



Rosanna Messina

Da: finanziamenti.ricerca@pec.iss.it
Inviato: venerdì 4 agosto 2017 10:16
A: ufficio.protocollo@cert.szn.it
Oggetto: "Progetto ABBACO" Restauro ambientale e balneabilità del sito d'interesse nazionale
Bagnoli-Coroglio
Allegati: Convenzione Bagnoli ISS-SZN con allegato.pdf.p7m

Si restituisce, allegato alla presente, un originale dell'accordo di collaborazione relativo all' oggetto, firmato dal legale rappresentante di questo Istituto.

ISTITUTO SUPERIORE DI SANITA'
Ufficio Progetti e Convenzioni

Data: 04 agosto 2017, 10:15:31
Da: finanziamenti.ricerca@pec.iss.it <posta-certificata@postacert.it.net>
A: ufficio.protocollo@cert.szn.it
Tipo: PEC
Oggetto: POSTA CERTIFICATA: "Progetto ABBACO"Restauro ambientale e balneabilità del sito d'interesse nazionale Bagnoli-Coroglio
Allegati: postacert.eml (189.6 KB) **Messaggio di posta elettronica**
dati-cert.xml (974 B)
smime.p7s (5.0 KB)

Messaggio di posta certificata

Il giorno 04/08/2017 alle ore 10:15:31 (+0200) il messaggio
"Progetto ABBACO"Restauro ambientale e balneabilità del sito d'interesse nazionale Bagnoli-Coroglio" è
stato inviato da "finanziamenti.ricerca@pec.iss.it"
indirizzato a:

ufficio.protocollo@cert.szn.it

Il messaggio originale è incluso in allegato.

Identificativo messaggio: 5AE9705C.000615CD.AC505145.97B8F2B6.posta-certificata@postacert.it.net

| | |
|-------------------------------------------|---------------|
| Messaggio di posta elettronica allegato : | postacert.eml |
|-------------------------------------------|---------------|

Data: 04 agosto 2017, 10:15:31
Da: finanziamenti.ricerca@pec.iss.it <finanziamenti.ricerca@pec.iss.it>
A: ufficio.protocollo@cert.szn.it
Tipo: Messaggio originale
Oggetto: "Progetto ABBACO"Restauro ambientale e balneabilità del sito d'interesse nazionale Bagnoli-Coroglio
Allegato: Convenzione Bagnoli ISS-SZN con allegato.pdf.p7m (188.0 KB)

Si restituisce, allegato alla presente, un originale dell'accordo di collaborazione relativo all' oggetto, firmato dal legale rappresentante di questo Istituto.

ISTITUTO SUPERIORE DI SANITA'
Ufficio Progetti e Convenzioni

ACCORDO DI COLLABORAZIONE SCIENTIFICA

TRA

La Stazione Zoologica Anton Dohrn (d'ora in avanti SZN), con sede in Napoli, 80121, alla Villa Comunale, Codice Fiscale e Partita IVA 04894530635, rappresentata ai fini del presente atto dal Presidente Prof. Roberto Danovaro, nato a Genova il 22/02/1966 e domiciliato per la sua carica presso la SZN

E

L'Istituto Superiore di Sanità (d'ora innanzi denominato ISS), con sede in Roma, Viale Regina Elena 299, cap. 00161 -, C.F.:80211730587, P.I. 03657731000, legalmente rappresentato dal Presidente, Prof. Gualtiero Ricciardi

PREMESSO CHE

La SZN:

- è stata incaricata dal Ministero dell'Istruzione, dell'Università e della Ricerca di effettuare la ricerca dal titolo: Sperimentazioni Pilota Finalizzata al "Restauro Ambientale e Balneabilità del SIN Bagnoli-Coroglio" (acronimo ABBACO);
- è stata finanziata con delibera CIPE n. 71/2016 (GU Serie Generale n.56 del 8.3.2017) per queste attività con un Fondo integrativo speciale per la ricerca (FISR) approvato dal CIPE nell'ambito della delibera n. 8/2015, di approvazione del Accordo di Partenariato 2014/2020;
- con il proprio intervento di ricerca si rivolge ai seguenti obiettivi tematici dell'accordo di Partenariato 2014/2020: OT1. Rafforzare la ricerca, lo sviluppo tecnologico e l'innovazione; OT5. Promuovere l'adattamento al cambiamento climatico, la prevenzione e la gestione dei rischi; OT6. Tutelare l'ambiente e promuovere l'uso efficiente delle risorse;
- ha come missione la ricerca biologica, con specifico riferimento agli organismi marini e alla loro biodiversità, in stretto legame con lo studio degli ecosistemi marini, attraverso un approccio integrato e interdisciplinare;
- svolge ricerche nel campo delle scienze del mare attraverso collaborazioni con istituzioni di ricerca e con imprese ai fini dello sviluppo delle conoscenze e della loro applicazione alla tutela dell'ambiente e al miglioramento della qualità della vita;

Visto Che

- l'ISS - ai sensi dell'art. 1 del DM 24 ottobre 2014 - è organo tecnico scientifico del Servizio Sanitario nazionale e persegue la tutela della salute pubblica, in particolare attraverso lo

svolgimento di funzioni di ricerca, controllo, consulenza regolazione e formazione applicate alla salute pubblica;

