

INDUÇÃO E COMPORTAMENTO DE CALOS DE BATATA-DOCE EM MEIO SALINO¹

ONEIDE FERREIRA DE ANDRADE CASTRO² e ARNÓBIO GONÇALVES DE ANDRADE³

RESUMO - Com o objetivo de avaliar o comportamento de cultivares de batata-doce (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) quanto a produção de calos, em diferentes suplementações de fitohormônios, e em meio contendo diferentes concentrações de NaCl, foram inoculados explantes de pecíolo de nove cultivares no meio de Murashige & Skoog com suplementações de 2,21 ou 1,0 mg/L de 2,4-D, combinado ou não com 0,0025 mg/L de BAP. Observou-se diferenças na taxa de regeneração e tamanho dos calos, conforme a cultivar ou meio empregado, sendo os melhores resultados obtidos com a cultivar Arroba, em meio de cultura suplementado com 2,21 mg/L de 2,4 D + 0,0025 mg/L de BAP. A cultivar Vitória Roxa não formou calos. A salinidade reduziu o crescimento dos calos, permitindo a classificação decrescente das cultivares quanto a resistência à salinidade em: Arroba, Co-Roxa, RC 1.8, Co-Branca, TR 3, Mãe-de-Família Tambémé, Paulistinha e 473.

Termos para indexação: cultivar, hormônio, explantes de pecíolo, salinidade.

SWEET-POTATO CALLUS CULTURE AND BEHAVIOUR IN SALINE MEDIUM

ABSTRACT - Aiming at the evaluation of sweet-potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) as to calli production in different phytormone supplements and their response to increase NaCl concentration, petiole explants of nine cultivars were inoculated on the Murashige & Skoog medium supplemented with 2.21 or 1.0 mg/L of 2,4-D, combined or not with 0.0025 mg/L of BAP. Differences on rate and size of calli according to cultivar or medium were observed. The best results were found on the Arroba cultivar in medium supplemented with 2,4-D (2.21 mg/L) + BAP (0.0025 mg/L). The cultivar Vitoria Roxa did not develop callus. Saline stress reduced calli growth, aiming at ranking cultivars according to its decreasing salinity tolerance, as follows: Arroba, Co-Roxa, RC 1.8, Co-Branca, TR 3, Mãe-de-Família Tambémé, Paulistinha and 473.

Index terms: cultivar, phytormone, petiole explants, salinity.

¹ Aceito para publicação em 16 setembro de 1997.

Extraído da Tese de Mestrado da primeira autora.

² Bióloga, M.Sc., Av. Joaquim Ribeiro 810, F-30, Caxangá, CEP 52171-030 Recife, PE.

³ Químico, Dr., Prof. Adj., Dep. Química, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Rua D. Manoel de Medeiros S/N, Dois Irmãos, CEP 52171-900 Recife, PE.

INTRODUÇÃO

A batata-doce (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.), pertencente à família Convolvulacea, é uma hortaliça tuberosa de grande adaptação, que apresenta, dentre outras características, um germoplasma com grande diversidade genotípica e fenotípica (Peixoto & Miranda, 1984). No Brasil, essa cultura ocupa a quarta posição entre as hortaliças mais consumidas (3,6 kg/pessoa/ano). Na região Nordeste, onde as condições edafoclimáticas favorecem sua produção, destaca-se como a principal hortaliça, com um consumo *per capita* de 6,8 kg/ano (Miranda et al., 1989).

Já nas regiões áridas e semi-áridas, o emprego da irrigação é fundamental para a obtenção da produtividade satisfatória dessa cultura, que pode resultar na salinização dos solos (Lupotto et al., 1989). Desta forma, torna-se necessário o desenvolvimento de tecnologias que possibilitem a expansão do cultivo em áreas com problemas, especialmente de solos salinizados, e o emprego de cultivares adaptadas às condições ambientais.

