



JÉSSICA BATISTA RIBEIRO

**INFLUÊNCIA DO TIPO DE LUZ NA GERMINAÇÃO E
DESENVOLVIMENTO DE SEMENTES DE TABACO**

LAVRAS-MG

2019

JÉSSICA BATISTA RIBEIRO

**INFLUÊNCIA DO TIPO DE LUZ NA GERMINAÇÃO E DESENVOLVIMENTO DE
SEMENTES DE TABACO**

Monografia de conclusão de curso apresentada ao Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do curso de agronomia, para a obtenção do título de Bacharel.

Orientadora

Dra. Heloisa Oliveira dos Santos

Coorientadora

Ana Luíza Reale

LAVRAS-MG

2019

JÉSSICA BATISTA RIBEIRO

**INFLUÊNCIA DO TIPO DE LUZ NA GERMINAÇÃO E DESENVOLVIMENTO DE
SEMENTES DE TABACO**

**INFLUENCE OF LIGHT TYPE IN THE GERMINATION AND DEVELOPMENT OF
TOBACCO SEEDS**

Monografia de conclusão de curso apresentada ao Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do curso de agronomia, para a obtenção do título de Bacharel.

APROVADA em 12 de junho de 2019.

Prof. Dra. Raquel Maria de Oliveira Pires
Dra. Dayliane Bernardes de Andrade
Msc. Thaísa Fernanda Oliveira

DAG/UFLA
DAG/UFLA
DAG/UFLA

Dra. Heloísa Oliveira dos Santos
Orientadora

Ana Luíza Reale
Coorientadora

**LAVRAS - MG
2019**

Deus, meu alicerce.

*Aos meus pais, Joana Darc e Ademilton, ao meu padraastroVitor, meu noivo
Itamar, minha filha Ester, amigos, familiares, professores e colegas que
acompanharam minha jornada acadêmica.*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, que foi meu guia durante toda a jornada e meu amparo nos momentos de angústia. Sem Ele nada disso seria possível. Obrigado, meu Deus, por colocar esperança e fé em meu coração e por me mostrar o melhor caminho quando andava sem direção.

Aos meus pais, por todo apoio, dedicação, conselhos, pelas orações e por abdicarem, muitas vezes, dos seus sonhos para que eu pudesse realizar os meus. Obrigado pelas vezes em que pensei em desistir e vocês não deixaram que eu perdesse a fé. Agradeço, especialmente, a minha mãe Joana Darc, que fez de tudo para tornar os momentos difíceis menos dolorosos.

Ao meu noivo Itamar e minha filha Ester, por se manterem presentes, sobretudo nos momentos de estresse e ansiedade. Por nunca me negarem carinho e incentivo. Vocês são fonte de inspiração e força para continuar a minha caminhada. Gratidão a Deus por ter me dado vocês.

Aos familiares, em especial, agradeço, ao meu irmão Marcus pelo apoio constante, a minha irmã Sibely pelos conselhos. As minhas tias por sempre me sustentarem em oração. Aos meus padrinhos, Hipólito Cida, por se fazerem presentes, me acolherem como filha, por ser exemplo de determinação e fé, e por sempre se lembrarem de mim em suas orações. Aos meus primos, especialmente a Déborah pelos conselhos, apoio e, principalmente pelas conversas jogadas fora durante o almoço.

A Universidade Federal de Lavras (UFLA) pelas oportunidades de aprendizado e ensinamentos dessa renomada instituição de ensino.

Aos docentes por todo conhecimento compartilhado. Vocês não são apenas formadores de profissionais, mas opiniões e caráter.

A minha orientadora, Dra. Heloisa Oliveira dos Santos, por me acolher carinhosamente, pelo conhecimento transmitido e pelas inúmeras vezes que me ouviu e aconselhou, durante minhas crises de ansiedade. É certo que a levarei como exemplo de profissional e pessoa humana.

Ao Dr. Magno Patto Ramalho, meu primeiro orientador, e a pesquisadora da Embrapa Dr^a. Ângela de Fátima Barbosa Abreu, minha primeira coorientadora, pelo conhecimento transmitido durante o tempo que fiquei na equipe do feijão. Assim, estendo meus agradecimentos a toda equipe do feijão e aos demais docentes do departamento de Biologia que contribuíram para a minha formação.

Aos amigos, em especial, a Marília Guaraldo. Presente que a agronomia me deu. Obrigada, amiga, por tudo, pelos momentos em que rimos juntas, que chorei e você chorou comigo, pelos conselhos e broncas e, principalmente pelo apoio incansável.

Aos amigos e companheiros do LAS pela ajuda durante a condução do experimento. Agradeço aos funcionários do laboratório, dona Dalva, Rose, Jaque, Geraldo e Vivi pelas orientações e por tornarem esse trabalho possível.

Aos membros da banca examinadora pelas contribuições para este trabalho.

À empresa Souza Cruz ela parceria e por ceder às sementes de modo que esse trabalho fosse possível.

Aos órgãos de apoio à pesquisa: CAPES, CNPq, FAPEMIG e UFLA pelas oportunidades de todos esses anos como bolsista.

A todos que de alguma forma contribuíram e torceram por mim, minha eterna gratidão.

RESUMO

O tabaco é uma cultura não alimentícia de expressiva importância em mais de 200 países, gerando inúmeros empregos em todas as etapas da cadeia produtiva. As sementes de tabaco são muito pequenas e germinação desuniforme. A utilização de diodos de luz vermelha (LED) tem sido utilizados em ambientes controlados para estudos da influência da luz vermelha na uniformidade e velocidade de germinação de sementes de diversas espécies. Objetivou-se determinar a germinação e o desenvolvimento de plântulas de tabaco sob condição de luz branca e vermelha. Foram utilizadas sementes de duas cultivares de tabaco, nua e pelletizadas e submetidas a dois tipos de luz de LED, branca e vermelha. As avaliações foram realizadas de acordo com as RAS ao sétimo dia após a semeadura para a primeira contagem de germinação e ao décimo sexto dia, pela contagem de plântulas normais. Concomitantemente ao teste de germinação avaliou-se diariamente o número de sementes com raízes protundidas, obtendo o Índice de Velocidade de Germinação. Concluiu-se que o desenvolvimento inicial das sementes nuas foi mais rápido quando estas foram submetidas a luz vermelha; a luz vermelha pode ser utilizada para acelerar a germinação de sementes nuas de tabaco, porém ela não acelera a germinação de sementes pelletizadas, pois a presença do pellet representa uma barreira a não absorção da luz.