- l'ISS, ai sensi dell'art. 2 co. 3 del predetto DM 24 ottobre 2014, per l'espletamento delle proprie funzioni e di ogni attività connessa può stipulare convezioni, accordi e contratti con soggetti pubblici o privati, nazionali e internazionali;
- nell'ambito delle attività del Centro di Riferimento per le Scienze comportamentali e la Salute mentale, l'ISS è impegnato nello sviluppo di ricerche nel campo degli effetti sul sistema nervoso di agenti biologici e chimici presenti nell'ambiente, con particolare riguardo allo studio di effetti sottili di inquinanti ambientali su aspetti neuro- ed ecotossicologici;
- la SZN, disciplinata e dichiarata persona giuridica di diritto pubblico dalla legge 20 novembre 1982 n. 886, è Ente nazionale di ricerca a carattere non strumentale ai sensi del decreto del Presidente della Repubblica 5 agosto 1991, sottoposta alle competenze del Ministero dell'Istruzione, dell'Università e della Ricerca attribuitegli dal decreto legislativo 31 dicembre 2009 n. 213;
- ha come missione "la ricerca sui processi fondamentali della biologia, con specifico riferimento agli organismi marini e alla loro biodiversità, in stretto legame con lo studio della loro evoluzione e della dinamica degli ecosistemi marini, attraverso un approccio integrato e interdisciplinare. Lo studio delle applicazioni biotecnologiche conseguenti è parte della missione dell'Ente";
- svolge ricerche nel campo delle scienze del mare e biomediche attraverso collaborazioni con istituzioni di ricerca e con imprese ai fini dello sviluppo delle conoscenze e della loro applicazione alla tutela dell'ambiente e al miglioramento della qualità della vita;
- collabora con le Regioni e le amministrazioni locali, al fine di promuovere, attraverso iniziative di ricerca congiunte, lo sviluppo delle specifiche realtà produttive del territorio, svolgendo, su richiesta, attività di consulenza e valutazione tecnico-scientifica sulle materie di propria competenza a favore del Ministero dell'Istruzione, dell'Università e della Ricerca, delle altre pubbliche amministrazioni, delle imprese o di altri soggetti privati;

CONSIDERATO ALTRESI'

Che è stato sottoscritto un Accordo Quadro che definisce eventuali collaborazioni tra Istituto Superiore di Sanità e Stazione Zoologica Anton Dohrn.

La precedente collaborazione scientifica svolta nell'ambito degli accordi sottoscritti a partire dal 2012 tra Stazione Zoologica Anton Dohrn e ISS per lo svolgimento di attività di ricerca basate sull'utilizzo di organismi o ecosistemi marini che abbiano implicazioni di tipo biomedico di interesse congiunto tra le parti" (ultimo fascicolo di riferimento K96; DRE 14/07/2016 0000343).

Entrambe le strutture si prefiggono di integrare le proprie conoscenze al fine di mettere in atto sperimentazioni a carattere multidisciplinare mirate a comprendere gli effetti eco-eto-tossicologici delle fonti di impatto che caratterizzano il sito di Bagnolo Coroglio finalizzate alla realizzazione di esperimenti pilota per la valutazione del potenziale rischio neurotossicologico e per la definizione e validazione di appropriate contromisure.

Pertanto, l'ISS e la SZN, di seguito definiti le "Parti", sottoscrivono la presente Convenzione, al fine di dare seguito ad una collaborazione nell'ambito del progetto "Restauro Ambientale e Balneabilità del SIN Bagnoli-Coroglio, ABBaCo".

SI CONVIENE E SI STIPULA QUANTO SEGUE:

ART. 1

(Premesse)

Le premesse costituiscono parte integrante e sostanziale del presente atto e si intendono integralmente trascritte nel presente articolo.

ART. 2

(Oggetto)

La presente convenzione è finalizzata alla collaborazione tra l'ISS e la SZN in merito alle attività sperimentali previste nell'ambito del progetto "ABBACO", con particolare riguardo

- i) alla revisione sistematica/meta-analisi della letteratura per l'identificazione di specie animali sentinella in loco e relativa caratterizzazione della risposta comportamentale quale modello animale di riferimento *in situ* per valutare l'effetto di sostanze emergenti individuate nelle diverse matrici ambientali sui sistemi biologici;
- ii) alla messa a punto di modelli animali di riferimento, anche mediante l'utilizzo di una catena alimentare semplificata *ex-situ*, per lo studio dei possibili effetti sul sistema nervoso e il comportamento dell'esposizione alle sostanze emergenti individuate nei sedimenti dell'area di studio e dei principali inquinanti ambientali.

ART. 3

(Attività di ricerca)

Le attività previste dal progetto saranno svolte presso le sedi dell'ISS, della SZN e nell'area di studio in affiancamento ai ricercatori impegnati nello svolgimento del progetto di ricerca.

Ciascuna delle Parti provvederà alla copertura assicurativa del proprio personale chiamato a frequentare, in attuazione del presente accordo, la sede dell'altra Parte.