A tecnologia de manipulação de células, tecidos e órgãos *in vitro* é promissora para o melhoramento genético das plantas. Variantes somaclonais permitem a obtenção de culturas com características agrônomicas superiores, como, por exemplo, tolerância à salinidade (Vaz, 1986). Assim, é necessário conhecer o comportamento *in vitro* de uma cultura, ou mesmo cultivar, antes de serem procedidos ensaios para seleção de linhagens celulares ou de calos resistentes à salinidade. Este procedimento atende aos requisitos essenciais para o melhoramento de culturas resistentes à salinidade, preconizados por Epstein citado por Tal (1985):

haver possibilidade de crescimento das plantas em substrato salino; existir variabilidade genética nas espécies cultivadas ou seus parentes selvagens; dispor de um método para selecionar grande número de genótipos tolerantes à salinidade e de critérios para identificação de genótipos superiores nas grandes populações segregadas.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o comportamento de cultivares de batata-doce quanto à produção de calos, em diferentes suplementações de fitohormônios e seu comportamento em meio com variadas concentrações de NaCl.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas nove cultivares de batata-doce (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.), das quais RC 1.8, Mãe-de-Família Também, TR 3, 473 e Arroba, pertencentes ao Banco de Germoplasma da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), e Co-Branca, Co-Roxa, Vitória Roxa e Paulistinha, do laboratório de Biotecnologia da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA), cultivadas em telado.

Para obtenção dos calos foi utilizado o meio básico de Murashige & Skoog (1962), avaliando-se as seguintes suplementações: a) 2,21 mg/L de 2,4-D (SC 1), Chée & Cantliffe (1988); b) 1,0 mg/L de 2,4-D (SC 2), Jarret et al. (1984); e c) 2,21 mg/L de 2,4-D e 0,0025 mg/L de BAP (SC 3), Salgado-Garciglia et al. (1985). Fragmentos de pecíolos com aproximadamente 1,5 mm foram inoculados e, após 60 dias, foram feitas as avaliações com base nas modificações morfológicas dos explantes, coloração, textura e consistência aparentes. Na mensuração do crescimento dos calos usou-se escala de tamanhos, variando de 1 a 23 (Nabors et al., 1982). O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com arranjo fatorial, utilizando-se nove cultivares com três repetições (cada repetição correspondendo a quatro explantes). Os dados do tamanho dos calos foram transformados em raiz quadrada de X, para análise de variância e comparação pelo teste de Tukey (Zonta & Machado, 1989). Na análise da taxa de regeneração dos calos utilizou-se o teste Qui-quadrado ou a Prova Exata de Fisher (Dean et al., 1990).

Para avaliação do comportamento em meio salino, os calos obtidos foram seccionados, em condições assépticas, em fragmentos de aproximadamente 4 mm de diâmetro (aproximadamente tamanho 10) e transferidos para o meio de cultura selecionado (SC 3) com três concentrações de NaCl (0,0%; 0,5%; 1,0%). Foram testadas oito cultivares, em três níveis de NaCl, com três repetições (cada repetição correspondendo a quatro explantes). O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado com arranjo fatorial. O parâmetro analisado foi o tamanho relativo médio dos calos (% em relação aos controles), transformado e analisado conforme os mesmos critérios adotados no experimento de indução de calos. Foram registradas coloração, textura e consistência dos calos. Além disso, foi construída uma curva de sensibilidade (Lupotto et al., 1989) com base no percentual do tamanho dos calos nas concentrações de 0,5% e 1,0% de NaCl em relação aos controles (0,0% de NaCl), após 50 dias de incubação.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De modo geral, a formação dos calos deu-se com o engrossamento e alongamento do pecíolo. Inicialmente de coloração translúcida, os calos tornaram-se compactos, com nodulações irregulares e adquiriram coloração amarelada nas cultivares RC 1.8, Mãe-de-Família Também, TR 3, 473 e Co-Roxa; ou amarelo-esverdeada nas Arroba, Paulistinha e Co-Branca. Com relação ao desenvolvimento, observou-se início de formação de calos aos 15 dias nas cultivares Arroba, Paulistinha, Co-Branca, TR 3, 473 e Co-Roxa, e 30 dias nas RC 1.8 e Mãe-de-Família Também. A cultivar Vitória Roxa, mesmo apresentando início de formação de calos aos 45 dias, não os desenvolveu.

