



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI
Dipartimento di Protezione delle Piante
Via Enrico De Nicola, 9 - 07100 Sassari
Tel: 079 229291; Fax: 079 229316

Consorzio 21
Edificio 2 - Polaris
Programma Master and Back
Loc. Piscina Manna - 09010 Pula

Programma di Tirocinio/Stage

Interazioni ospite-patogeno: studi molecolari sulla resistenza di specie ortive ai fitovirus

1 Soggetto proponente

Ragione sociale	Università degli Studi di Sassari, Facoltà di Agraria, Dipartimento di Protezione delle Piante (DPP)
Indirizzo	Via Enrico De Nicola, 9 - 070100 Sassari
Telefono	+39.079.229291
Fax	+39.079.229316
E-mail	sepave@uniss.it
Rappresentante Legale	Prof. Alessandro Maida (Rettore)
Referente per il Programma	Prof. Raimondo Garau Telefono: +39.079.229297, E – mail: garau@uniss.it
Tipologia	Università

Breve presentazione del soggetto proponente operante in Sardegna

Il Dipartimento di Protezione delle Piante dell'Università degli Studi di Sassari comprende le sezioni di Patologia vegetale e di Entomologia agraria. Il Dipartimento è impegnato nella didattica con attività di docenza in differenti corsi di laurea afferenti alla sede madre di Sassari ed alle sedi gemmate di Nuoro e di Oristano e nel corso Interfacoltà di Biotecnologie. L'Istituzione è sede di Dottorato di Ricerca ed è impegnata presso altre sedi nazionali in corsi di alta formazione post-laurea a valenza internazionale. L'attività di ricerca, nelle due sezioni, si è sviluppata in ambiti tematici plurimi interessando i differenti settori della patologia e dell'entomologia in campo agrario e forestale con ampi spazi riservati all'apicoltura ed allo studio del controllo biologico degli ecosistemi.



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI
Dipartimento di Protezione delle Piante
Via Enrico De Nicola, 9 - 07100 Sassari
Tel: 079 229291; Fax: 079 229316

I Ricercatori della sezione di Patologia vegetale hanno maturato competenze più che trentennali nei settori della micologia e della batteriologia fitopatologica di piante ortive, frutticole e forestali, della virologia vegetale di colture mediterranee, nonché nel settore delle biotecnologie applicate alla diagnosi e in quello dei metaboliti tossici di natura micotica presenti in alimenti di origine vegetale. In sintesi, le linee di ricerca riguardano: a) indagini eziologiche ed epidemiologiche, con preminente riferimento alla diagnostica immuno-enzimatica e molecolare, su patogeni di natura fungina, batterica, virale e fitoplasmatica, noti o di nuova segnalazione; b) selezione sanitaria e risanamento, mediante tecniche di micropropagazione e di termoterapia, applicate al materiale di propagazione da vivaio; c) studi di caratterizzazione molecolare di miceti fitoparassiti; d) strategie di controllo fitoiatrico, di tipo tradizionale ed innovativo, e) individuazione e caratterizzazione di molecole bioattive di origine microbica, potenzialmente applicabili nella difesa biologica; f) studi di funghi tossigeni e di micotossine di origine vegetale dannosi per il consumatore; g) selezione di linee di specie fungine eduli valide per la produzione industriale; h) studi sui funghi ectomicorrizici di specie forestali.

Tale attività, documentata da numerose pubblicazioni a carattere sia scientifico sia divulgativo, viene svolta nell'ambito di progetti di ricerca in collaborazione con varie istituzioni anche internazionali e con enti strumentali regionali.

La sezione dispone di laboratori di micologia, batteriologia, virologia, nematologia, microscopia elettronica, biologia molecolare e biochimica, forniti di adeguate attrezzature di base necessarie per l'approfondimento delle varie tematiche in studio. Ad essa afferiscono: 3 professori ordinari, 4 professori associati, 1 ricercatore, 7 assegnisti di ricerca, dottorandi e più unità dell'area tecnica – amministrativa.