ART. 4

(Compiti delle Parti)

Al fine di assicurare il corretto svolgimento delle attività del progetto, l'ISS si impegna a:

- coordinare e svolgere le attività previste. In particolare, l'ISS metterà a punto e svolgerà gli studi in situ su indicatori biologici degli effetti dell'impatto di inquinanti da attività antropiche e realizzerà un modello ecosistemico "ex-situ" semplificato che possa essere utile per lo studio di contaminanti ambientali *in vivo* su modelli animali vertebrati di riferimento con particolare riguardo alla valutazione di effetti neurocomportamentali;
- eseguire, la selezione dei sedimenti, la correlazione tra i risultati ottenuti nel sistema sperimentale con i dati ottenuti nell'ambito delle altre attività inerenti il progetto per una valutazione congiunta e una congiunta pianificazione delle ulteriori attività sperimentali.

Da parte sua, la SZN s'impegna a fornire supporto tecnico-scientifico.

ART. 5

(Prodotti delle attività di Ricerca)

Costituiscono prodotto delle attività di ricerca della presente convenzione i seguenti:

- report sulla revisione sistematica/meta-analisi della letteratura per l'identificazione di specie animali sentinella in loco e relativa caratterizzazione della risposta comportamentale quale modello animale di riferimento in situ per valutare l'effetto di sostanze emergenti individuate nelle diverse matrici ambientali sui sistemi biologici; (responsabile ISS)
- report sulla messa a punto di modelli animali di riferimento, anche mediante l'utilizzo di una catena alimentare semplificata ex-situ, per lo studio dei possibili effetti sul sistema nervoso e il comportamento dell'esposizione alle sostanze emergenti individuate nei sedimenti dell'area di studio e dei principali inquinanti ambientali.

ART. 6

(Durata e decorrenza della Convenzione)

La presente Convenzione ha la durata di 32 mesi ed entra in vigore dal giorno successivo alla stipula del presente atto. La tempistica di consegna degli elaborati/report è definita nell'Allegato tecnico, che costituisce parte integrante della presente convenzione.

Eventuali proroghe possono essere convenute dalle parti sulla base di specifiche esigenze o problemi scaturiti durante lo svolgimento del progetto di ricerca.

ART. 7

(Costi associati alla presente ricerca)

Nell'ambito dello svolgimento del presente Progetto, la SZN si impegna a corrispondere all'ISS un contributo pari ad € 80.000 (ottantamila/00), per la realizzazione delle attività scientifiche di competenza dell'ISS.

Tale somma, essendo un contributo di ricerca, è da considerarsi al di fuori del campo di applicazione dell'IVA.

ART. 8

(Modalità di erogazione)

La SZN corrisponderà all'ISS la somma di € 80.000,00 per contribuire alle spese sostenute per le attività oggetto della presente Convenzione. Tale somma è da considerarsi onnicomprensiva per lo svolgimento di tutte le attività necessarie alla realizzazione del programma di ricerca oggetto del presente accordo, ivi compreso l'acquisto di beni, servizi e materiali di consumo, missioni, spese generali, borse di studio o assegni di ricerca al personale esterno chiamato a collaborare ed i relativi oneri assistenziali e previdenziali.

L'importo verrà corrisposto in 3 rate di pari importo: la prima sarà corrisposta entro 30 gg. dalla stipula della presente convenzione, la seconda sarà corrisposta entro 30 gg dalla presentazione della relazione tecnico-scientifica intermedia (mese 16) e la terza a presentazione del report al termine della presente convenzione.

Il suddetto trasferimento sarà erogato da SZN a mezzo mandato di pagamento, via sistema di Tesoreria Unica e quindi in forma tracciabile, all'ISS, previa richiesta, con correlata emissione di nota d'incasso intestata a SZN.

Il trasferimento suddetto, avendo natura contributiva è da intendersi fuori dal campo di applicazione dell'Imposta sul Valore Aggiunto (IVA), ai sensi dell'art. 4 del D.P.R. 26/1/72 n. 633.

La somma sarà accreditata sul Conto di Tesoreria Unica n.22349, intestato all'ISS, presso Banca d'Italia –Tesoreria centrale dello Stato - IBAN:IT65U0100003245350200022349,

ART. 9

(Nomina dei Responsabili di Convenzione)

Si indicano, quali propri responsabili della collaborazione, la Dott.ssa Daniela Santucci quale responsabile scientifico per l'ISS, e i Dr. Vincenzo Saggiomo per gli aspetti gestionali ed amministrativi e Luigi Musco per gli aspetti operativi di project management per la SZN. L'eventuale sostituzione dei responsabili della collaborazione di una delle parti dovrà essere comunicata all'altra parte.

ART. 10

(Obblighi delle Parti)

Le Parti si impegnano al rispetto del cronoprogramma ed allo svolgimento di tutte le analisi come da Allegato tecnico che è parte integrante della presente convenzione.

Le Parti si danno reciproca assicurazione che, nello svolgimento delle attività oggetto della presente Convenzione, saranno rispettate le normative vigenti in materia di salute, sicurezza sul lavoro e ambiente, nonché le disposizioni previdenziali ed assistenziali obbligatorie, per il proprio personale impiegato.

