

CONSERVAÇÃO *IN VITRO* DE ACESSOS DE VETIVER, *Chrysopogon zizanioides* (L.) ROBERTY (Poaceae)

IN VITRO CONSERVATION OF VETIVER ACCESSIONS, *Chrysopogon zizanioides* (L.) ROBERTY (Poaceae)

**Thatiana Carvalho SANTOS¹; Maria de Fátima ARRIGONI-BLANK²;
Arie Fitzgerald BLANK²; Marina Mesquita Lopes de Azevedo MENEZES³**

1. Mestre em Biotecnologia em Recursos Naturais, Universidade Federal de Sergipe - UFS, São Cristóvão, SE, Brasil, thati.carvalho@gmail.com; 2. Professor, Doutor, Departamento de Engenharia Agrônômica – UFS, São Cristóvão, SE, Brasil; 3. Graduanda do Departamento de Engenharia Agrônômica - UFS, São Cristóvão, SE, Brasil.

RESUMO: O vetiver [*Chrysopogon zizanioides* (L.) Roberty] é um capim perene pertencente à família Poaceae, cujo óleo essencial extraído das raízes é utilizado amplamente na produção de perfumes. A manutenção de coleções *in vitro* tem sido considerada como um método alternativo à conservação de germoplasma especialmente para espécies propagadas vegetativamente. O objetivo desse trabalho foi avaliar diferentes meios de cultura e duas condições de temperatura (18° e 25° C) em acessos de vetiver para a obtenção de um protocolo da conservação *in vitro* sob crescimento lento. Os ensaios foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado, e foram testados o inibidor de crescimento ABA e diferentes concentrações de sais MS, em três acessos de vetiver (UFS-VET001, UFS-VET002 e UFS-VET003). Os três acessos de vetiver podem ser conservados sob o regime de crescimento lento por um período de 270 dias reduzindo-se a concentração dos sais MS a 25% de sua concentração normal, na temperatura de 18°C.

PALAVRAS-CHAVE: *Chrysopogon zizanioides* (L.) Roberty. Inibidor de crescimento. Crescimento lento.

INTRODUÇÃO

O cultivo do capim vetiver vem aumentando significativamente em diversos países de regiões tropicais e subtropicais, inclusive no Brasil. Os interesses em torno dessa planta são amplos, porém dentre sua principal utilização está a extração de um óleo essencial de suas raízes de grande importância econômica, sendo este uma mistura complexa de alcoóis e sesquiterpenos hidrocarbonetos, possuindo alta viscosidade e uma taxa extremamente lenta de volatilidade e por isso é utilizado como um dos melhores fixadores de odor na indústria de perfumaria (LAVANIA, 2003; MASSARDO et al., 2006). Também é utilizado como flavorizantes e conservantes de alimentos (NRC, 1993), inseticida e repelência de insetos (MAISTRELLO; HENDERSON, 2000), cupinicida (ZHU et al., 2001), antimicrobiana e antioxidante (KIM et al., 2005), anti-hipertensivas leves, diuréticas e contra queda de cabelos (ALENCAR et al., 2005).

Por possuir perfilhação abundante, raízes numerosas e longas e propagação vegetativa, pode ser utilizado de forma segura na recuperação de áreas degradadas e solos e águas contaminados. Além do que, a parte aérea (colmos e folhas) é usada para fabricação de artesanato e cobertura do solo e suas raízes, como repelente natural (CASTRO; RAMOS, 2002; ADAMS et al., 2004).

A conservação *in vitro* de germoplasma constitui-se numa ferramenta auxiliar na conservação de recursos genéticos especialmente para espécies propagadas vegetativamente, como é o caso do vetiver. O método de conservação *in vitro* obtido via meio de cultura para crescimento lento envolve a manutenção de plantas em laboratório sob metabolismo reduzido, mediante subculturas periódicas (SOUZA et al., 2009). A utilização dessa técnica permite aumentar ao máximo os intervalos entre os subcultivos ou estende-os indefinidamente, sem afetar a viabilidade das plantas proporcionando a redução dos custos da mão de obra e da manutenção do material genético (ROCA et al., 1991; MOOSIKAPALA; TE-CHATO, 2010). Dentre as principais estratégias para limitar o crescimento das plantas *in vitro* está a redução da temperatura e a intensidade luminosa, redução nas concentrações de sais do meio de cultura ou até omissão de elementos nutritivos e adição de inibidores de crescimento como o ácido abscísico (ABA) (MOOSIKAPALA; TE-CHATO, 2010).

