

A EFICÁCIA DO HIPOCLORITO DE SÓDIO COMO AGENTE DE DESINFESTAÇÃO EM EXPLANTES DE TECA

THE EFFECTIVENESS OF SODIUM HYPOCHLORITE AS A DISINFESTATION AGENT IN TEAK EXPLANTS

LA EFICACIA DEL HIPOCLORITO DE SODIO COMO AGENTE DESINFESTANTE EN EXPLANTES DE TECA

DOI: 10.36238/2359-5787.2025.V11N58.1534

Submitted on: 6.27.2025| Accepted on: 7.1.2025| Published on: 7.16.2025

Aleffe Neves Leite¹
Luciana Coelho de Moura²

RESUMO

A *Tectona grandis* L.f., popularmente conhecida como teca, é uma espécie florestal de grande importância econômica, utilizada para diversas finalidades devido à sua leveza, durabilidade e elevada resistência a patógenos e intempéries. A micropropagação é uma técnica muito eficiente para a multiplicação rápida e em larga escala dessa espécie e diversas outras, sendo a etapa de desinfestação fundamental para o sucesso do estabelecimento *in vitro*. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do tempo de imersão em solução de hipoclorito de sódio a 2,5% na obtenção de explantes assépticos, visando o estabelecimento adequado em meio de cultura. Os tratamentos consistiram em quatro diferentes tempos de imersão (0, 5, 10 e 15 minutos) em solução de NaClO 2,5% com o surfactante Tween 20, sendo todos os explantes previamente imersos em álcool 70% por 1 minuto e, posteriormente, em solução de fungicida por 5 minutos. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado e avaliado aos 30 dias após a introdução *in vitro*. As variáveis analisadas foram: porcentagem de sobrevivência (PS), porcentagem de oxidação (PO), porcentagem de contaminação por fungos e/ou bactérias (C) e porcentagem de estabelecimento *in vitro* (PE). De acordo com os resultados obtidos e a Análise de Variância realizada, não foi observada diferença estatística significativa entre os tratamentos testados, com base no Teste F a 5% de significância. Dessa forma, conclui-se que, para a metodologia aplicada, o tempo de imersão em hipoclorito de sódio a 2,5% não exerce influência no estabelecimento *in vitro* de explantes de teca.

Palavras-chave: Estabelecimento *in vitro*; Micropropagação; Desinfestação; Contaminação; Cultura de Tecidos.

¹ Graduado em Engenharia Florestal, Universidade Federal de Mato Grosso, Várzea Grande, Mato Grosso, Brasil. E-mail: aleffe.leite18@gmail.com

² Doutora em Ciências Florestais, Universidade Federal de Mato Grosso, Faculdade de Engenharia Florestal, Cuiabá, Mato Grosso, Brasil. E-mail: luciana.moura@ufmt.br

ABSTRACT

Tectona grandis L.f., popularly known as teak, is a forest species of great economic importance, used for various purposes due to its lightness, durability, and high resistance to pathogens and environmental conditions. Micropropagation is a highly efficient technique for the rapid and large-scale multiplication of this and many other species, with the disinfection step being fundamental to the success of *in vitro* establishment. Therefore, the objective of this study was to evaluate the effect of immersion time in a 2.5% sodium hypochlorite solution on the achievement of aseptic explants, aiming at proper establishment in culture medium. The treatments consisted of four different immersion times (0, 5, 10, and 15 minutes) in 2.5% NaClO solution with the surfactant Tween 20. All explants were previously immersed in 70% alcohol for 1 minute and subsequently in a fungicide solution for 5 minutes. The experiment was conducted in a completely randomized design and evaluated 30 days after *in vitro* introduction. The variables analyzed were: survival percentage (SP), oxidation percentage (OP), contamination percentage by fungi and/or bacteria (C), and *in vitro* establishment percentage (EP). According to the results obtained and the analysis of variance performed, no statistically significant difference was observed among the treatments tested, based on the F-test at 5% significance. Thus, it is concluded that, for the applied methodology, immersion time in 2.5% sodium hypochlorite does not influence the *in vitro* establishment of teak explants.

Keywords: *In vitro* Establishment; Micropropagation; Disinfestation; Contamination; Tissue Culture.