Le Parti si danno reciproca assicurazione che utilizzeranno le migliori competenze, tecnologie e metodologie per svolgere al meglio le ricerche oggetto della presente convenzione e opereranno al meglio delle loro possibilità per rispettare i tempi previsti per le attività di campo, la consegna dei risultati e delle relative relazioni tecnico-scientifiche.

ART. 11

(Trattamento dei dati)

Le Parti si impegnano a trattare i dati personali, eventualmente acquisiti durante lo svolgimento delle attività dedotte nella presente Convenzione, unicamente per le finalità ad essa connesse, nell'osservanza delle norme e dei principi fissati nel D.lgs. n. 196/2003 e s.m.i.

ART. 12

(Risoluzione della Convenzione)

La Convenzione potrà essere risolta con effetto immediato per mutuo accordo delle Parti risultante da atto scritto.

La presente Convenzione potrà essere risolta a richiesta di ciascuna Parte per inadempienza della controparte.

ART. 13

(Recesso)

Le Parti possono recedere dalla presente Convenzione mediante comunicazione scritta da notificare con preavviso di almeno 30 giorni mediante PEC.

In tal caso la SZN riconoscerà a ISS solo le spese sostenute e documentabili fino a quel momento per le attività strettamente inerenti il progetto oggetto della convenzione e comunque in misura non superiore a quanto previsto complessivamente dalla presente convenzione.

ART. 14

(Variazione attività previste)

Ogni variazione relativa alle tempistiche o alle metodologie utilizzate per lo svolgimento delle presenti attività che possa influire sullo svolgimento del progetto ABBaCo deve essere prontamente comunicata via PEC all'indirizzo istituzionale della SZN ufficio.protocollo@cert.szn.it.

Qualora lo si ritenga indispensabile, le Parti possono prevedere eventuali ipotesi di modifica in corso d'opera delle attività previste con uno specifico atto aggiuntivo di variazione da stipulare di comune accordo.

ART. 15

(Proprietà dei risultati della ricerca e Pubblicazioni)

I risultati delle attività di ricerca congiunta saranno di proprietà sia della SZN sia dell'ISS, i quali potranno utilizzarli, anche disgiuntamente, nell'ambito e coerentemente con i reciproci fini istituzionali. Allorché i risultati fossero oggetto di pubblicazione è fatto obbligo ad entrambi i soggetti di citare i ricercatori coinvolti nell'effettivo svolgimento della ricerca come co-autori.

l'ISS e la SZN si impegnano reciprocamente a non portare a conoscenza di soggetti terzi ogni notizia di carattere riservato riguardante le reciproche organizzazioni e delle quali siano venute a conoscenza in forza della presente collaborazione. In caso di risultati congiunti brevettabili, questi saranno di proprietà comune, fatto salvo il diritto degli inventori ai sensi delle vigenti leggi e nel rispetto dell'effettivo apporto inventivo: appositi accordi disciplineranno gli aspetti inerenti la titolarità e i relativi diritti patrimoniali. Nell'ipotesi in cui lo svolgimento congiunto di ricerche di comune interesse porti a risultati suscettibili di protezione ai sensi delle leggi sulla Proprietà Industriale/Intellettuale, il regime dei risultati sarà quello della comproprietà in pari quota, salvo si possa stabilire una diversa ripartizione della titolarità

La SZN in quanto coordinatore del progetto ABBaCo è titolata a presentare i risultati di questa ricerca nelle sedi istituzionali che lo richiedessero.

ART. 16

(Codice di comportamento dei pubblici dipendenti)

Le Parti, in parola come sopra, dichiarano di essere edotte in merito agli obblighi afferenti i doveri minimi di diligenza, lealtà, imparzialità e buona condotta che i propri dipendenti sono tenuti ad osservare nel rispetto del decreto del Presidente della Repubblica aprile 2013, n. 62 (Regolamento recante codice di comportamento dei dipendenti pubblici, a norma dell'articolo 54 del decreto legislativo 30 marzo 2001, n. 165) e che il presente atto sarà risolto di diritto nel caso di violazione degli obblighi di cui al citato decreto legislativo.

ART.17

(Utilizzo dei segni distintivi delle parti)

Il presente accordo non conferisce alle parti alcun diritto di usare per scopi pubblicitari, o per qualsiasi altra attività promozionale, alcun nome, marchio, o altra designazione dell'altra parte (incluse abbreviazioni).

ART. 18

(Spese ed oneri fiscali)

La Convenzione potrà essere registrata in caso d'uso ai sensi di legge, con oneri a carico del richiedente.

Il presente atto è firmato digitalmente, in unico originale, ex art. 24, commi 1 e 2 del Codice dell'amministrazione digitale – Decreto legislativo 7 marzo 2005, n. 82.

ART. 19

(Domicilio)

Ai fini e per tutti gli effetti della presente Convenzione, le Parti eleggono il proprio domicilio:

- Stazione Zoologica Anton Dohrn, in Villa Comunale, 80121 Napoli;
- L'Istituto Superiore di Sanità, in Viale Regina Elena 299, 00161 Roma

ART. 20

(Norme applicabili)

Per quanto non espressamente disposto nella presente Convenzione, troveranno applicazione le norme del Codice Civile.