Responsabile del progetto di stage è Raimondo Garau, professore di I fascia. Afferisce al SSD AGR/12, è docente di Virologia vegetale e di Virosi e fitoplasmosi delle colture agrarie del corso di Produzione e Protezione delle Colture Agrarie della Facoltà di Agraria, nonché di Patologia viticola presso il corso di Viticoltura ed Enologia di Oristano. E' attualmente responsabile di progetti MIUR, ed interregionali con la partecipazione della Regione Sardegna. Ha competenza specifica nei settori delle affezioni sistemiche dei fruttiferi e delle colture mediterranee in particolare. Ha approfondito studi su malattie di origine virale consolidando conoscenze di tipo generale e particolare delle colture agrarie. Di specifico interesse sono state le ricerche attorno a sindromi virali, pregiudizievoli le produzioni, inerenti le alterazioni del legno della vite note come "complesso del legno riccio" delle quali ha studiato la diffusione, in ambito regionale, l'eziologia, le reattività dell'ospite, l'epidemiologia e le possibilità di risanamento non trascurando i protocolli di diagnosi. Ha acquisito competenze specifiche nelle tecniche di prevenzione delle virosi con studi sul miglioramento qualitativo delle produzioni mediante la selezione del materiale di moltiplicazione con l'applicazione di protocolli selettivi finalizzati alla certificazione del materiale vivaistico. Il prof. Garau è autore di numerose pubblicazioni scientifiche e di comunicazioni a congressi nazionali e internazionali. E' membro dell'International Council for the Study of Viruses and Virus Diseases of the Grapevine.



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

Dipartimento di Protezione delle Piante

Via Enrico De Nicola, 9 - 07100 Sassari

Tel: 079 229291; Fax: 079 229316

2 Soggetto ospitante

Ragione Sociale	University of Warwick, Warwick Horticulture Research International (HRI), Virus – Vegetable Interaction Group
Indirizzo	Wellesbourne, Warwick, Warwickshire, CV35 9EF, United Kingdom
Telefono	+44 (0) 24.7657.4455
Fax	+44 (0) 24.7657.4500
Rappresentante Legale	Prof. Simon Bright, Director and Head of Department Warwick HRI
Referente per il Programma	Dr. John A. Walsh, Research Leader, Virus-Vegetable Interactions Group Telefono: +44 (0) 24.7657.5028 E-mail: john.walsh@warwick.ac.uk
Tipologia	Università

Breve presentazione del soggetto ospitante

Il Dipartimento Warwick HRI, istituito nell'aprile del 2004 dall'unione dell'Horticulture Research International (HRI) con l'Università di Warwick, rappresenta il principale organo di ricerca in campo orticolo del Regno Unito. Il suo capitale annuo è di circa 15 milioni di sterline. Il Dipartimento è un centro riconosciuto e rinomato a livello internazionale; l'attività di ricerca è svolta da un gruppo di ricercatori di valenza internazionale. Presso questa struttura viene data grande importanza alla ricerca di base, che rappresenta il punto di partenza per le successive applicazioni pratiche.

Sotto l'aspetto logistico il Dipartimento risulta presente in due località:

- ✓ Wellesbourne nel Warwickshire, con un'ampiezza di 191 ettari, è fornito di: (a) serre (5000 m²) gestite per via informatica, (b) strutture adibite per la conservazione e la quarantena di materiale vegetale introdotto da altre nazioni, (c) laboratori altamente specializzati nelle attività di diagnosi, di miglioramento varietale e di ricerche genomiche.
- ✓ Kirton nel Lincolnshire, con un'ampiezza di 50 ettari, possiede: moderne strutture atte alla manipolazione dei semi e 4 ettari dedicati all'agricoltura biologica. Presso questo dipartimento è presente un team di statistici, biomatematici ed informatici che, oltre a collaborare con i vari gruppi di ricerca presenti, gestiscono un sistema informatico dotato di grossi cluster Linux e IBM Myrinet.

Il capitale umano del Dipartimento è costituito da un organico di 45 "senior research" supportati da 210 "post-doctoral researches, research assistants, technical and administrative staff", inoltre frequentano la struttura 40 "research students".