O uso de baixas temperaturas no cultivo *in vitro* reduz a ação de enzimas (LEMONS et al., 2002), provocando a diminuição da velocidade de reações químicas vitais das plantas, além de tornar as membranas mais rígidas, sendo necessária maior quantidade de energia para ativar processos bioquímicos (LARCHER, 2006). Dessa forma há

uma redução do metabolismo geral das plantas. Para culturas de clima tropical podem-se utilizar temperaturas entre 15 e 25°C quando o objetivo é reduzir o crescimento das plantas cultivadas *in vitro* (WITHERS, 1991).

O ácido abscísico (ABA) é utilizado como retardante de crescimento, visto que controla o início e a manutenção da dormência em gemas e sementes (TAIZ; ZEIGER, 2006), assim como a redução das concentrações de sais do meio de cultivo pode ser bastante eficiente quando combinada com a redução de temperatura (MOOSIKAPALA; TE-CHATO, 2010). O sucesso da tecnologia de crescimento lento requer o desenvolvimento de protocolos específicos para cada tipo de espécie, acessos e explantes (WATT et al., 2004). Portanto são necessários procedimentos eficazes para cada um deles.

Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi desenvolver protocolo de conservação *in vitro* via crescimento lento de acessos de vetiver.

MATERIAL E MÉTODOS

Para os ensaios de conservação *in vitro* foram utilizados os seguintes acessos de vetiver provenientes do Banco Ativo de Germoplasma (BAG) da Universidade Federal de Sergipe: UFS-VET001, UFS-VET002, UFS-VET003. As excisas estão depositadas no herbário dessa mesma Universidade (ASE) sob os seguintes números de registro 13437, 13504, 13505 respectivamente.

Os ensaios foram conduzidos no Laboratório de Cultura de Tecidos e Melhoramento Vegetal do Departamento de Engenharia Agrônômica (DEA) da Universidade Federal de Sergipe (UFS).

Em todos os ensaios o pH do meio de cultura foi ajustado para $5,7 \pm 0,1$ e submetido a autoclavagem ($121 \pm 1^\circ\text{C}$ e 1,05 atm) por 15 minutos. As culturas foram mantidas em sala de crescimento com temperatura controlada de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas de luz e intensidade luminosa de $60 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ou em BOD à temperatura de 18°C.

O meio de cultura utilizado para os ensaios foi MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), suplementado com 7 g.L^{-1} de agar. Foi acrescido ao meio de cultura em todos os tratamentos 10 g.L^{-1} de sacarose, 5 g.L^{-1} de sorbitol, $0,002 \text{ mg.L}^{-1}$ de ANA e $0,2 \text{ mg.L}^{-1}$ de BAP. Foram utilizados como explantes brotações com 2-3 cm de comprimento de plantas já estabelecidas *in vitro*. Foi inoculada uma brotação/tubo de ensaio, contendo 15 mL de meio de cultura.

Os valores obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste F e quando significativos, as médias foram comparados pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Ensaio 1: Conservação de acessos de vetiver utilizando ácido abscísico e diferentes temperaturas

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial $5 \times 3 \times 2$, sendo cinco concentrações de ácido abscísico (0,25; 0,5; 1,0; 1,5 e $2,0 \text{ mg.L}^{-1}$), três acessos (UFS-VET001, UFS-VET002 e UFS-VET003) e duas condições de temperatura (18° e 25° C). Cada tratamento foi constituído por quatro repetições, sendo cada repetição representada por quatro tubos de ensaio com uma brotação de vetiver cada. Aos 90 e 180 dias de cultivo foram avaliadas a sobrevivência (%) dos explantes e a viabilidade de acordo com a seguinte escala de notas para coloração de folhas: 1 = folhas totalmente verde; 2 = início do secamento das folhas; 3 = entre 30 e 50 % de folhas mortas; 4 = mais de 50% de folhas mortas; 5 = folhas totalmente mortas; e para tamanho das folhas: 1 = do mesmo tamanho inoculado (2-3 cm), 2 = até o dobro do tamanho inoculado e 3 = mais que o dobro do tamanho inoculado (Adaptado de LEMOS et al., 2002).

