

POSTULADOS DE KOCH

Prof. Margarete Camargo
FCAV/UNESP
2013

Diagnose



Ferrugem do cafeiro



Morte súbita dos citros



Diagnose → sintomas

Pesquisas e estudos

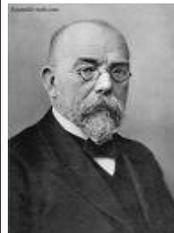
Novas doenças - ?

A determinação de um agente causal de doenças é feita através de certos procedimentos – Postulados de Koch

Critérios propostos por Henle

Robert Koch (1880) – bactéria: agente causal do carbúnculo

Koch e sua equipe:



Robert Koch (1843-1910)
(médico alemão)

- desenvolvimento da microbiologia
- meios de cultura (Batata, ágar)
- vidrarias (placas de Petri)
- Bactéria (carbúnculo - antrax)
- Bactéria da tuberculose
- vibrião da cólera

POSTULADOS DE KOCH

1. O microrganismo deve estar sempre presente nas lesões das plantas doentes (**ASSOCIAÇÃO CONSTANTE**);
2. O microrganismo deve ser isolado e cultivado em **CULTURA PURA**;
3. O microrganismo isolado, deve **REPRODUZIR OS SINTOMAS** quando inoculado em uma planta sadia;
4. O microrganismo deve ser **REISOLADO** da planta inoculada artificialmente e corresponder, em todas as suas características, com o isolado das lesões.

1. ASSOCIAÇÃO CONSTANTE (sintoma/microrganismo)

- ✓ Observações de sintomas e sinais
- ✓ Descrições de doenças em publicações específicas
- ✓ Observações ao microscópio estereoscópico e microscópio ótico

Diagnose:

- Sintomas bem conhecidos facilitam a identificação
- Exemplo: ferrugens, oídios, carvões

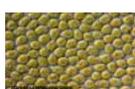
POSTULADOS DE KOCH

Ferrugens

Ferrugem do cafeeiro
(*Hemileia vastatrix*)




Ferrugem da goiabeira
(*Puccinia psidii*)

Ferrugem do trigo
(*Puccinia graminis f. sp. tritici*)




uredósporos

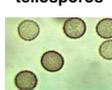
POSTULADOS DE KOCH

CARVÕES

Carvão comum do milho
(*Ustilago maydis*)




Carvão do trigo
(*Ustilago tritici*)

Carvão da cana-de-açúcar
(*Ustilago scitaminea*)




teliósporos

POSTULADOS DE KOCH

OÍDIOS

Oídio do trigo
(*Erysiphe tritici*)



Oídio da roseira
(*Sphaerotheca fuliginea*)



Oídio das cucurbitáceas
(*Sphaerotheca fuliginea*)





conídio
conidióforo

POSTULADOS DE KOCH

MANCHAS FOLIARES



Bipolaris maydis
(*Helminthosporium maydis*)



Exserohilum turcicum
(*Helminthosporium*)



Bipolaris zeicola
(*Helminthosporium carbonum*)

POSTULADOS DE KOCH



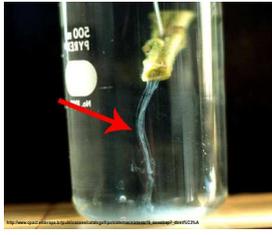
PEPINO - Antracnose
Colletotrichum orbiculare

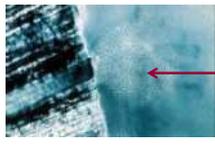


PEPINO - mancha angular
Pseudomonas syringae pv. lachrymans

POSTULADOS DE KOCH

TESTE DE EXSUDAÇÃO BACTERIANA





Exsudação bacteriana do tecido de planta com sintomas de bacteriose

NOVAS DOENÇAS

Soja: ferrugem

Citrus: cvc; morte súbita; greening;

Bananeira: sigatoka negra

Cana-de-açúcar: ferrugens

POSTULADOS DE KOCH

- ✓ 1. O microrganismo deve estar sempre presente nas lesões das plantas doentes (ASSOCIAÇÃO CONSTANTE);
- 2. O microrganismo deve ser isolado e cultivado em CULTURA PURA;

2. Isolamento do microrganismo (cultura pura)

- *meio de cultura – Batata-dextrose-ágar (BDA)
- Maltose-peptona-ágar (MPA)
- Ágar-água
- Nutriente ágar (bactérias)
- outros (seletivos)

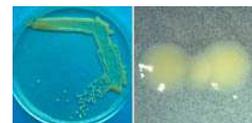
*técnica de isolamento

- Direto
- Fragmentos de tecidos
- Maceramento de tecidos (bactérias)

ISOLAMENTO DE BACTÉRIAS

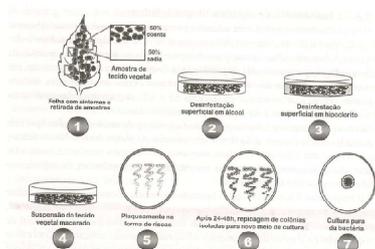


Podridão negra das brássicas (*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*)



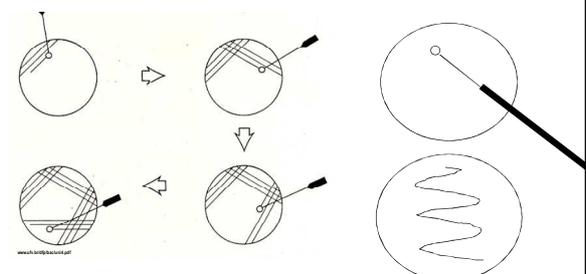
Xanthomonas sp.

