaque extrait. La densité optique des suspensions étudiées a été déterminée dans des cuvettes à l'aide d'un spectrophotomètre JENWAY GENOVA PLUS. Les valeurs $EC_{10/20/50}$ (limites de confiance ± 95 %) pour tous les extraits ont été calculées à l'aide du logiciel Linear Interpolation Method for Sublethal Toxicity (U.S.EPA,1993).

Les analyses effectuées ont fait ressortir la capacité des extraits d'éponge à inhiber la croissance des algues (Tableau 22). Les effets d'inhibition étaient particulièrement évidents pour les extraits non polaires (avec l'hexane) par rapport aux extraits semi-polaires (AcOEt), révélant l'ordre croissant suivant des effets : DA > WA > WH > DH.

Tableau 22. Inhibition de la croissance de *Phaeodactylum tricornutum* exprimée en valeurs de concentration effective ($EC_{10/20/50}$) $\pm$ limites de confiance (DA : éponges séchées et extraites avec AcOEt ; WA : éponges non séchées extraites avec AcOEt. ; WH : éponges séchées et extraites avec de l'hexane ; DH : éponges non séchées extraites avec de l'hexane)

Extraits	EC_{10}	C.L. (95 %)	EC_{20}	C.L. (95 %)	EC_{50}	C.L. (95 %)
DA	27.71	20.76-28.68	31.53	28.82-32.35	42.99	41.84-43.41
WA	8.22	6.95-10.0	16.85	10.33-20.75	38.26	36.86-40.38
WH	5.29	5.04-5.48	6.79	6.55-6.95	12.17	11.79-12.50
DH	0.79	0.46-1.07	6.09	4.08-5.27	9.70	9.02-10.56

Pour évaluer les réponses biologiques, telles que l'inhibition de la motilité, les dommages cellulaires et la génotoxicité dans les gamètes générés par chaque extrait, des spécimens de *F. enigmaticus* ont été acclimatés en laboratoire pendant 10 jours dans des bassins en circuit fermé avec de l'eau de mer filtrée à 0,45 µm, à une température saisonnière de 12°C et une salinité de 30

PSU. Cette opération a été suivie de l'induction d'une stimulation mécanique de l'émission des ovules et des spermatozoïdes. Ces derniers ont ensuite été incubés pendant 30 min aux différentes concentrations de chaque extrait et la concentration de spermatozoïdes (pour définir la quantité optimale) et la motilité ont été immédiatement mesurées.

La motilité des spermatozoïdes a été évaluée à l'aide du système CASA plugin (système d'analyse des spermatozoïdes assisté par ordinateur, Université de Californie et Howard Hughes Medical Institute, États-Unis) du logiciel ImageJ (<http://imagej.nih.gov/ij/>). Dans le détail, les suspensions de spermatozoïdes ont été diluées dans du NSW filtré 0,45 µm, afin d'obtenir une concentration de 100 mln de spermatozoïdes/ml, et incubées avec chaque concentration *pour* l'extrait à $18 \pm 1^\circ\text{C}$ pendant environ 30 min. Un microscope ZEISS avec un objectif à contraste de phase 40X équipé d'une caméra MC120-HD a été utilisé pour l'observation. La motilité a été estimée immédiatement après avoir placé un volume connu de chaque échantillon dans la chambre. Pour réduire la friction et favoriser le mouvement, de l'albumine de sérum bovin (BSA) à 1 % a été placée sur la lame dans un rapport de 1:1 avec l'échantillon. Des images en mouvement des solutions de sperme ont été enregistrées par la caméra pendant 5 secondes. (100 images/s) (trois vidéos par traitement), puis numérisées et traitées à l'aide du système plugin CASA.

Les dommages cellulaires, y compris la peroxydation lipidique, la LPO et les espèces réactives de l'oxygène (ROS), et la génotoxicité (ADNssB) ont été évalués respectivement par spectrofluoromètre et spectromètre.

Pour la LPO, chaque spermatozoïde a été marqué avec un fluorophore (C11 BODIPY® 581/591), qui est intrinsèquement lipophile et couramment utilisé pour détecter la peroxydation lipidique dans les membranes, puis lu dans le spectrofluoromètre en réglant la longueur d'onde d'excitation à 490 nm et le spectre d'émission dans la plage de 500-650 nm. La peroxydation lipidique a été évaluée par le rapport entre la valeur du pic de fluorescence à ~520 et la somme des valeurs du pic à ~520 et ~590 nm.