ART. 21

(Foro competente)

Per tutte le controversie che dovessero insorgere in merito all'interpretazione e/o esecuzione della presente Convenzione, è esclusivamente competente l'autorità giudiziaria del Foro di Napoli.

| | |
|-----------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|
| <p>Per la SZN Il Presidente Prof . Roberto Danovaro</p> | <p>Per l'ISS Il Presidente Prof. Gualtiero Ricciardi</p> |
|-----------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|

Allegato Tecnico Convenzione di Ricerca tra SZN e ISS

Nell'ambito della convenzione, le attività dell'Istituto Superiore di Sanità riguarderanno la valutazione eco-eto-tossicologica dell'area in esame durante le varie fasi del processo di restauro ambientale. In particolare, mediante un approccio sperimentale combinato di tipo comportamentale e neurobiochimico, si intende valutare l'impatto dell'azione antropica pregressa, in itinere ed ex post bonifica sulla bio-ecologia di specie selezionate della fauna marina presente nell'area, con particolare riguardo a possibili effetti neurotossici su specie vertebrate (e possibilmente invertebrate) di interesse commerciale.

La diffusione di inquinanti ambientali e i potenziali effetti neurotossicologici associati verranno valutati *in situ* ed *ex situ* mediante l'analisi su diversi livelli di organizzazione biologica quali il comportamento e biomarker relativi a sistemi neurotrasmettitoriali in animali esposti a sedimenti (e a nutrienti presenti nel sedimento) prelevati dal SIN di Bagnoli.

Le osservazioni comportamentali e le valutazioni neurobiochimiche verranno condotte in laboratorio su stock di esemplari di spigola (*Dicentrarchus labrax*) e orata (*Sparus aurata*) allevati in cattività sin dalla nascita o catturati in natura e, possibilmente, su molluschi bivalvi allevati e selvatici. Ove possibile, alcune indagini verranno condotte *in situ* nell'ambiente naturale del SIN di Bagnoli. Lo studio sarà finalizzato a individuare, caratterizzare e validare specifici indici comportamentali quali parametri indicatori della presenza di inquinanti ambientali e dello stato di salute del pesce e, quindi, sulla qualità e sicurezza del prodotto ittico al consumatore in linea con le evidenze sperimentali che suggeriscono un legame tra sicurezza del prodotto alimentare e benessere dell'animale.

La presenza di agenti xenobiotici, infatti, assieme alle variazioni di temperatura, sono fattori causali di elevato stress per le popolazioni animali. A causa delle loro particolari caratteristiche anatomico-funzionali, i pesci risultano particolarmente vulnerabili alla presenza di contaminanti nell'ambiente acquatico e numerose sono le indicazioni sugli effetti neurotossici di diversi xenobiotici in tali specie, che ne manifestano gli effetti in misura spesso superiore rispetto agli organismi che occupano una posizione più elevata nella catena alimentare.

Una serie di risposte adattative di natura fisiologica/comportamentale si sono evolute per far fronte ai fattori di stress e l'osservazione negli animali di cambiamenti nella funzionalità di alcuni sistemi neurotrasmettitoriali, alterazioni comportamentali, ma anche modifiche morfologiche, possono essere utilizzati come marcatori biologici per il rilevamento della presenza di inquinanti ambientali.

Attraverso i risultati di questo studio sarà possibile anche valutare l'uso delle specie ittiche prese in esame come "specie sentinella" (Alleva et al., 2006). L'uso di animali come indicatori dello stato di salute ambientale, rappresenta un efficace metodo per individuare potenziali rischi prima che le effettive conseguenze della degradazione degli habitat siano manifeste (Alleva et al., 2004). Pertanto, eventuali danni o alterazioni comportamentali riscontrati sui soggetti ittici mantenuti in condizioni sperimentali controllate, possono fornire delle prime indicazioni sugli effetti biologici e sui danni potenzialmente riscontrabili nelle popolazioni umane che coabitano nei medesimi ecosistemi.

Descrizione e tempistica delle attività

1) Meta-analisi della letteratura (aprile-luglio 2017)

Si procederà:

i) a una revisione sistematica della letteratura per l'identificazione di specie animali commestibili presenti in loco e sui dati disponibili in merito alla caratterizzazione della risposta comportamentale di spigola (*Dicentrarchus labrax*) e orata (*Sparus aurata*) quali modello animale di riferimento per valutare l'effetto di sostanze emergenti individuate nelle diverse matrici ambientali dell'area SIN di Bagnoli sui sistemi biologici;

ii) alla disamina delle specie invertebrate (anellidi, echinodermi, molluschi, crostacei) presenti nel sedimento note per le loro capacità di bioaccumulo di sostanze inquinanti ma che allo stesso tempo abbiano caratteristiche di appetibilità per le specie oggetto di studio.

