

# POSTULADOS DE KOCH

Prof. Margarete Camargo  
FCAV/UNESP  
2013

## Diagnose



Ferrugem do cafeiro



Morte súbita dos citros



Diagnose → sintomas

Pesquisas e estudos

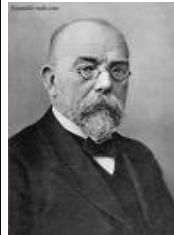
Novas doenças - ?

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*)


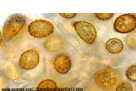



**uredósporos**


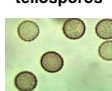
POSTULADOS DE KOCH

### 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*)






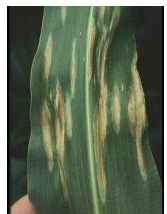
conídio  
conidióforo

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)

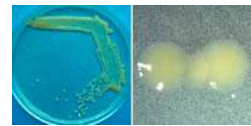
\*técnica de isolamento

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

**ISOLAMENTO DE BACTÉRIAS**

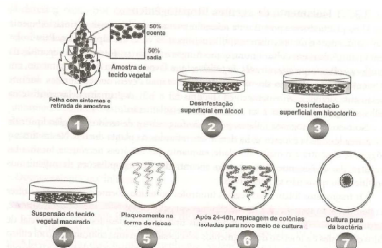


Podridão negra das brássicas (*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*)



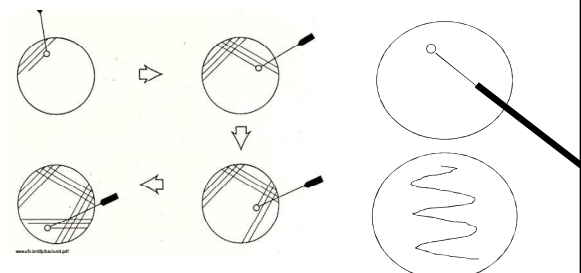
*Xanthomonas* sp.

**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 triplicada

7. Cultura pura de fungo

**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)

30° 60°  
2° 50°

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

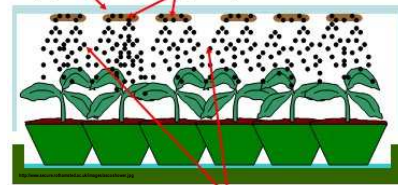
- ✓ 1. O microrganismo deve estar sempre presente nas lesões das plantas doentes (ASSOCIAÇÃO CONSTANTE);
- ✓ 2. O microrganismo deve ser isolado e cultivado em CULTURA PURA;
- 3. O microrganismo isolado, deve REPRODUZIR OS SINTOMAS quando inoculado em uma planta sadia;

### 3. Inoculação em hospedeiro sadio (Reprodução dos sintomas)

#### métodos

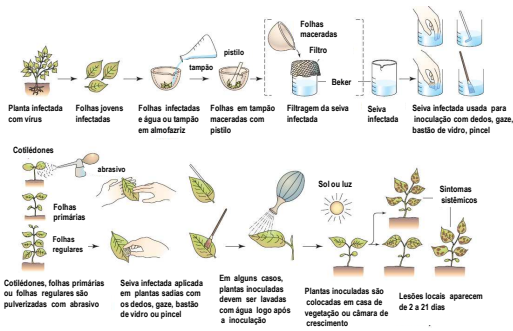
- pulverização de inóculo (esporos, bactérias)
- ferimentos (riscas com agulhas ou palitos)
- imersão em inóculo
- inoculação por injeção
- contaminação do solo
- uso de vetores

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