Pour les ROS, chaque spermatozoïde a été marqué avec un fluorophore dihydroéthidium (DHE) capable de détecter des espèces oxydantes spécifiques, puis lu au spectrofluorimètre avec une longueur d'onde d'excitation de 350 nm et une longueur d'onde d'émission comprise entre 400 et 670 nm. L'augmentation de la production de ROS dans la cellule a été suivie en faisant la moyenne entre les valeurs de pic à ~600 nm.

La génotoxicité a été déterminée en évaluant les dommages causés à l'ADN. Les résultats obtenus ont permis de déduire que tous les extraits aux concentrations les plus élevées ont produit une inhibition de la motilité des spermatozoïdes (Figure 34 AI). Des différences statistiquement significatives entre les sujets traités et les témoins ont également été constatées en termes de dommages cellulaires, avec des niveaux plus élevés de peroxydation membranaire et de production d'espèces réactives de l'oxygène dans les spermatozoïdes incubés avec les plus fortes concentrations de DA, WA et WH (Figure 34 AII, AIII). En revanche, les extraits d'éponges non

séchées partitionnés avec de l'hexane (DH) n'ont pas généré de dommages cellulaires. En ce qui concerne la génotoxicité, les dommages à l'ADN ont été causés par les deux extraits semi-polaires (AcOEt), avec des différences statistiquement significatives entre les concentrations les plus élevées et les contrôles respectifs (Figure 34 AIV).

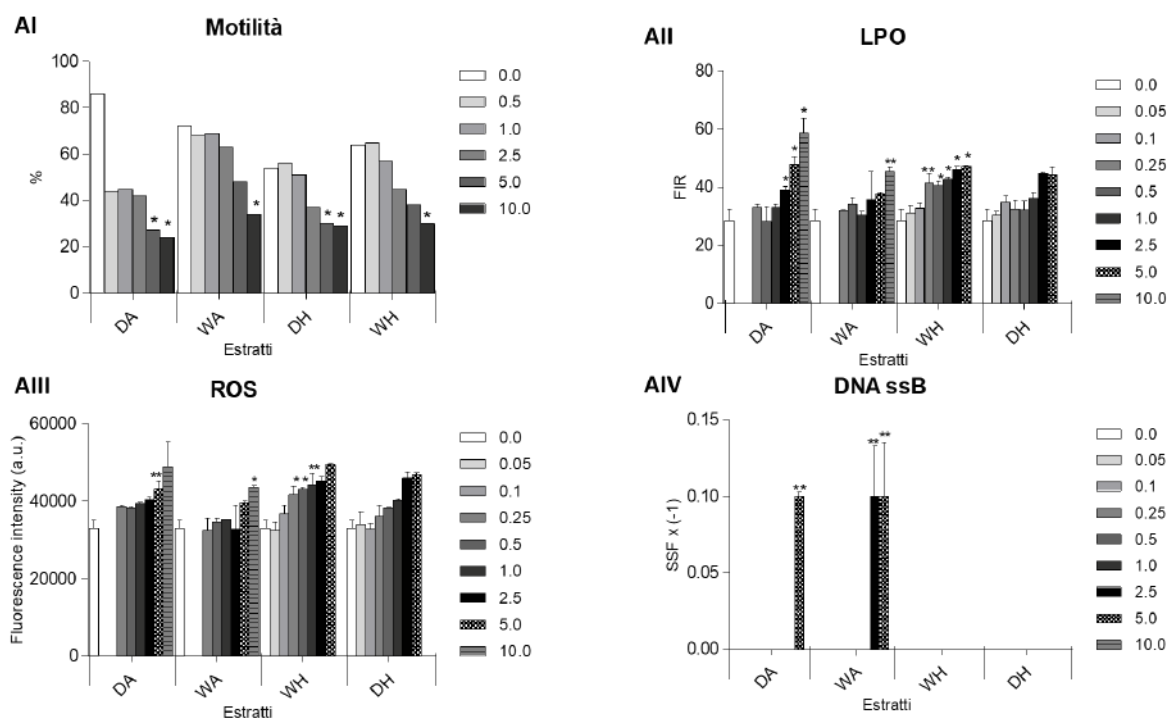


Figure 34. **AI:** Inhibition de la motilité (%); **AII:** Peroxydation des lipides (LPO) (FIR); **AIII:** Espèces réactives de l'oxygène (ROS) (intensité de fluorescence (a.u.)); **AIV:** Dommages à l'ADN (ADNssB) (facteur de ciseaux standard x (-1)) dans les spermatozoïdes de *Ficopomatus enigmaticus* exposés à différentes concentrations d'extraits d'éponges (DA : éponges séchées et extraites avec de l'AcOEt; WA : éponges non séchées extraites avec de l'AcOEt; WH : éponges séchées et extraites avec de l'hexane; DH : éponges non séchées extraites avec de l'hexane). Les valeurs sont exprimées en moyenne $\pm$ l'écart-type. Les différences statistiquement significatives entre les témoins traités et les témoins respectifs (ANOVA à deux voies) sont signalées par un astérisque : * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$

