

YASMIN VERÇOSA KRAMER

**RESPOSTAS FISIOLÓGICAS E METABÓLICAS DA APLICAÇÃO FOLIAR DE
NANOMOLÉCULA DE CARBONO EM BAIXAS CONCENTRAÇÕES EM PLANTAS
JOVENS DE *Hevea brasiliensis***

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Adriano Nunes Nesi

Coorientador: José Francisco de C. Gonçalves

VIÇOSA – MINAS GERAIS

2024

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

K89r
2024

Kramer, Yasmin Verçosa, 1999-

Respostas fisiológicas e metabólicas da aplicação foliar de nanomolécula de carbono em baixas concentrações em plantas jovens de *Hevea brasiliensis* / Yasmin Verçosa Kramer. – Viçosa, MG, 2024.

1 dissertação eletrônica (48 f.): il. (algumas color.).

Orientador: Adriano Nunes Nesi.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Biologia Vegetal, 2024.

Inclui bibliografia.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2024.663>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Seringueira. 2. Árvores - Fisiologia. 3. Nanopartículas.
I. Nesi, Adriano Nunes, 1975-. II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Biologia Vegetal. Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal. III. Título.

CDD 22. ed. 633.8952

YASMIN VERÇOSA KRAMER

**RESPOSTAS FISIOLÓGICAS E METABÓLICAS DA APLICAÇÃO FOLIAR DE
NANOMOLÉCULA DE CARBONO EM BAIXAS CONCENTRAÇÕES EM PLANTAS
JOVENS DE *Hevea brasiliensis***

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 28 de fevereiro de 2024.

Assentimento:

Documento assinado digitalmente
 **YASMIN VERCOSA KRAMER**
Data: 03/10/2024 15:21:28-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Yasmin Verçosa Kramer
Autor

Documento assinado digitalmente
 **ADRIANO NUNES NESI**
Data: 03/10/2024 15:17:34-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Adriano Nunes Nesi
Orientador

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG).

Agradeço ainda à Universidade Federal de Viçosa, ao departamento de Biologia Vegetal e ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal pela oportunidade, suporte e auxílio durante essa jornada.

À banca avaliadora, pelas contribuições ao trabalho.

Ao meu orientador Professor Adriano Nunes Nesi pela orientação, confiança, paciência, e não menos importante, pela inspiração.

Ao meu coorientador José Francisco de Carvalho Gonçalves pelos anos de parceria e pelo apoio incondicional.

À Josiane Celerino pela cessão das sementes e pelo auxílio no experimento.

À Hellen Miléo pela disponibilidade para responder minhas inúmeras dúvidas sobre a espécie e pelo apoio.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, em especial Professores Dimas M. Ribeiro e Samuel Martins pela atenção dedicada às minhas indagações.

À toda equipe da Unidade de Crescimento de Plantas (UCP/UFV), em especial ao técnico Mateus Nunes, e às pós-doutorandas Lidiane Covell, Auxiliadora Martins e Jéssica Soares pela experiência compartilhada e pelo suporte nas análises.

Às amigas geradas na fisiologia, em especial a Jefferson Barbosa, João Pedro, Priscilla Falquetto, Ana Luiza e Jean Oder pela parceria, conversas infinitas e, principalmente, pela paciência.

Aos meus amigos de longa data Nicole Ingrid, Mylla Dimas e Elson Gustavo, que permaneceram ao meu lado nos momentos difíceis e sempre apoiaram minhas estripulias.

Ao meu amigo e parceiro Thiago Henrique, que faz meus dias mais leves e me ajuda a ser uma pessoa melhor.

À minha mãe Rosana Verçosa, avó Cecília Maria Verçosa, à minha tia Carla Denise Verçosa, minha prima Fernanda Luísa Verçosa, pela minha criação, paciência e pelo apoio aos meus sonhos. Não sei o que seria de mim sem vocês.

A todos que indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho e com o meu desenvolvimento pessoal.

RESUMO

KRAMER, Yasmin V. M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2024.
Respostas fisiológicas e metabólicas da aplicação foliar de nanomolécula de carbono em baixas concentrações em plantas jovens de *Hevea brasiliensis*.
Orientador: Adriano Nunes Nesi. Coorientador: José Francisco de Carvalho Gonçalves.

Carbon dots (CDs) são uma classe de nanopartículas cujo tamanho varia de 1 a 100 nm. Sintetizados a partir de fontes ricas em carbono, os CDs são potencialmente estimulantes da fotossíntese, atuando fisicamente como capturador de energia luminosa e potencializando a etapa fotoquímica. Bioquimicamente, CDs estão associados à transcrição gênica, aumento da atividade enzimática e controle do acúmulo de espécies reativas de oxigênio. Devido ao efeito bioestimulante, o uso de CDs é de grande interesse ao nível de produtividade de culturas anuais. De forma similar, espera-se que espécies perenes também se beneficiem do uso de CDs para aumentar a taxa de sucesso no estabelecimento de mudas no campo assim como a produção de frutos e sementes. Entre as espécies perenes de importância comercial, a seringueira (*Hevea brasiliensis*) é a terceira espécie arbórea mais cultivada no Brasil e se destaca pela alta exsudação e qualidade do látex, matéria prima para produção de borracha natural (BN). Entretanto, o conhecimento da fisiologia de seringueiras é escasso, corroborando com pequenos avanços no melhoramento genético da espécie. Nesse sentido, novas práticas culturais surgem como alternativas para aumentar o sucesso da implantação e a produtividade de seringais. Assim, o objetivo deste projeto foi investigar alterações fisiológicas em plantas jovens de seringueira (*H. brasiliensis* clone RRIM 600) decorrentes da aplicação de diferentes doses de nanopartículas de carbono (Arbolina). Foram utilizadas diferentes doses de Arbolina (0, 1, 5 e 10 mg ml⁻¹), aplicadas mensalmente em plantas jovens de seringueira durante 240 dias. Ao longo do período foram avaliados parâmetros associados ao crescimento e fotossíntese, enquanto análises bioquímicas foram realizadas ao final do período experimental. Os resultados obtidos sugerem que a aplicação mensal de Arbolina, nas diferentes doses testadas ao longo de 240 dias, não promoveram alteração significativa do crescimento das plantas. Entretanto, verificou-se que a presença de Arbolina alterou Fv'/Fm', sem alterações nesse mesmo parâmetro em folhas adaptadas ao escuro. Com base nas doses testadas, o ajuste quadrático sugere que plantas submetidas à dose de 5 mg ml⁻¹ tiveram maior condutância

estomática (g_s), respiração noturna (R_d) e eficiência do uso da água (EUA). A nível de metabolismo primário, foi verificado aumento da quantidade de aminoácidos livres totais em folhas para a concentração de 5 mg ml^{-1} . Em relação às proteínas solúveis totais, observou-se redução na quantidade nas plantas tratadas com Arbolina, semelhante ao visualizado para a frutose para a mesma concentração. Quanto à sacarose, apenas as variações temporais foram significativas. Adicionalmente, verificou-se que folhas de plantas submetidas aos tratamentos de 1 e 5 mg ml^{-1} de Arbolina promoveram maior acúmulo de amido em relação as demais concentrações testadas. Em conjunto, os resultados obtidos reforçam a necessidade de aprofundar o conhecimento sobre o uso da Arbolina em seringueiras, tanto no que se refere à otimização das doses quanto à definição dos melhores métodos e momentos de aplicação. A continuidade desses estudos é fundamental para assegurar que a nanopartícula possa ser utilizada de forma eficaz e sustentável em práticas agrícolas, contribuindo para o desenvolvimento de seringais mais produtivos e resilientes.

Palavras-chave: Seringueira; Fisiologia de arbóreas; Nanopartículas de carbono.

ABSTRACT

KRAMER, Yasmin V. M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2024.
Physiological and metabolic responses to foliar application carbon nanomolecule in low concentrations in young plants of *Hevea brasiliensis*.
Advisor: Adriano Nunes Nesi. Co-advisor: José Francisco de Carvalho Gonçalves.