Dos 324 explantes inoculados, 119 (36,7%) formaram calos diferenciados entre as cultivares ($p < 0,05$). O meio SC 3 apresentou taxa de formação de calos de 63,9%, significativamente ($p < 0,05$) superior às do SC 1 (18,5%) e do SC 2 (28,7%) (Tabela 1).

Quanto ao tamanho médio dos calos, foi evidenciada diferença ($p < 0,01$) entre as cultivares e entre os meios de cultura. Também foi significativa a interação entre cultivares e meios. No meio SC 3 foram verificados os maiores tamanhos médios dos calos ($p < 0,01$) (Tabela 2). Além disso, observou-se que o único meio a não apresentar diferença significativa entre os tamanhos dos calos das diversas cultivares foi o SC 1. A cultivar Arroba apresentou calos de tamanhos médios, superiores ($p < 0,01$) aos da Mãe-de-Família Também, RC 1.8 e Co-Roxa, os quais não diferiram dos verificados nas cultivares Paulistinha, Co-Branca, TR 3 e 473. Observou-se que as cultivares Arroba, Paulistinha, 473 e Co-Roxa formaram calos nos três meios de cultura; Co-Branca e TR 3, nos meios SC 2 e SC 3; RC 1.8, nos meios SC 1 e SC 3; e Mãe-de-Família Também, no SC 3.

TABELA 1. Taxa de formação de calos a partir de explantes de pecíolos de cultivares de batata-doce (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.), após 60 dias de cultivo *in vitro*, de acordo com o meio de cultura¹.

Cultivar	Meio de cultura ²			Média
	SC 1	SC 2	SC 3	
	%			
Arroba	75,0a	66,7 ^a	66,7ab	69,4a
Paulistinha	41,7ab	66,7 ^a	66,7ab	58,3ab
RC 1.8	33,3ab	0,0c	91,7a	41,7abc
Co-Branca	0,0c	58,3ab	66,7ab	41,6abc
TR 3	0,0bc	8,3bc	100,0a	36,1bc
473	8,3bc	16,7b	83,3a	36,1bc
Co-Roxa	8,3bc	41,6ab	33,3bc	27,8c
M. Fam. També	0,0c	0,0c	66,7ab	22,2c
Vitória Roxa	0,0c	0,0c	0,0c	0,0d
Média	18,5B	28,7B	63,9A	36,7

¹ Valores seguidos de letras iguais, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, não diferem entre si a 5% de probabilidade, pelo Qui-Quadrado ou Prova Exata de Fisher.

² SC1= 2,21 mg/L de 2,4-D; SC2= 1,0 mg/L de 2,4-D; SC3= 2,21 mg/L de 2,4-D e 0,0025 mg/L de BAP.

TABELA 2. Tamanho dos calos formados a partir de explantes de pecíolos de cultivares de batata-doce (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.), após 60 dias de cultivo *in vitro*, de acordo com o meio de cultura. Recife, 1994¹.

Cultivar	Meio de cultura ²			Média
	SC 1	SC 2	SC 3	
	Tamanho médio dos calos ³			
Arroba	6,3aA	11,2aA	17,6aA	11,7
Paulistinha	2,4aA	9,4abA	8,7abcA	6,8
Co-Branca	0,0aB	7,8abAB	10,1abA	6,0
TR 3	0,0aB	1,6abB	14,9aA	5,5
M. Fam. També	0,0aB	0,0bB	15,2aA	5,1
RC 1.8	1,8aB	0,0bB	13,1abA	4,9
473	1,2aB	1,0abB	12,2abA	4,8
Co-Roxa	0,6aA	1,2abA	2,5bcA	1,4
Vitória-Roxa	0,0aA	0,0bA	0,0cA	0,0
Média	1,3	3,6	10,5	5,1

¹ Valores seguidos de letras iguais, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, não diferem entre si a 1% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

² SC1= 2,21 mg/L de 2,4-D; SC2= 1,0 mg/L de 2,4-D; SC3= 2,21 mg/L de 2,4-D e 0,0025 mg/L de BAP.

