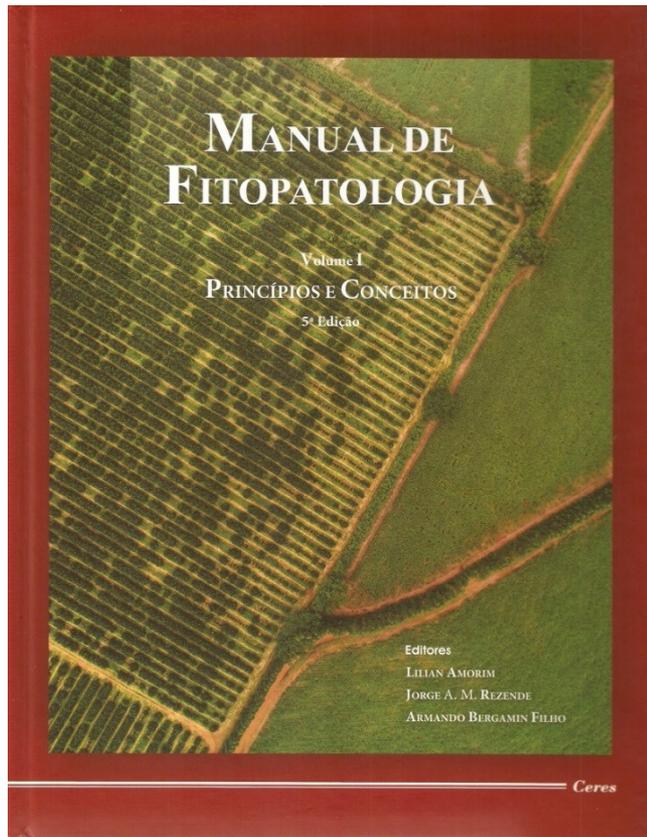
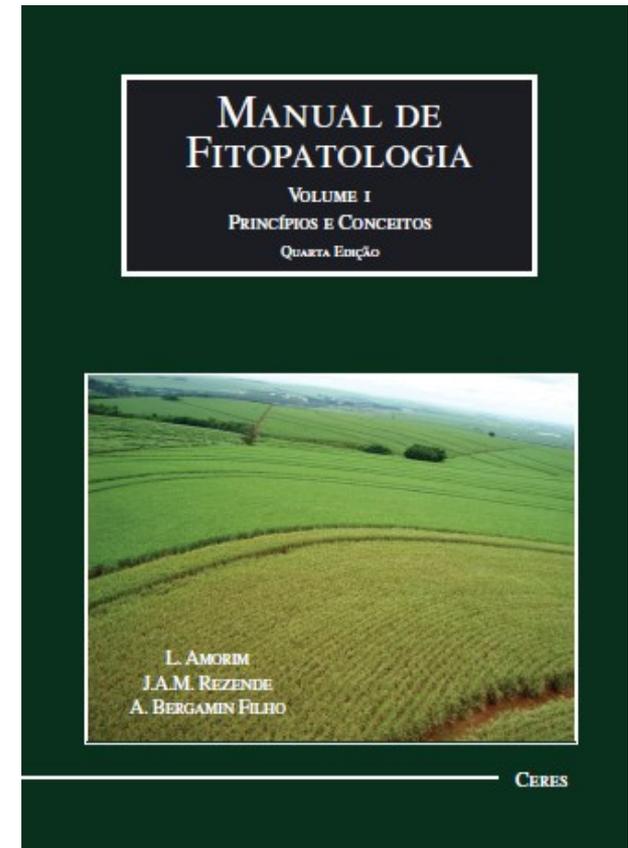