Comme point final, la toxicité relative aux substances testées a été examinée sur la base du pourcentage de larves anormales (premier stade de larve véligère) de *F. enigmaticus* trouvées après la fertilisation des œufs. La fécondation des gamètes a été réalisée en ajoutant une suspension de sperme filtré au cylindre gradué contenant les œufs; la suspension a été mélangée à l'aide d'un agitateur pour assurer son homogénéité. Ensuite, 1 ml de suspension a été pipeté une éprouvette en verre contenant 9 ml de solution (dilutions des substances à tester et du contrôle négatif) et placé dans la cellule thermostatique à $18 \pm 1^\circ\text{C}$ pendant 48 h, à la photopériode de 16 h de lumière : 8 heures d'obscurité. Trois répétitions ont été effectuées pour chaque concentration et contrôle. À la fin de la période d'exposition dans une cellule thermostatique, les échantillons ont été fixés avec

quelques gouttes de formol tamponné à 40 % ; à la fin nous avons procédé à la lecture des échantillons au microscope.

Des différences statistiquement significatives en termes de larves malformées ont été observées aux plus fortes concentrations testées de tous les extraits, avec des valeurs d'inhibition du développement de 100 % (Fig. 35).

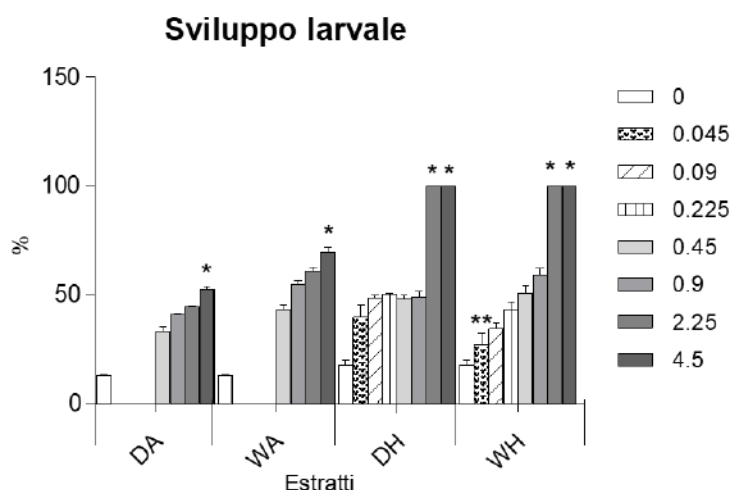


Figure 35. Pourcentage de larves non développées de *Ficopomatus enigmaticus* exposées à différentes concentrations nominales d'extraits d'éponges (DA : éponges séchées extraites avec AcOEt ; WA : éponges non séchées extraites avec AcOEt. ; WH : éponges séchées extraites à l'hexane ; DH : éponges non séchées extraites avec hexane). Les valeurs sont exprimées en moyenne $\pm$ l'écart-type. Les différences statistiquement significatives entre les témoins traités et les témoins respectifs (ANOVA à deux voies) sont signalées par un astérisque : * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$

3.4.2. Expérience sur le terrain

Afin d'évaluer les propriétés antifouling des éponges présentes sur les systèmes de support, un système de substrats artificiels, représenté par des panneaux en PVC (15x15 cm²) sur lesquels le développement spontané d'une communauté d'organismes pourrait avoir lieu, produisant une succession écologique typique des substrats artificiels que l'on trouve dans un environnement portuaire, a été placé sur des filets en fibre végétale. Un total de 24 panneaux ont été utilisés (4 par filet), placés sur des filets préalablement déployés sous le dock flottant : 5 caractérisés par la présence de fragments d'éponges et 1 sans éponges (contrôle négatif). Les panneaux ont été ancrés à l'aide de pinces biodégradables (Figure 36). L'activité d'échantillonnage, qui a commencé le 27/01/2021, s'est terminée le 23/04/2021. Une fois l'opération terminée, des photographies ont été prises des deux faces de chaque panneau (Figure 37). Les panneaux ont ensuite été transportés au laboratoire par des conteneurs réfrigérés et l'abondance (en termes de pourcentage de couverture) des principaux groupes taxonomiques a été déterminée, fournissant une analyse quantitative de la capacité à s'installer et à coloniser en présence et en l'absence de fragments d'éponge.