2) Prelievo del sedimento e di organismi bentonici e nectonici (da ottobre 2017 e per tutta la durata del progetto, in accordo con le disponibilità degli altri gruppi di lavoro)

Il prelievo del sedimento verrà effettuato secondo modalità e tempistiche dei gruppi di lavoro dedicati. Il prelievo degli organismi bentonici e nectonici verrà effettuato attraverso cale di pesca, nel sito SIN di Bagnoli e in una area definita quale area di controllo. In tutte le aree saranno prelevati esemplari delle stesse specie di organismi marini precedentemente definite in base alla letteratura scientifica e su cui siano disponibili dati provenienti da altre unità operative in merito al tipo e alla concentrazione di inquinanti ambientali.

3) Analisi comportamentali (settembre 2017- maggio 2019)

Le competenze del gruppo diretto dal Prof. Enrico Alleva (Centro per le Scienze comportamentali e la salute mentale dell'Istituto Superiore di Sanità) permetteranno lo svolgimento delle osservazioni e analisi comportamentali mediante registrazione e utilizzo di software dedicati (Observer 3.0, Ethovision, Anymaze), al fine di confrontare le modalità di espressione del comportamento su stock di esemplari di spigola (*Dicentrarchus labrax*) e orata (*Sparus aurata*) allevati in cattività fin dalla nascita o catturati in natura ed esposti a sedimento e nutrienti prelevati da una o più aree selezionate nella zona SIN di Bagnoli oggetto di bonifica e da una area di controllo (da definire in accordo con gli altri gruppi di lavoro afferenti al progetto).

Stabulazione e prove sperimentali saranno condotte in acquari equipaggiati con idonei sistemi di filtrazione/areazione. Gli animali verranno mantenuti in acclimatazione in acquari a temperature (comprese tra i 17 e 24°C, comparabili con le temperature dell'area di studio) con un naturale ciclo luce/buio per un periodo di almeno un mese. Salinità, PH, fotoperiodo, quantità e qualità del cibo somministrato saranno controllati e mantenuti costanti.

Preparazione del mangime

Sarà elaborato un mangime "formato pellet" contenente il 10% di farina di pesce proveniente

da pellet commerciale comunemente utilizzato nelle procedure di allevamento e al quale gli esemplari in studio sono abituati al fine di renderlo appetibile e il restante 90% costituito da farina di pesce estratte dagli individui bentonici e nectonici prelevati nel sito SIN di Bagnoli o in quello di controllo. I dati verranno opportunamente normalizzati anche in funzione del peso dei pesci trattati.

I gruppi sperimentali saranno, pertanto, rappresentati da animali di controllo (esposti a sedimento e/o pellet con farine di pesce estratti da individui provenienti dall'area di controllo) e individui trattati (sedimento e/o pellet con farine di pesce estratti da individui provenienti dall'area SIN di Bagnoli).

Test comportamentali (*messa a punto: settembre 2017-gennaio 2018; esecuzione esperimenti, analisi ed elaborazione dati: gennaio 2018-ottobre 2019*)

Una serie di prove sperimentali saranno effettuate per testare gli effetti dell'esposizione a sedimento e nutrimento dell'ambiente oggetto di studio sull'attività di nuoto, comportamento sociale e alimentare all'interno dei gruppi di trattamento. L'attività locomotoria complessiva verrà valutata attraverso misurazione del percorso effettuato, del numero di svolte esibite e del volume della singola battuta mediante l'utilizzo di software dedicato (Observer, ethovision e anymaze). L'attività di nuoto infatti è uno dei parametri comportamentali che maggiormente viene modificato in seguito all'esposizione ad un stress.

Verranno inoltre condotte osservazioni del comportamento anti-predatorio e confrontati i livelli di aggregazione del gruppo. Il comportamento alimentare verrà valutato osservando il grado di competizione. Il disegno sperimentale sarà messo a punto prevedendo repliche tanto per i controlli che per i trattati. Tutte le prove sperimentali saranno videoregistrate e i filmati analizzati mediante l'uso di software specifici per l'analisi comportamentale. Le variabili e gli indici comportamentali verranno confrontati fra controlli e trattati mediante opportuni test statistici parametrici e non-parametrici.

In particolare, una batteria completa di test comportamentali verranno effettuati e/o messi a punto per tutta la durata del progetto:

Test di foraggiamento. Lo scopo del test è quello di verificare un'eventuale influenza dell'esposizione a inquinanti sul comportamento alimentare delle spigole. Il test di foraggiamento dura trenta minuti e si effettua rilasciando del pellet *ad libitum* da un apposito distributore di mangime posizionato a una estremità della vasca sperimentale. Oltre alla registrazione della quantità di cibo assunta verranno valutati parametri comportamentali quali:

first biting, tempo trascorso (latenza) tra il rilascio delle prede in vasca e l'attuazione della prima predazione da parte del soggetto sperimentale;

feeding, definito come il catturare e/o mangiare la preda in seguito a movimenti rapidi e con frequenti cambi di direzione;

fast swimming, movimenti rapidi e con frequenti cambiamenti di direzione (definiti *darting movements*);

fin raising, innalzamenti e abbassamenti rapidi e ripetuti delle pinne dorsali. Tali comportamenti sono indicatori dell'interesse degli animali verso la preda, mostrabile sia attraverso un semplice stato di eccitazione (visibile dai movimenti della pinna dorsale e dal nuoto veloce) sia attraverso la predazione vera e propria.