RESUMEN

Tectona grandis L.f., conocida popularmente como teca, es una especie forestal de gran importancia económica, utilizada para diversos fines debido a su ligereza, durabilidad y alta resistencia a patógenos y condiciones ambientales adversas. La micropropagación es una técnica muy eficiente para la multiplicación rápida y a gran escala de esta y muchas otras especies, siendo la etapa de desinfección fundamental para el éxito del establecimiento *in vitro*. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del tiempo de inmersión en una solución de hipoclorito de sodio al 2,5% en la obtención de explantes asépticos, con el fin de lograr un establecimiento adecuado en medio de cultivo. Los tratamientos consistieron en cuatro tiempos de inmersión diferentes (0, 5, 10 y 15 minutos) en una solución de NaClO al 2,5% con el surfactante Tween 20. Todos los explantes fueron previamente sumergidos en alcohol al 70% durante 1 minuto y, posteriormente, en una solución fungicida durante 5 minutos. El experimento se realizó en un diseño completamente al azar y se evaluó a los 30 días después de la introducción *in vitro*. Las variables analizadas fueron: porcentaje de supervivencia (PS), porcentaje de oxidación (PO), porcentaje de contaminación por hongos y/o bacterias (C) y porcentaje de establecimiento *in vitro* (PE). De acuerdo con los resultados obtenidos y el análisis de varianza realizado, no se observó diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos probados, con base en la prueba F al 5% de significancia. Por lo tanto, se concluye que, según la metodología aplicada, el tiempo de inmersión en hipoclorito de sodio al 2,5% no influye en el establecimiento *in vitro* de explantes de teca.

Palabras clave: Establecimiento *in vitro*; Micropropagación; Desinfestación;

Contaminación; Cultivo de Tejidos.

1 INTRODUÇÃO

A Teca (*Tectona grandis* L.f.) é uma espécie asiática arbórea da família Lamiaceae, decídua e produz uma madeira de grande beleza, leveza e resistência à ataques de patógenos como cupins e fungos, possui cor castanho-dourada, sendo utilizada para diversas finalidades, como construções navais e construções em geral, além de ser usada em interiores e mobiliários de luxo (Quiala *et al.*, 2012; Gilio *et al.*, 2021).

Devido às suas características, o interesse por seu uso no reflorestamento comercial visando a produção madeireira é crescente e de grande importância por proporcionar um aumento na disponibilidade madeireira de qualidade, reduzindo a pressão em explorar espécies em florestas nativas (Raposo *et al.*, 2010; Ibá, 2023).

Para que uma espécie seja utilizada no reflorestamento comercial é necessário ser possível realizar a produção de suas mudas em larga escala e as mudas de Teca, quando de origem seminal, são produzidas a partir do plantio do fruto inteiro, uma vez que as sementes presentes em seu interior são muito pequenas e delicadas e isso acaba dificultando sua propagação direta (Fernandes *et al.*, 2011; Takizawa *et al.*, 2022). No entanto, ainda segundo Fernandes, esta forma de produção é pouco eficiente, já que a quantidade de sementes produzida é reduzida, refletindo nas baixas taxas de germinação, que variam entre 20% e 25%, além disso, por serem originadas a partir de reprodução sexuada, as mudas seminais podem não ser a melhor estratégia quando o objetivo é plantio comercial, pois podem dar origem à plantios desuniformes (Ferreira *et al.*, 2016).

Para a obtenção de uma grande quantidade de mudas, em um curto espaço de tempo, é possível utilizar as técnicas da propagação vegetativa, sendo a micropropagação *in vitro* a que se destaca, pois ela possibilita a propagação de espécies de importância econômica e científica na formação de mudas saudáveis em qualquer época do ano, em curto espaço de tempo, clonando mudas de difícil enraizamento, entre outras vantagens (Oliveira *et al.*, 2011; Borges, 2016).

A micropropagação possui várias etapas e entre elas estão as de desinfestação e estabelecimento dos explantes, sendo fases essenciais, pois o não estabelecimento

impossibilita a continuidade dos processos desta técnica, porém existe uma escassez de informações relacionadas à micropropagação *in vitro* da Teca, pois, apesar de já existirem plantios de mudas clonadas desta espécie no Brasil, os estudos de micropropagação desses genótipos estabelecidos não são divulgados (Fermino Junior *et al.*, 2009; Ansiliero *et al.*, 2020).

Por esta razão, com este estudo, objetiva-se avaliar a eficácia do hipoclorito de sódio 2,5% como agente de desinfestação para o estabelecimento *in vitro* de explantes de Teca.