Ensaio 2: Conservação de acessos de vetiver utilizando diferentes concentrações de sais de MS

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 4×3 , sendo quatro concentrações de sais do meio MS (100%, 75%, 50% e 25% dos sais) e três acessos (UFS-VET001, UFS-VET002 e UFS-VET003). Cada tratamento foi constituído por seis repetições, sendo cada repetição representada por cinco tubos de ensaio com uma brotação cada. Esse ensaio foi mantido na temperatura de 18°C em BOD. Aos 90, 180 e 270 dias de cultivo foi avaliada a sobrevivência (%) e viabilidade dos explantes de acordo com a escala de notas do ensaio anterior.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ensaio 1

Os diferentes acessos utilizados no ensaio tiveram influência significativa em todas as variáveis analisadas. Para a variável sobrevivência (%) e coloração de folhas, o acesso UFS-VET002 apresentou melhores resultados quando comparado com o UFS-VET001 e UFS-VET003 (Tabela 1). Para tamanho de folhas, o acesso UFS-VET003 apresentou as menores médias, significando que foi

o que menos cresceu no período de 90 dias. Porém, vale ressaltar que a taxa de sobrevivência desse acesso foi inferior a 50% e a média de notas para a coloração de folhas foi próxima de 4, indicando

mais de 50% das folhas mortas. Dessa forma, sugere-se que as plantas desse acesso tenham morrido primeiro que as dos demais, antes mesmo de crescer (Tabela 1).

Tabela 1. Sobrevivência (%), coloração e tamanho de folhas de vetiver (*C. zizanioides*) em função dos diferentes acessos aos 90 dias de cultivo. São Cristovão, UFS, 2011.

Acesso	Sobrevivência (%)	Coloração (notas 1 a 5)*	Tamanho (notas 1 a 3)*
UFS-VET001	42,50 b	4,04 b	1,76 b
UFS-VET002	67,50 a	3,68 a	1,76 b
UFS-VET003	43,75 b	3,98 b	1,53 a
Temperatura (°C)			
18	78,75 a	3,06 a	1,51 a
25	23,75 b	4,75 b	1,85 b
CV (%)	48,90	13,63	8,16

*Médias seguidas das mesmas letras minúsculas nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). *Coloração de folhas: 1 = folhas totalmente verde; 2 = início do secamento das folhas; 3 = entre 30 e 50 % de folhas mortas; 4 = mais de 50% de folhas mortas; 5 = folhas totalmente mortas. Tamanho das folhas: 1 = do mesmo tamanho inoculado (2-3 cm), 2 = até o dobro do tamanho inoculado e 3 = mais que o dobro do tamanho inoculado.

A análise de variância não evidenciou diferenças significativas para a interação temperatura x acessos x tratamentos para nenhuma das variáveis analisadas. A interação acesso x temperatura só foi significativa para as variáveis sobrevivência e tamanho de folhas (Tabela 2), enquanto que a interação tratamento x temperatura só foi verificada para a variável tamanho de folhas (Tabela 3).

A temperatura de 18°C apresentou resultados mais significativos em relação a 25°C para a variável sobrevivência nos três acessos. Para a variável, tamanho de folhas ocorreu significância entre os tratamentos com exceção do acesso UFS-VET002 que não apresentou diferenças estatísticas entre as temperaturas de 18 e 25°C (Tabela 2).

Dentro da temperatura de 18°C, o UFS-VET002 e UFS-VET003 não diferiram entre si quanto às taxas de sobrevivência, sendo elas 95 e 78,75% respectivamente, e, se mostraram superior ao UFS-VET001. Quanto ao tamanho das folhas, o UFS-VET001 e UFS-VET003 apresentaram notas menores que o UFS-VET002, indicando que aqueles acessos cresceram menos durante o período de 90 dias (Tabela 2).