Palavras-chave: *Nicotina tabacum L.*, Diodos de emissão de luz (LED), Qualidade fisiológica, pelletização, vigor

ABSTRACT

Tobacco is a non-food crop of significant importance in more than 200 countries, and creates a lot of job jobs during all stages of the production chain. The tobacco seeds are very small and have uneven germination. Red light diodes (LEDs) have been used in controlled environments for studies about the influence of red light on the uniformity and speed of seeds' germination in several species. The objective was to determine the germination and development of tobacco *seedlings* under condition of white and red light. Seeds of two tobacco cultivars were used, bare and pelletized which have been submitted to two kinds of LED light, white and red. The evaluations were carried out according to the RAS on the seventh day after sowing for the first germination count and on the sixteenth day, by the count of normal seedlings. Concomitantly with the germination test, the number of seeds with protuded roots was evaluated daily, obtaining the Germination Speed Index. It was concluded that the initial development of bare seeds was faster when these were subjected to red light; this red light can be used to accelerate the germination of bare seeds of tobacco, but it doesn't accelerate the germination of pelleted seeds, because the presence of the pellet represents a barrier to the non-absorption of light.

Keywords: *Nicotina tabacum L.*, Diodes of light emission (LED), physiological quality, pellet, vigor

Sumário

1.0 Introdução.....	9
2.0 Referencial Teórico	11
2.1 A cultura do tabaco	11
2.2 Qualidade fisiológica das sementes	12
2.3 O efeito da luz na germinação	13
2.4 Diodos de emissão de luz(lâmpadas LEDs).....	15
3.0 Materiais e Métodos	18
3.1 Local de condução e material genético	18
3.2 Descrição dos tratamentos	18
3.3 Teste de germinação	18
3.4 Índice de velocidade de germinação (IVG).....	19
3.5 Procedimentos estatísticos	19
4.0 Resultados e Discussões	20
5.0 Conclusões.....	23
Referências	24

1. INTRODUÇÃO

Do ponto de vista social e econômico, o tabaco é uma cultura não alimentícia de expressiva importância em mais de 200 países. A cultura gera vários empregos em todas as etapas da cadeia produtiva, e também é utilizada como planta modelo em estudos científicos nas mais diferentes áreas.

O Brasil é o segundo maior produtor mundial de tabaco e o principal exportador. A produção brasileira se concentra na região sul do país, compreendida pelos Estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná. Entretanto, mesmo com esse elevado nível de importância, existe, ainda, uma grande preocupação dos agricultores em produzir sementes de tabaco de alta qualidade, a fim de gerar mudas uniformes e vigorosas no campo.

As sementes de tabaco são muito pequenas (aproximadamente 0,75 x 0,53 x 0,47 mm) (AKEHURST, 1981) o que dificulta muito a semeadura, essas apresentam problemas de dormência e maturação desuniforme dos frutos. Para minimizar as consequências do reduzido tamanho das sementes, tem-se utilizado a peletização, pois além de facilitar a semeadura, reduz os gastos excessivos de sementes e a prática de desbaste (NASCIMENTO et.al., 2009). Contudo, a desuniformidade de maturação de frutos e sementes de tabaco, ainda tem sido um problema o que dificulta sucesso na produção de mudas vigorosas e uniformes.

Cada espécie possui exigências próprias para seu desenvolvimento. Os fatores que mais determinam seu desenvolvimento são as condições edáficas, disponibilidade de água, luminosidade, temperatura e, dentre estes, a luz é importante no crescimento da planta, pois participa, entre outros processos, da fotossíntese (FERREIRA et. al. 1997; SANTOS, 2006).

As respostas das plantas à luz incluem uma variedade de adaptações fisiológicas e bioquímicas, que são refletidas na taxa de crescimento, arquitetura da planta e características morfológicas. A fração visível da energia solar, que contém a radiação fotossinteticamente ativa (RFA) compreendida na faixa espectral de 400-700 nm, tem importância fundamental em vários processos fisiológicos que ocorrem nas plantas e, segundo (LARCHER, 2004), 45% da radiação proveniente do sol se encontram dentro dessa faixa espectral.

Diodos de emissão de luz (LED) têm sido sugeridos como fonte luminosa para ambientes controlados em instalações agrícolas ou em câmaras de crescimento de plantas.

Eles apresentam características desejáveis, como a capacidade de controlar a composição espectral, longa durabilidade, capacidade de emitir comprimentos de onda específicos, superfícies de emissão relativamente frias, além de apresentarem um tamanho reduzido, o que facilita manejo e instalação nas câmaras de crescimento (LI et al., 2010; MUNEEER et al., 2014).

O desenvolvimento e a fisiologia das plantas são fortemente influenciados pelo espectro de luz do ambiente proporcionado pelos LEDs, dentre as quais podemos citar o da luz azul, vermelha, verde e combinações. O espectro de luz azul, por exemplo, está envolvido em vários processos fisiológicos da planta, como o fototropismo, morfogênese, abertura de estômatos e funcionamento fotossintético das folhas (WHITELAM; HALLIDAY, 2007). Enquanto as lâmpadas de LED vermelhas emitem um espectro de luz muito próximo do máximo de absorbância, tanto da clorofila quanto dos fitocromos. Em contrapartida, a lâmpada de LED verde, de maneira geral, promove a redução fotossintética em plantas *in vitro*. Estima-se que a absorção pelas plantas da luz azul e vermelha, emitidas por lâmpadas LED, gira em torno de 90% da luz emitida, e indica que o desenvolvimento das plantas e a sua fisiologia é fortemente influenciado por essas cores e comprimentos de onda específicos. Todavia, essa influência na fisiologia vegetal desempenhada pelos espectros de luz varia entre as espécies, refletindo na produção vegetal.

Segundo Holdsworth (1972), as sementes de tabaco germinam na luz azul ou verde, mas é muito mais sensível ao vermelho. As sementes podem não responder ao vermelho se subsequentemente exposto ao vermelho-escuro, assim o fitocromo provavelmente é o detector primário de iluminação. Sementes de tabaco germinam em resposta ao vermelho distante tão bem quanto ao vermelho, se expostas muito tempo após a semeadura. Existem algumas características intrigantes da resposta positiva das sementes de tabaco ao vermelho distante em particular, é curioso que ao contrário do vermelho, verde ou azul, nenhuma quantidade de vermelho distante poderia causar 100% da germinação imediatamente após a semeadura, mas é considerável maior quando expostas a temperatura de 25°C, a qual acelera a sensibilização.