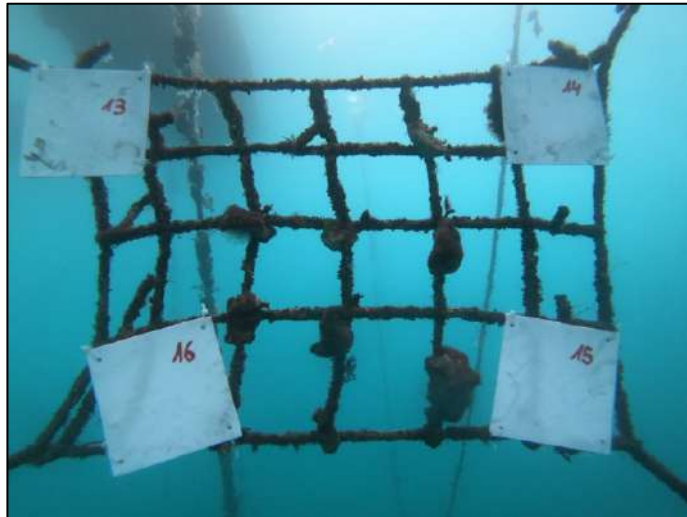


Figure 36. Système d'ancrage de panneaux en PVC sur des filets en fibre végétale (janvier 2021)



Figure 37. Colonisation des panneaux en PVC (côté sud) à la fin de l'activité d'échantillonnage (avril 2021)

En général, l'espace colonisé par les espèces benthiques était plus grand sur les faces de panneaux orientées vers le sud que sur les faces de panneaux orientées vers le nord. En particulier, sur les panneaux exposés au sud, environ 60 % de la surface était colonisée (40 % d'ascidies coloniales, de bryozoaires et de polychètes serpulides ; 20 % d'algues filamenteuses), tandis que sur le côté exposé au nord, seulement 20 %. Ces résultats suggèrent que l'exposition au soleil pendant une période plus longue a pu stimuler la colonisation de la face sud des panneaux, en particulier par des algues filamenteuses. Bien que l'analyse statistique (analyse asymétrique de la variance) ait révélé des différences marginalement significatives ($p = 0,061$), il faut noter que le pourcentage de couverture d'invertébrés sur la face nord des panneaux sur les filets à éponge (moyenne $\pm$ écart-type = $30,5 \pm 22,7$) a montré une tendance à être supérieure à celle des panneaux appliqués aux filets sans éponges (moyenne $\pm$ écart-type = $11,1 \pm 10,5$). Ces

résultats suggèrent que, malgré une densité relativement faible d'éponges, leur présence peut avoir réduit la capacité de colonisation de diverses espèces d'invertébrés, ce qui correspond aux résultats obtenus lors de l'expérience en laboratoire.

4. Conclusions

Les caractéristiques biotiques et abiotiques du quai Medicean de Portoferraio semblaient donc permettre d'entreprendre l'évaluation de l'utilisation d'invertébrés filtrants comme moyen d'augmenter la qualité de l'eau et la biosurveillance. Les inspections effectuées le long du tronçon de côte entre Nisportino et Capo Vita ont révélé la présence de populations d'éponges de mer caractérisées par une grande diversité d'espèces et, pour certaines d'entre elles, par des valeurs de densité élevées. En particulier, deux espèces, *Petrosia ficiformis* et *Ircinia oros*, ont été trouvées particulièrement abondantes et donc identifiées comme potentiellement utiles pour la création d'une installation expérimentale de biofiltration/biosurveillance au sein du quai Medicean.

Les fragments des deux espèces d'éponges disposés sur le support se sont révélés capables de filtrer les micro-organismes, confirmant les résultats des expériences en laboratoire. Il faut souligner une augmentation entre le premier et le deuxième événement de contrôle de la charge bactérienne totale et des entérocoques dans *P. ficiformis*, plus évidente dans les fragments disposés sur les filets. Au contraire, le nombre de colonies développées à partir des échantillons prélevés lors du dernier événement de surveillance était plus faible. Cette variabilité entre les dates d'échantillonnage pourrait refléter les fluctuations des concentrations bactériennes dans les eaux de la darse, comme le révèle l'échantillonnage trimestriel ; elle pourrait également être liée à des changements dans la physiologie des éponges dans la darse.