Un ulteriore test di **preferenza alimentare** sarà mirato a valutare mediante scelta in un Y-maze le preferenze tra i due tipi di pellet in soggetti esposti preventivamente alle due diete.

Il test avversivo, model predator test. Lo scopo di questa prova era quello di riprodurre il movimento e/o la vibrazione dell'acqua in seguito all'entrata in acqua di un elemento potenzialmente pericoloso, tipo una rete da pesca o un predatore aereo. Il comportamento dei pesci viene registrato per un minimo di 10 e un massimo di 30 minuti dopo l'esecuzione dello stimolo avverso verrà stimolato mediante l'esposizione degli animali a stimolo visivo/meccanico di un predatore specie-specifico. Le videoregistrazioni avranno la durata di un'ora. I dati verranno raccolti sia tramite osservazione diretta sia mediante videoregistrazione. In particolare, verrà preso in considerazione il comportamento di fuga dal predatore nelle sue componenti 'locomotorie' e 'non locomotorie'. Le componenti 'locomotorie' includeranno la misurazione di parametri quali: il *turning rate*, la cinematica e la distanza percorsa. Le componenti 'non locomotorie' saranno rappresentate dal numero di animali che esibiscono il comportamento di fuga (*responsiveness*), la latenza alla risposta, la distanza tra lo stimolo visivo/meccanico e l'animale al momento di inizio della sessione (distanza di reazione) e la direzionalità del comportamento di fuga.

Il comportamento sociale verrà studiato nelle diverse vasche sperimentali attraverso il confronto di animali di dimensioni comparabili (per evitare l'effetto '*size hierarchy*'). Inoltre, aspetti quali densità della popolazione e distribuzione del cibo, verranno mantenuti paragonabili. Il comportamento aggressivo sarà sollecitato mediante riduzione della disponibilità di cibo. Inoltre, sarà garantito l'accesso alla risorsa cibo in risposta all'esibizione del comportamento aggressivo. Le sessioni sperimentali avverranno una volta al giorno lungo un periodo di due settimane e saranno alternate tra le vasche sperimentali. Ogni sessione avverrà al mattino e avrà la durata di 15 minuti. I dati verranno raccolti sia mediante osservazione diretta sia attraverso videoregistrazione. Per ogni individuo sperimentale saranno registrate frequenza e durata dei comportamenti di attacco (*nipping*) e ritirata (*turning away*), oltre a i tassi di incontro e di mobilità.

Eventualmente, verranno condotte analisi delle **interazioni sociali di tipo affiliativo**: lo studio di tali interazioni prevedrà il trasferimento dell'individuo sperimentale in una vasca, uguale in temperatura e caratteristiche chimico-fisiche a quella di provenienza. Quindi avverrà l'introduzione nell'acquario di una femmina recettiva. La procedura sperimentale prevedrà tre sessioni di un'ora ciascuna svolte in differenti giorni, per un totale di tre ore di videoregistrazione su ogni vasca. Verranno considerate il numero di interazioni affiliative attuate, il numero e le modalità degli approcci sessuali. Si svolgerà la misurazione dei percorsi di spostamento compiuti dagli individui coinvolti nell'interazione (es. distanza tra i diversi punti occupati da due specifici individui).

Infine, si intende mettere a punto un test per valutare specifiche **abilità locomotorie**, in particolare nella spigola, misurandone le capacità di nuoto in un contesto in cui l'animale è messo in condizione di nuotare all'indietro. Alcune recenti osservazioni in laboratorio, infatti, hanno evidenziato tali profili locomotori ancora non comunemente descritti in letteratura. Alterazioni in tali profili potrebbero rappresentare indicatori sottili di alterazioni nel funzionamento del sistema nervoso centrale.

Possibili effetti sinergici con cambiamenti climatici

Infine, per studiare possibili effetti sinergici con la temperatura si valuterà l'opportunità nell'ambito degli studi su spigole e orate di aggiungere alcuni gruppi di trattamento dove, in combinazione con la somministrazione di materiale biologico proveniente dalle aree in esame del SIN di Bagnoli, si modulerà, innalzandola, la temperatura delle vasche.

4) Analisi neurobiochimiche (gennaio 2018-ottobre 2019)

Un campione selezionato di animali utilizzati in ogni esperimento verrà poi sottoposto a ulteriori studi neurochimici al fine di valutare variazioni che possano essere correlate alle modifiche comportamentali. Particolare riguardo sarà dato alla valutazione a biomarcatori dello stato di stress quali i livelli di cortisolo presenti nel plasma; di alcuni enzimi quali l'acetilcolina e/o neuropeptidi (fattori neurotrofici) noti per essere sensibili all' insulto tossico e che svolgono un ruolo importante nella modulazione dei nei meccanismi di risposta a contesti di stress. Tali valutazioni verranno effettuate mediante classiche procedure di misura radioenzimatiche o radioimmunoenzimatiche, Elisa quantitativi o semiquantitativi.