³ Tamanho médio de 12 calos, segundo a escala de Nabors et al. (1982).

Houve diferença significativa entre os níveis de NaCl e entre as cultivares, quanto ao tamanho dos calos. A interação desses dois fatores também foi significativa ($p < 0,01$). A comparação das médias relativas aos níveis revelou diminuição do crescimento com o aumento na concentração de NaCl ($p < 0,01$), sendo mais acentuada a 1,0% de NaCl (Tabela 3). Na concentração 0,5% de NaCl, os tamanhos médios relativos (% em relação ao controle) dos calos das cultivares Arroba e Co-Roxa foram superiores aos das cultivares Paulistinha e 473; enquanto que os das cultivares Co-Branca e RC 1.8 diferiram dos da cultivar 473 ($p < 0,05$). Na concentração 1,0% de NaCl, não foi observada diferença significativa entre os tamanhos relativos médios dos calos das cultivares estudadas ($p > 0,05$).

Avaliando-se a sensibilidade, com base nos tamanhos relativos médios dos calos, em relação aos níveis de NaCl, observou-se que as cultivares Mãe-de-Família També, TR 3, Paulistinha e 473 apresentaram diminuição ($p < 0,01$) brusca do tamanho dos calos nas concentrações de 0,5% e 1,0% de NaCl; Co-Branca apresentou queda progressiva no tamanho dos calos nas concentrações de 0,5% ($p < 0,01$) e 1,0% ($p < 0,01$) de

NaCl; Arroba, Co-Roxa e RC 1.8 não apresentaram redução significativa em 0,5%, porém mostraram redução acentuada ($p < 0,01$) em 1,0% de NaCl (Tabela 3).

TABELA 3. Tamanho absoluto e relativo dos calos de pecíolo de cultivares de batata-doce (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) cultivados *in vitro*, durante 50 dias, em meio com diferentes concentrações de NaCl, Recife, 1994¹.

Cultivar	Concentração de NaCl (%)		
	0,0	0,5	1,0
	Tamanho absoluto ² e relativo (% do controle)		
Arroba	17,2 (100)aA	11,1 (64,2)aA	0,3 (1,9)aB
Co-Roxa	19,5 (100)aA	10,2 (52,6)aA	0,0 (0,0)aB
Co-Branca	18,7 (100)aA	7,5 (40,0)abB	0,0 (0,0)aC
RC 1.8	3,2 (100)aA	1,1 (34,2)abA	0,2 (7,9)aB
M. Fam. També	2,4 (100)aA	0,7 (31,0)abcB	0,6 (24,1)aB
TR 3	22,3 (100)aA	6,2 (27,6)abcB	0,5 (2,2)aB
Paulistinha	11,7(100)aA	0,8 (7,1)bcB	0,0 (0,0)aB
473	12,5 (100)aA	0,0 (0,0)cB	0,8 (6,7)aB
Média	13,4 (100)A	4,7 (37,2)B	0,3 (2,5)C

¹ Valores relativos (entre parênteses) seguidos de letras iguais, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, não diferem entre si a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

² Tamanho médio de 12 calos segundo a escala de Nabors et al. (1982).

A coloração e estrutura dos calos permaneceram aparentemente normais até 0,5% (TR 3, 473, Co-Branca, Co-Roxa e Paulistinha) ou 1,0% (Arroba e Mãe-de-Família També). No entanto, os calos da cultivar Arroba, na concentração 0,5% de NaCl, apresentaram coloração amarelo-esverdeada com partes brancas, e na de 1,0%, mostraram-se amarelos, contrastando com o controle verde-musgo.

A taxa de formação e o tamanho dos calos foram maiores quando os explantes foram inoculados no meio SC 3 (2,21 mg/L de 2,4-D e 0,0025 mg/L de BAP), tendo sido observada diferença entre cultivares. Esse meio de cultura tem sido empregado na obtenção de calos a partir de pecíolo de batata-doce visando a produção de células para o cultivo em suspensão (Salgado-Garciglia et al., 1985), sem contudo, ter sido relatado qualquer tipo de avaliação da taxa de formação de calo, tamanho e interações com cultivares. Esses resultados demonstram que esse meio de cultura é adequado para a produção de calos nas cultivares estudadas, com exceção da Vitória Roxa.