Carbon dots (CDs) are a class of nanoparticles whose size ranges from 1 to 100 nm. Synthesized from carbon-rich sources, CDs are potential stimulants of photosynthesis, acting physically as a light energy capturer and enhancing the photochemical stage. Biochemically, CDs are associated with gene transcription, increased enzymatic activity, and control of the accumulation of reactive oxygen species. Due to their biostimulant effect, the use of CDs is of great interest in the productivity of annual crops. Similarly, perennial species are also expected to benefit from the use of CDs to increase the success rate of seedling establishment in the field as well as the production of fruits and seeds. Among the perennial species of commercial importance, the rubber tree (*Hevea brasiliensis*) is the third most cultivated tree species in Brazil and stands out for its high exudation and quality of latex, a raw material for the production of natural rubber (NR). However, knowledge of the physiology of rubber trees is scarce, corroborating with small advances in the genetic improvement of the species. In this sense, new cultural practices emerge as alternatives to increase the success of the implementation and productivity of rubber plantations. Thus, the objective of this project was to investigate physiological changes in young rubber tree plants (*H. brasiliensis* clone RRIM 600) resulting from the application of different doses of carbon nanoparticle (Arbolin). Various doses of Arbolin (0, 1, 5, and 10 mg ml⁻¹) were used and applied monthly to young rubber tree plants for 240 days. Throughout the period, parameters associated with growth and photosynthesis were evaluated, while biochemical analyses were performed at the end of the experimental period. The results suggest that the monthly application of Arbolin, at the different doses tested over 240 days, did not promote significant changes in plant growth. However, it was found that the presence of Arbolin altered Fv'/Fm', without changes in this same parameter in leaves adapted to the dark. Based on the doses tested, the quadratic fit suggests that plants subjected to the dose of 5 mg ml⁻¹ had greater stomatal conductance (gs), nocturnal respiration (Rd), and water use efficiency (WUE). At the level of primary metabolism, an increase in the amount of total free amino acids in leaves was observed for the concentration of 5 mg ml⁻¹. Regarding total soluble

proteins, a reduction in the amount was observed in plants treated with Arbolin, similar to that observed for fructose for the same concentration. As for sucrose, only the temporal variations were significant. Additionally, it was found that leaves of plants subjected to treatments of 1 and 5 mg ml⁻¹ of Arbolin promoted greater accumulation of starch about the other concentrations tested. Taken together, the results obtained reinforce the need to deepen knowledge about the use of Arbolin in rubber trees, both in terms of optimizing doses and defining the best methods and times of application. The continuity of these studies is essential to ensure that the nanoparticle can be used effectively and sustainably in agricultural practices, contributing to developing more productive and resilient rubber plantations.

Keywords: Rubber tree; Tree physiology; Carbon nanoparticles.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Desenho experimental da aplicação de diferentes concentrações de Arbolina em plantas jovens de seringueira. As suspensões foram aplicadas nas folhas com borrifadores, até o ponto de gotejamento. 19

Figura 2. Parâmetros de crescimento vegetativo de plantas jovens *Hevea brasiliensis* submetidas à aplicação mensal de Arbolina. **A** - Altura; **B** - taxa de crescimento relativo em altura; **C** - diâmetro; **D** - taxa de crescimento relativo em diâmetro; **E** - emissão foliar. As barras referem-se às médias e as dispersões correspondem ao erro-padrão. 24

Figura 3. Parâmetros de fluorescência da clorofila *a* em folhas expandidas de *Hevea brasiliensis* submetidas à aplicação mensal de Arbolina, após 240 dias. Medições realizadas com fluorímetro acoplado a um analisador de gás infravermelho. **A** - Rendimento quântico máximo do FSII em folhas adaptadas à luz (F_v'/F_m'); **B** - o rendimento quântico máximo do FSII em folhas adaptadas ao escuro (F_v/F_m). As barras referem-se às médias e as dispersões correspondem ao erro-padrão. 25

Figura 4. Demais parâmetros de fluorescência da clorofila *a* em folhas expandidas de *Hevea brasiliensis* submetidas à aplicação mensal de Arbolina, após 240 dias. **A** - Taxa de transporte de elétrons (TTE); **B** - rendimento quântico efetivo do FSII (Φ_{II}); **C** - rendimento quântico do quenching não-fotoquímico (Φ_{NPQ}); **D** - rendimento quântico da dissipação não regulada (Φ_{NO}). As barras referem-se às médias e as dispersões correspondem ao erro-padrão. 26

Figura 5. Parâmetros de trocas gasosas de folhas expandidas de seringueira submetidas à aplicação mensal de Arbolina, após 240 dias. **A** - Fotossíntese líquida (*A*); **B** - transpiração (*E*); **C** - condutância estomática (*g_s*); **D** - concentração interna de carbono (*C_i*); **E** - respiração noturna (*R_d*). As barras referem-se às médias e as dispersões correspondem ao erro-padrão. 27

Figura 6. Demais parâmetros de trocas gasosas de folhas expandidas de seringueira submetidas à aplicação mensal de Arbolina, após 240 dias. **A** - Eficiência do uso da água (EUA); **B** - eficiência do uso intrínseco da água (EUIA). As barras referem-se às médias e as dispersões correspondem ao erro-padrão. 28

Figura 7. Parâmetros de estrutura e desempenho foliar de plantas jovens de seringueiras submetidas à aplicação mensal de Arbolina, após 240 dias. **A** - Área foliar específica (AFE); **B** - área foliar (AF); **C** - área foliar total (AFT); **D** - fotossíntese por massa seca; **E** - fotossíntese por área foliar; **F** - fotossíntese por planta. As barras referem-se às médias e as dispersões correspondem ao erro-padrão. 29

Figura 8. Teor de pigmentos cloroplastídicos por massa seca foliar de plantas jovens de *H. brasiliensis* a submetidas à aplicação mensal de Arbolina, após 240 dias. **A** - Clorofila *a*; **B** - clorofila *b*; **C** - clorofila total; **D** - razão clorofilas *a* e *b*; **E** - carotenoides. As barras referem-se às médias e as dispersões correspondem ao erro-padrão. 31

Figura 9. Teor de aminoácidos e proteínas solúveis totais de folhas expandidas de *H. brasiliensis* submetidas à aplicação mensal de Arbolina, após 240 dias. **A** - Aminoácidos livres; **B** - prolina; **C** - proteínas; **D** - aminoácidos totais; **E** - razão aminoácidos totais e proteínas solúveis totais. As barras referem-se às médias e as dispersões correspondem ao erro-padrão. Letras minúsculas indicam valores significativamente distintos entre os tratamentos, de acordo com teste Scott-Knott ($p < 0,05$). 33

Figura 10. Variações nos níveis de açúcares solúveis ao longo do dia em folhas expandidas de *Hevea brasiliensis* submetidas à aplicação mensal de Arbolina, após 240 dias. **A** - Glicose; **B** - frutose; **C** - sacarose. As barras referem-se às médias e as dispersões correspondem ao erro-padrão. Letras maiúsculas distintas acima das dispersões indicam valores significativamente diferentes entre os dias e letras minúsculas indicam valores significativamente distintos entre os tratamentos, ambos de acordo com teste Scott-Knott ($p < 0,05$). 35

Figura 11. Padrões de acúmulo e consumo de amido em folhas expandidas de seringueira submetidas à aplicação mensal de Arbolina, após 240 dias. **A** - Flutuações de amido ao longo do dia; **B** - taxa de síntese de amido; **C** - taxa de consumo de amido. As barras referem-se às médias e as dispersões correspondem ao erro-padrão. 36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características físico-químicas do substrato utilizado para cultivo de plantas jovens de <i>H. brasiliensis</i> .	17
Tabela 2. Composição química e características físicas da Arbolina.	18
Tabela 3. Parâmetros de rendimento e eficiência fotossintética.	20

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. MATERIAL E MÉTODOS	17
2.1 Material vegetal e condições de crescimento	17
2.2 Ensaio com a nanopartícula de carbono	18
2.3 Delineamento experimental	19
2.4 Análises fisiológicas	19
<i>2.4.1 Crescimento vegetativo</i>	<i>19</i>
<i>2.4.2 Fluorescência da clorofila a e desempenho fotossintético</i>	<i>20</i>
<i>2.4.3 Análises metabólicas</i>	<i>21</i>
2.5 Análises estatísticas	22
3. RESULTADOS	23
3.1 Efeitos da aplicação de Arbolina no crescimento de plantas jovens de seringueira	23
3.2 Efeitos da aplicação da nanopartícula de carbono na eficiência fotossintética	25
<i>3.2.1 Fluorescência da clorofila a</i>	<i>25</i>
<i>3.2.2 Parâmetros de trocas gasosas</i>	<i>26</i>
3.3 Análises bioquímicas de folhas jovens de seringueira tratadas com doses de Arbolina	30
<i>3.3.1 Pigmentos fotossintéticos</i>	<i>30</i>
<i>3.3.2 Aminoácidos e proteínas solúveis totais</i>	<i>32</i>
<i>3.3.3 Açúcares solúveis e amido</i>	<i>34</i>
4. DISCUSSÃO	37
4.1. Efeitos da aplicação foliar de Arbolina sobre o crescimento de plantas jovens de seringueira	37
4.2. Efeitos da aplicação foliar de Arbolina sobre a eficiência fotossintética de plantas jovens de seringueira	38