Diante do exposto, no presente trabalho objetivou determinar a germinação e o desenvolvimento de plântulas de tabaco sob condição de luz branca e vermelha.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 A cultura do tabaco

O tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) é uma planta anual, da família das Solanaceae, originária da região Mesoamericana. As suas sementes são de tamanho reduzido, sendo cada grama de sementes constituída por cerca de 16 mil unidades (BRASIL, 2009).

A fumicultura é uma das atividades agroindustriais de maior importância econômica e social, pois está inserida na economia de mais de 200 países. O Brasil se destaca como principal exportador e o segundo maior produtor mundial (SOUZA CRUZ, 2018). Segundo dados da safra de 2016/17 foi registrada uma produção de aproximadamente 706 mil toneladas de tabaco e a receita bruta anual em torno de 6,09 bilhões. Além da importância econômica, o setor fumageiro exerce expressiva contribuição social envolvendo mais de 2,1 milhões de pessoas no processo, sendo 673.478 mil empregos diretos e 1,44 milhões de empregos indiretos (ANUÁRIO BRASILEIRO DO TABACO, 2017).

A planta é muito utilizada em investigações científicas nas áreas de fisiologia, virologia e engenharia genética (HUNZIKER, 2001). O óleo que é extraído das sementes pode ser utilizado na indústria farmacêutica, na alimentação animal (GARCIA-MARTINEZ et al., 2017; VELJKOVIC et al., 2006), e também no biodiesel.

Existem vários grupos varietais de tabaco, os quais são diferenciados com relação ao método de cura e às características bioquímicas da planta em, Virgínia, Burley, Oriental, Charuto, Dark, dentre outros (FRICANO et al., 2012), sendo os dois primeiros os principais grupos. Cada grupo varietal é composto por diversas cultivares comerciais desenvolvidas pelos programas de melhoramento de tabaco. Esta diversidade torna-se um problema no controle de qualidade, em virtude das características próprias e distintas de cada cultivar (OLIVEIRA, 2016).

As sementes de tabaco apresentam dormência fisiológica exercida pelo ABA endógeno e dormência tegumentar imposta pela resistência física do tegumento e do endosperma, o que pode dificultar a obtenção de lotes com qualidade fisiológica superior, além de apresentarem maturação desuniforme de frutos (FINCH-SAVAGE and LEUBNER-METZGER, 2006).

A colheita dos frutos é realizada manualmente, para minimizar os efeitos da maturação desuniforme e possibilitar a padronização e homogeneização dos lotes (SILVA, 2014). No Brasil, as sementes são produzidas pelas indústrias e parte delas é vendida para os produtores, que são os cooperados, e a outra parte é exportada (SEGATO; GABALDI, 2012).

A importância econômica e diversidade de usos da cultura do tabaco nacional e internacional proporcionam uma grande demanda por sementes de qualidade (SILVA and CICERO, 2014). Para a comercialização de sementes de tabaco, são obrigatórios que estas possuam um valor mínimo de 98% de pureza e 80% de germinação (BRASIL, 2013). Os fatos relacionados com a maturação desuniforme, a existência de dormência, o tamanho reduzido das sementes faz da obtenção de sementes de alta qualidade um grande desafio para a pesquisa e empresas produtoras que não disponibilizam de tecnologias rápidas, objetivas e confiáveis para a avaliação da qualidade (ANDRADE, 2017).

2.2 Qualidade fisiológica das sementes

A avaliação do potencial fisiológico das sementes pelas empresas produtoras de tabaco tem sido realizada por meio do teste de germinação, porém esse teste é feito sob condições ideais do ambiente o que pode superestimar a emergência dos lotes em condições de campo (ROCHA et al., 2015).

O tempo de duração do teste de germinação para sementes de tabaco é de 16 dias (BRASIL, 2009), dificultando a obtenção mais rápida de informações sobre a porcentagem de germinação dos lotes dessas sementes. Devido a essas limitações, no teste muitas vezes, é necessário realizar os testes de vigor para obter-se respostas complementares às fornecidas pelo teste de germinação (OHLSON et al., 2010). A avaliação do vigor tem evoluído à medida que os testes disponíveis vêm sendo aperfeiçoados (MASETTO et al., 2009), sendo a emergência e a primeira contagem como os testes de vigor mais utilizados rotineiramente.

O processo de germinação consiste na retomada do processo metabólico da semente (STREET e ÖPIK, 1974). Durante a formação da semente na planta-mãe a conversão de substâncias simples em substâncias de reserva complexas, como amido, proteínas e triglicerídeos. A desidratação da semente reduz a atividade metabólica, tornando-se mínima. Por outro lado, com a hidratação da semente a atividade é ativada,

ocorrendo à degradação das reservas da semente para a geração de energia química necessária para a protrusão radicular e crescimento do embrião (FLOSS, 2004).

2.3 O efeito da luz na germinação

As exigências necessárias para o desenvolvimento variam entre as espécies e dentro de uma mesma espécie, varia entre diferentes cultivares. Os fatores que mais determinam seu desenvolvimento são as condições edáficas, disponibilidade de água, luminosidade, temperatura e, dentre estes, a luz é importante no crescimento da planta, pois participa, entre outros processos, da fotossíntese (FERREIRA et. al. 1997; SANTOS, 2006).

As sementes podem ser classificadas em três categorias, dependendo de suas respostas a luz (METIVIER, 1979). Sendo elas: sementes fotoblásticas positivas que são aquelas que possuem maior capacidade de germinar à luz, as fotoblásticas negativas que germinam melhor no escuro e, por fim, as fotoblásticas neutras as que germinam bem com a presença ou ausência de luz.

Os comprimentos de onda abaixo de 290nm geralmente inibem a germinação de todas as sementes, entre 290- 400nm, não existem efeitos nítidos e de 400- 700nm, promovem fortes respostas em sementes fotoblásticas positivas. A luz vermelha (560-700nm), geralmente, promove a germinação, enquanto a luz azul (450nm) inibe a germinação (METEVIER, 1979). A radiação vermelho-curto (660nm) é responsável pela formação do fitocromo ativo, e a radiação vermelho-longo(acima 730nm) pela rápida inativação do fitocromo e dessa forma inibe o processo germinativo. No escuro, o fitocromo ativo também é inativado, porém de forma lenta (FLOSS, 2004).