Os meios SC 1 (2,21 mg/L de 2,4-D) e SC 2 (1,0 mg/L de 2,4-D), que têm sido empregados com sucesso na indução de calos de brotos apicais (Chée & Cantliffe, 1988) e segmentos nodais (Jarret et al., 1984), respectivamente, não apresentaram o mesmo desempenho que o SC 3, possivelmente devido, além do fator cultivar (Jarret et al., 1984), à interação tipo de explante e suplementação do meio de cultura, como observado em outros trabalhos, que compararam as respostas de vários tipos de explantes frente a diferentes suplementações, com emprego de apenas uma auxina (Liu & Cantliffe, 1984) ou sua associação com citocinina (Paula et al., 1990).

Os meios SC 1 e SC 2 foram suplementados com diferentes concentrações de 2,4-D, e o SC 3, com 2,4-D e BAP. Desta forma, evidencia-se que a concentração dos reguladores de crescimento e, sobretudo, o tipo de hormônio determinaram o melhor desempenho do SC 3. Como é conhecido, a interação entre os hormônios é determinante no crescimento e padrão de desenvolvimento dos tecidos cultivados *in vitro* (Caldas et al., 1990).

Embora tenha havido diferença na taxa de formação dos calos de acordo com as suplementações, não foi observada alteração no padrão de desenvolvimento dos mesmos, assemelhando-se aos previamente descritos (Jarret et al., 1984; Liu & Cantliffe, 1984; Chée & Cantliffe, 1988; Paula et al., 1990).

Em virtude das vantagens do emprego da cultura de tecido vegetal quando comparada com os métodos convencionais (Croughan et al., 1981), tentativas têm sido feitas para desenvolver plantas resistentes à salinidade através do uso da cultura *in vitro* de tecidos e células, desde que feita da seleção de linhagens celulares que mostrem aumento na resistência à salinidade (Sabbah & Tal, 1990). Para isto, tem-se recomendado o emprego da cultura de calos (Ben-Hayyim & Kochba, 1983) ou de células em suspensão (Jain et al., 1991). Para a condução de ensaios com seleção em meio salino é essencial avaliar a possibilidade do

desenvolvimento celular em substrato salino, como tem sido sugerido para plantas completas (Epstein, citado por Tal, 1985). Assim, o fato de todas cultivares empregadas no experimento com salinidade terem crescido em meio salino contendo 0,5% de NaCl, demonstra a possibilidade do emprego da cultura *in vitro* para futuros trabalhos com melhoramento genético da batata-doce. Além disso, é sabido que plantas de batata-doce apresentam alta variabilidade genética (Peixoto & Miranda, 1984) e podem se desenvolver em substrato com elevada concentração de NaCl (Souza, 1994), requisitos essenciais para os testes de seleção com plantas completas que venham a ser obtidas a partir de clones selecionados (Epstein, citado por Tal, 1985).

Em decorrência da variação nas respostas dos cultivos *in vitro* de acordo com a cultivar, e considerando-se o número reduzido de trabalhos *in vitro* com a batata-doce, é indispensável o estabelecimento de protocolos específicos para cultura de suspensão, bem como para regeneração de plântulas a partir de calos de batata-doce, formados de linhagens celulares que venham a ser selecionadas em meio salino.

A avaliação do comportamento dos calos de batata-doce em meio salino demonstrou, em linhas gerais, redução do tamanho dos calos e das células com aumento da concentração do NaCl, possivelmente devido a alterações na extensibilidade na parede celular (Binzel et al., 1985) para facilitar o transporte e manutenção da compartimentação iônica (Hasegawa et al., 1986). Também foram observadas necrose e morte dos calos nas concentrações mais elevadas de NaCl. Essas alterações têm sido verificadas em culturas de calos de batata-doce, nas concentrações de NaCl superiores a 0,34% (Ochoa-Alejo & López-Gutiérrez, 1987). Entretanto, células de batata-doce selecionadas em meio salino, mostraram-se mais resistentes na concentração de 1,0% de NaCl (Salgado-Garciglia et al., 1985). Analisando-se a curva de sensibilidade das cultivares, que indica o grau de resistência ou capacidade de adaptação frente ao estresse salino, observa-se que não foi uniforme na concentração de 0,5% de NaCl, o que indica uma certa variabilidade genética em relação a essa capacidade.