4.3 Alterações metabólicas em folhas de seringueira em resposta a aplicações mensais de Arbolina	39
5. CONCLUSÕES	41
REFERÊNCIAS	42

1. INTRODUÇÃO

Carbon dots (CDs) são uma classe de nanopartículas cujo tamanho varia de 1 a 100 nm (Horst et al., 2021; Ozyurt et al., 2023). Quaisquer materiais ricos em carbono, sejam orgânicos ou inorgânicos, podem ser utilizados para a síntese de CDs (Horst et al., 2021; Liang et al., 2021; Arpita et al., 2023; Gedda et al., 2023; Ozyurt et al., 2023). A via de síntese *top-down* consiste no uso de grandes complexos carbonáceos que passam por etapas de refinamento como abrasão por laser, descargas elétricas em arco, oxidação, pirólise e ultrassom, para que a matéria-prima seja reduzida à escala nanométrica. Já a via *bottom-up* consiste no uso de técnicas como síntese hidrotermal ou solvotermal, microondas, polimerização por condensação aldólica, plasma e método microfluídico, para formação de agregados carbônicos do tamanho desejado (Ozyurt et al., 2023; Liu et al., 2024).

Na última década, estudos com CDs vêm ganhando destaque em função, principalmente, das suas propriedades físicas. Devido ao seu tamanho e estrutura cristalina, a absorção de energia promove a movimentação de elétrons da banda de valência à banda de condução, gerando éxcitons. Entretanto, a separação das bandas de valência e condução é alterada devido ao forte efeito de confinamento quântico, em função do tamanho inferior ao raio de Bohr dos éxcitons. Esse efeito permite uma recombinação de elétrons cujo espectro de emissão é inversamente proporcional ao tamanho da nanopartícula. Além disso, domínios π -conjugados e de hibridização sp^2 do carbono são fundamentais para rápida movimentação de elétrons, formação de éxcitons e relaxamento eletrônico, especialmente via fluorescência (Yan et al., 2019; Langer et al., 2021; Ozyurt et al., 2023).

Diferentes funcionalidades químicas podem ser atribuídas às CDs a partir da adição de grupos funcionais (como amino, epóxi, hidroxila e carboxila) à estrutura central das nanopartículas (Yan et al., 2019; Langer et al., 2021; Ozyurt et al., 2023). Esse conjunto de propriedades pode ser aplicado a diferentes áreas de pesquisa como desenvolvimento de biossensores e capacitores, como carreador de drogas ou ácidos nucleicos para tratamento de doenças, e na agricultura como bioestimulante (Horst et al., 2021; Luo et al., 2021; Xiao et al., 2021; Gedda et al., 2023; Dong et al., 2024).

A biocompatibilidade de CDs em plantas jovens de feijão foi observada primeiramente por Qu et al. (2012), despertando o interesse mundial no desenvolvimento de nanotecnologias para aplicação na agricultura. Espera-se que,

ao serem aplicadas via foliar ou substrato, CDs facilmente adentrem os tecidos via estômatos, hidatódios e em regiões cuja cutícula não esteja intacta, ou sejam absorvidas pelas raízes finas, embora a endocitose seja cogitada (Liang et al., 2021; Khan et al., 2022; Wang et al., 2023). Além disso, supõe-se que CDs apresentem baixa toxicidade, podendo ter acesso a planta pelas vias simplástica e apoplástica, e carregados pelo xilema e floema (Khan et al., 2022; Wang et al., 2023).

Nos tecidos vegetais, os CDs aparentam estimular a fotossíntese, fato que pode estar associado à suas propriedades físicas, atuando como uma extensão dos complexos antena dos fotossistemas e auxiliando na captação de energia luminosa (Wang et al., 2021; Sławski et al., 2023). Entretanto, grande parte dos estudos sugerem aumento na fotossíntese líquida por meio de mecanismos bioquímicos e moleculares ainda pouco estudados. Neste contexto, também são observados aumento do conteúdo de clorofilas, carboidratos, aminoácidos e proteínas, em conjunto com aumento da atividade de enzimas como a Rubisco e do sistema antioxidante e, conseqüentemente, aumento na biomassa total das plantas em função da aplicação de CDs (Chen et al., 2018; Hu et al., 2022; Ji et al., 2023; Li et al., 2018, 2020a; Liang et al., 2021; Wang et al., 2018; Wang et al., 2021). Assim, a ação bioestimulante de CDs tem sido de grande interesse a nível de produtividade de culturas anuais.

Apesar do interesse crescente na aplicação de CDs na agricultura, os efeitos da aplicação dessas nanopartículas em culturas perenes (herbáceas ou lenhosas) ainda são pouco conhecidos. Essa limitação está relacionada, principalmente, ao ciclo de vida prolongado e da complexidade metabólica que dificultam a execução de experimentos e na compreensão dos seus resultados (Soppelsa et al., 2018). Entretanto, espera-se que espécies perenes também possam se beneficiar do uso de CDs, desde aumentando a taxa de sucesso de instalação de plantios quanto do aumento da produção de frutos e sementes.

No Brasil, com área equivalente a 240 mil hectares de florestas plantadas, a seringueira (*Hevea brasiliensis*) é a terceira espécie arbórea mais plantada (IBÁ, 2024). Essa espécie pertence à família Euphorbiaceae, junto a outras 10 espécies: *Hevea benthamiana*, *Hevea carmagoana*, *Hevea camporum*, *Hevea guianensis*, *Hevea microphylla*, *Hevea nitida*, *Hevea paludosa*, *Hevea pauciflora*, *Hevea rigidifolia* e *Hevea spruceana* (Secco e Bigio, 2022). A espécie *H. brasiliensis* destaca-se devido à alta exsudação e qualidade de látex, sendo ótima fonte de borracha natural (BN)

(Jalani e Ramli, 2003; Gonçalves et al., 2005; Sterling et al., 2019). Em 2022, o consumo mundial de BN excedeu 10 milhões de toneladas, movimentando cerca de US\$ 21 bilhões (WITS, 2023abc). Considerando este valor, estima-se que a BN proveniente dos cultivos de seringueira represente cerca de 90% da produção mundial (Nair, 2021).

O leste asiático domina a produção e exportação de BN, sendo exemplos a Tailândia (com 60% da produção mundial), o Vietnã e Malásia. Embora os plantios de seringueira no Brasil sejam extensos, o país se encontra entre os países que mais importam BN (Nair, 2021; WITS, 2023abc). Esse fato está associado à redução da atividade extrativista e das tentativas falhas de implementação de plantios comerciais no Brasil devido à presença da doença foliar fúngica denominada mal-das-folhas (*Pseudocercospora ulei*) (Hora Júnior et al., 2014). Além disso, o envio de plantas jovens sem o mal-das-folhas às colônias inglesas na Ásia permitiram a domesticação da seringueira, dando início ao processo de melhoramento genético e corroborando na queda da hegemonia brasileira na exportação de látex/BN ao final do Primeiro Ciclo da Borracha (1912) (Gonçalves et al., 1990; Jalani e Ramli, 2003; Priyadarshan e Clément-Demange, 2004; Sterling et al., 2019; Nair, 2021).

Hoje tem-se boa variedade de clones de seringueira no mercado. No Brasil, os clones mais cultivados são RRIM 600, o PB 235 e Fx 3.864, principalmente nas regiões denominadas “áreas de escape” do mal-das-folhas. Dá-se destaque ao RRIM 600, por ser um clone de produção média a alta (aprox. 1.700 a 2.000 kg ha⁻¹ ano⁻¹; considerando plantios de baixa e média densidades), sendo ainda considerado um genótipo vigoroso (Gonçalves et al., 2001; Priyadarshan e Clément-Demange, 2004). Embora a domesticação e a seleção inicial de clones tenham provido subsídios para a continuidade do melhoramento genético, o processo pode ser considerado como engessado. Isso se dá, principalmente, ao fato de ser uma espécie perene, o que torna o processo de seleção extenso. O melhoramento de seringueira utiliza da seleção de clones e genótipos selvagens para hibridização ou para enxertia, focando no aumento da biossíntese de látex, vigor e regeneração da casca. Entretanto, estudos acerca da fisiologia de seringueiras são limitados (Priyadarshan e Clément-Demange, 2004; Priyadarshan, 2017).