Isolamento de bactérias fitopatogênicas



Isolamento de bactérias a partir de tecido foliar (REZENDE et al., 2011).

ISOLAMENTO DE BACTÉRIAS



RISCAS

ZIG-ZAG

Isolamento de bactérias

Cultura com contaminação de fungos

Cultura pura sem colônias isoladas

colônia isolada

Cultura pura

Isolamento de fungos

MÉTODO: direto (estruturas visíveis)

Esporangiósporos (*Rhizopus* sp.)

Escleródio: *Sclerotium rolfsii*

Meio de cultura

Isolamento de fungos

MÉTODO: fragmentos de tecido (REZENDE et al., 2011)

1. Folha com lesões e região de interesse

2. Desinfestação superficial da lâmina

3. Desinfestação superficial das lâminas

4. Fragmentação em agar-ágar

5. Músculo convergente do tecido vegetal

6. Replicagem para nova placa de cultura (três em replicação)

7. Cultura pura em placa

Isolamento de fungos

MÉTODO: fragmentos de tecido (AGRIOS, 2005)

planta infectada

Fragmentos das margens de lesões colocada em solução de cloro 10%

Pinça esterilizada usada para transferir fragmentos

Fragmentos de tecido colocados em papel toalha esterilizado para remover o excesso de cloro

Fragmentos colocados em placas de Petri (nutriente-agar)

Fragmentos colocados em meio de cultura, em diferentes tempo de imersão na solução de cloro

No tempo de imersão correta (90 segundos) apenas o patógeno sobrevive no centro do fragmento e desenvolve-se fora do tecido

Uma cultura pura do patógeno é obtida por replicagem de um segmento do patógeno desenvolvido em placa anterior para uma nova placa com o meio de cultura

Resultado do isolamento de fungo fitopatogênico de tecido de planta infectada (AGRIOS, 2005).

cultura pura

Isolamento de fungos

MÉTODO: Fragmentos de tecidos

fragmentos

Assepsia – álcool (30 segundos)

hipoclorito 1% (até 1 minuto)

Meio de cultura

Arroz (*Helminthosporium* sp.)

Cultura pura - BDA

RESTRIÇÕES AO SEGUNDO POSTULADO

Parasitas obrigatórios (biotróficos)

Agentes causais das doenças

Míldios
Oídios
Ferrugens
Carvões
Viroses

POSTULADOS DE KOCH

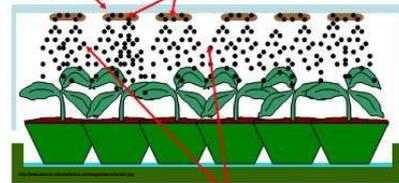
- ✓ 1. O microrganismo deve estar sempre presente nas lesões das plantas doentes (ASSOCIAÇÃO CONSTANTE);
- ✓ 2. O microrganismo deve ser isolado e cultivado em CULTURA PURA;
- 3. O microrganismo isolado, deve REPRODUZIR OS SINTOMAS quando inoculado em uma planta sadia;

3. Inoculação em hospedeiro sadio (Reprodução dos sintomas)

métodos

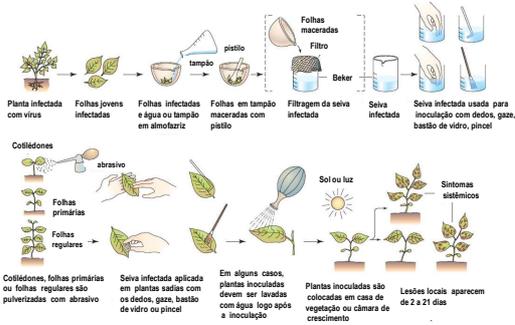
- pulverização de inóculo (esporos, bactérias)
- ferimentos (riscas com agulhas ou palitos)
- imersão em inóculo
- inoculação por injeção
- contaminação do solo
- uso de vetores

caixas de propagação ágar com pseudotécios



ascósporos liberados

Exemplo: Técnica de inoculação com ascósporos



Etapas de inoculação mecânica de vírus vegetal (AGRIOS, 2005)



Inoculação mecânica de vírus usando pistilo ou gaze

POSTULADOS DE KOCH

- ✓ 1. O microrganismo deve estar sempre presente nas lesões das plantas doentes (ASSOCIAÇÃO CONSTANTE);
- ✓ 2. O microrganismo deve ser isolado e cultivado em CULTURA PURA;
- ✓ 3. O microrganismo isolado, deve REPRODUZIR OS SINTOMAS quando inoculado em uma planta sadia;
- 4. O microrganismo deve ser REISOLADO da planta inoculada artificialmente e corresponder, em todas as suas características, com o isolado das lesões.

4. Reisolamento da planta inoculada artificialmente.

= segundo postulado

Isolar o microrganismo da planta inoculada e comparar as características com o obtido no isolamento na aplicação do segundo postulado

- Armazenamento da cultura:

- novos estudos
- Entidades responsáveis - Depósito e manutenção das culturas