Warwick HRI è membro dell'European Plant Science Organisation (EPSO). Per maggiori informazioni sulla struttura e sulle linee di ricerca è possibile visitare il sito <http://www2.warwick.ac.uk/fac/sci/hri2/>

Per ciò che concerne il gruppo diretto dal Dr. J. A. Walsh, referente del programma, l'attività è incentrata, attualmente, sulle sotto indicate linee di ricerca:

- ✓ interazioni ospite-fitovirus, utilizzando come modelli il virus del mosaico della rapa "Turnip



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

Dipartimento di Protezione delle Piante

Via Enrico De Nicola, 9 - 07100 Sassari

Tel: 079 229291; Fax: 079 229316

mosaic virus” e gli ospiti Brassica e Arabidopsis;

- ✓ identificazione, caratterizzazione e "mappaggio" dei geni coinvolti nei meccanismi di resistenza durevole ai potyvirus;
- ✓ interazioni virus-virus all'interno delle piante;
- ✓ studio del ruolo svolto dalla flora spontanea come "serbatoio" di inoculo virale ed interazione di questa con gli agenti virali;
- ✓ virus trasmessi da funghi e da protisti: caratterizzazione di Watercress yellow spot virus trasmesso da *Spongospora subterranea* f. sp. *nasturtii* e studio dei virus che causano "lettuce big-vein disease", trasmessi da *Olpidium brassicae*.

Il Dr. Walsh attualmente collabora con numerosi gruppi di ricerca, tra i quali quelli coordinati da: Dr. John Carr del Department of Plant Sciences, University of Cambridge; Dr. Fernando Ponz, INIA, Madrid; Dr.ssa Isobel Parkin e Prof. Derek Lydiate, Agriculture Canada, Saskatoon; Dr. Xiaowu Wang e Dr. Rifei Sun, CAAS, Pechino; Dr. Mike Adams e Dr.ssa Elaine Ward, Rothamsted Research; Dr. Ian Cooper e Dr. Hui Wang, CEH Oxford; Prof. Mike Kearsley, University of Birmingham.

3 Accordo/programma di collaborazione

Tipologia dell'accordo/programma di collaborazione

- Sviluppo della Ricerca Scientifica e Tecnologica.
- Formazione del Capitale Umano.
- Cooperazione Economica e Sociale.

Descrizione dell'accordo/programma di collaborazione

Obiettivi

La posizione geografica della Sardegna gode di particolari condizioni di privilegio; i suoi limiti climatici, infatti, sono favorevoli al potenziamento delle colture agricole, su base produttiva e qualitativa. In questo ambito il comparto orticolo rappresenta uno dei settori di maggior peso economico da essere considerato portante per tutto il sistema agricolo regionale. Il mercato sempre più dinamico di questi ultimi anni, modulato altamente dalla qualità e dall'alto valore aggiunto del prodotto locale, ha indirizzato l'imprenditore agricolo ad una maggiore caratterizzazione del marchio regionale evidenziandone la tipicità e nel contempo i caratteri di alta qualità. Ne sono esempio l'interesse dell'industria enologica per i vitigni locali e l'imminente riconoscimento della D.O.P. "Carciofo Spinoso di Sardegna". Tale strategia, nell'agro alimentare, trova talvolta difficoltà nella sua attuazione imputabile, spesso, al degrado sanitario delle cv commerciali fortemente compromesse dalla presenza di patogeni sistemici essenzialmente di tipo virale. E' fuor di dubbio l'influenza negativa delle infezioni da virus sulla qualità e quantità delle produzioni agricole. Ne sono esempio, in Sardegna, i danni indotti dal virus dell'accartocciamento fogliare giallo del