Reconhecendo a carência de informações, grupos de pesquisa ao redor do mundo vêm expandindo seus conhecimentos na área da fisiologia de seringueiras nativas. Um exemplo seria a iniciativa de pesquisadores do Centro RIKEN para

Ciência de Recursos Sustentáveis (CSRS), em associação com a Universidade da Cidade de Yokohama, Universidade de Tóquio e a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa). O grupo de pesquisa tem como proposta aprofundar os conhecimentos tanto no desempenho fisiológico quanto no genoma de genótipos selvagens utilizados atualmente no melhoramento genético visando a identificação de genes associados à produtividade, resistência ao mal-das-folhas e tolerância a eventos climáticos extremos (Makita, 2020).

Para além do melhoramento genético, a atualização de práticas culturais de seringueira também se mostra como alternativa para aumento do sucesso de implantação e da produtividade dos plantios (Qi et al., 2019). Dentre possíveis novas estratégias culturais, o uso de nanopartículas de carbono pode ser incluído. Um exemplo uso de CDs voltado para melhoria dos tratos fisiológicos e produtividade de plantas é o bioestimulante Arbolina, desenvolvida pela Krilltech®, empresa associada à Universidade de Brasília (UnB) e a Embrapa. Resultados preliminares sugerem que a aplicação desse produto à base de CDs auxilia no aumento da performance fotossintética e da tolerância a seca, permitindo homeostase do metabolismo básico da planta mesmo quando submetidas a estresses por déficit hídrico (Embrapa, 2020). Esse nanobioestimulante tem sido aplicado em culturas como milho, soja, tomate, morango e algodão (Embrapa, 2020). Entretanto, não há registros na literatura sobre os efeitos do uso dessa tecnologia em seringueira, seja em plantios em fase inicial ou de produção.

O estudo da fisiologia de espécies arbóreas em seus estágios iniciais de desenvolvimento associado à aplicação de nanopartículas vem a contribuir com o conhecimento técnico-científico para compreensão dos efeitos fisiológicos e os mecanismos de ação da nanopartícula no crescimento da planta. Por sua vez, esse conhecimento pode ser aplicado visando aumento da taxa de sucesso de implementação de plantios e da posterior produtividade de seringueiras. Portanto, o objetivo deste projeto foi investigar as alterações fisiológicas de plantas jovens de seringueira (*H. brasiliensis* clone RRIM 600), decorrentes da aplicação foliar de diferentes doses da nanopartícula de carbono (Arbolina).

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material vegetal e condições de crescimento

Foram utilizadas sementes de *H. brasiliensis* (clone RRIM 600) coletadas no Parque Zoobotânico de Rio Branco (AC) em fevereiro de 2023. O material vegetal foi transportado ao Laboratório de Fisiologia e Bioquímica Vegetal (LFBV/Inpa), localizado em Manaus (AM), onde foi lavado em água corrente, seguido por assepsia em hipoclorito de sódio (NaClO) a 1,5% e lavagem final com água destilada. Após o tratamento, o material foi semeado em vermiculita. Sementes pré-germinadas e de boa fitossanidade foram selecionadas e enviadas para Viçosa (MG).

Após emissão dos eófilos, as plantas jovens foram transplantadas para vasos de 6 litros contendo uma mistura de solo (argissolo), condicionador de solo Mecplant e areia, na proporção de 1:1:1 (v/v/v), cujas características físicas e químicas foram analisadas no Laboratório de Análise de Solo, Tecido Vegetal e Fertilizante (UFV) (Tabela 1). A irrigação foi diária e, para manutenção do status nutricional das plantas jovens, foi feita aplicação periódica via solo de 50 ml de solução de Hoagland e Arnon (1950), a força total.

Tabela 1. Características físico-químicas do substrato utilizado para cultivo de plantas jovens de *H. brasiliensis*.

Análise Granulométrica							
Areia grossa		Areia fina		Silte		Argila	
(kg kg ⁻¹)							
0,409		0,065		0,230		0,296	
Classificação textural: Franco-Argilosa- Arenosa Tipo: 2							
Análise Química							
pH H ₂ O	MO	V	t	Cu	Mn	Fe	Zn
	(dag kg ⁻¹)	(%)	(cmol _c dm ⁻³)	(mg dm ⁻³)			
5,48	5,55	63,9	8,84	0,31	31,7	76,9	2,0
Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ³⁺	H+Al	P	K	S	B
(cmol _c dm ⁻³)							
4,33	3,96	0,0	5,0	146,4	214	104,7	0,37

MO (Mat. Orgânica) = C. Org x 1,724 -Walkley-Black

V - Índice de saturação por bases

t - Capacidade de troca catiônica efetiva

P - Na - K - Fe - Zn -Mn - Cu -Cd - Pb - Ni - Cr - Extrator Mehlich-1

H + Al - Extrator Acetato de Cálcio 0,5 mol L⁻¹- pH 7,0

S - Extrator - Fosfato monocálcico em ácido acético e B – Extrator - água quente

Ca²⁺ - Mg²⁺ - Al³⁺ - Extrator: KCl - 1 mol L⁻¹

O experimento foi realizado entre os meses de março e dezembro de 2023, em casa de vegetação sob condições parcialmente controladas. A umidade relativa do ar foi de $50 \pm 5\%$ durante todo o período, e a radiação fotossinteticamente ativa teve mínima em torno de $200 \mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ e máxima de até $1.800 \mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. A variação de temperatura na casa de vegetação foi registrada com auxílio de higrômetro digital, sendo obtidos valores médios próximos a $20 \pm 5 \text{ }^{\circ}\text{C}$ no outono e inverno (de 20 de março a 23 de setembro) e de $30 \pm 5 \text{ }^{\circ}\text{C}$ na primavera e início do verão (de 23 setembro a 22 dezembro).

2.2 Ensaio com a nanopartícula de carbono

Para o experimento, foi adquirida uma suspensão comercial de Arbolina, cujas características de composição, tamanho e concentração estão descritas na Tabela 2.

Tabela 2. Composição química e características físicas da Arbolina.

Composição	C (%)	H (%)	N (%)	O (%)
Composição elementar	61	6,3	21,3	11,4
Composição de superfície	67,4	0	11,6	21
Carbono Orgânico total (%)			67	
Concentração (mg ml^{-1})			400	
Características físicas				
Formato			Esferoidal	
Tamanho (nm)			3,1	
Região de emissão máxima de luz (nm)			440 a 530	

Fonte: Butruille (2021).

Visando encontrar uma concentração de resposta a nanopartícula para plantas jovens de seringueira, foram aplicadas doses de 1, 5 e 10 mg ml^{-1} de Arbolina (diluída em água destilada). Essas concentrações foram determinadas com base nas recomendações do fabricante para espécies anuais. Como controle, utilizou-se apenas a aplicação de água destilada. As doses foram pulverizadas nas folhas ao final do período luminoso, tanto nas faces adaxial quanto abaxial. A reaplicação foi realizada a cada 30 dias durante todo o período experimental.

2.3 Delineamento experimental

O delineamento foi inteiramente casualizado (DIC) com quatro repetições por tratamento. Foram utilizadas plantas jovens contendo eófilos totalmente desenvolvidos e expandidos (60 dias pós-germinação) (Figura 1).