POSTULADO DE KOCH – Associação constante e Isolamento

2018
Cap. 3



2011
Cap. 3

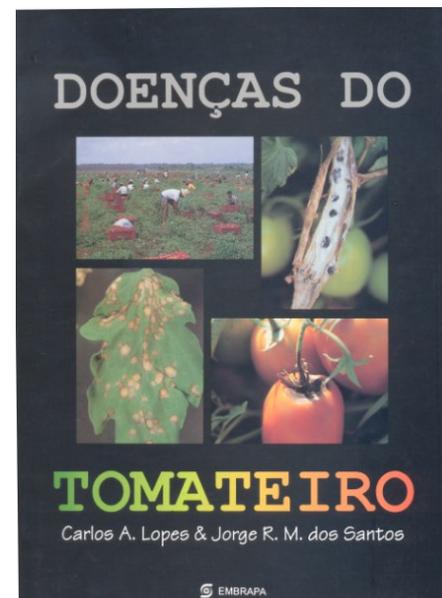
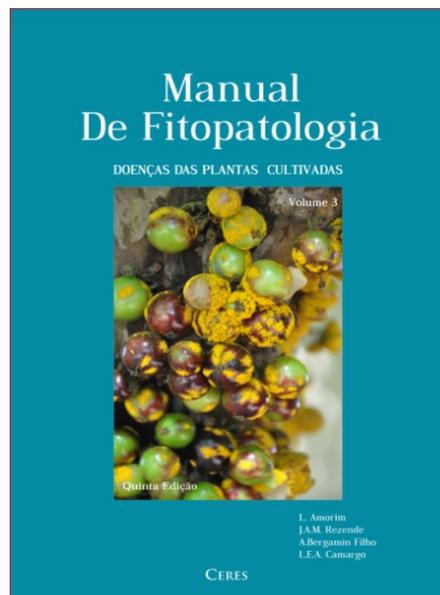


O material da aula está disponível no STOA e no Canal USP do youtube

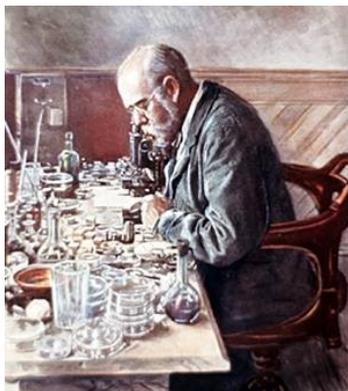
Diagnose de doenças em plantas

Doenças conhecidas

- Análise de sintomas
 - Simétrico ou Assimétrico
 - Necrótico ou plástico
- Observação de sinais
- Consulta à literatura



Doenças desconhecidas - Postulado de Koch deve ser preenchido



Robert Koch – Médico alemão (1843-1910)

**1876 – isolamento de *Bacillus anthracis*
doença “antraz” em ovelhas, gado e homem
1881 – divulgação do postulado**

Postulado de Koch (1881)

Sequência de procedimentos utilizada para se estabelecer a relação causal entre um microrganismo e uma doença

O microrganismo deve estar associado com a doença em todas as plantas sintomáticas e não deve estar presente em plantas sadias

1 – Associação constante patógeno-hospedeiro

O microrganismo deve ser isolado da planta doente e cultivado em cultura pura

2 – Isolamento / cultivo

O microrganismo em cultura pura deve ser inoculado sobre plantas sadias (mesma espécie ou variedade) e produzir a mesma doença nas plantas inoculadas