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

Dipartimento di Protezione delle Piante

Via Enrico De Nicola, 9 - 07100 Sassari

Tel: 079 229291; Fax: 079 229316

pomodoro (TYCLV), di recente introduzione, che induce sulla solanacea, in coltura protetta, decrementi di prodotto anche del 70%. A questa specie virale se ne aggiungono altre, di pari dannosità, le quali hanno nell'ospite dei ruoli sinergici di primissimo piano. Vedi, su pomodoro e carciofo, gli effetti da affezioni da virus dell'arricciamento maculato del pomodoro (TSWV), del mosaico del pepino (PepMV), della clorosi infettiva del pomodoro (TICV), e della clorosi del pomodoro (ToCV). Altri agenti di natura virale, pur presenti sulla solanacea, sono ritenuti occasionali, ma la loro dannosità su altri ospiti (vedi il virus del mosaico del tabacco – TMV), è ben nota. Anche il carciofo, in Sardegna, è ospite particolarmente suscettibile all'azione virale: ne sono esempio gli esiti sulla coltura relativamente al virus latente del carciofo (ALV), al virus dell'avvizzimento della fava (BBWV), al virus dell'arricciamento maculato (AMCV), al virus Italiano latente (AILV), e di quello del mosaico giallo del fagiolo (BYMV). Anche in questo caso, su *Cynara scolymus* la presenza di specie virali "minori" quali il virus del mosaico del cetriolo (CMV), il virus Y della patata (PVY), il mosaico giallo dello zucchini (ZYMV) e del mosaico giallo della rapa (TuYMV), comportano elementi di particolare rischio su base produttiva. Tale complessità eziologia, pur non interamente presente in coltura, si traduce nella realtà di campo per l'imprenditore, in un livello di attenzione sempre vigile volto alla osservazione ed alla diagnosi nella prospettiva di attuare possibili strategie di controllo. Diventa nodale un monitoraggio costante che stimoli azioni di contenimento dei fattori epidemici resi più gravi dalla presenza nell'ambiente di mediatori biologici della infezione, vettori alati, che, in condizioni favorevoli possono incrementare le loro popolazioni creando ulteriori motivi di rischio. In considerazione della peculiarità di tali infezioni diventa strategico, ai fini della presenza di centri di infezione e della conseguente diffusione della malattia, l'utilizzo di materiale di propagazione e di moltiplicazione virus esente o sanitariamente certificato che dia garanzia di sanità. Ciò, unitamente ad una gestione adeguata delle infestanti, possibili ospiti secondari ed essenziali nella ecologia della specie virale, potrebbe dare riscontri utili ai fini del contenimento delle infezioni in campo. Ulteriore elemento, non ultimo, nello studio delle infezioni da virus è la individuazione di possibili sorgenti di tolleranza o di resistenza al patogeno. Essi, non sufficientemente indagati su base genica sono meritevoli della massima attenzione e potrebbero aprire interessanti prospettive nella lotta indiretta alle virosi.

In generale, la corretta identificazione eziologica dell'agente fatta precocemente, con tecniche attendibili ed efficaci (immuno-enzimatiche, di immuno-microscopia elettronica, di ibridazione molecolare o di amplificazione genica in generale), pone le basi per adeguate azioni successive di tipo preventivo della epidemia e per ulteriori approfondimenti epidemiologici. Gli studi su base genetica dei fenomeni che sono alla base della resistenze e/o tolleranza dell'ospite, completano il quadro complessivo e possono offrire elementi anche risolutivi per il superamento della malattia.

Il progetto di collaborazione tra il Dipartimento di Protezione delle Piante dell'Università degli Studi di Sassari ed il Warwick Horticulture Research International nasce dalla esigenza di formare, ricercatori di livello elevato attraverso l'approfondimento delle "caratteristiche" delle specie ospiti (su base genica), dell'agente infettivo e della sua epidemiologia, utilizzando tecniche diagnostiche sofisticate ed innovative.

Gli studi saranno condotti su un sistema "modello" ospite-parasita, di facile manipolazione (*Brassica napus* – TuMV). I risultati, estrapolati e trasferiti in altri ambiti colturali, renderanno possibili ulteriori verifiche e validazioni di tecniche e metodiche applicati ad altri "sistemi biologici", per esempio pomodoro - TYLCV, di interesse economico regionale.



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

Dipartimento di Protezione delle Piante

Via Enrico De Nicola, 9 - 07100 Sassari

Tel: 079 229291; Fax: 079 229316

Attività previste

Le attività previste avranno prevalentemente un indirizzo diagnostico su base immunologica e molecolare. Lo studio del rapporto interattivo che unisce il binomio ospite-parassita sarà affrontato servendosi della specie erbacea *Brassica napus* e di Turnip mosaic virus (TuMV), agente del virus del mosaico della rapa. Non sarà sottovalutato lo studio della flora spontanea quale elemento epidemiologico dominante nella diffusione della malattia ed in relazione alla conservazione del patogeno ed alla sua successiva diffusione nella nuova coltura. Elementi che consentiranno di disegnare il quadro ecologico dell'agente infettivo con conseguenti indicazioni in termini di prevenzione e di lotta. Avvalendosi delle esperienze maturate in tale ambito dal Warwick Horticulture Research International saranno approfonditi studi sui fattori di resistenza e sulla loro identificazione e localizzazione ai fini applicativi.