L'étude de la distribution des polluants organiques et inorganiques a mis en évidence une forte accumulation par les deux espèces d'éponges d'hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) et de certains oligo-éléments, notamment As, Cu, Fe, V, Zn et Hg, qui tend toutefois à diminuer avec le temps, un résultat attribuable à un déclin physiologique des éponges ou à des variations saisonnières des conditions environnementales. En revanche, l'accumulation d'hydrocarbures lourds (CI>12) au cours du suivi semble être absente, les valeurs étant similaires ou légèrement supérieures au temps initial chez les deux espèces. Compte tenu de l'efficacité d'accumulation et de la résistance testées dans des conditions de laboratoire, il est possible d'affirmer que les deux espèces étudiées peuvent être utilisées comme d'excellents bio-accumulateurs dans les plans de biosurveillance et de récupération environnementale (Batista et al., 2013). Par ailleurs, l'absence de différences significatives dans les concentrations de polluants enregistrées dans les éponges placées sur les deux types de milieux, suggérant que les filets et les cadres peuvent constituer une solution valable pour la construction de stations de filtrage à l'intérieur des marinas.

D'après les analyses ponctuelles effectuées dans la matrice aqueuse, les concentrations de composés inorganiques trouvées dans les deux zones de contrôle à l'intérieur de la darse se sont

avérées très faibles et similaires à celles près des systèmes de support à tous les moments de la surveillance. La seule exception était la concentration de Zn dans la correspondance des cadres au temps T3, un résultat probablement attribuable à la libération de celui-ci par les filets galvanisés utilisés pour le positionnement des éponges. Quant aux composés inorganiques, également pour les organiques, les concentrations trouvées dans les zones de contrôle se sont avérées très similaires à celles à proximité des systèmes de support, confirmant, comme déjà apparu dans le suivi trimestriel, une contamination très la zone d'étude. Les résultats montrent une corrélation positive entre la concentration de composés organiques et inorganiques (faible) dans l'eau et l'accumulation de ces mêmes composés (élevée) dans les organismes exposés.

La fraction biodisponible et bioaccumulée des polluants organiques, inorganiques et microbiologiques génère en partie dans les éponges une réponse biologique, mise en évidence par une batterie de biomarqueurs spécifiques comme outil pronostique dans la compréhension des effets de ces contaminants. La capacité à tolérer des concentrations moyennes à élevées de contaminants et la possibilité d'évaluer la santé des éponges ont été identifiées comme une condition préalable essentielle à leur utilisation dans la station de filtration. Les résultats expérimentaux ont confirmé les propriétés de filtration et de bioaccumulation élevées des deux espèces et, en particulier, de *P. ficiformis*. Des expériences en laboratoire ont révélé une charge bactérienne significativement plus élevée dans les fragments de *P. ficiformis* exposés à de fortes concentrations de la bactérie *E.coli*, que dans les fragments non exposés. En revanche, aucune différence significative n'a été observée entre les fragments exposés et non exposés à une augmentation de la concentration de *E.coli* dans *I. oros*. Cependant, cette dernière s'est avérée capable de survivre à une exposition à des températures élevées pendant des périodes prolongées (7 jours), tout en présentant une efficacité de filtration réduite. Bien que durant la phase exploratoire du projet, on ait émis l'hypothèse d'une meilleure efficacité de *P. ficiformis* en termes de filtration et d'accumulation des contaminants, les différences d'efficacité entre les deux espèces ont conduit à la décision d'utiliser les deux dans une tentative de déclencher des effets de complémentarité, c'est-à-dire de maximiser le nombre et la quantité de contaminants séquestrés par l'action combinée des deux espèces.

En général, les fragments d'*I. oros*, lorsqu'ils ont été transplantés sur les deux systèmes de support, ont montré une variabilité considérable de leurs capacités métaboliques et de leurs réserves énergétiques au cours du temps, ainsi qu'un début d'état de stress oxydatif lors du dernier échantillonnage. Globalement, les analyses biologiques suggèrent une diminution de l'état physiologique d'*I. oros* avec le passage du temps. Néanmoins, les capacités métaboliques des fragments de cette espèce étaient significativement plus élevées pour certaines dates de surveillance qu'à T0, ce qui suggère que certaines variations peuvent être liées aux fluctuations saisonnières des conditions environnementales. Même les fragments de *P. ficiformis*, sur les deux systèmes de support, ont subi une altération de leurs réserves énergétiques au cours du temps, des