2 METODOLOGIA

Para este estudo foram utilizados como explantes os segmentos apicais de mudas de *T. grandis* provenientes do mini jardim clonal do viveiro da faculdade de engenharia florestal da UFMT, que foram coletados e levados ao laboratório de biotecnologia florestal em caixa térmica para reduzir danos por perda de umidade.

Já no laboratório, os explantes foram submetidos a limpeza superficial utilizando água corrente e detergente neutro para em seguida serem levados à câmara de fluxo laminar previamente desinfestada. Os explantes foram imersos em álcool etílico 70% por um minuto, seguido pela desinfestação com solução de hipoclorito de sódio (NaClO) 2,5% acrescido de detergente Twin 20 (quatro gotas a cada 100 ml) para quebra da tensão superficial e, em seguida, lavados com água destilada autoclavada por seis vezes para posterior imersão em fungicida sistêmico por cinco minutos antes da introdução em tubo de ensaio.

Os tratamentos são constituídos de quatro diferentes tempos de imersão na solução de NaClO 2,5% com Twin 20 (0, 5, 10 e 15 minutos, sendo denominados testemunha (T0), tratamento 1 (T5), tratamento 2 (T10) e tratamento 3 (T15), respectivamente), com quatro repetições de oito explantes cada, perfazendo um total de 128 explantes.

O tratamento testemunha, que não foi exposto ao desinfestante NaClO, também não foi imerso na solução de fungicida. Após a desinfestação, as gemas apicais de cada explante foram removidas e introduzidas em tubos de ensaio contendo 10 ml de meio de cultura MS (Murashige; Skoog, 1962).

Após a introdução, os tubos de ensaio foram transferidos para sala de crescimento e inicialmente mantidos em condição de escuro por sete dias e posteriormente submetidos a um fotoperíodo de 16 horas de luz e 8 horas de escuro.

As avaliações foram feitas aos 30 dias após a introdução *in vitro* e as variáveis analisadas foram: porcentagem de sobrevivência (PS), sendo considerados sobreviventes os explantes que mantiveram coloração esverdeada; porcentagem de estabelecimento *in vitro* (PE), sendo avaliados como estabelecidos aqueles explantes que demonstraram a capacidade de produzir novas folhas e nós; porcentagem de oxidação (PO), sendo considerados oxidados os explantes que apresentaram coloração marrom; e porcentagem de contaminação (C), sendo contabilizados aqueles explantes cujo meio de cultura apresentava fungos e/ou bactérias.

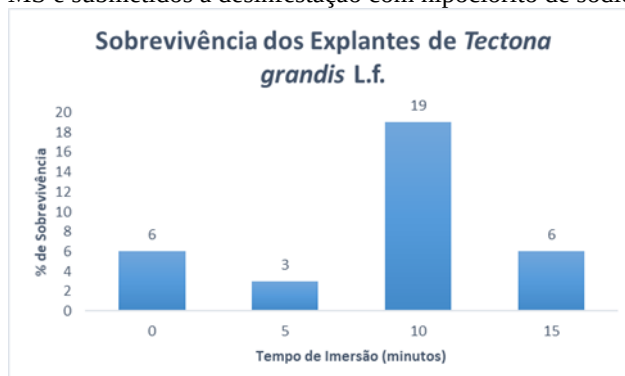
Os dados foram submetidos a Análise de Variância (ANOVA) e ao teste de Tukey a 5% de significância por meio do software R 4.2.0.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados obtidos através da Análise de Variância mostram que não houve diferença estatística, com base no Teste F à 5% de significância, entre os tratamentos, incluindo a testemunha, para cada variável analisada, sendo que os P-Valor de cada tratamento foram: Porcentagem de Sobrevivência: 0.10339, Porcentagem de Estabelecimento: 0.42622, Porcentagem de Oxidação: 0.42622 e Porcentagem de Contaminação: 0.18904.

Os resultados obtidos pela avaliação de cada variável podem ser observados nos gráficos, sendo que a maior porcentagem de sobrevivência é constatada no tratamento 2 (10 minutos de imersão em hipoclorito), apesar de não haver diferença significativa entre os tratamentos para essa variável (Figura 1).