5) Osservazioni *in situ* (ottobre 2017 -fine progetto)

Le operazioni di campo svolte nell'area SIN di Bagnoli intendono confrontare, previa identificazione di siti specifici in cui disporre sistemi di osservazione ad hoc, struttura e dinamica di popolazione in funzione delle varie fasi del processo di bonifica e ove possibile fornire campioni di differenti stadi ontogenetici e prelevati in diverse stazioni di campionamento e fasi stagionali per tutti i test e le indagini di laboratorio prima descritti al fine di valutare le differenze fra stock allevato e selvatico, e fra modello di laboratorio e condizione di riferimento naturale.

6) Possibili sviluppi progetto (settembre 2017-fine progetto)

Nell'ambito dello svolgimento del progetto si valuterà inoltre la possibilità di mettere a punto e validare:

i) un sistema economico e praticabile di osservazione comportamentale di animali invertebrati, con particolare riferimento a mitili (anche di interesse commerciale, i.e. *Mytilus edulis*, e presenti in abbondanza nell'area in esame) per definire, analogamente a quanto fatto per le specie vertebrate, alcuni *marker* comportamentali indicatori di inquinamento.

ii) un modello ecosistemico “*ex-situ*” semplificato che preveda l'impiego di roditori quali specie apicale della catena alimentare, alimentati con molluschi prelevati dalle aree SIN di Bagnoli

e da aree di controllo, che possa essere utilmente utilizzato per lo studio dei fenomeni di bioaccumolo e biomagnificazione di composti inquinanti e per la valutazione dei possibili effetti neurocomportamentali in modelli animali di riferimento che abbiano un maggiore valore traslazionale per la salute umana. Tali metodi di analisi, naturalmente, non riproducono tutta la complessità di ciò che accade in natura, ma forniscono delle indicazioni, a breve/medio termine, sull'impatto dei contaminanti in alcune specie chiave della catena alimentare e dei possibili effetti sulla salute umana. Gli animali alimentati con materiale biologico proveniente dall'area SIN di Bagoli e da quella di controllo, verranno sottoposti a test comportamentali per la valutazione degli effetti di breve, medio e lungo termine con particolare riguardo alla valutazione dei parametri sensori-motori, emozionali, di attività spontanea e del comportamento esplorativo, delle interazioni sociali e delle abilità cognitive quali apprendimento e memoria e all'identificazione di periodi ontogenetici di particolare vulnerabilità agli effetti dell'esposizione a inquinanti ambientali.

7) Analisi, elaborazione e diffusione dei risultati (*giugno 2018-fine progetto*)

I dati verranno presentati nelle opportune sedi congressuali nazionali e internazionali e pubblicati sulle riviste scientifiche di riferimento del settore. Un report sulla revisione sistematica/meta-analisi della letteratura per l'identificazione di specie animali sentinella e relativa caratterizzazione della risposta comportamentale quale modello animale di riferimento per valutare l'effetto di sostanze emergenti individuate nelle diverse matrici ambientali sui sistemi biologici verrà prodotta entro **giugno 2018**; un report sulla messa a punto di modelli animali di riferimento, anche mediante l'utilizzo di una catena alimentare semplificata ex-situ, per lo studio dei possibili effetti sul sistema nervoso e il comportamento dell'esposizione alle sostanze emergenti individuate nei sedimenti dell'area di studio e dei principali inquinanti ambientali verrà prodotto alla fine del progetto (**novembre-dicembre 2019**).



DiKe - Digital Key
(Software per la firma digitale di documenti)

Esito Verifica Firma

21 agosto 2017

File : C:/Users/RosannaMessina/dikeTmpdir/Convenzione Bagnoli ISS-SZN con allegato.pdf.p7m

Esito Verifica : Firma CADES OK Data di verifica: 21/08/2017 10.15.21 (UTC Time)

Algoritmo Digest : SHA-256

Firmatario : GUALTIERO RICCIARDI

Ente Certificatore : Postecom CA3

Cod. Fiscale : RCCGTR59D17F839R

Ruolo : PRESIDENTE

Stato : IT

Organizzazione : ISTITUTO SUPERIORE SANITA'/03657731000

Unità Organizzativa : Presidenza

Cod. Ident. : 3748681

Certificato Sottoscrizione : SI

Validità Cert dal: : 05/09/2016 07.24.52 (UTC Time)

Validità Cert fino al: : 05/09/2019 07.24.52 (UTC Time)

Certificato Qualificato : Certificato Qualificato conforme alla normativa

Data e Ora Firma : 03/08/2017 10.54.57 (UTC Time)

Esito Verifica : Firma CADES OK Data di verifica: 21/08/2017 10.15.21 (UTC Time)

Algoritmo Digest : SHA-256

Firmatario : Roberto Danovaro

Ente Certificatore : ArubaPEC S.p.A. NG CA 3

Cod. Fiscale : DNVRRT66B22D969X

Ruolo : Presidente

Stato : IT

Organizzazione : Stazione Zoologica Anton Dohrn 04894530635

Cod. Ident. : 16469901

Certificato Sottoscrizione : SI

Validità Cert dal: : 20/02/2017 00.00.00 (UTC Time)

Validità Cert fino al: : 20/02/2020 23.59.59 (UTC Time)

Certificato Qualificato : Certificato Qualificato conforme alla normativa

Data e Ora Firma : 04/05/2017 12.16.08 (UTC Time)