dommages cellulaires et géniques plus importants et une altération des défenses antioxydantes et de biotransformation par rapport à T0, mais pas une baisse de leurs capacités métaboliques. Cependant, des études à long terme seraient nécessaires pour déterminer si les variations qui sont apparues au fil du temps dans l'état physiologique de *P. ficiformis* peuvent être attribuées aux fluctuations saisonnières des conditions environnementales. Dans l'ensemble, la survie des deux espèces d'éponges était élevée sur les filets et les cadres tout au long de la phase expérimentale. Notamment, aucun des fragments transplantés n'est mort pendant la période d'étude. La capacité d'une espèce à accumuler de grandes quantités de contaminants sans modifier l'organisation morphostructurale est certainement un grand avantage dans le domaine de la biotechnologie visant la remédiation environnementale.

Il est également nécessaire de prendre en compte la manière dont les variations des réponses biologiques observées chez les deux espèces peuvent avoir été influencées par les cycles biologiques et reproductifs normaux de ces organismes ou par d'autres facteurs polluants tels que les microplastiques, désormais considérés comme l'un des principaux contaminants du milieu marin. Cette hypothèse a été confirmée par les résultats de l'analyse effectuée sur le contenu des microplastiques dans la darse, montrant une plus grande concentration de fragments de PET, PP et PU dans les eaux de surface. Les microplastiques étant considérés comme l'un des contaminants émergents les plus courants (Guzzetti et al., 2018), les analyses de laboratoire réalisées pour étudier leurs éventuels impacts ont montré que la capacité de filtration et de métabolisme des éponges était significativement affectée par la présence de microplastiques dans l'eau en moins de 72 heures.

Un autre problème dans les zones portuaires concerne les salissures biologiques, qui peuvent coloniser les substrats immergés (quilles de bateaux, quais) en formant de grandes bio-constructions dont l'élimination entraîne des coûts économiques considérables. Les éventuelles propriétés antifouling des éponges présentes sur les systèmes de support à l'intérieur du quai ont ensuite été évaluées, en examinant la capacité des populations benthiques à coloniser les substrats artificiels en présence et en l'absence d'éponges. En général, une tendance s'est dégagée pour un moindre établissement des invertébrés (ascidies coloniales, bryozoaires et polychètes serpulides) sur les substrats artificiels fixés en présence d'éponges.

En conclusion, l'action pilote menée à Portoferraio montre que les éponges de mer, en raison de leur grande capacité de filtration et d'accumulation des contaminants, peuvent représenter une solution naturelle pour l'amélioration de la qualité de l'eau et la biosurveillance des polluants dans les ports de plaisance. La possibilité de mettre en place des installations de biofiltration en utilisant comme supports principaux les structures artificielles que l'on trouve couramment dans ces milieux (docks flottants, quais, corps morts), réduisant considérablement les coûts et augmentant la transférabilité de la solution elle-même, serait un point fort de cette stratégie. Bien que des études supplémentaires soient nécessaires pour passer d'une phase pilote expérimentale à une phase opérationnelle, les résultats obtenus ouvrent de nouvelles perspectives pour la restauration et la

conservation de la biodiversité marine et des services écosystémiques qu'elle fournit dans les zones urbaines.