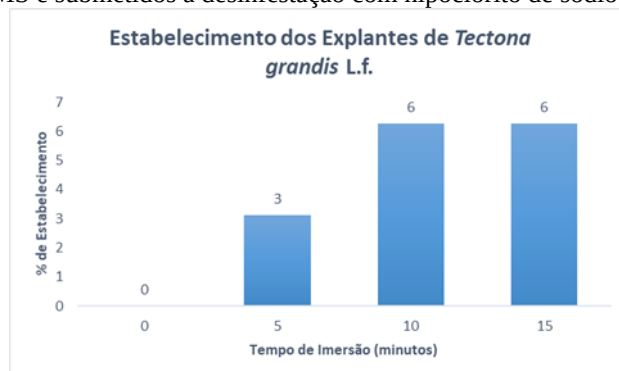
Figura 1 – Porcentagem de explantes de *Tectona grandis* L.f. sobreviventes aos 30 dias após introdução *in vitro* em meio MS e submetidos a desinfestação com hipoclorito de sódio (NaClO) a 2,5%.



Fonte: autor, 2022

Pode-se observar que no tratamento em que não houve desinfestação com hipoclorito de sódio 2,5% (testemunha) não ocorre estabelecimento de explantes *in vitro* (Figura 2).

Figura 2 – Porcentagem de explantes de *Tectona grandis* L.f. estabelecidos aos 30 dias após introdução *in vitro* em meio MS e submetidos a desinfestação com hipoclorito de sódio (NaClO) a 2,5%.



Fonte: autor, 2022

Os tratamentos que obtiveram melhores respostas para a variável de estabelecimento *in vitro* (PE) foram os tratamentos com maior tempo de imersão (T10 e T15). Neste trabalho, a oxidação pode ser visualizada apenas no tratamento 3, onde 3% dos explantes sofreram o processo (Figura 3).

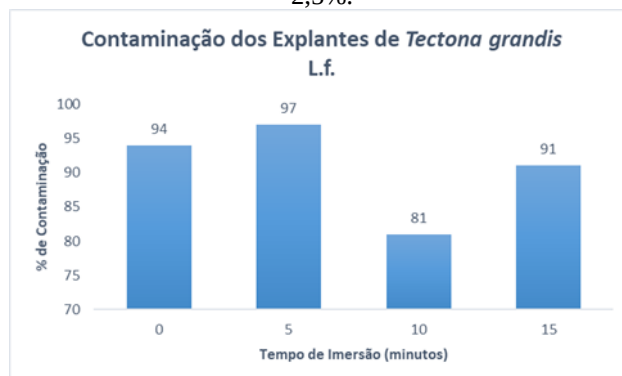
Figura 3 – Porcentagem de explantes de *Tectona grandis* L.f. oxidados aos 30 dias após introdução *in vitro* em meio MS e submetidos a desinfestação com hipoclorito de sódio (NaClO) a 2,5%.



Fonte: autor, 2022

É possível observar também que o tratamento 2 proporcionou um menor nível de contaminação por fungos e/ou bactérias em relação aos demais tratamentos, porém, estatisticamente, essa diferença não é significativa (Figura 4).

Figura 4 – Porcentagem de explantes de *Tectona grandis* L.f. que apresentaram contaminação aos 30 dias após introdução *in vitro* em meio MS e submetidos a desinfestação com hipoclorito de sódio (NaClO) a 2,5%.



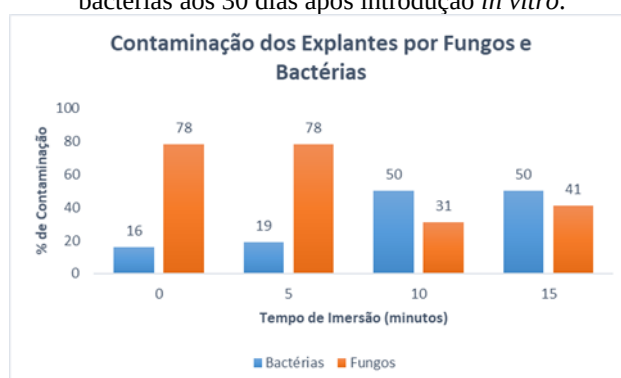
Fonte: autor, 2022

De acordo com Erig e Schuch (2005), a sobrevivência do explante pode ser observada pela coloração verde apresentada pelo segmento, porém nem sempre a porcentagem de sobrevivência é um indicativo de que haverá um estabelecimento de mudas a partir destes explantes. É possível que o explante apresente a coloração esverdeada (vivo), porém não seja capaz de produzir folhas e brotos, ou seja, não se estabelece *in vitro*. Uma das justificativas para tal fato pode ser o grau de desenvolvimento das gemas dos explantes.