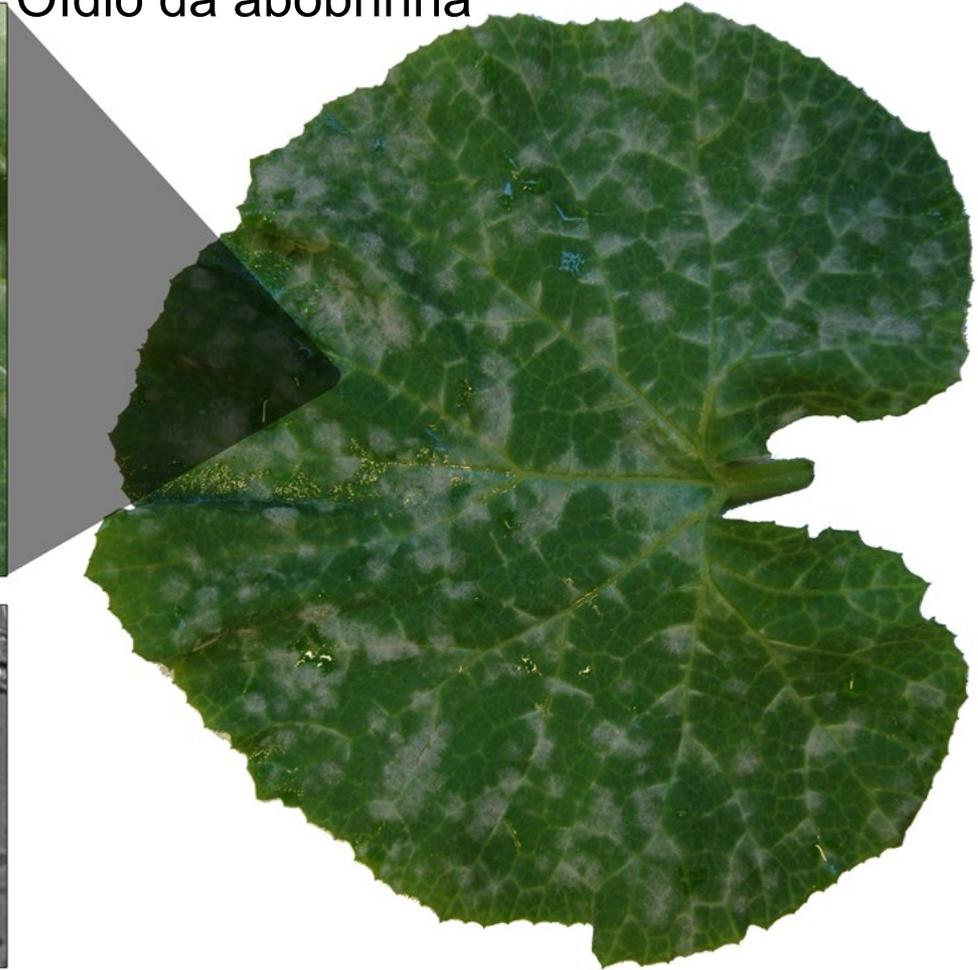
3 – Inoculação do organismo em plantas sadias

O microrganismo deve ser isolado em cultura pura novamente e suas características devem ser as mesmas das observadas em 2

4 – Reisolamento do patógeno

Associação constante patógeno-hospedeiro

Oídio da abobrinha



Oidium sp.



Associação constante patógeno-hospedeiro

Sigatoka amarela da bananeira



Pseudocercospora musae



Preparo de lâmina fúngica

1. Colocar uma lâmina sobre superfície clara

2. Pingar uma gota de corante (azul algodão + lactoglicerol)

3. Coletar sinais do patógeno



3.1 Cortar fita adesiva no comprimento da lâmina
3.2 Comprimir levemente o centro da fita adesiva sobre a superfície da planta com sinais do patógeno
3.3 Colocar o centro da fita, com as estruturas do patógeno, sobre o corante e colar o restante da fita sobre o vidro – dispensa o uso de lamínula



3.1 Flambar agulha ao fogo
3.2 Coletar estruturas patogênicas com a agulha
3.3 Depositar as estruturas sobre a gota de corante
3.4 Cobrir com lamínula

4. Observar ao microscópio

Observação de lâmina fúngica ao microscópio

ANTES DA OBSERVAÇÃO

1. Baixar a mesa para a deposição da lâmina no charriot
2. Centralizar a lâmina, colocando a região do corante sobre a passagem da luz
3. Posicionar a objetiva de 4 ou de 10 x para observação
4. Aproximar ao máximo a mesa da objetiva
5. Manter abertura mínima do diafragma

OBSERVAÇÃO

6. Com os olhos próximos às oculares, baixar vagorosamente a mesa com auxílio do macrométrico
7. Ajustar o foco com o micrométrico
8. Rodar o revolver para posicionar a objetiva de 40 x sobre o objeto (sem mudar a altura da mesa)
9. Ajustar o foco, com o micrométrico, e ajustar a luz, aumentando a abertura do diafragma

A observação de estruturas fúngicas deve ser feita nos aumentos de 100 ou 400 vezes. Não há necessidade do uso da objetiva de 100 x (aumento de 1000x)

Postulado de Koch (1881)

Sequência de procedimentos utilizada para se estabelecer a relação causal entre um microrganismo e uma doença

O microrganismo deve estar associado com a doença em todas as plantas sintomáticas e não deve estar presente em plantas saudas