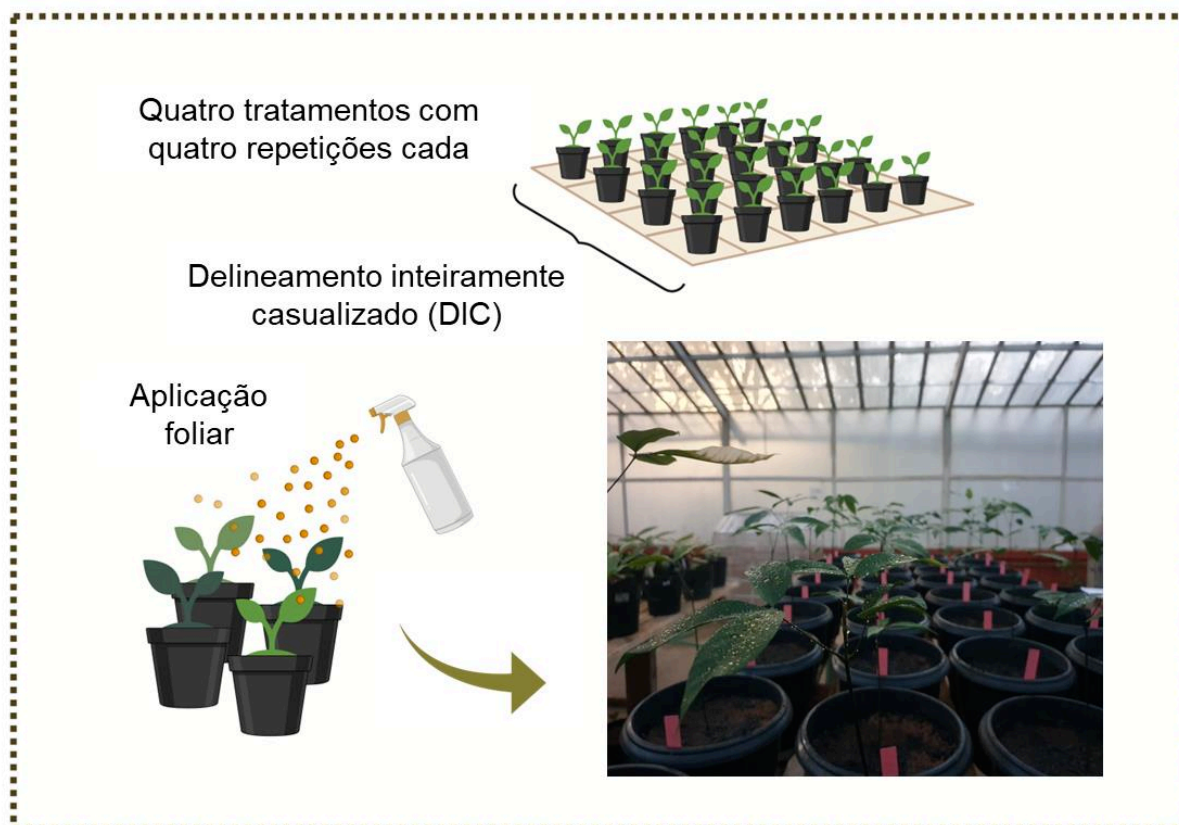


Figura 1. Desenho experimental da aplicação de diferentes concentrações de Arbolina em plantas jovens de seringueira. As suspensões foram aplicadas nas folhas com borrifadores, até o ponto de gotejamento.

2.4 Análises fisiológicas

2.4.1 Crescimento vegetativo

Ao longo do período experimental foram aferidos altura com auxílio de trena (considerando a distância entre a base do caule e a gema apical), diâmetro do caule com auxílio de paquímetro digital (considerando 3 cm acima da inserção das raízes) e contagem de emissões foliares. A partir dessas informações foram calculadas taxas de crescimento relativo (TCR) (Evans, 1972; Hunt, 1990):

$$TCR = (\ln X_2 - \ln X_1) / (t_2 - t_1) \quad (1)$$

Onde X representa altura ou diâmetro, t1 o tempo inicial e t2 o tempo final.

2.4.2 Fluorescência da clorofila a e desempenho fotossintético

Visando a avaliação dos parâmetros de fluorescência após 240 dias, foi utilizado um fluorímetro (IRGA, Li-6400-40). A análise foi realizada em folhas adaptadas à luz e folhas adaptadas ao escuro, para obtenção do parâmetro de rendimento quântico máximo do FSII em ambas as condições (F_v'/F_m' e F_v/F_m) (2 e 3), taxa de transporte de elétrons do FSII (TTE) (4), rendimento quântico efetivo do FSII (Φ_{II}) (5), rendimento da dissipação de energia não-regulada (Φ_{NO}) (6), e rendimento do *quenching* não-fotoquímico (Φ_{NPQ}) (7).

Tabela 3. Parâmetros de rendimento e eficiência fotossintética.

Eficiência quântica máxima (adaptado à luz)	F_v'/F_m' (2)
Eficiência quântica máxima	F_v/F_m (3)
Taxa de transporte de elétrons do FSII (TTE)	$= \Phi_{II} \cdot A_{leaf} \cdot \text{fração}_{FSII} \cdot PAR$ (4)
Rendimento quântico efetivo (Φ_{II})	$(F_m' - F_s)/F_m'$ (5)
Dissipação de energia não-regulada (Φ_{NO})	F_s/F_m (6)
<i>Quenching</i> não-fotoquímico (Φ_{NPQ})	$= 1 - \Phi_{II} - \Phi_{NO}$ (7)

Sendo F_m a fluorescência máxima (obtida a partir da F_v a fluorescência variável ($F_m - F_o$, sendo F_o a fluorescência inicial), e F_s a fluorescência em estado estacionário. O que é seguido de apóstrofo foi obtido durante o fotoperíodo. A_{leaf} refere-se à absorvância foliar (tipicamente de 0,5 para plantas C_3), fração_{FSII} à fração de fótons incidentes que são absorvidos pelo FSII, e PAR à radiação fotossinteticamente ativa (Baker, 2004; Kramer et al., 2004).

Para avaliação das trocas gasosas, foram utilizadas folhas completamente expandidas e saudáveis do terço médio da plântula com auxílio de um analisador de gases infravermelho (IRGA, Licor-6400XT). As leituras pontuais de trocas gasosas foram realizadas entre as 8:00 e 12:00, à uma densidade de fluxo de fótons de $1.500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Senevirathna et al., 2003; Sterling et al., 2019). O fluxo de CO_2 foi mantido entre 200 e $300 \mu\text{mol s}^{-1}$ (para manutenção do déficit de pressão de vapor abaixo de 1,5), com ajuste de temperatura do bloco para 30°C e umidade relativa em torno de 60% (Sterling et al., 2019). A eficiência do uso de água e do uso intrínseco da água foram calculados a partir da razão de fotossíntese líquida (A) pela transpiração (E) e A pela condutância estomática (g_s), respectivamente (Gonçalves et al., 2005). A respiração noturna foi verificada nas mesmas plantas, duas horas após o anoitecer.

A área foliar específica foi obtida a partir da área conhecida de discos foliares ($0,28 \text{ cm}^2$) retirados de cada planta (repetição) pela massa foliar seca. Os discos foram coletados, acondicionados em sacos de papel e secados em estufa a 65°C até a obtenção da massa seca constante. A área foliar (AF) foi obtida através de método não-destrutivo adaptado para seringueira, desenvolvido por Lim e Narayanan (1972). Para área foliar total (AFT), a área foliar obtida foi multiplicada pelo número de folhas de todas as plantas após 240 dias. Posteriormente, foram calculados os parâmetros de fotossíntese por massa seca, por área foliar e fotossíntese por planta (Evans e Poorter, 2001).

2.4.3 Análises metabólicas

Para análises metabólicas, folhas completamente expandidas foram coletadas na antemanhã, ao meio do fotoperíodo e ao anoitecer (Urbanczyk-Wochniak et al., 2005). O material vegetal foi coletado e imediatamente congelado em nitrogênio líquido, sendo armazenado à -80°C até o processamento das amostras. A extração de metabólitos foi feita conforme protocolo descrito por Lisec et al. (2006), com adaptações. Foram utilizados 15 mg de material liofilizado para 700 μl de metanol 100%, sendo homogeneizado com auxílio de um vórtex. O homogenato foi então incubado em termomixer (Eppendorf, Alemanha) durante 20 min, a 80°C e a 750 rpm. Após o tempo de incubação, a mistura foi centrifugada durante 15 min a 9.500 g (a 4°C) para obtenção de duas fases.

A fração solúvel em metanol foi utilizada para quantificação de clorofila *a* e *b*, e carotenoides ao meio-dia (Wellburn, 1994). Após a quantificação de pigmentos fotossintéticos, adicionou-se 375 μl de clorofórmio a 100% seguido de homogeneização em vórtex. Posteriormente, foi adicionado 750 μl de água ao homogenato, seguido de rápida homogeneização em vórtex. A mistura foi centrifugada nas mesmas condições descritas acima, durante 10 min a 4°C . O sobrenadante foi coletado e utilizado para a quantificação de açúcares (glicose, frutose e sacarose) ao longo do dia conforme Fernie et al. (2001), e os níveis de aminoácidos livres (Yemm et al., 1955) e prolina (Carillo e Gibon, 2011), ao meio-dia.

A fração insolúvel em metanol, reservada durante a extração, foi lavada duas vezes com etanol 70% e utilizada para quantificação de amido ao longo do fotoperíodo (Fernie et al., 2001), e proteínas solúveis totais ao meio-dia de acordo com protocolo estabelecido por Bradford (1976).