Fica evidente que sob a temperatura de 25°C as plantas obtiveram uma queda brusca em suas taxas de sobrevivências, acarretando uma elevação na escala de notas em relação ao tamanho das folhas indicando que essa temperatura não é viável para a conservação das microplantas de vetiver (Tabela 2).

Tabela 2. Sobrevivência (%) e tamanho de folhas de vetiver (*C. zizanioides*) em função da interação acessos x temperatura aos 90 dias de cultivo. São Cristovão, UFS, 2011.

Acessos	Temperatura (°C)	
	18	25
Sobrevivência (%)		
UFS-VET001	62,50 bA	22,50 abB
UFS-VET002	95,00 aA	40,00 aB
UFS-VET003	78,75 abA	8,75 bB
CV (%)	48,50	
Tamanho de folhas (notas 1 a 3)*		
UFS-VET001	1,44 aA	2,09 bB
UFS-VET002	1,70 bA	1,81 abA
UFS-VET003	1,40 aA	1,66 aB
CV (%)	8,16	

*Médias seguidas das mesmas letras minúsculas, nas colunas e maiúsculas, nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). *Tamanho das folhas: 1 = do mesmo tamanho inoculado (2-3 cm), 2 = até o dobro do tamanho inoculado e 3 = mais que o dobro do tamanho inoculado.

O tamanho das folhas também foi influenciado significativamente pela interação entre as concentrações de ácido abscísico e temperatura. Reforçando os resultados anteriores, a temperatura

de 18°C foi a melhor condição de cultivo, com exceção do tratamento que continha 1,0 e 1,5 mg.L⁻¹ de ABA, que não apresentou diferenças estatísticas entre 18 e 25°C (Figura 3).

Tabela 3. Tamanho de folhas de vetiver (*C. zizanioides*) em função da interação tratamento x temperatura aos 90 dias de cultivo. São Cristóvão, UFS, 2011.

Ácido abscísico (mg.L ⁻¹)	Tamanho das folhas (notas 1 a 3)*	
	Temperatura (°C)	
	18	25
0,25	1,75 bA	2,21 cB
0,50	1,69 bA	2,06 bcB
1,00	1,58 abA	1,69 abA
1,50	1,25 aA	1,35 aA
2,00	1,29 aA	1,96 bcB
CV(%)	8,16	

*Médias seguidas das mesmas letras minúsculas, nas colunas e maiúsculas, nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). *Tamanho das folhas: 1 = do mesmo tamanho inoculado (2-3 cm), 2 = até o dobro do tamanho inoculado e 3 = mais que o dobro do tamanho inoculado.

Dentro da temperatura de 18°C, os menores tamanhos de folhas foram obtidos nas concentrações de 1,0; 1,5 e 2,0 mg.L⁻¹ de ABA. Nesses tratamentos as notas das médias foram inferiores a 2, indicando que os explantes não chegaram a atingir o dobro do tamanho do inoculado, ou seja 6 cm.

A redução de temperatura é comumente utilizada como estratégia para conservação sob crescimento lento, em alguns casos associada à adição de retardantes de crescimento. A cana de açúcar, quando conservada sob a condição de temperatura reduzida (15°C) associada ao uso das concentrações de 1,0 mg.L⁻¹ de ácido abscísico e de 20 g.L⁻¹ de sacarose demonstrou que os brotos permaneceram viáveis por um ano no mesmo meio de cultura, sem a necessidade de serem subcultivados (LEMOS et al., 2002).

O patchouli [*Pogostemon cablin* (Blanco) Benth] também apresentou melhor desempenho em sua conservação quando o uso do ABA foi associado à temperatura de 18°C (SANTOS, 2010). A conservação de microplantas de mandioca (*Manihot esculenta*) foi possível quando foram utilizados 5,3 e 7,9 mg.L⁻¹ de ABA, por um período de 90 dias sem afetar o seu crescimento subsequente (CID; CARVALHO, 2008). Microestacas de mangabeira foram conservadas por 90 dias, em frascos vedados com papel alumínio, quando adicionado ao meio de cultivo 0,5 mg.L⁻¹ de ABA (SÁ, 2009). A adição de 2 a 3 mg.L⁻¹ de ABA no meio de cultivo promoveu redução do crescimento de parte aérea do coqueiro anão de Jiqui do Brasil por um período de 270 dias e promoveu a maior

viabilidade das plantas para a retomada de crescimento (LEDO et al., 2008).