1 – Associação constante patógeno-hospedeiro

O microrganismo deve ser isolado da planta doente e cultivado em cultura pura

2 – Isolamento / cultivo

O microrganismo em cultura pura deve ser inoculado sobre plantas saudas (mesma espécie ou variedade) e produzir a mesma doença nas plantas inoculadas

3 – Inoculação do organismo em plantas saudas

O microrganismo deve ser isolado em cultura pura novamente e suas características devem ser as mesmas das observadas em 2

4 – Reisolamento do patógeno

Parasitas necrotróficos (não obrigatórios)

Parasitas que se alimentam de tecidos mortos
(Maioria dos fungos e bactérias)

*** PODEM SER ISOLADOS FACILMENTE ***

Parasitas biotróficos (obrigatórios)

Parasitas que dependem de seu hospedeiro vivo durante
seu ciclo de vida

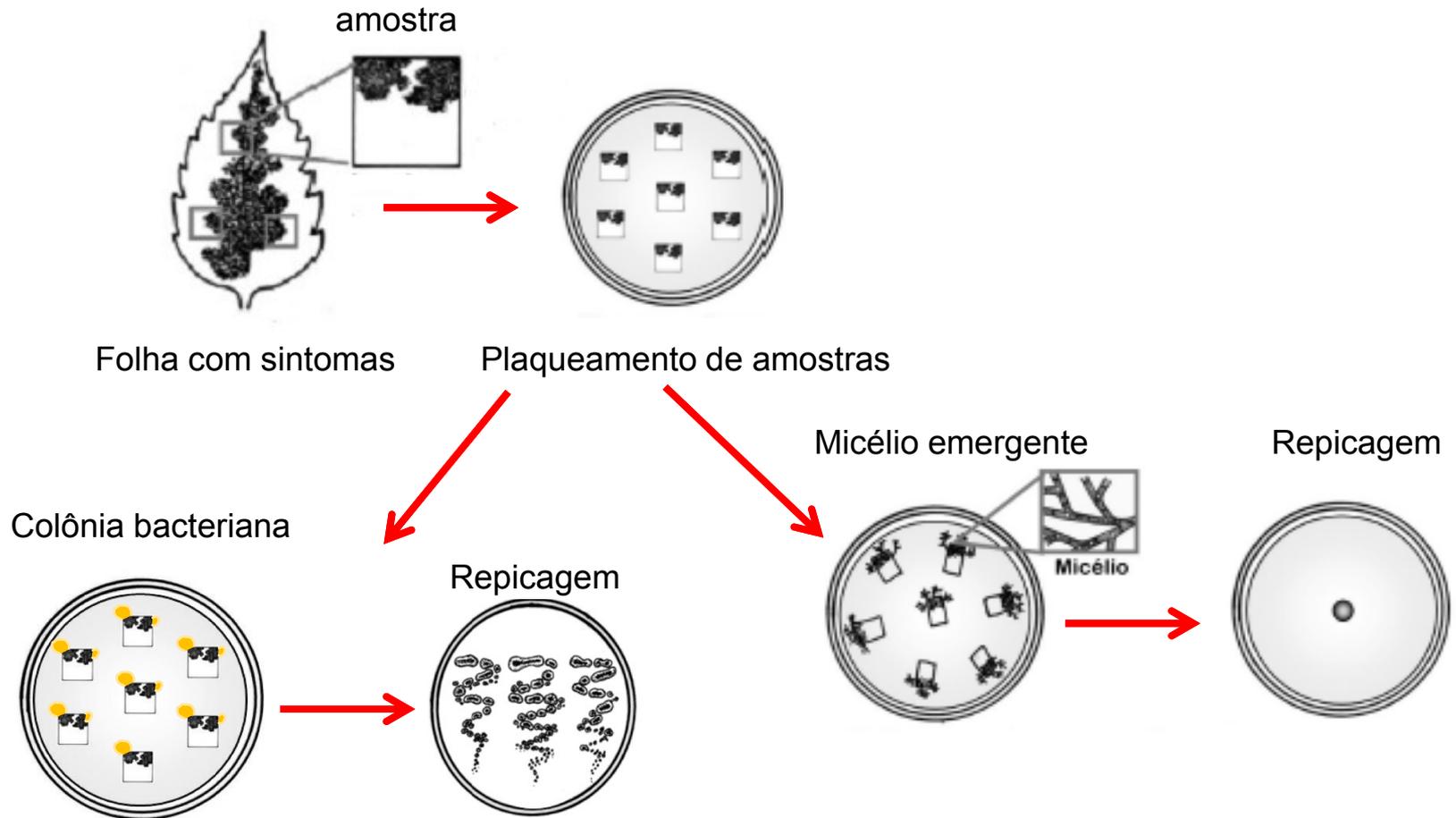
(Vírus, fungos causadores de ferrugens, míldios e oídios)