2.5 Análises estatísticas

Os dados foram submetidos a análises de regressão. Variáveis cujo ajustes de regressão tiveram $R^2 < 0,5$ foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e comparação de médias pelo teste Scott-Knott, a 5% de significância. Adicionalmente, foram montados esquemas fatoriais para análises em função do tempo. Todas as análises estatísticas foram realizadas com o pacote 'ExpDes.pt' (Ferreira et al., 2014) executado via software RStudio v4.3.1 (Posit Software, 2023).

3. RESULTADOS

3.1 Efeitos da aplicação de Arbolina no crescimento de plantas jovens de seringueira

Ao longo dos 240 dias de experimento foi possível observar alterações discretas para altura da planta, TCR(*a*), diâmetro de caule e emissão foliar em resposta a aplicação de Arbolina (Figura 2A-E). Embora seja observada tendência de melhor desempenho para concentração de 5 mg ml⁻¹ nas variáveis de altura e diâmetro (Figura 2A e C), para TCR(*a*), o ajuste da regressão indica redução significativa das taxas de crescimento em função da aplicação de doses crescentes de Arbolina (Figura 2B). Para a emissão foliar, embora o ajuste quadrático tenha sido possível, não houveram diferenças significativas entre os tratamentos (Figura 2E).

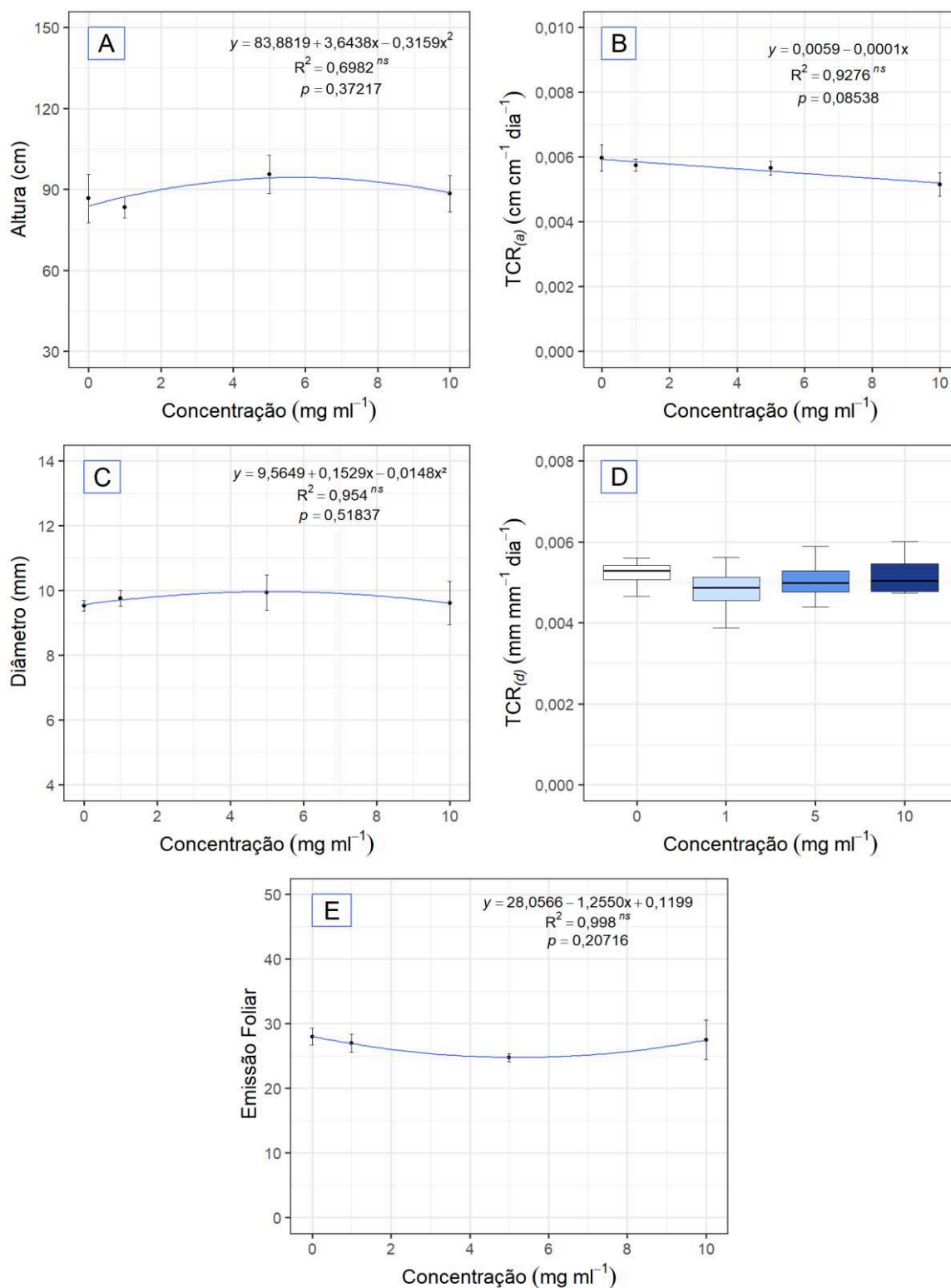


Figura 2. Parâmetros de crescimento vegetativo de plantas jovens *Hevea brasiliensis* submetidas à aplicação mensal de Arbolina. **A** - Altura; **B** - taxa de crescimento relativo em altura; **C** - diâmetro; **D** - taxa de crescimento relativo em diâmetro; **E** - emissão foliar. As barras referem-se às médias e as dispersões correspondem ao erro-padrão.

3.2 Efeitos da aplicação da nanopartícula de carbono na eficiência fotossintética

3.2.1 Fluorescência da clorofila *a*

Para parâmetros de fluorescência, verificou-se efeito linear significativo para Fv'/Fm' , indicando redução do rendimento quântico em folhas adaptadas à luz em relação a doses crescentes de Arbolina (Figura 3A). Esse resultado pode indicar o efeito de transmissão energética entre CDs e os fotossistemas. Interessantemente, para a eficiência máxima do FSII em folhas adaptadas ao escuro (Fv/Fm), os efeitos da possível sobrecarga dos fotossistemas não aparentaram resultar em danos fotooxidativos (Figura 3B).

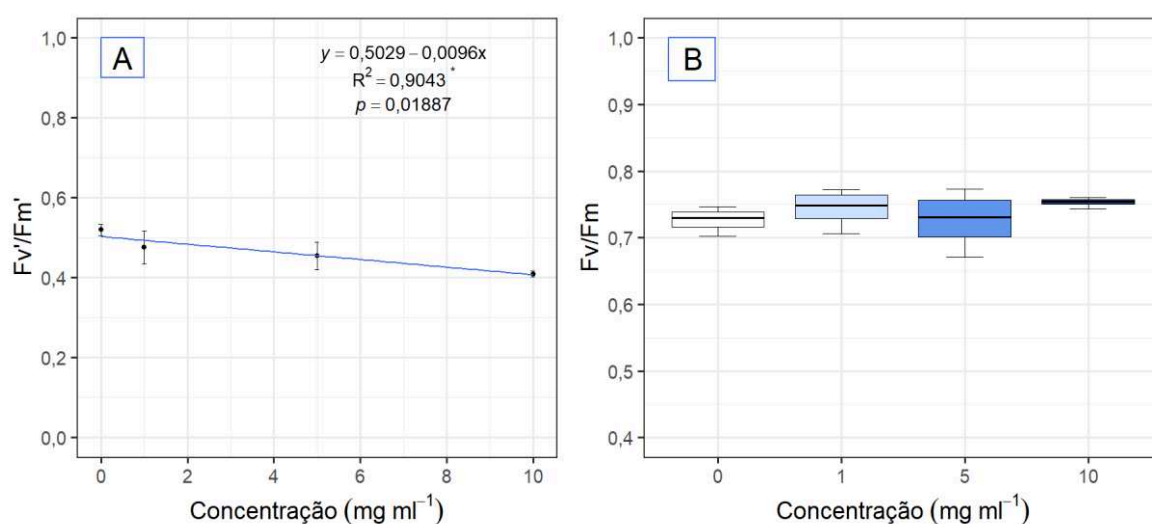


Figura 3. Parâmetros de fluorescência da clorofila *a* em folhas expandidas de *Hevea brasiliensis* submetidas à aplicação mensal de Arbolina, após 240 dias. Medições realizadas com fluorímetro acoplado a um analisador de gás infravermelho. **A** - Rendimento quântico máximo do FSII em folhas adaptadas à luz (Fv'/Fm'); **B** - o rendimento quântico máximo do FSII em folhas adaptadas ao escuro (Fv/Fm). As barras referem-se às médias e as dispersões correspondem ao erro-padrão.