Embora não seja possível comparar os resultados *in vitro* e *in planta* de todas as cultivares empregadas no experimento, os resultados de Souza (1994), com plantas completas submetidas ao estresse de 0,47% de NaCl (concentração próxima à de 0,5% utilizada nos estudos *in vitro*), indicam haver concordância entre os comportamentos diante do estresse salino *in vitro* e *in planta* em batata-doce, pois em ambas situações a cultivar Arroba mostrou-se menos sensível que a Mãe-de-Família També. Com isto, pode-se supor que o principal mecanismo de resistência nessa espécie ocorre em nível celular (Ochoa-Alejo & López-Gutiérrez, 1987). Por outro lado, as plantas das cultivares Mãe-de-Família També e Arroba não se desenvolveram quando submetidas a 0,58% de NaCl (Souza, 1994). Enquanto os calos da cultivar Arroba praticamente não cresceram na concentração de 1,0% de NaCl, os da Mãe-de-Família També tiveram um crescimento considerável (24,1% do controle), sugerindo que esta apresenta mecanismos mais eficientes e estáveis, no nível celular, para sua adaptação ao estresse salino.

A concentração de 1,0% de NaCl tem sido sugerida como nível de pressão de seleção para resistência a salinidade de células de batata-doce cultivadas em suspensão (Salgado-Garciglia et al., 1985). Considerando-se que células em suspensão estão mais expostas ao fator estressante que as de calo (Meredith, 1978), acredita-se que essa concentração seria inadequada para as cultivares estudadas. Por isto, recomenda-se o emprego da concentração 0,5% de NaCl, uma vez que corresponde, em condições naturais, a um solo salino capaz de reduzir consideravelmente a produção da batata-doce (Maas, 1984).

CONCLUSÕES

1. As cultivares RC 1.8, Mãe-de-Família També, TR 3, 473, Arroba, Co-Branca, Co-Roxa e Paulistinha apresentam comportamento diferente quanto à taxa de formação e tamanho dos calos.
2. O estresse salino reduz o crescimento dos calos de batata-doce, chegando a total ou quase total inibição do crescimento na concentração de 1,0% de NaCl.
3. O NaCl causa diferentes efeitos sobre o crescimento dos calos das cultivares.

AGRADECIMENTOS

À Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária-IPA e ao Dr. Romoaldo Sena, pela cooperação na execução do trabalho experimental.

REFERÊNCIAS

- BEN-HAYYIM, G.; KOCHBA, J. Aspects of salt tolerance in a NaCl-selected stable cell line of *Citrus sinensis*. **Plant Physiology**, Rockville, v.72, p.685-690, 1983.