Aos 180 dias de conservação, foi verificada uma brusca diminuição na taxa de sobrevivência das microplantas em todos os genótipos de vetiver e tratamentos utilizados. Não sendo os resultados satisfatórios para esse período de conservação.

Ensaio 2

A análise de variância registrou diferenças significativas para os resultados das fontes de variação (acessos e diferentes concentrações de sais MS) de forma isolada para as três variáveis (sobrevivência, coloração e tamanho das folhas) nas avaliações realizadas aos 90 e 270 dias e para as variáveis coloração e tamanho de folhas na avaliação aos 180 dias.

Nas diferentes concentrações de sais MS, aos 90 dias de cultivo, para a variável sobrevivência e coloração de folhas, os tratamentos que continham 75, 50 e 25% de sais não diferiram estatisticamente entre si, sendo os valores acima de 90% para sobrevivência e a média das notas inferior a 2 para coloração, indicando apenas início do secamento das folhas. Ainda para essas variáveis, nas avaliações aos 180 e 270 dias, foi evidente o declínio das taxas de sobrevivência e o aumento nas médias para coloração em todos os tratamentos. Para esses períodos o tratamento que continha 25% dos sais MS se destacou com relação aos demais e aos 270 dias foi o que manteve taxa de sobrevivência favorável de 76,6% e nota de coloração indicando menos de 50% de folhas mortas (2,92). Aos 270 dias de avaliação não restou

nenhuma planta cultivada no tratamento contendo 100% dos sais MS (Tabela 4).

Tabela 4. Sobrevivência (%), coloração e tamanho de folhas de vetiver (*C. zizanioides*) em função de diferentes concentrações de sais do meio MS (%), aos 90, 180 e 270 dias de conservação *in vitro* sob crescimento lento. São Cristovão, UFS, 2011.

Meio MS (% sais)	Sobrevivência (%)	Coloração (notas 1 a 5)*		Tamanho (1 a 3)*
		90 dias		
100	62,7 b	3,35 b	1,77 a	
75	97,3 a	1,92 a	2,12 b	
50	93,3 a	1,83 a	1,84 ab	
25	98,7 a	1,87 a	1,76 a	
CV (%)	15,25	8,16	6,20	
----- 180 dias -----				
100	29,0 c	4,80 c	1,81 a	
75	85,3 ab	3,31 b	2,48 c	
50	78,7 b	3,27 b	2,04 ab	
25	97,3 a	2,65 a	2,09 b	
CV (%)	23,84	5,87	5,62	
----- 270 dias -----				
100	0,0 c	5,0 c	1,9 a	
75	28,3 b	4,5 bc	2,55 b	
50	41,6 b	4,1 b	2,28 b	
25	76,6 a	2,9 a	2,52 b	
CV (%)	49,86	6,07	4,95	

*Médias seguidas das mesmas letras minúsculas nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). *Coloração de folhas: 1 = folhas totalmente verde; 2 = início do secamento das folhas; 3 = entre 30 e 50 % de folhas mortas; 4 = mais de 50% de folhas mortas; 5 = folhas totalmente mortas. Tamanho das folhas: 1 = do mesmo tamanho inoculado (2-3 cm), 2 = até o dobro do tamanho inoculado e 3 = mais que o dobro do tamanho inoculado.

Para a cultura da pêra (*Pyrus* sp.), observaram-se também boas taxas de sobrevivência utilizando-se redução de sais, por um período de seis meses, sendo que após esse tempo, foi observada a morte das brotações devido a escassez de nutrientes no meio de cultivo. Para conservação por um período de 360 dias, o meio contendo maiores concentrações de sais foi o que proporcionou as melhores taxas de sobrevivência e regeneração (AHMED; ANJUM, 2010).

