

Curso "Técnicas moleculares para la detección y la evaluación de resistencias a organismos fitopatógenos basadas en PCR"

Docentes

- Dra. Isabel Rodríguez Quilón (INIA-CSIC)
 - Dra. Zaida Lorenzo Rodríguez (INIA-CSIC)
 - Patricia Olivares Pacheco (ANOVE)
 - Dra. Agustina De Francesco (ANOVE)
 - Dr. Jerson Garita Cambroneró (ITACyL)
-

Duración y Fechas

Duración: 2 días jornada completa (8h/día) - 16h totales

Fechas: 24 y 25 de marzo de 2025

Modalidad

Teórico-práctico; Presencial

Lugar

Laboratorio de Técnicas Moleculares

Dirección Técnica de Evaluación de Variedades y Laboratorios (DTEVL)

Centro Nacional Instituto de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA)

Ctra. de la Coruña Km 7.5, 28040 Madrid, España

Participantes

Cupo: 20 personas

Objetivo del Curso

Capacitar a los participantes en el uso avanzado de técnicas moleculares basadas en PCR para la detección de patógenos vegetales y la identificación de resistencias a organismos fitopatógenos en el contexto del registro de variedades hortícolas. El curso combina sesiones teóricas y prácticas diseñadas para ofrecer una comprensión profunda de los fundamentos científicos, metodologías aplicadas, resolución de problemas y casos prácticos centrados en la temática del curso.

Inscripción y Requisitos de Participación

Este curso está dirigido a técnicos de laboratorio con experiencia previa en técnicas de PCR y manejo básico de equipos de biología molecular. Los requisitos incluyen: experiencia en el manejo de muestras biológicas y de reactivos de laboratorio molecular; conocimientos previos sobre fundamentos básicos de biología molecular, incluyendo aislamiento, purificación y manejo de ácidos nucleicos; uso básico de pipetas automáticas y preparación de mezclas de reacción; conocimientos sobre medidas de bioseguridad en laboratorios.

Equipo y recursos necesarios: Tanto el equipamiento como los recursos necesarios e insumos de laboratorio serán proporcionados por el INIA durante el curso. El coste de la inscripción cubrirá los costes de los reactivos y fungibles utilizados durante las prácticas de laboratorio. Se recomienda que los asistentes traigan sus propios ordenadores. Se alienta el uso de datos propios para casos prácticos.

Fecha límite de inscripción: 4 de marzo de 2025.

Precio del curso: 350 €

Metodología

- **Teoría:** Presentaciones interactivas, discusión grupal y resolución de preguntas.
 - **Práctica:** Ejecución de protocolos en laboratorio, análisis de resultados y optimización de condiciones experimentales.
-

Programa

Día 1 – Lunes 24 de marzo

Sesión Teórica: Detección molecular de patógenos vegetales mediante técnicas basadas en PCR

1. Preparación de muestras vegetales en la puesta a punto de la detección de un patógeno.
2. Diseño de Cebadores y Sondas. Optimización e intercambio de fluoróforos y quenchers.
3. Detección de patógenos vegetales mediante técnicas basadas en qPCR. Técnicas singleplex y multiplex. Curvas de calibración y determinación del límite de detección.
4. Buenas Prácticas de Laboratorio. Controles de PCR recomendados por ISHI. Troubleshooting: amplificaciones inespecíficas, etc.
5. Otros métodos de pre-screening basados en amplificación de ácidos nucleicos: LAMP.

Día 1 Sesión Práctica

1. Comparación de extractos de semilla y de hoja utilizando distintos métodos de molienda.
2. Protocolo LAMP para detección del virus del rugoso del tomate (ToBRFV) probando diluciones seriadas de extractos de semilla y de hoja.

3. Comparación límite de detección de ToBRFV mediante técnica LAMP vs RT-qPCR.
4. Caso práctico: Diseño de Cebadores y Sondas. PCR *in silico*.
5. Caso práctico: discusión y análisis de resultados: PCR curva de calibración, límite de detección y amplificación inespecífica.

Día 2 – Martes 25 de marzo

Sesión Teórica: Evaluación de resistencias a organismos fitopatógenos mediante técnicas moleculares

1. Registro de nuevas variedades vegetales.
2. Uso de marcadores moleculares en el DHE.
3. Identificación de alelos de resistencia: Flujo de trabajo en el laboratorio.
4. PCR convencional.
5. Discriminación alélica.
6. Ventajas del uso de marcadores moleculares en la evaluación de resistencias:
Alternativa de futuro.

Día 2 Sesión Práctica

1. Identificación de alelos de resistencia a TSWV en variedades de tomate por PCR convencional y electroforesis capilar.
2. Discriminación de alelos de resistencia a LMV en variedades de lechuga por qPCR.