*** NÃO PODEM SER ISOLADOS ***

Devem ser transferidos da planta doente para uma sadia

Isolamento e cultivo do patógeno

O microrganismo (patógeno) deve ser isolado da planta doente, cultivado em cultura pura e ter suas características descritas



Isolamento de patógeno fúngico foliar

Retirar 4-5 frações da região de transição entre tecido sadio e doente (3 a 5 mm)



Ex: Antracnose no Oiti
(*Colletotrichum*)

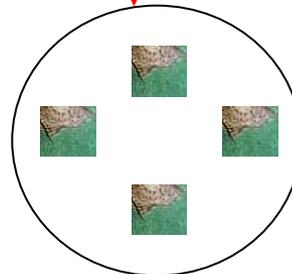


Lavar c/ álcool 70% (30 a 60 s)

Hipoclorito de sódio (0,5-1%) / 1 min.

Lavar em água esterilizada

Pinça

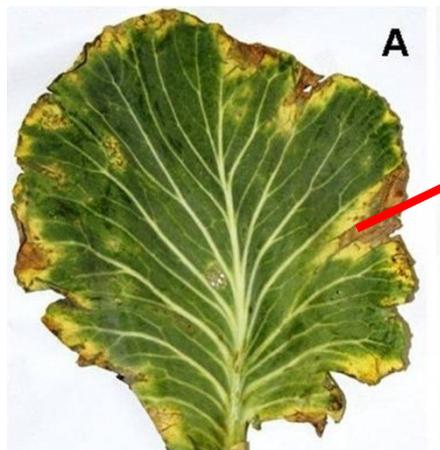


Meio de cultura

Realizar o isolamento próximo a lamparina



Isolamento de patógeno bacteriano foliar



A

Cortar 1-2 pedaços da região de transição (1 cm²)



Lavar c/ álcool 70% (30 a 60 s)



Hipoclorito de sódio (0,5-1%) / 1 min.