O fitocromo é um pigmento proteico de coloração azul-esverdeado que participa da fisiologia das plantas em resposta exposição periódica à luz. Quando está na forma ativa é responsável pela expressão gênica que conduz à síntese de giberelina, hormônio promotor da germinação. Já na forma inativa é responsável pela síntese de ácido abscísico (ABA), um inibidor da germinação (FLOSS, 2004).

Experimentos com sementes de alface (BRYANT, 1989) demonstraram a eficiência da radiação vermelho-curta (600nm) na indução à germinação e o efeito inibidor da radiação vermelho-longo (730nm), (Tabela 1).

Tabela1. Efeitos de diferentes condições de iluminação sobre a germinação de sementes de alface *Lactuca sativa* (BRYANT, 1989)

Condições de iluminação	Poder germinativo (%)
Escuro	20
Luz branca	92
Luz vermelha (660nm)	98
Luz vermelho-longo (730nm)	1
Vermelho, vermelho longo	2
Vermelho, vermelho longo, vermelho	98
Vermelho, vermelho longo, vermelho, vermelho longo	1

A luz é necessária para a germinação de um grande número de sementes de forrageiras. Dados recentes têm demonstrado que as sementes mais novas, isto é, de colheitas recentes, são, geralmente, mais beneficiadas pela luz do que as sementes mais velhas e que a luz pode compensar algumas condições desfavoráveis para a germinação (FLOSS, 2004).

A maioria das plantas cultivadas são fotoblásticas neutras, como a soja, o feijão, o milho, a cevada, o trigo, o arroz, a aveia, o triticale, dentre outras (FLOSS, 2004). Contudo, a germinação de sementes em dias iluminados sempre é desejável para qualquer espécie, pois, quando ocorre sob baixa luminosidade, as plântulas tornam-se estioladas, mais altas, amareladas e frágeis. Na presença de luz as plântulas são mais vigorosas (Figura 1).

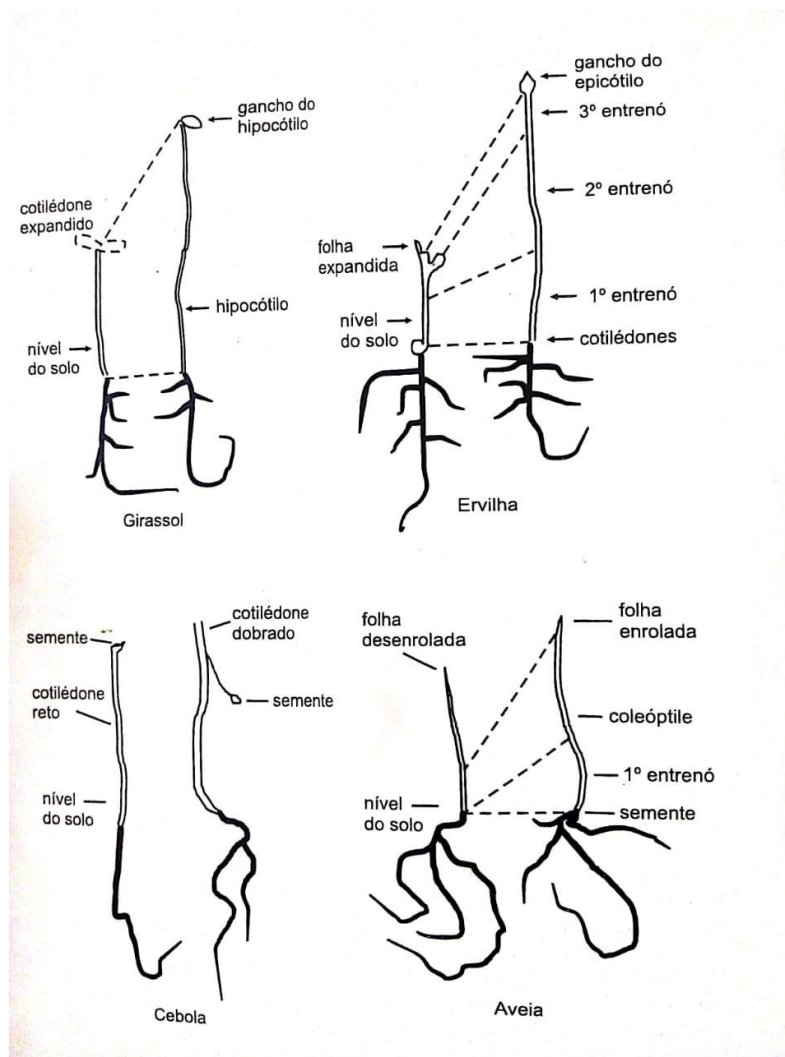


Figura 1. Efeito da luz e escuro sobre a emergência de plântulas de girassol, ervilha, cebola e aveia (adaptado de KENDRICK e FRANKLAND, 1981)

2.4 Diodos de emissão de luz (lâmpadas LEDs)

As fontes de radiação mais comumente utilizadas em ambientes controlados de crescimento de plantas são as lâmpadas fluorescentes, iodetos metálicos, sódio em alta pressão, e lâmpadas incandescentes. Essas lâmpadas comercialmente disponíveis foram desenvolvidas para aplicações em iluminação de ambientes humanos. Uma vez que os fotorreceptores de plantas diferem dos seres humanos, as fontes de luz utilizadas atualmente nas instalações de cultivo de plantas apresentam várias limitações e, conseqüentemente, não são uma fonte de radiação ideal (BULA et al., 1991). Porém, lâmpadas fluorescentes emitem um amplo espectro luminoso que varia de 350 a 750nm,

incluindo comprimentos de onda desnecessários e que são de baixa qualidade para promover o crescimento vegetal (RAMIREZ-MOSQUEDA et al., 2016).

Para superar as desvantagens das lâmpadas fluorescentes no cultivo *in vitro*, desenvolveram os diodos de emissão de luz (LEDs). Estes apresentam a emissão de comprimento de onda e intensidade de luz controláveis, distribuição de energia espacial e polarização (SILVA et al., 2014). Lâmpadas LEDs são um tipo único de diodo semicondutor, e podem ter um pico de emissão de luz variando de 220 a 1.000nm, e é o primeiro dispositivo que tem a capacidade de controle espectral, permitindo que os comprimentos de onda sejam adaptados aos fotorreceptores dos vegetais, influenciando de maneira satisfatória a morfologia e composição das plantas (OLLE; VIRSILÈ, 2013).