Aos 90 e 180 dias de cultivo os tratamentos apresentaram crescimento de folhas semelhantes nas diferentes concentrações de sais MS, com exceção do tratamento que continha 75% de sais MS que apresentou média superior aos demais (2,12 e 2,48 respectivamente) mostrando ter crescido mais do que o dobro do tamanho do explante inicial (6 cm). Apesar do tratamento que continha 100% de sais ter sido o que proporcionou as menores médias para o tamanho das folhas nas avaliações aos 180 e 270 dias (1,81 e 1,90 respectivamente), deve-se considerar as outras variáveis analisadas para os mesmos períodos, o que indica que logo após a primeira avaliação, aos 90 dias, as plantas já haviam

atingido quase que totalmente a morte. Os valores de sobrevivência e coloração das folhas para as avaliações aos 180 e 270 dias foram respectivamente, 29%; 4,8 e 0%; 5,0 (Tabela 4).

É importante salientar que as variáveis não podem ser analisadas separadamente. Deve-se considerar que são preferíveis plantas com notas baixas para a coloração, ou seja, mais verdes, mesmo que estas apresentem tamanho um pouco maior que o desejado, visto que a senescência não é desejável para a conservação sob regime de crescimento lento e as plantas precisam estar viáveis para retomarem seu crescimento quando for necessário.

Considerando as taxas de sobrevivência combinada com os valores das notas para a coloração e tamanho de folhas, aos 270 dias, o tratamento que proporcionou os explantes mais viáveis foi o que continha 25% dos sais do meio MS. Resultado diferente foi encontrado para a *Vriesea inflata* cultivada na temperatura de 15°C, onde foi possível a sua conservação por 24 meses em 50% das concentrações de sais MS (PEDROSO et al., 2010).

A redução das concentrações de sais do meio básico de cultivo é uma estratégia amplamente empregada para a conservação sob crescimento lento. Para o sucesso da técnica é necessário que as plantas conservadas estejam com vigor suficiente para restabelecer seu crescimento e potencial de propagação normal quando transferidas para o meio de propagação. Após os 270 dias de conservação, todos os acessos do tratamento contendo 25% dos

sais MS, restabeleceram seu crescimento quando colocados em condições normais de multiplicação *in vitro*.

A variável sobrevivência não foi influenciada pelos diferentes acessos utilizados nesse ensaio, porém, estes exerceram influência significativa na coloração e tamanho de folhas nos três períodos de avaliação (Tabela 5).

Tabela 5. Coloração e tamanho de folhas em função dos acessos de vetiver (*C. zizanioides*), aos 90, 180 e 270 dias de conservação sob crescimento lento. São Cristovão, UFS, 2011.

Acesso	Coloração (notas 1 a 5)*	Tamanho (1 a 3)*
----- 90 dias -----		
UFS-VET001	2,61 c	1,86 b
UFS-VET002	1,87 a	2,12 c
UFS-VET003	2,24 b	1,64 a
CV (%)	8,16	6,2
----- 180 dias -----		
UFS-VET001	4,08 b	2,04 a
UFS-VET002	3,12 a	2,28 b
UFS-VET003	3,32 a	2,00 a
CV (%)	5,87	5,62
----- 270 dias -----		
UFS-VET001	4,42 b	2,29 ab
UFS-VET002	3,87 a	2,47 b
UFS-VET003	4,07 ab	2,17 a
CV (%)	6,07	4,95

*Médias seguidas das mesmas letras minúsculas nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). *Coloração de folhas: 1 = folhas totalmente verde; 2 = início do secamento das folhas; 3 = entre 30 e 50 % de folhas mortas; 4 = mais de 50% de folhas mortas; 5 = folhas totalmente mortas. Tamanho das folhas: 1 = do mesmo tamanho inoculado (2-3 cm), 2 = até o dobro do tamanho inoculado e 3 = mais que o dobro do tamanho inoculado.

Aos 90 dias de avaliação, o acesso UFS-VET002 foi o que apresentou a menor média para coloração de folhas, sendo o acesso que apresentou mais partes verdes nos explantes. Aos 180 e 270 dias essas médias aumentaram, porém esse continuou sendo o acesso que melhor respondeu ao período de avaliação juntamente com UFS-VET003. Para o tamanho das folhas, aos 90 dias o UFS-VET003 apresentou o menor crescimento, essa tendência se manteve para a avaliação aos 180 e 270 dias, sendo que, nesse caso, suas médias não diferiram estatisticamente daquelas apresentadas pelo UFS-VET001. Analisando as duas variáveis conjuntamente, o acesso UFS-VET003, foi o que apresentou os resultados mais significativos para esse ensaio quando comparado ao UFS-VET001 e UFS-VET002 (Tabela 5). Rocha (2010) relata diferenças significativas entre espécies e gêneros em estudos com Bromeliaceae. Espécies e cultivares

possuem características genéticas próprias, dessa forma, o sucesso da tecnologia de crescimento lento requer o desenvolvimento de protocolos específicos para cada um deles (WATT et al., 2004).