Risultati attesi

Questa iniziativa porterà all'avvio di una collaborazione tra il Dipartimento di Protezione delle Piante dell'Università degli Studi di Sassari e il Warwick Horticulture Research International nell'ambito di alcuni settori della Virologia vegetale.

Lo stage è prevalentemente orientato al completamento della formazione scientifica e professionale del tirocinante il quale avrà modo di acquisire metodi e sistemi di indagine e di lavoro in un ambiente di ricerca internazionale ed innovativo. Ciò porterà ad un miglioramento delle proprie conoscenze ed al conseguimento di una maturità scientifica in un'ottica di indagini fitovirologiche specialistiche ed avanzate.

I risultati riguarderanno:

- la validazione di protocolli, prevalentemente molecolari, efficaci ed affidabili in diagnostica fitovirologica e la definizione di parametri biologici per una maggiore efficienza di reazione del saggio;
- la caratterizzazione di modelli reattivi indotti dalla interazione ospite – patogeno al fine di meglio comprendere le fasi del processo infettivo su ospiti suscettibili alla infezione;
- la definizione, ai fini della diffusione della malattia, delle caratteristiche dell'ospite secondario, quale fonte d'inoculo, nella perpetuazione della agente infettivo.
- l'approfondimento dei meccanismi genetici che presiedono, nell'ospite, ai fattori di resistenza al patogeno.

Quanto detto riferito al sistema *Brassica napus* – TuMV nella prospettiva dell'ottenimento di un modello trasferibile ad un contesto sperimentale, *Solanum lycopersicum* – TYCLV, per esempio, pur tassonomicamente differente ma sostanzialmente simile.

Piano di lavoro

Il piano di lavoro particolareggiato sarà concordato con il Dott. J.A. Walsh all'atto dell'attivazione del tirocinio. L'accordo di collaborazione avrà una durata di 12 mesi in cui il tirocinante sarà ospitato presso le strutture del Warwick Horticulture Research International (HRI).



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

Dipartimento di Protezione delle Piante

Via Enrico De Nicola, 9 - 07100 Sassari

Tel: 079 229291; Fax: 079 229316

In fase preliminare saranno sviluppate attività di formazione; le competenze acquisite saranno trasferite mediante la predisposizione di un apposito progetto di rientro che sarà presentato a valere sul programma Master and Back. Le due Istituzioni parteciperanno ad ulteriori programmi e bandi per l'internazionalizzazione, attività di ricerca e di formazione a valere su fondi comunitari, nazionali e regionali.

Risorse professionali impegnate

Nell'attività di tirocinio/stage proposta sarà impegnato un tirocinante che verrà ospitato nelle strutture del Warwick Horticulture Research International per un periodo complessivo di 12 mesi. Il Dipartimento ospitante metterà a disposizione il personale tecnico scientifico necessario per la realizzazione ottimale del programma di ricerca. Il programma di collaborazione sarà organizzato e diretto congiuntamente dal prof. Garau dell'Università degli Studi di Sassari e dal dott. Walsh del Warwick Horticulture Research International, e da quest'ultimo supervisionato per il periodo dello stage. La valorizzazione professionale del tirocinante, successiva al suo rientro in Sardegna, sarà supervisionata dal prof. Garau.

Risorse finanziarie impegnate

L'Organismo ospitante (Warwick Horticulture Research International) parteciperà indirettamente al finanziamento del Programma in questione attraverso la copertura dell'assicurazione (insurance) e dei costi di laboratorio (bench fees).

Modalità di formalizzazione dell'accordo/programma di collaborazione

Accordo formalizzato per posta elettronica con il Dr. John A. Walsh, Research Leader, Warwick Horticulture Research International, Virus – Vegetable Interaction Group, University of Warwick.