Lavar em água esterilizada

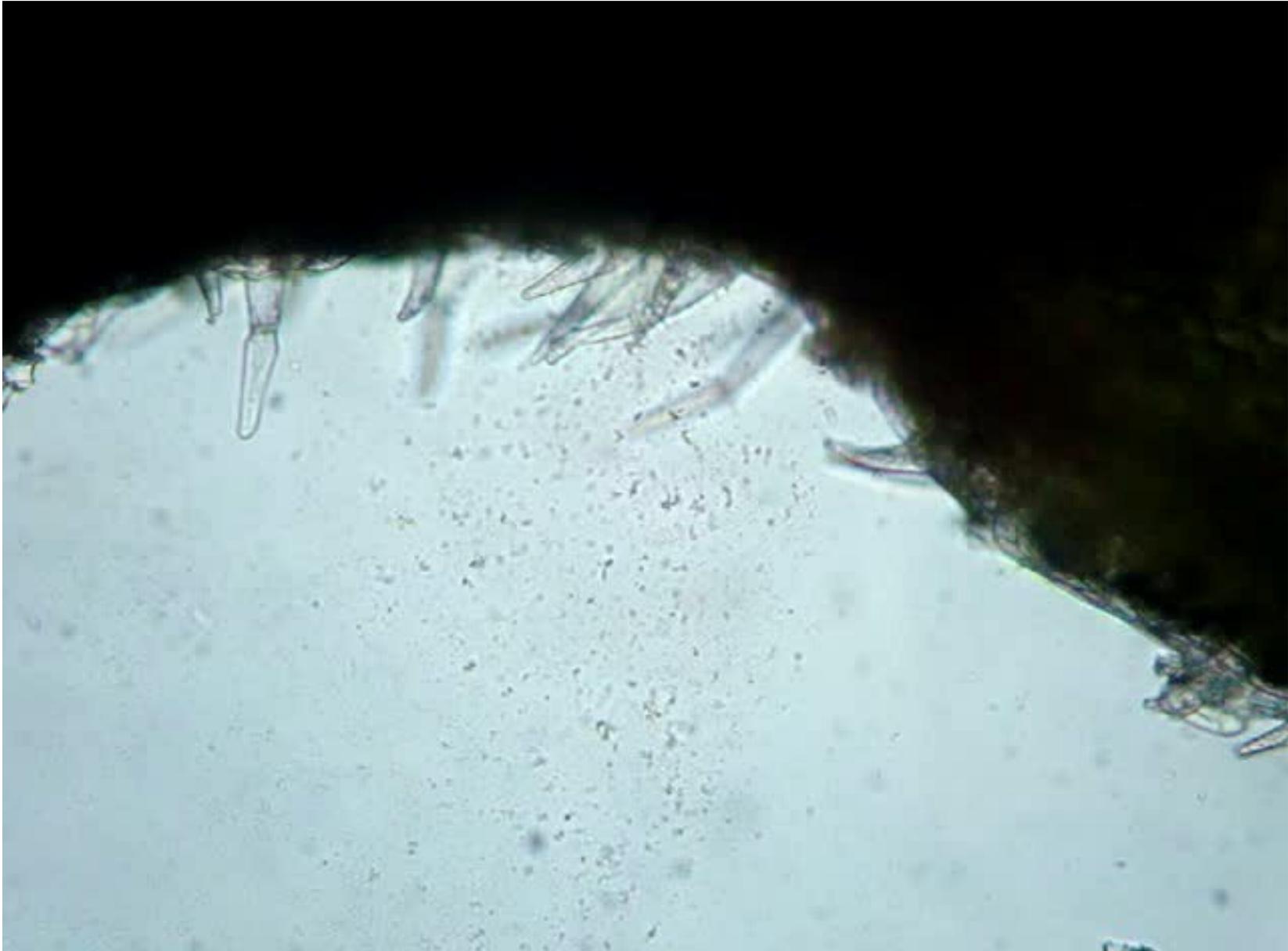


Picar os fragmentos em lâmina de vidro com água esterilizada
(esperar 1-2 min.)



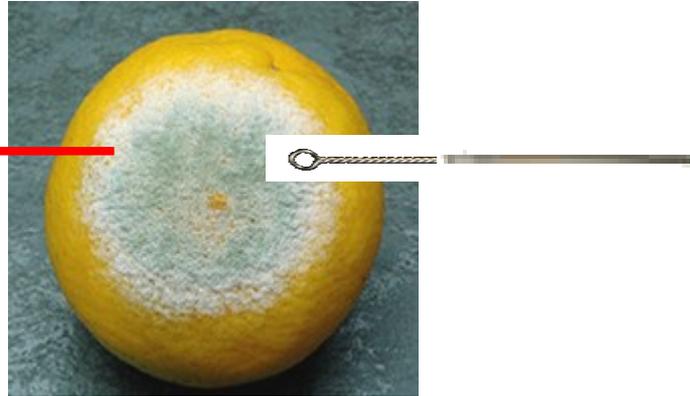
Transferir a suspensão para meio NA
fazer 5 alças com alça



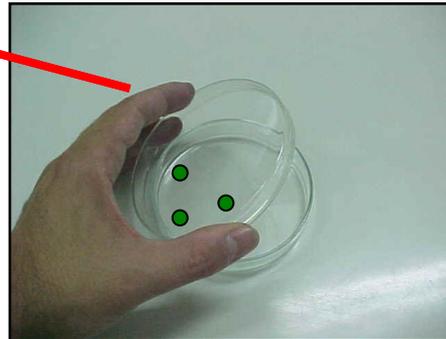


Isolamento direto do patógeno (esporos + micélio presentes)

Micélio, conidióforo
e conídios ←



Placa de Petri
com BDA ←



Realizar o isolamento próximo à lamparina