No caso do vetiver, mesmo havendo diferenças entre os acessos nos resultados obtidos, ainda assim, o tratamento que continha 25% do sais MS foi o que apresentou os resultados mais satisfatórios. Dessa forma há uma redução de custos devido a quantidade reduzida de sais utilizada e uma otimização no trabalho de manutenção do banco de germoplasma, visto que o mesmo meio de cultura pode ser utilizado para os três acessos.

ABSTRACT: Vetiver [*Chrysopogon zizanioides* (L.) Roberty] is a perennial grass of the Poaceae family which essential oil extracted from the roots is widely used in the perfume industry. *In vitro* maintenance of collections has been considered as an alternative method for germplasm conservation, especially for species propagated vegetatively. The aim of this work was to evaluate different medium cultures and two temperatures (18° and 25°C) on vetiver accessions to establish a protocol for *in vitro* conservation, using the slow growth technique. The essays were conducted in a completely randomized design, and we tested the growth inhibitor ABA and different concentrations of MS salts on three vetiver accessions (UFS-VET001, UFS-VET002 and UFS-VET003). All the three vetiver accessions can be conserved by the slow growth technique for 270 days decreasing the MS salts in the medium to 25% strength and using the temperature of 18°C.

KEYWORDS: *Chrysopogon zizanioides* (L.) Roberty. Growth inhibitor. Slow growth.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, R. P.; HABTE, M.; PARK, S.; DAFFORN, M. R. Preliminary comparison of vetiver root essential oils from cleansed (bacteria- and fungus-free) versus non-cleansed (normal) vetiver plants. **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, v. 32, p. 1137-1144, 2004.
- AHMED, M.; ANJUM, M. A. *In vitro* storage of some pear genotypes with the minimal growth technique. **Turkish Journal Agriculture and Forestry**, Ankara, v. 34, p. 25-32, 2010.
- ALENCAR, R. G.; PRADO, C. C.; OLIVEIRA, L. M. G.; FREITAS, M. R. F.; SILVA, L. N. M.; NOGUEIRA, J. C. M.; PAULA, J. R.; BARA, M. T. F. Estudo Farmacobotânico e Fitoquímico da Raiz de *Vetiveria zizanioides* L. Nash (Vetiver). **Revista Eletrônica de Farmácia**, Goiânia, v. 2, n. 2, p. 1-4, 2005.
- CASTRO, L. O. de; RAMOS, E. L. D. Principais gramíneas produtoras de óleos essenciais: *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf., capim-cidró, *Cymbopogon martinii* (Rox.) J.F. Watson, palma-rosa, *Cymbopogon nardus* (L.) Rendle, citronela, *Elyanurus candidus* (Trin.) Hack, capim-limão, *Vetiveria zizanioides* (L.) Nash, vetiver. Porto Alegre: FEPAGRO, 2002, 31p. (Boletim FEPAGRO 11).
- CID, L. P. B.; CARVALHO, L. L. C. B. Importance of abscisic acid (ABA) *in vitro* conservation of cassava (*Manihot esculenta* CRANTZ). **Chilean Journal of Agricultural Research**, Chillán, v. 68, n. 3, p. 304-308, 2008.
- KIM, H.J.; CHENG, F.; WANG, X.; CHUNG, H.Y.; JIN, Z. Evaluation of antioxidant activity of vetiver (*Vetiveria zizanioides* L.) oil and identification of its antioxidant constituents. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 53, p. 7691-7695, 2005.
- LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Paulo: Ed. RiMa, 2006. 398p.
- LAVANIA, U. C. Primary and secondary centers of origin of vetiver and its dispersion. In: INTERNATIONAL VETIVER CONFERENCE, 2003, Thailand. **Proceedings ...** Thailand: TVN, 2003. p. 573.
- LÉDO, A. da S.; FREIRE, K. C. S.; MACHADO, C. A.; OLIVEIRA, L. F. M.; BARBOZA, S. B. S. C. Efeito do ácido abscísico na conservação *in vitro* de coqueiro anão verde do Brasil de jiqui. In: XX CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 20., 2008, Vitória. **Anais...** Vitória: SBF, 2008. v. 1. p. 1-4.
- LEMOS, E. E. P.; FERREIRA, M. S.; ALENCAR, L. M. C.; RAMALHO NETO, C. E.; ALBUQUERQUE, M. M. Conservação *in vitro* de germoplasma de cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 10, p. 1359-1364, 2002.
- MAISTRELLO, L.; HENDERSON, G. Vetiver grass: Useful tools against *Formosan subterranean* termites. **Vetiverim**, Bangkok, v. 16, n. 8, 2001.