4 Piano del tirocinio/stage

Obiettivi formativi

Il tirocinio è volto alla pianificazione e all'esecuzione di attività sperimentali e alla elaborazione ed interpretazione dei risultati. Il tirocinante acquisirà capacità di sintesi, di preparazione di manoscritti scientifici e abilità di presentazione dei risultati.

Obiettivi professionali

Lo stage completerà la formazione del tirocinante preparandolo alla professione di ricercatore in grado di svolgere progetti di ricerca in ambito nazionale e internazionale. Le competenze maturate dal Soggetto beneficiario saranno messe a disposizione degli enti territoriali e degli agricoltori per contribuire a risolvere problemi di natura virologica legati alle specie orticole.



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI
Dipartimento di Protezione delle Piante
Via Enrico De Nicola, 9 - 07100 Sassari
Tel: 079 229291; Fax: 079 229316

Piano analitico delle attività formative e professionali

- ✓ inoculazione di piante di *B. napus* con una collezione di isolati di TuMV e cloni infettivi ottenuti in seguito a mutazioni genetiche indotte;
- ✓ valutazione della resistenza monitorando l'espressione sintomatologica;
- ✓ saggi diagnostici sierologici (ELISA) e biomolecolari (RT-PCR);
- ✓ clonaggio e sequenziamento di regioni del genoma di TuMV per controllare la stabilità delle mutazioni introdotte;
- ✓ incrocio di linee di *B. napus* che presentano nuove caratteristiche di resistenza;
- ✓ mappatura genetica delle linee resistenti.

Requisiti professionali richiesti

Requisiti richiesti	Punteggio
✓ Laurea magistrale in gestione e tutela dell'ambiente agro-forestale	5 punti
✓ Laurea magistrale in Scienze agrarie	5 punti
✓ Altre lauree magistrali	0 punti
✓ Tesi di biologia molecolare applicata ai patogeni vegetali	10 punti
✓ Altre tesi di biologia molecolare	5 punti
✓ Stage formativo in Virologia vegetale	15 punti
✓ Esperienza di tecniche diagnostiche molecolari (RT-PCR, RFLP) e sierologiche (ELISA test)	10 punti

Costi del tirocinio/stage

Il costo dello stage è stimato intorno a € 15.400,00, di cui € 14.400,00 sono destinati alla copertura dei costi di vitto e alloggio del tirocinante e € 1000,00 copriranno i costi di viaggio.

Partecipazione finanziaria degli organismi proponenti

Nessuno.

Piano di valorizzazione professionale del tirocinante/stagista

È prevista per il tirocinante assistenza e consulenza gratuita nella ricerca e preparazione del concorso per posizioni nel settore pubblico o privato, e nella richiesta di contributi per finanziamenti alla ricerca.

Si prevede, inoltre, di valorizzare ulteriormente le conoscenze acquisite mediante un Programma di



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI
Dipartimento di Protezione delle Piante
Via Enrico De Nicola, 9 - 07100 Sassari
Tel: 079 229291; Fax: 079 229316

inserimento Lavorativo, nell'ambito del Programma Master and Back, per un ulteriore anno.

Data di presentazione delle candidature per il tirocinio/stage

18 Novembre 2006

Data di inizio del tirocinio/stage

Dicembre 2006

Data di conclusione del tirocinio/stage

Novembre 2007

Durata del tirocinio/stage (mesi)

La durata del tirocinio/stage sarà complessivamente di 12 mesi.

Data, 31 luglio 2006

Il rappresentante legale del soggetto proponente

Il Direttore del Dipartimento

Prof. Gavino Delrio

Il Rettore Prof. Alessandro Maida

Si autorizza la Regione Autonoma della Sardegna, anche attraverso i Soggetti Attuatori del Programma Master and Back a:

- pubblicizzare sul sito internet del Programma Master and Back e su altra documentazione specifica la presente scheda relativa al Programma di Tirocinio/Stage per il quale si richiede l'erogazione del voucher;
- fornire i propri riferimenti di posta elettronica ai Soggetti interessati a partecipare al Programma di Tirocini/Stage presentato nella presente scheda.

Il Rappresentante legale del soggetto proponente

Il Direttore del Dipartimento

Prof. Gavino Delrio

Il Rettore Prof. Alessandro Maida