Para TTE, observou-se tendência de melhor desempenho para a dose de 5 mg ml⁻¹ (Figura 4A). Para Φ II é visualizada redução em função do aumento das concentrações (Figura 4B), corroborando com o resultado observado para Fv'/Fm' . Em Φ NPQ é vista tendência de aumento em função do aumento das concentrações (Figura 4C), indicando maior necessidade de dissipação de energia por essa via, em contraponto à Φ NO em que foi visualizada tendência de redução (Figura 4D).

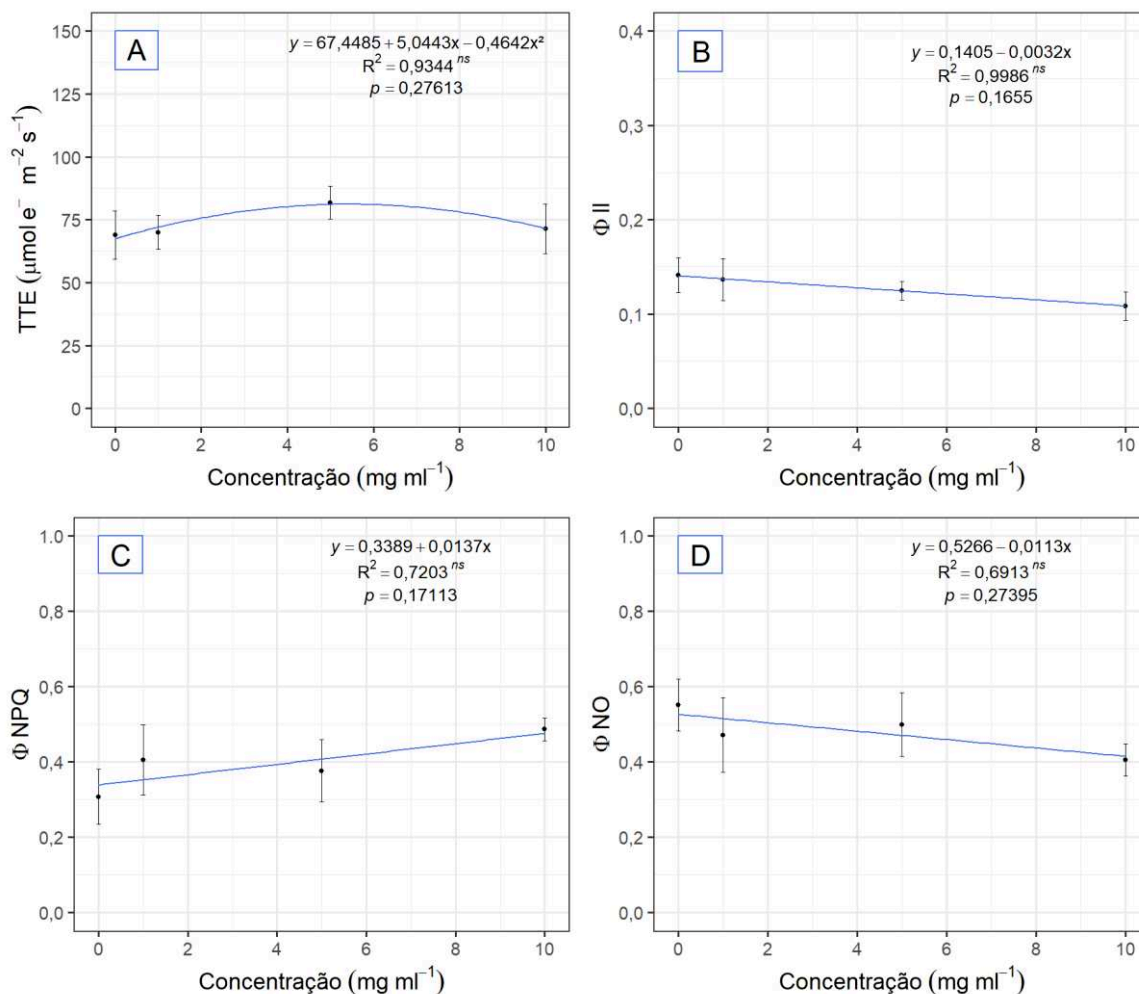


Figura 4. Demais parâmetros de fluorescência da clorofila *a* em folhas expandidas de *Hevea brasiliensis* submetidas à aplicação mensal de Arbolina, após 240 dias. **A** - Taxa de transporte de elétrons (TTE); **B** - rendimento quântico efetivo do FSII (Φ_{II}); **C** - rendimento quântico do quenching não-fotoquímico (Φ_{NPQ}); **D** - rendimento quântico da dissipação não regulada (Φ_{NO}). As barras referem-se às médias e as dispersões correspondem ao erro-padrão.

3.2.2 Parâmetros de trocas gasosas

Em relação às trocas gasosas, não foram visualizadas diferenças significativas para assimilação de CO_2 (A) (Figura 5A). Entretanto, observou-se ajuste linear para as taxas de transpiração (E), demonstrando aumento desta variável em função da concentração de Arbolina (Figura 5B). Para g_s , C_i e R_d houve ajuste quadrático da regressão, porém não significativo. Neste caso, o ajuste evidencia tendência de aumento dessas variáveis até a concentração de 5 mg ml^{-1} (Figura 5C-E).

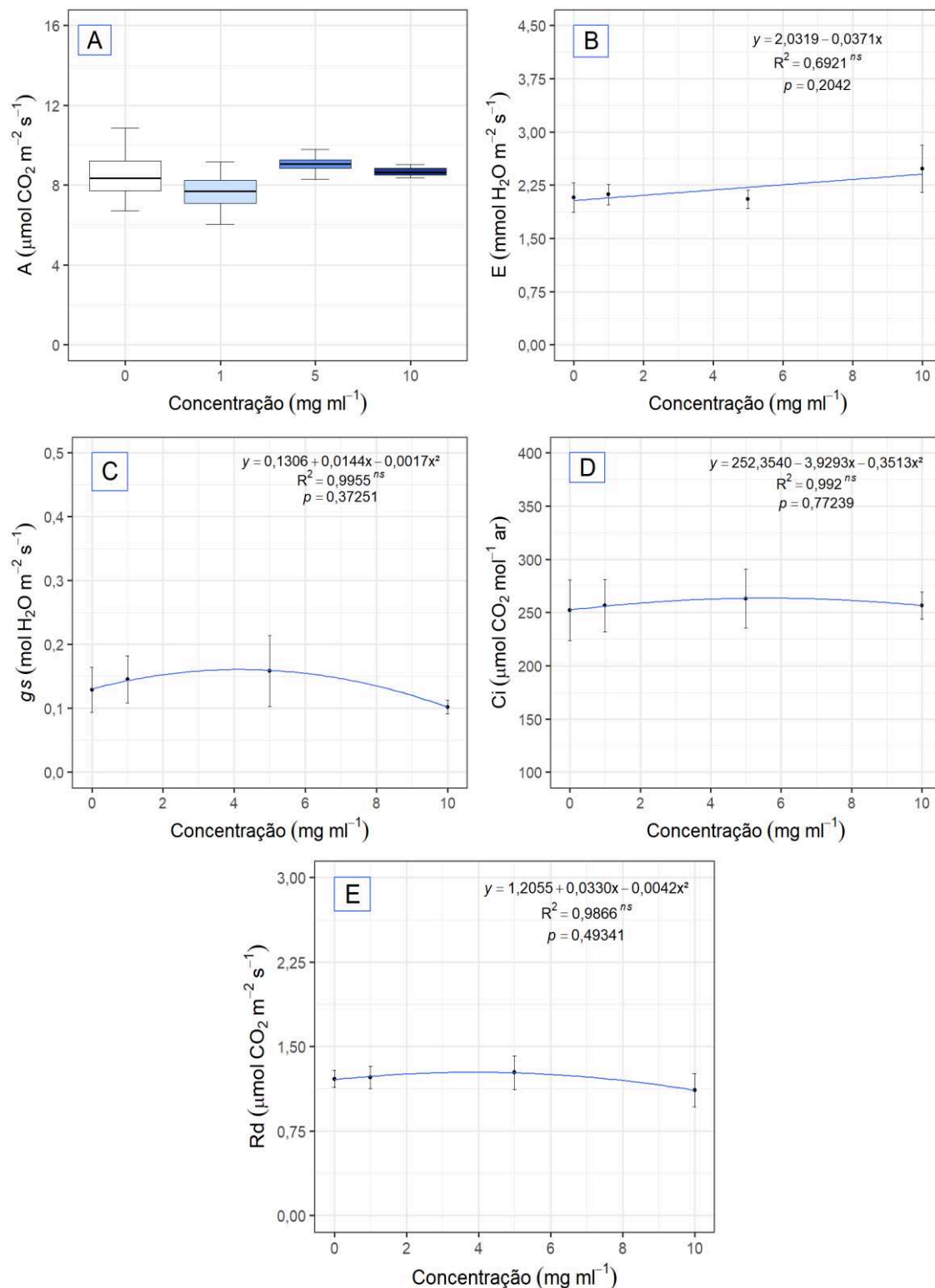


Figura 5. Parâmetros de trocas gasosas de folhas expandidas de seringueira submetidas à aplicação mensal de Arbolina, após 240 dias. **A** - Fotossíntese líquida (A); **B** - transpiração (E); **C** - condutância estomática (gs); **D** - concentração interna de carbono (Ci); **E** - respiração noturna (Rd). As barras referem-se às médias e as dispersões correspondem ao erro-padrão.