De acordo com Grattapaglia e Machado (1998), a oxidação de espécies lenhosas é um grande problema para o estabelecimento *in vitro*, pois possuem tecidos ricos em compostos fenólicos que são os precursores da síntese de lignina e segundo Taiz e Zaiger (2017), a oxidação está relacionada a estimulação da fenilalanina amonialiase, cuja função é a formação de compostos fenólicos em resposta ao estresse que o tratamento asséptico causa ao explante, que já está com ferimentos relativos aos cortes sofridos durante a preparação. Araújo et. al. (2012) em seu trabalho com desinfestação de explantes de *Myrciaria dubia* (Kunth) Mc Vaugh utilizando hipoclorito de sódio, também observaram que quanto maior o tempo de imersão dos explantes no desinfestante, maior foi a porcentagem de oxidação. Almeida et. al. (2008) citam que um dos fatores que possivelmente contribui para essa variação seja o lento manuseio dos explantes dentro da câmara de fluxo.

É possível observar na Figura 4 que o tratamento 2 proporcionou um menor nível de contaminação por fungos e/ou bactérias em relação aos demais tratamentos. Além disso, nota-se a redução na contaminação fúngica nos tratamentos com maior tempo de imersão no desinfestante comparado à testemunha e ao tratamento de menor tempo de imersão (Figura 5), isso se dá possivelmente por estes microorganismos se encontrarem na região superficial do explante, facilitando a desinfestação pelo hipoclorito de sódio (Souza et. al., 2006).

Figura 5 – Gráfico da porcentagem de explantes de *Tectona grandis* L.f. contaminados por fungos e bactérias aos 30 dias após introdução *in vitro*.



Fonte: autor, 2022

Em relação à contaminação bacteriana, observa-se um aumento na porcentagem de contaminação nos tratamentos com maior tempo de imersão em NaClO (T10 e T15),

demonstrando que o hipoclorito de sódio apresentou pouca eficácia no controle da contaminação por bactérias em propágulos de Teca para a metodologia utilizada no presente estudo, indicando a necessidade de mais estudos para o desenvolvimento de uma metodologia mais eficiente para assepsia desta espécie. A dificuldade em definir uma metodologia de desinfestação eficaz para espécies lenhosas é relatada e discutida por diversos autores, principalmente pois microorganismos de origem endógena são de difícil desinfestação (Fior *et al.* 2007; Biasi *et al.* 1994; Rodrigues *et al.* 1996; Palu *et al.*, 2011).

4 CONCLUSÃO

Com base na metodologia aplicada neste estudo, pode-se concluir que o hipoclorito de sódio a 2,5%, utilizado por um período de imersão de 15 minutos, não apresentou influência estatisticamente significativa no estabelecimento *in vitro* de *Tectona grandis*.

Apesar de ser um agente desinfestante amplamente utilizado em protocolos de cultura de tecidos, sua eficácia pode variar conforme a espécie e as condições de cultivo. No caso da Teca, os resultados sugerem que as concentrações e tempos de imersão avaliados não são suficientes para garantir a eliminação completa de contaminantes.

Assim, outras combinações de concentração e tempo, ou a utilização de agentes complementares, podem ser necessárias para melhorar a assepsia.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, J. R.; MARTINS, C. R.; DUTRA, L. F. **Desinfestação de segmentos nodais de *Eucalyptus dunnii* visando estabelecimento *in vitro***. Revista da FZVA, v. 15, n. 1, p. 54-60, 2008.
- ANSILIERO, R. *et al.* **Avaliação do potencial de desenvolvimento *in vitro* de sementes de *Calendula officinalis* em meio de cultura MS**. Evidência: Biociência, Saúde e Inovação, Joaçaba, v. 20, n. 2, p. 103-110, jul./dez. 2020.
- ARAÚJO, M. da C. R.; CASTRO, A. de; CHAGAS, E. A.; SILVA, L. M. da; CANEIRO, M. A.; FLORES, P. S. **Uso de antibióticos no controle da contaminação *in vitro* de segmentos caulinares de camu-camuzeiro**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 22., 2012, Bento Gonçalves. Anais [...]. Bento Gonçalves: SBF, 2012.