6. Bibliographie

- Bulleri, F. (2006) Is it time for urban ecology to include the marine realm? *Trends in Ecology & Evolution* 21: 658-659.
- Bulleri, F., and Chapman, M.G. (2010) The introduction of coastal infrastructure as a driver of change in marine environments. *Journal of Applied Ecology* 47: 26-35.
- Bulleri, F., Eriksson, B.K., Queirós, et al. (2018) Harnessing positive species interactions as a tool against climate-driven loss of coastal biodiversity. *PLoS Biology* 16(9): e2006852.
- Bulleri, F., Batten, S., Connell, S.D., et al. (2020). Human pressures and the emergence of novel marine ecosystems. *Oceanography and Marine Biology: an Annual Review* 57: 456-535.
- Firth, L. B., Knights, A. M., Bridger, D., et al. (2016). Ocean sprawl: Challenges and opportunities for biodiversity management in a changing world. *Oceanography and Marine Biology: An Annual Review* 54: 193–269.
- Grizzle, R.E., Greene, J.K., Coen, L.D. (2008) Seston removal by natural and constructed intertidal eastern oyster (*Crassostrea virginica*) reefs: A comparison with previous laboratory studies, and the value of in situ methods. *Estuaries and Coasts* 31: 1208-1220.
- Guzzetti, E., Sureda, A., Tejada, S., Faggio, C. (2018). Microplastic in marine organism: Environmental and toxicological effects. *Environmental toxicology and pharmacology*, 64, 164-171.
- Hughes, D.J., Cook, E.J., Sayer, M.D.J. (2005) Biofiltration and biofouling on artificial structures in Europe: The potential for mitigating organic impacts *Oceanography and Marine Biology: an Annual Review* 43: 123-172.
- Milanese, M., Chelossi, E., Manconi, R., et al. (2003) The marine sponge *Chondrilla nucula* Schmidt, 1862 as an elective candidate for bioremediation in integrated aquaculture. *Biomolecular Engineering* 20: 363-368.
- Batista, D., Tellini, K., Nudi, A.H., et al. (2013). Marine sponges as bioindicators of oil and combustion derived PAH in coastal waters. *Marine Environmental Research* 92:234-243.
- de Mestre, C., W. Maher, D. Roberts, et al. (2012). Sponges as sentinels: Patterns of spatial and intra-individual variation in trace metal concentration. *Marine Pollution Bulletin* 64: 80-89.
- Ferrante, M., M. Vassallo, A. Mazzola, et al. (2018). In vivo exposure of the marine sponge *Chondrilla nucula* Schmidt, 1862 to cadmium (Cd), copper (Cu) and lead (Pb) and its potential use for bioremediation purposes. *Chemosphere* 193: 1049-1057.
- Fontes, J., Afonso, P. (2017). Long-term residency and movements of yellowmouth barracuda (*Sphyrna viridensis*) at a shallow seamount. *Marine Biology* 164: 19.

- Garcia-Nieto, A.P., et al. (2018). Impacts of urbanization around Mediterranean cities: changes in ecosystem service supply. *Ecological Indicators* 91: 589-606.
- Gentric, C., Rehel, K., Dufour A., Sauleau, P. (2016). Bioaccumulation of metallic trace elements and organic pollutants in marine sponges from the South Brittany Coast, France. *Journal of Environmental Science and Health - Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering* 51:213-219.
- Ledda, F.D., Pronzato, R., Manconi, R. (2014). Mariculture for bacterial and organic waste removal: A field study of sponge filtering activity in experimental farming. *Aquaculture Research* 45: 1389-1401.
- Longo, C., Corriero, G., Licciano, M., Stabili, L. (2010). Bacterial accumulation by the Demospongiae *Hymeniacidon perlevis*: A tool for the bioremediation of polluted seawater. *Marine Pollution Bulletin* 60: 1182-1187.
- Mercurio, M., Longo, C., Nonnis Marzano, C. et al. (2003). L'allevamento di spugne commerciali nella Riserva Naturale Marina 'Isola di Ustica.' *Biologia Marina Mediterranea* 10:462–464.
- Osinga, R., Sidri, M., Cerig, E., et al. (2010). Sponge aquaculture trials in the East-Mediterranean Sea: new approaches to earlier ideas. *Open Marine Biology Journal* 4: 74-81
- Padiglia, A., Ledda, F.D., Padedda, B.M., et al.. 2018. Long-term experimental in situ farming of *Crambe crambe* (Demospongiae: Poecilosclerida). *PeerJ* 6:e4964.
- Perez, T., Wafo, E., Fourt, M., Vacelet, J. (2003). Marine sponges as biomonitor of polychlorobiphenyl contamination: Concentration and fate of 24 congeners. *Environmental Science and Technology* 37: 2152-2158.
- Pronzato, R. 1999. Sponge-fishing, disease and farming in the Mediterranean Sea. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 9: 485-493.
- Riisgård, H.U., Larsen, P.S. (1995). Filter-feeding in marine macro-invertebrates: pump characteristics, modelling and energy cost. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society (London)* 70: 67–106.
- Stabili, L., Licciano M., Longo, C., et al. (2008). Evaluation of microbiological accumulation capability of the commercial sponge *Spongia officinalis* var. *adriatica* (Schmidt) (Porifera, Demospongiae). *Water Research* 42: 2499-2506.