MOOSIKAPALA, L.; TE-CHATO, S. Application of *in vitro* conservation in *Vetiveria zizanioides* Nash. **Journal of Agricultural Technology**, Bangkok, v. 6, n. 2, p. 401-407, 2010.

MASSARDO, D. R.; SENATORE, F.; ALIFANO, P.; DEL GIUDICE, L.; PONTIERI, P. Vetiver oil production correlates with early root growth. **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, v. 34, p. 376-382, 2006.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, p. 473-479, 1962.

National Research Council. **Vetiver Grass: A Thin Green Line Against Erosion**. Washington D.C.: National Academy Press, 1993. 161p.

PEDROSO, A. N. V.; LAZARINI, R. A. de M.; TAMAKI, V.; NIEVOLA, C. C. *In vitro* culture at low temperature and *ex vitro* acclimatization of *Vriesea inflata* an ornamental bromeliad. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 33, n. 3, p. 407-414, 2010.

ROCA, W. M.; ARIAS, D. I.; CHAVÉZ, R. Métodos de conservación *in vitro* Del germoplasma. In: ROCA, W. M.; MROGINSKI, L. A. (Ed.). **Cultivo de Tejidos em la Agricultura: Fundamentos y Aplicaciones**. Cali: Centro Internacional de Agricultura Tropical, 1991. p. 697-714.

ROCHA, M. A. C. da. **Multiplicação e conservação de Bromeliaceae ornamentais**. 2010. 99f. Tese (Doutorado em ciências agrárias) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas. 2010.

SÁ, A. de J. **Avanços na propagação e conservação in vitro de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) nativa da região nordeste**. 2009. 67f. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas) – Núcleo de Pós-Graduação e Estudos em Recursos Naturais, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão. 2009.

SANTOS, A. V. **Micropropagação e conservação in vitro de acessos de Patchouli [*Pogostemon cablin* (Blanco) Benth.]**. 2010. 82f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia em Recursos Naturais) – Núcleo de Biotecnologia, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão. 2010.

SOUZA, A. da S.; DUARTE, F. V.; SANTOS-SEREJO, J. A. dos; JUNGHANS, T. G.; PAZ, O. P. da; MONTARROYOS, A. V. V.; SANTOS, V. da S.; MORAIS, L. S. Preservação de germoplasma vegetal, com ênfase na conservação *in vitro* de variedade de mandioca. EMBRAPA: Cruz das Almas, 2009. 24p. (Circular Técnico 90).

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 3ed. Porto Alegre: Artmed, 2006. 722p.

WATT, M. P.; THOKOANE, N. L.; MYCOCK, D.; BLAKEWAY, F. *In vitro* storage of *Eucalyptus grandis* germplasm under minimal growth conditions. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 61, n. 2, p. 161-164, 2004.

WITHERS, L. A. *In vitro* conservation. **Biological Journal of the Linnean Society**, London, v. 43, n. 1, p. 31-42, 1991.

ZHU, B. C. R.; HENDERSON, G.; CHEN, F.; FEI, H.; LAINE, R. A. Evaluation of vetiver oil and seven insect-active essential oils against the *Formosan subterranean* termite. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 27, n. 8, p. 1617-1625, 2001.