Nos primeiros trabalhos com lâmpadas LEDs para plantas foram utilizadas lâmpadas LED vermelhas de dispositivos individuais lensed. Nessa época, somente os dispositivos vermelhos (aproximadamente 660nm) foram ajustados para o crescimento das plantas. Lâmpadas desses dispositivos não eram viáveis para utilização em larga escala, pois tinham custo elevado, desempenho irregular dos dispositivos individuais e dificuldades na fabricação (ONO; WATANABE, 2006).

Com o passar do tempo, novas tecnologias de chips de lâmpadas LEDs tornaram-se disponíveis, onde a partir daí foram desenvolvidos módulos de LED com alta densidade e mais eficientes que os anteriores. Essa tecnologia é muito cara para utilização em larga escala, mas é ideal para aplicação em pesquisas especializadas e no cultivo protegido que requerem alta incidência luminosa em vários espectros diferentes, independentes e controláveis (MORROW, 2008).

As lâmpadas LEDs oferecem vantagens sobre as formas de iluminação tradicionais utilizadas na agricultura convencional. Essas vantagens são: tamanho reduzido, durabilidade, longo tempo de vida, são lâmpadas frias e possuem a opção de selecionar os comprimentos de onda específicos para obter uma resposta desejável na planta. Por esses motivos as lâmpadas LEDs são mais adequadas para utilização do que outras fontes luminosas (MASSA et al., 2008).

Bula et al. (1991) foram os primeiros a sugerirem a utilização de lâmpadas LEDs para o crescimento de plantas e relataram que o crescimento de alface sob luz vermelha suplementada com luz azul fluorescente era equivalente ao encontrado sob lâmpada fluorescente branca mais lâmpadas incandescentes. Nesse mesmo estudo, as lâmpadas azuis não foram amplamente disponíveis para as plantas, elas serviram como alternativa luminosa (MASSA et al., 2008). Testes subsequentes realizados por esse mesmo grupo

mostrou que hipocótilos e cotilédones de mudas de alface sob luz vermelha, tornaram-se alongadas, e que esse efeito poderia ser evitado pela adição de luz azul durante o seu desenvolvimento (HOENECKE et al., 1992).

O potencial de lâmpadas LEDs para utilização em cultivos de plantas continuou então a ser estudado e comparações da incidência de luz vermelha em *Pueraria lobata* mostraram que as folhas possuíam pequenas diferenças na condutância estomática, mas semelhantes respostas fotossintéticas (TENNESSEN et al., 1994).

Comparações de taxas fotossintéticas de folhas de morango (*Fragaria ananassa*) em lâmpadas LED vermelha (660nm) ou azul (450nm) mostraram alta eficiência quântica nos tratamentos sob luz vermelha (YANAGI et al., 1996a).

Estudos revelam que plantas de arroz cultivadas sob uma combinação de lâmpadas LEDs vermelho (660nm) e azul (470nm) sustentaram taxas fotossintéticas mais elevadas do que folhas de plantas cultivadas sob lâmpadas LEDs vermelha monocromática (MATSUDA et al., 2004).

As lâmpadas LEDs oferecem muitas vantagens como fontes de radiação para as plantas, mas existem dificuldades que retardam a sua implementação para aplicações no cultivo de plantas. A dificuldade primária é o custo. Aplicações de fontes de radiação para plantas requerem um grande número de dispositivos em um sistema de iluminação controlável. Felizmente, a evolução histórica e desempenho das lâmpadas LEDs no decorrer do tempo têm feito com que os preços reduzam cada vez mais (MASSA et al., 2008). Além disso, sua eficiência na produção vegetal associada às suas diferentes vantagens sobre as lâmpadas convencionais fazem com que seu custo seja compensatório.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Local de condução e material genético

O experimento foi conduzido no Laboratório Central de Análise de Sementes do Departamento de Agricultura, da Universidade Federal de Lavras.

Foram utilizadas sementes de dois grupos varietais de tabaco (*Nicotiana tabacum*), sendo estes, Burley e Virgínia, cedidas pela empresa Souza Cruz, sendo sementes, nuas e pelotizadas, e armazenadas desde 2016.

As cultivares usadas foram a CSC 445 e Bat 2111 pertencentes aos grupos varietais Burley e Virgínia, respectivamente.

3.2 Descrição dos tratamentos

O experimento foi montado em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x2x2, sendo duas cultivares (CSC 445 e Bat 2111), dois regimes de luz (Branca e vermelha) e dois revestimentos (com e sem pelotização).

Os seguintes tratamentos foram estabelecidos: 1) CSC 445, semente nua, sob luz branca; 2) CSC 445, semente nua, sob luz vermelha; 3) CSC 445, semente pelotizada, sob luz branca; 4) CSC 445, semente pelotizada, sob luz vermelha; 5) Bat 2111, semente nua, sob luz branca; 6) Bat 2111, semente nua, sob luz vermelha; 7) Bat 2111, semente pelotizada, sob luz branca; 8) Bat 2111, semente pelotizada, sob luz vermelha. Foram utilizadas 4 repetições para cada tratamento.

3.3 Teste de germinação

No teste de germinação, quatro repetições de 50 sementes foram semeadas sobre duas folhas de papel tipo mata-borrão, umedecidos com solução de KNO₃ (0,2%) equivalente a 2,5 vezes a massa seca dos papéis, colocados em caixas de acrílico tipo gerbox. Utilizou-se duas BOD's, uma com luz de LED branca e a outra com luz de LED

vermelha. As sementes foram mantidas em BOD com temperatura alternada de 20-30 °C (20 °C durante 8 horas sem luz e 30 °C durante 16 horas com luz) (RAS, 2009).

As avaliações foram realizadas de acordo com as RAS. Os resultados foram expressos em porcentagem média de plântulas normais com avaliação aos sete dias após a montagem do teste, para obtenção da primeira contagem de germinação, e aos 16 dias, pela contagem de plântulas normais para avaliação da germinação.

3.4 Índice de velocidade de germinação (IVG)

O Índice de Velocidade de Germinação (IVG) foi obtido, por meio de avaliações diárias, no mesmo horário, a partir da protrusão da radícula. O cálculo do IVG foi realizado utilizando-se a fórmula proposta por Maguire (1962).