COMPONENTE T2/COMPONSANTE T2
ATTIVITA' T2.1/ACTIVITÉ T2.1
PRODOTTO T2.1.1/LIVRABLE T2.1.1
Report dell'azione pilota di Savona
Comune di SAVONA



REGIONE AUTÒNOMA DE SARDIGNA
REGIONE AUTONOMA DELLA SARDEGNA

La cooperazione al cuore del Mediterraneo
La coopération au coeur de la Méditerranée



SERVIZIO DI PULIZIA DELLO SPECCHIO ACQUEO DELLA VECCHIA DARSENA DI SAVONA PER LO SMALTIMENTO DEI PICCOLI DETRITI GALLEGGIANTI (COMPRESSE LE MICROPLASTICHE), MA ANCHE OLII, CARBURANTI E DETERGENTI CHE INSISTONO SUL PELO LIBERO DELLA SUPERFICIE MARINA TRAMITE LA SPERIMENTAZIONE DI SOLUZIONI TECNICHE INNOVATIVE

SERVICE DE NETTOYAGE DU MIROIR À EAU DU VIEUX QUAI DE SAVONE POUR L'ÉLIMINATION DES PETITS DÉBRIS FLOTTANTS (Y COMPRIS LES MICROPLASTIQUES), MAIS AUSSI HUILES, COMBUSTIBLES ET DÉTERGENTS A TRAVERS L'ESPÉRIMENTATION DES SOLUTIONS TECHNIQUES INNOVANTES

Détails / Dettagli	
Lieu Luogo	(Savone/ <i>Savona</i> , Ligurie/ <i>Liguria</i> , Italie/ <i>Italia</i>)
Durée de l'opération Durata dell'azione	de / dal 06/2020 à / al 06/2021
Description de l'action Descrizione dell'azione	L'azione pilota del Comune di Savona ha come obiettivo lo smaltimento dei piccoli detriti galleggianti (comprese le microplastiche), ma anche olii, carburanti e detersivi che insistono sul pelo libero della superficie marina. A tal fine si sono sperimentate soluzioni tecniche, ecologiche e innovative collocate nei pressi dei moli e delle banchine all'interno dello specchio acqueo della Vecchia Darsena nel porto turistico di Savona. Sono state realizzate campagne di analisi della qualità delle acque portuali al fine di verificare la bontà degli interventi adottati. Inoltre, al fine di rendere più completo ed integrato il progetto di gestione dei reflui e dei rifiuti portuali, è stata eseguita un'attività di pulizia straordinaria della rete delle acque bianche che insiste nell'area periportuale e sono state applicate in corrispondenza delle caditoie esistenti delle targhe con messaggi sensibili "Non gettare niente, il mare inizia da qui" che disincentivano comportamenti non rispettosi dell'ambiente. L'action pilote de la municipalité de Savona vise l'élimination des petits débris flottants (y compris des microplastiques), mais aussi des huiles, des carburants et des détergents qui insistent sur la surface libre de la surface de la mer. À cette fin, nous avons expérimenté des solutions techniques, écologiques et innovantes placées près des jetées et des quais dans le plan d'eau de la Vecchia Darsena dans le port

	touristique de Savone. Des campagnes d'analyse de la qualité de l'eau portuaire ont été également planifiées afin de vérifier l'efficacité des interventions adoptées. En outre, afin de rendre le projet de gestion des eaux usées et des déchets du port plus complet et intégré, la Commune de Savone a procédé à une intervention de nettoyage exceptionnel par jet d'eau des égouts pluviaux et des grilles sous chaussée du réseau communal d'évacuation des eaux de ruissellement et des plaques portant des messages sensibles "Ne rien jetez, la mer commence ici" ont été apposées au niveau des égouts pluviaux existants décourageant les comportements non respectueux de l'environnement.
Coût de l'opération Costo dell'azione	€ 44.295,00 oltre IVA di legge/TVA



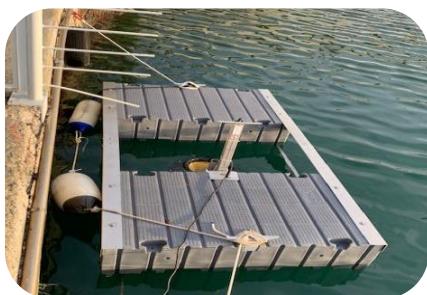
Consegna dei seabin presso la Vecchia Darsena di Savona



Particolare installazione seabin



Seabin installato alla base del ponte Sandro Pertini (lato Torretta)



Seabin installato alla base del ponte Sandro Pertini (lato Via Baglietto)



Seabin in azione



Vista della Vecchia Darsena di Savona



Detriti galleggianti raccolti da un seabin



Particolare del cestino prima di essere svuotato



Targa "NON GETTARE NIENTE, IL MARE INIZIA DA QUI!"