- BINZEL, M.L.; HASEGAWA, P.M.; RHODES, D.; HANDA, A.K.; BRESSAN, R.A. Adaptation of tobacco cells to NaCl. **Plant Physiology**, Rockville, v.79, p.118-125, 1985.
- CALDAS, L.S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, H.E. Meios nutritivos. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. (Eds.). **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: Associação Brasileira de Cultura de Tecidos de Plantas, 1990. p.37-70.
- CHÉE, R.P.; CANTLIFFE, D.J. Selective enhancement of *Ipomoea batatas* Poir. embryogenic and non-embryogenic callus growth and production of embryos in liquid culture. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v.15, p.159-169, 1988.
- CROUGHAN, T.P.; STAVAREK, S.J.; RAINS, D.W. *In vitro* development of salt resistant plants. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v.21, p.317-324, 1981.
- DEAN, A.G.; DEAN, J.A.; BURTON, A.H.; DICKER, R.C. **Epi info, version 5**: a word processing, data base, and statistic program for epidemiology on micro-computers. Atlanta, Georgia: Center for Disease Control, 1990.
- HASEGAWA, D.M.; BRESSAN, R.A.; HANDA, A.K. Cellular mechanisms of salinity tolerance. **HortScience**, Alexandria, v.21, n.6, p.1317-1324, Dec. 1986.
- JAIN, R.K.; SUNITA, J.; CHOWDHURY, J.B. *In vitro* selection for salt tolerance in *Brassica juncea* L. using cotyledon explants, callus and cell suspension cultures. **Annals of Botany**, London, v.67, p.517-519, 1991.
- JARRET, R.L.; SALAZAR, S.; FERNANDEZ, Z.R. Somatic embryogenesis in sweet potato. **HortScience**, Alexandria, v.19, n.3, p.397-398, June 1984.
- LIU, J.R.; CANTLIFFE, D.J. Somatic embryogenesis and plant regeneration in tissue cultures of sweet potato (*Ipomoea batatas* Poir). **Plant Cell Reports**, New York, v.3, p.112-115, 1984.
- LUPOTTO, E.; LUSARDI, M.C.; MONGODI, M. *In vitro* selection of maize (*Zea mays* L.) salt tolerant somaclones and plant regeneration. **Journal of Genetic Breeding**, v.43, p.215-222, 1989.
- MAAS, E.V. Crop tolerance. **California Agriculture**, Berkeley, v.38, n.10, p.20-21, Oct. 1984.
- MEREDITH, C.P. Response of cultured tomato cells to aluminium. **Plant Science Letters**, Amsterdam, v.12, p.17-24, 1978.
- MIRANDA, J.E.C. de; FRANÇA, F.H.; CARRIJO, O.A. **Batata doce (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.)**. 2.ed. rev. ampl. Brasília: CNPH, 1989. 19p. (Embrapa-CNPH. Circular técnica, 3).
- MURASHIGE, T.E.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.15, p.473-497, 1962.
- NABORS, M.W.; KROSKEY, C.S.; McHUGH, D.M. Green spots are predictors of high callus growth rates and shoot formation in normal and salt-stressed tissue culture of oat (*Avena sativa* L.) **Zeitschrift fuer Pflanzenphysiologie**, Stuttgart, v.105, p.341-349, 1982.
- OCHOA-ALEJO, N.; LÓPEZ-GUTIÉRREZ, F. Effect of light and NaCl salinity on the growth of callus cultures of *Ipomoea pes-caprae* (L.) R. Brown and *Ipomoea batatas* (L.) Lam. **Annals of Botany**, London, v.59, n.5, p.495-497, May 1987.
- PAULA, M.A. de; PINTO, J.E.B.P.; SIQUEIRA, J.O.; PASQUAL, M. Obtenção de calos e suspensão de células de diferentes espécies vegetais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.25, n.6, p.889-895, jun. 1990.
- PEIXOTO, N.; MIRANDA, J.E.C. de. **Cultivo da batata-doce em Goiás**. Goiânia: [s.n.], 1984. 24p.
- SABBAH, S.; TAL, M. Development of callus and suspension cultures of potato resistant to NaCl and mannitol and their response to stress. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrech, v.21, p.119-128, 1990.
- SALGADO-GARCIGLIA, R.; LÓPEZ-GUTIÉRREZ, F.; OCHOA-ALEJO, N. NaCl-resistant variant cells isolated from sweet potato cell suspensions. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrech, v.5, p.3-12, 1985.
- SOUZA, S.R. **Efeito da salinidade e da relação Na/K, em solução nutritiva sobre o crescimento e composição de duas cultivares de batata-doce**. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 1994. 95p. Dissertação de Mestrado.
- TAL, M. Genetics of salt tolerance in higher plants: theoretical and practical considerations. **Plant and Soil**, The Hague, v.89, p.199-226, 1985.

VAZ, R.L. Cultura de tecidos: potencial e aplicação. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE CULTURA DE TECIDOS VEGETAIS, 1., 1985, Brasília: **Anais...** Brasília: DDT, 1986. p.9-10.

ZONTA, E. P.; MACHADO, A.A. **SANEST-Sistema de Análise Estatística**. Campinas: Instituto Agronômico de Campinas, 1989.