3.5 Procedimentos estatísticos

Os dados foram inicialmente analisados estatisticamente com testes de normalidade (Shapiro-Wilk), análise de variância (Anova) e teste de média, utilizando o *software* SISVAR versão 5.3 (FERREIRA, 2010) para comparar as médias utilizou-se o teste de tukey a 5% de probabilidade.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Foi possível observar diferenças significativas entre as cultivares, revestimentos e tipos de luz, assim como para a interação dos fatores avaliados ($p < 0,05$).

Analisando os dados referentes à primeira contagem do teste de germinação para a interação tipos de luz e revestimento, foi possível observar que para as sementes sem revestimento, ou seja, sementes nuas, para a cultivar CSC 445, na luz vermelha observa-se valores superiores em relação a luz branca, tendo o mesmo comportamento para a cultivar Bat 2111. Já para as sementes pelotizadas o mesmo parâmetro não foi observado, provavelmente devido a não exposição dessas a luz na fase de emissão de radícula, já que estas estavam protegidas pelo revestimento (Tabela 2).

Tabela 2. Análise da interação entre luz (branca e vermelha), revestimento (nua e pelotizada) e cultivares (CSC 445 e Bat 2111).

Cultivar	Primeira contagem (%)			
	Revestimento			
	Nua		Pelotizada	
	Branca	Vermelha	Branca	Vermelha
CSC 445	70aB	84aA	24aA	19aA
Bat 2111	62aB	82aA	9bA	5bA
CV	14,11%			

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna, e maiúscula na linha, não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de tukey.

Quando se compara as cultivares, observa-se que ambas quando estas foram expostas a luz branca e vermelha, apresentaram valores superiores de germinação aos sete dias quando as sementes foram expostas a luz vermelha (Tabela 2). Já para as sementes revestidas, as sementes da cultivar CSC 445 foram superiores, na germinação aos sete dias, independente da luz, quando comparadas com as sementes da cultivar Bat 2111. É válido ressaltar, que as sementes das duas cultivares estavam armazenadas desde 2016, e esta diferença quanto ao vigor pode estar relacionada a esse período de armazenamento.

A luz vermelha ao ser percebida pelos fitocromos desencadeia uma série de processos bioquímicos como aumento da biossíntese de giberelina (GA3) um importante precursor da germinação, o que ocorre logo após a reidratação da semente (TOYOMASU et al., 1998). Tal afirmação pode ser comprovada com base na taxa de plântulas normais, avaliada pelo teste de primeira contagem em sementes de tabaco. Com isso, infere-se que,

a utilização de luz vermelha, pode ser uma ferramenta importante para se obter plântulas mais vigorosas quando estas estão armazenadas, sendo importante em programas de melhoramento de cultura, onde muitas vezes é necessário armazenar as sementes por longos períodos de tempo e precisam ter suas mudas reestabelecidas para comparação com novos materiais resultantes do melhoramento destas cultivares.

Em relação aos dados da tabela 3, referentes ao teste de germinação para a interação revestimento e tipo de luz, foi possível verificar que para as sementes nuas, para a cultivar CSC 445, na luz vermelha constata-se valores superiores quando comparada a luz branca. Todavia, para a cultivar Bat 2111 o tipo de luz não diferiu estatisticamente na germinação. Em relação as sementes pelotizadas, o comportamento foi o inverso observado nas sementes nuas. Para a cultivar Bat 2111, na luz vermelha os valores foram superiores quando confrontados com o da luz branca. Já para CSC 445 os resultados foram análogos para os dois tipos de luz.

Ainda, pode-se observar, para as duas cultivares e para os dois tipos de luz, resultados superiores de sementes nuas em relação às sementes revestidas, provavelmente devido a não exposição da luz na fase de emissão de radícula, já que estas estavam protegidas pelo revestimento, atrasando o processo germinativo. O mesmo foi relatado por Caldeira (2016) ao avaliar a qualidade de sementes de tabaco no processo de pelotização e armazenamento.

Tabela 3. Análise da interação entre luz (branca e vermelha), revestimento (nua e pelotizada) e cultivares (CSC 445 e Bat 2111).

Cultivar	Contagem de plântulas normais (%)			
	Revestimento			
	Nua		Pelotizada	
	Branca	Vermelha	Branca	Vermelha
CSC 445	83aA	96aA	67aA	61aA
Bat 2111	78aA	88aA	26bB	70aA
CV	10,67%			

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna, e maiúscula na linha, não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de tukey.

De acordo com a tabela 3, ao confrontar o comportamento das duas cultivares, em ambas as cultivares, o tipo de luz não influenciou significativamente a germinação, para sementes nuas. Contudo, para as sementes pelotizadas, houve diferença entre as cultivares. Para a cultivar Bat 2111 observa-se valores superiores de germinação quando as sementes foram expostas a luz vermelha para as sementes pelotizadas. Como já foi

ressaltado, as diferenças no comportamento das duas cultivares pode ser justificado pelo longo período de armazenamento, desde 2016.

Em avaliação de pré-tratamentos com luz em sementes de tomateiro para a indução de tolerância de déficit hídrico concluiu-se que o pré-tratamento com luz vermelha durante 20 horas pode induzir a tolerância ao déficit hídrico (SANTOS, 2016).

Para sementes de *Phyllanthus tenellus* submetidos a germinação *in vitro* observou-se que o tipo de luz influencia nos aspectos morfogênicos e fisiológicos. A principal variação foi observada no aumento na porcentagem de enraizamento sob luz vermelha e diminuição sob luz azul (VICTÓRIO e LAGE, 2009).

Analisando os dados referentes ao Índice de Velocidade de Germinação, na tabela 4, para a interação tipos de luz e revestimento, foi possível observar que tanto para sementes nuas quanto para as sementes pelotizadas, para a cultivar CSC 445, na luz vermelha observa-se valores superiores em relação a luz branca, tendo o mesmo comportamento para a cultivar Bat 2111. Análogo ao teste de germinação, sementes nuas apresentaram comportamento superior em relação à sementes com revestimento, para os dois tipos de luz e para as duas cultivares.

Tabela 4. Análise da interação entre luz (branca e vermelha), revestimento (nua e pelotizada) e cultivares (CSC 445 e Bat 2111).

Cultivar	Índice de Velocidade de Germinação- IVG (%)			
	Revestimento			
	Nua		Pelotizada	
	Branca	Vermelha	Branca	Vermelha
CSC 445	8,37aB	9,08aA	2,65aB	3,64aA
Bat 2111	6,88bB	9,03aA	1,65bB	3,24aA
CV	7,51%			

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna, e maiúscula na linha, não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de tukey.