BIASI, L. A.; KOLLER, O. C.; KÄMPF, A. N. **Micropropagação do abacateiro Ouro Verde a partir de segmentos nodais**. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 29, n. 7, p. 1051-1058, 1994.

BORGES, A. L. **Cultivo de plátanos (bananeiras tipo terra)**. Cruz das Almas: EMBRAPA Mandioca e Fruticultura, 2016. (Sistemas de Produção, 42). ISSN 1678-8796. Disponível em: https://www.spo.cnptia.embrapa.br/conteudo?p_r_p_-76293187_sistemaProducaoId=8701&p_r_p_-996514994_topicoId=9901. Acesso em: 3 fev. 2025.

ERIG, X. C.; SCHUCH, M. W. **Estabelecimento *in vitro* de mirtilo a partir de segmentos nodais**. Scientia Agrária, v. 6, n. 1-2, p. 91-96, 2005.

FERMINO JUNIOR, P. C. P.; NAGAO, E. O.; PEREIRA, J. E. S. **Estabelecimento, germinação e multiplicação *in vitro* de teca (*Tectona grandis* L.f.) a partir de genótipos da Amazônia Sul Ocidental**. Scientia Forestalis, Piracicaba, v. 37, n. 84, p. 427-435, dez. 2009.

FERNANDES, D. A.; SOUZA, R. S.; COSTA, R. B. **Cultivo *in vitro* de teca (*Tectona grandis* L.f.): uma revisão**. Revista de Agricultura, v. 86, n. 1, p. 32-46, 2011.

FERREIRA, R. Q. *et al.* **Choque térmico na superação da dormência de diásporos de *Tectona grandis* L. f.** Scientia Plena, v. 12, n. 3, 2016. DOI: 10.14808/sci.plena.2016.030201. Disponível em: <https://www.scienciaplena.org.br/sp/article/view/2602>. Acesso em: 10 abr. 2025.

FIOR, C. S. *et al.* **Aspectos da propagação de *Persea wilddenovii* Losterm. (Lauraceae)**. Rodriguésia, v. 58, n. 1, p. 27-34, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1590/2175-7860200758104>.

GILIO, C. G. *et al.* **Produção de painéis aglomerados empregando seringueira, teca e poliuretano derivado de óleo de mamona**. Revista Principia, n. 57, p. 86-97, 2021. DOI: 10.18265/1517-0306a2021id5825. Disponível em: <https://periodicos.ifpb.edu.br/index.php/principia/article/view/5825>. Acesso em: 2 abr. 2025.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. **Micropropagação**. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (org.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília, DF: Embrapa, 1998. v. 1, p. 99-169.

IBÁ – INDÚSTRIA BRASILEIRA DE ÁRVORES. **Anuário Estatístico IBÁ 2023**. Brasília: IBÁ, 2023. Disponível em: <https://www.iba.org/datafiles/publicacoes/relatorios/relatorio-anual-iba2023-r.pdf>. Acesso em: 3 fev. 2025.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. **A revised medium for rapid growth and bioassays with tissue cultures**. Physiologia Plantarum, Copenhagen, v. 15, p. 473-497, 1962.

OLIVEIRA, M. L. *et al.* **Efeitos do meio de cultura e da relação BAP/ANA na multiplicação *in vitro* de clones de *Eucalyptus grandis* × *E. urophylla* em biorreator de imersão temporária.** Revista Árvore, v. 35, n. 6, p. 1207-1217, 2011.

PALU, E. G. *et al.* **Uso de antibióticos para o controle de bactérias endógenas visando à micropropagação da figueira.** Revista Brasileira de Fruticultura, v. 33, p. 587-592, 2011.

QUIALA, E. *et al.* **Morphological and physiological responses of proliferating shoots of teak to temporary immersion and BA treatments.** Plant Cell, Tissue and Organ Culture, Dordrecht, v. 109, n. 1, p. 223-234, 2012.

RAPOSO, A. *et al.* **Produção de mudas de teca por micropropagação.** Rio Branco, AC: Embrapa Acre, 2010. (Circular Técnica, 56).

RODRIGUES, L. R. *et al.* **Técnicas de asepsia en la micropropagación del aguacate (*Persea americana* Mill.).** Proceedings of the Interamerican Society for Tropical Horticulture, v. 40, p. 195-199, 1996.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal.** 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.

TAKIZAWA, F. H. *et al.* **Teca: do plantio à colheita.** Viçosa: Editora UFV, 2022. 344 p.