Quando se compara a interação do tipo de luz e cultivares, observa-se que, tanto para a cultivar CSC 445 quanto para a Bat 2111, observa-se valores superiores do IVG quando as sementes foram expostas a luz vermelha (Tabela 4). O mesmo comportamento pode ser observado para sementes pelotizadas.

5. CONCLUSÕES

O desenvolvimento inicial das sementes nuas foi mais rápido quando estas foram submetidas a luz vermelha.

A luz vermelha pode ser utilizada para acelerar a germinação de sementes nuas de tabaco.

A luz vermelha não acelera a germinação de sementes pelletizadas, pois a presença do pellet representa uma barreira a não absorção da luz.

REFERÊNCIAS

AFUBRA. **Associação dos Fumicultores do Brasil**. Disponível em: <www.afubra.com.br>. Acesso em: 17/09/2018.

AKEHURST, B. C. **Tabacco**. 2 nd ed. New York: Longman, 1981. 764 p.

ALVARENGA, R. O.; MARCOS FILHO, J.; GOMES JUNIOR, F. G. 2012. Avaliação do vigor de sementes de milho superdoce por meio da análise computadorizada de imagens de plântulas. *Revista Brasileira de Sementes*, Londrina, v. 34, n. 3, p. 488-494.

ANDRADE, D. B. 2017. Evaluation of the physiological quality of tobacco seeds through image analysis. 2017. 48 p. **Tese** (Doutorado em Fitotecnia)- Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2017.

ANUÁRIO BRASILEIRO DO TABACO. 2017. **Editora Gazeta Santa Cruz**, Santa Cruz do Sul. 128 p.

AOSA. 2009. Association Of Official Seed Analysts. **Seed Vigor Testing Handbook**. New York, p. 341.

BHERING, M.C.; DIAS, D.C.F.S.; GOMES, J.M.; BARROS, D.I. 2000. Métodos para avaliação do vigor de sementes de pepino. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v.22, n.2, p.171-175.

BRASIL. 2013. **Instrução normativa nº 45**, de 17 de setembro de 2013, que estabelece os padrões para a produção e a comercialização de sementes de tabaco (*Nicotiana tabacum* L.).

BRASIL. 2009. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV. 395p.

BULA, R.J. et al. Light-emitting diodes as a radiation source for plants. **HortScience**, Virginia, v.26, n.2, p.203-205, 1991.

CALDEIRA, C. M. Condicionamento fisiológico e pelotização de sementes de tabaco. 2013. 109 p. **Tese** (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.

CALDEIRA, C. M. Qualidade de sementes de tabaco durante o processo de pelotização e armazenamento. **Ciência Rural**, v.46, n.2, p. 216-220, 2016.

CORDOBA, C.V. Fisiologia vegetal. Madri: H. B. Blune Ediciones, 1976, 439 p.

CRIVELLARI, R. P. L. Metodologias para a avaliação do Potencial fisiológico de sementes de tabaco. 2016. 41 p. **Tese** (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2016.

ENGEL., V.L.; POGGIANI, F. Estudo da concentração de clorofila nas folhas e seu aspecto de absorção de luz em função do sombreamento em mudas de quatro espécies florestais nativas. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**. Londrina. V.3.n.1.p.39-45. Jun.199.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

FERREIRA, M. G. M.; CÂNDIDO, J. F.; CANO, M. A. O. & CONDÉ, A. Efeito do sombreamento na produção de mudas de quatro espécies florestais nativas. **Rev. Árvore**, 1(2): 121-134. R. 1997.

FINCH-SAVAGE, W. E.; LEUBNER-METZER, G. 2006. Seed dormancy and control of germination. **New Phytologist, Oxford**, v. 171, p. 501-523.

FLOSS, E. L. Fisiologia das plantas cultivadas: o estudo que está por trás do que se vê. **Literatura**, v.2, p. 169-198, 2004

FRICANO, A., N. BAKAHER, M. DEL CORVO, P. PIFFANELLI, P. DONINI, A. STELLA, et al. 2012. Molecular diversity, population structure, and linkage disequilibrium in a worldwide collection of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) germplasm. **Bmc Genetics** 13 p.

GARCIA-MARTINEZ, N., P. ANDREO-MARTINEZ, J. QUESADA-MEDINA, A.P. DE LOS RIOS, A. CHICA, R. BENEITO-RUIZ, et al. 2017. Optimization of non-catalytic transesterification of tobacco (*Nicotiana tabacum*) seed oil using supercritical methanol to biodiesel production. **Energy Conversion and Management**, 131 p.

GUIMARÃES, R. M. Tolerância à dessecação e condicionamento fisiológico em sementes de cafeeiro (*Coffea arábica* L.). 2000. 180p. **Tese** (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2000.

HOENECKE, M.E.; BULA, R.J.; TIBBITTS, T.W. Importance of Blue Photon levels for Lettuce seedlings grown under red-light-emitting diodes. **HortScience**, Virginia, v.27, n.5, p.427-430, 1992.

HOLDSWORTH, M., 1972. Phytochrome and seed germination. **New Phytologist**, 71, 105-10.

HUNG, C.D. et al. LED light for in vitro and ex vitro efficient growth of economically important highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.). **Acta Physiologiae Plantarum**, Krakow, v.38, n.6, p.1-9, 2016.

HUNZIKER, A. T. 2001. *Genera Solanacearum*. Rugell: Gantner Verlag. 500 p.

KAGEYAMA, P. Y.; VIANA, V. M. Tecnologia de sementes e grupos ecológicos de espécies arbóreas tropicais. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE TECNOLOGIA DE SEMENTES FLORESTAIS, 2., 1989, Atibaia. **Anais...** São Paulo: Instituto Florestal, 1991. p. 197-215.

LABOURIAU, L. G. Uma nova linha de pesquisa na fisiologia da germinação das sementes. In: **CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA**, 34., 1983b, Porto Alegre, Anais...Porto Alegre: SBB, 1983b. p. 11-50.

LARCHER, W. 2001. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: RiMA Artes e Textos, p 531.

LI, H.; XU, Z.; TANG, C. Effect of light-emitting diodes on growth and morphogenesis of upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.) plantlets in vitro. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, London, v.103, n.2, p.155-163, 2010.

MAGUIRRE, J. D. Speeds of germination aid selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v. 2, p. 176-177, 1962.

MASETTO, T. E.; GORDIN, C. R. B.; QUADROS, J. B.; REZENDE, R. K. S.; SCALON, S. P. Q. 2009. Qualidade fisiológica e sanitária de sementes de crambe produzidas no estado de Mato Grosso do Sul. **Revista Brasileira ol. fibros**, Campina Grande, v.13, n.3, p.107-113.

MASSA, G.D. et al. Plant productivity in response to LED lighting. **HortScience**, Virginia, v.43, n.7, p.1951-1956, 2008.

MATSUDA, R. et al. Photosynthetic characteristics of rice leaves grown under red light with or without supplemental blue light. **Plant and Cell Physiology**, Oxford, v.45, n.12, p.1870-1874, 2004.

MORROW, R.C. LED lighting in horticulture. **HortScience**, Virginia, v.43, n.7, p.1947-1950, 2008.

MUNEER, S. et al. Influence of green, red and blue light emitting diodes on multiprotein complex proteins and photosynthetic activity under different light intensities in lettuce leaves (*Lactuca sativa* L.). **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v.15, n.3, p.4657-4670, 2014.

OHLSON, O. C. et al. 2010. Accelerated ageing test for seed wheat evaluation. **Revista Brasileira de Sementes**, v.32, n.4, p.118-124.

OLIVEIRA, A. S. 2016. Condicionamento fisiológico de sementes de tabaco. **Tese** (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia)-Universidade Federal de Lavras, Lavras.

OLLE, M.; VIRŠILE, A. The effects of light-emitting diode lighting on greenhouse plant growth and quality. **Agricultural and Food Science**, Hameenlinna, v.22, n.2, p.223-234, 2013.

ONO, E.; WATANABE, H. Plant factories blossom: production in Japan steadily flowers. **Resource: Engineering & Technology for a Sustainable World**, v.13, p.13-14, 2006.

PERALTA, G.; PÉREZ-LLORENS, J.L.; HERNÁNDEZ, I.; VERGARA, J.J. Effects of light availability on growth, architecture and nutrient content of the seagrass *Zosteranoltii* Hornem. **Jornal of Experimental Marine Biology and Ecology**. 269 (1): 9-26.

RAMÍREZ-MOSQUEDA, M.A.; IGLESIAS-ANDREU, L.G.; BAUTISTA-AGUILAR, J.R. The effect of light quality on growth and development of in vitro plantlet of *Stevia rebaudiana* Bertoni. **Sugar Tech**, Jankipuram, p.1-6, 2016.

ROBERTS, E.H. Predicting the storage life of seeds. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.1, n.4, p.499-514, 1973.

ROCHA, C.R.M., V.N. SILVA AND S.M. CICERO. 2015. Sunflower seed vigor evaluation by seedling image analyze. **Ciencia Rural** 45: p. 970-976.

SANTOS, D.L. Aspectos Fisiológicos de Cedro Rosa (*Cedrela fissilis* VELLOZO)-MELIACEAE. Braz. arch. **Biol. technol**.Curitiba.v.49n.1, jan.2006.

SANTOS, J. C. Pré-tratamentos com luz em sementes de tomateiro para indução de tolerância ao déficit hídrico, 2016, p. **Tese** (Mestrado em Produção Vegetal). Universidade Estadual Paulista, JaJaboticabal, 2016

SEGATO, S. V.; GABALDI, F. C. 2012. Fungos associados às sementes de fumo (*Nicotiana tabacum* L.). **Nucleus**, Ituverava v. 9, n. 2, p. 1-6.

SILVA, M.M.A; et al. Effect of blue/red LED light combination on growth and morphogenesis of *Saccharum officinarum* plantlets in vitro. In: SPIE BiOS, **International Society for Optics and Photonics**, San Francisco, 2014. p.89471X-89471X-8.

SILVA, H. P. 2014. Colheita, secagem e extração de sementes de tabaco. **Tese** (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

SILVA, V.N. AND S.M. CICERO. 2014. Seedling imaging analyze to evaluate eggplant seed physiological potential. **Horticultura Brasileira** 32: p. 145-151.

SOUZA CRUZ. 2018. Tabaco e seus produtos: Impacto e importância econômica. Disponível em: <www.souzacruz.com.br>. Acesso em: 17/09/2018.

STREET, H. E., ÖPIK, H. Fisiologia das angiospermas: crescimento e desenvolvimento. **Literatura**. São Paulo: Edusp, 1974, 332 p.

SUN, J.; NISHIO, J.N.; VOGELMANN, T.C. Green light drives CO₂ fixation deep within leaves. **Plant and Cell Physiology**, Oxford, v.39, n.10, p.1020-1026, 1998.

SWAINE, M.D.; WHITMORE, T.C. On the definition of ecological species groups in tropical rain forests. **Vegetatio**, Dordrecht, v.75, p. 81-86. 1988.

TENNESSEN, D.J.; SINGSAAS, E.L.; SHARKEY, T.D. Light-emitting diodes as a light source for photosynthesis research. **Photosynthesis Research**, Baton Rouge, v.39, n.1, p.85-92, 1994.

TOYOMASU T; KAWAIDE, H.; MITSUHASHI, W.; INOUE, Y.; KAMIYA, Y. Phytochrome regulates gibberellin biosynthesis during germination of photoblastic Lettuce seeds. **Plant Physiology**, v. 118, n. 4, p. 1517-1523, 1998.

VASCONCELOS, K.; CARVALHO, J.S.B. de. Germinação de sementes de manjeriço em diferentes condições ambientais. **Revista Ciência, Tecnologia & Ambiente**. Vol. 1, No. 1, 21-27, 2015.

VELJKOVIC, V. B. et al. Biodiesel production from tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) seed oil with a high content of free fatty acids. **Fuel**, London, v. 85, n. 17/18, p. 2671-2675, Dec. 2006.

VENCATO, A. Z. et al. **Anuário brasileiro de tabaco**. Gazeta Santa Cruz, 2011. Santa Cruz do Sul.176 p.

VICTÓRIO, C. P.; LAGE, C. L. S. Efeitos da qualidade de luz na germinação e desenvolvimento inicial *in vitro* de *Phyllanthus tenellus*. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 40, n. 3, p. 400-405, jul-set, 2009

WHITELAM, G.; HALLIDAY, K. **Light and plant development**. Blackwell: Oxford, UK, 2007.

YANAGI, T.; OKAMOTO, K.; TAKITA, S. Effect of blue and red light intensity on photosynthetic rate of strawberry leaves. In: **INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON PLANT PRODUCTION IN CLOSED ECOSYSTEMS**, 440., Narita, 1996. p.371-376.