O ajuste quadrático foi possível para EUA, sendo observada maior eficiência para o tratamento de 5 mg ml⁻¹ (Figura 6A). Para EIUA, não foi possível realizar o ajuste de regressão e o teste de médias Scott-Knott não apontou diferenças entre doses (Figura 6B).

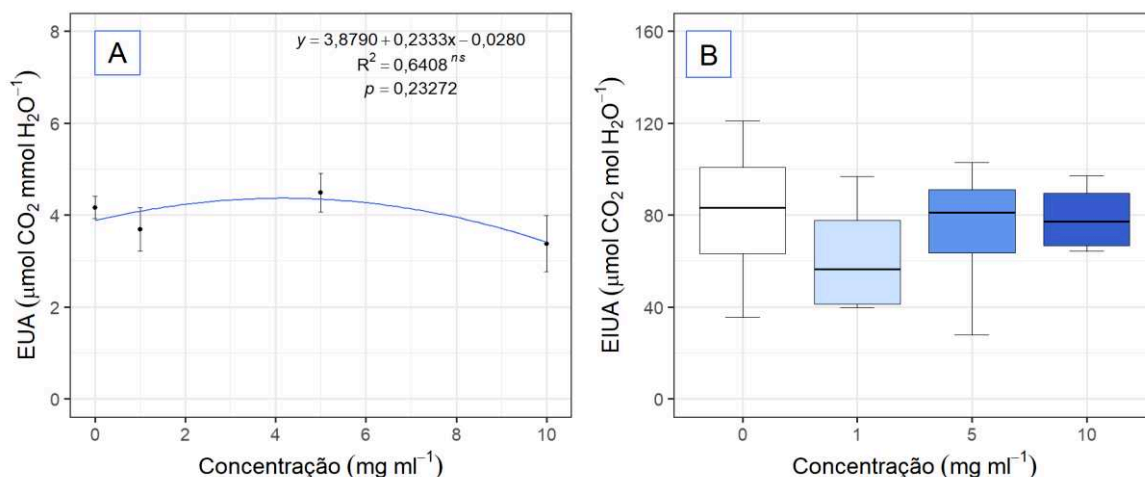


Figura 6. Demais parâmetros de trocas gasosas de folhas expandidas de seringueira submetidas à aplicação mensal de Arbolina, após 240 dias. **A** - Eficiência do uso da água (EUA); **B** - eficiência do uso intrínseco da água (EIUA). As barras referem-se às médias e as dispersões correspondem ao erro-padrão.

Para AFE o ajuste quadrático indicou aumento discreto da espessura foliar para o tratamento de 10 mg ml⁻¹, porém não significativo (Figura 7A). Para demais variáveis, não foi possível o ajuste de regressão e o teste de médias Scott-Knott não apontou diferenças significativas entre os tratamentos (Figura 7B-F).

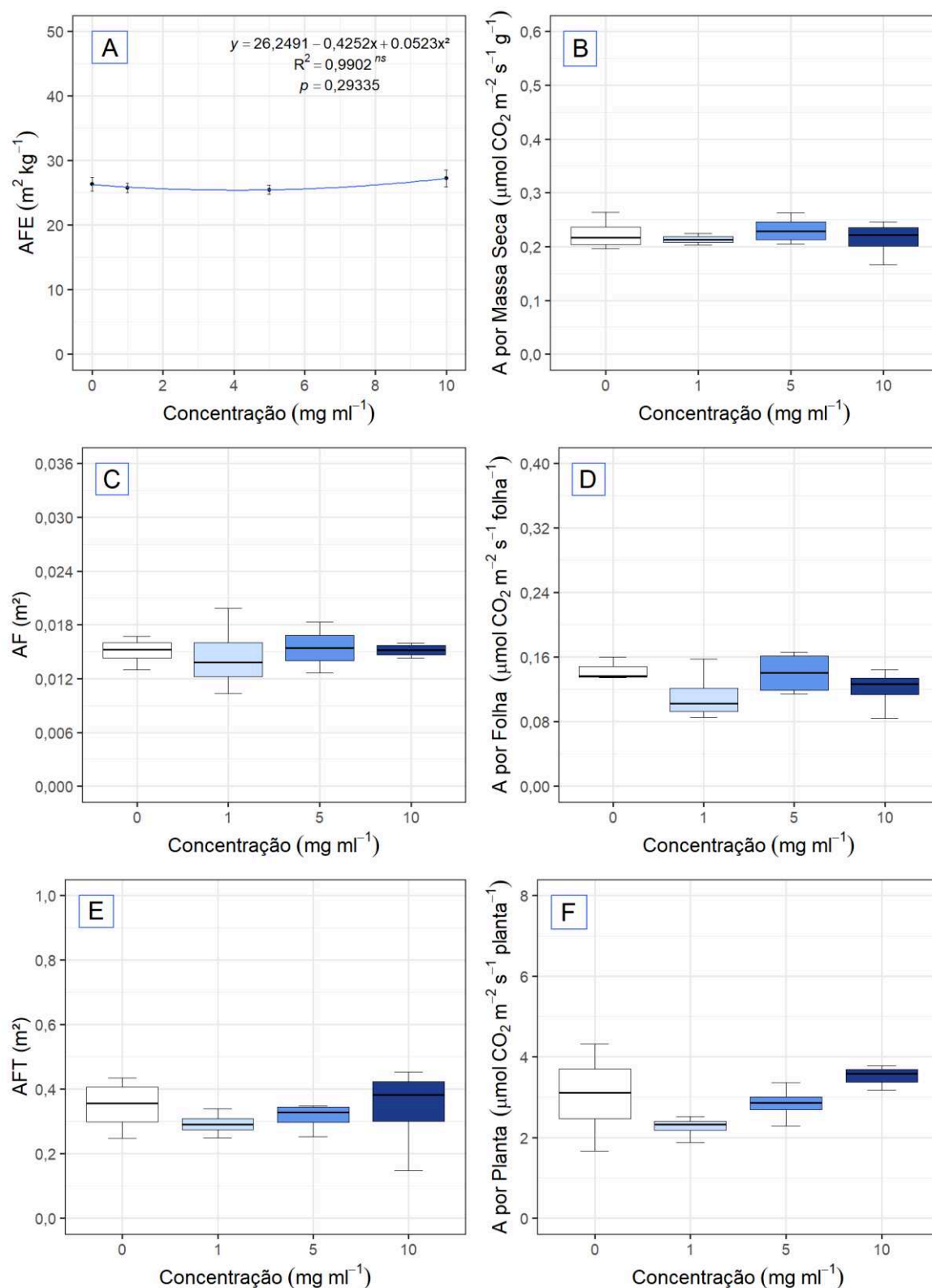


Figura 7. Parâmetros de estrutura e desempenho foliar de plantas jovens de seringueiras submetidas à aplicação mensal de Arbolina, após 240 dias. **A** - Área foliar específica (AFE); **B** - área foliar (AF); **C** - área foliar total (AFT); **D** - fotossíntese por massa seca; **E** - fotossíntese por área foliar; **F** - fotossíntese por planta. As barras referem-se às médias e as dispersões correspondem ao erro-padrão.

3.3 Análises bioquímicas de folhas jovens de seringueira tratadas com doses de Arbolina

3.3.1 Pigmentos fotossintéticos

Para clorofila (*a*, *b* e total), o ajuste quadrático da regressão evidenciou aumento discreto na quantidade desses pigmentos na concentração de 5 mg ml⁻¹ (Figura 8A-C). Para a razão entre clorofilas e carotenoides, o teste de médias Scott-Knott não apontou diferenças significativas entre tratamentos (Figura 8D-E).

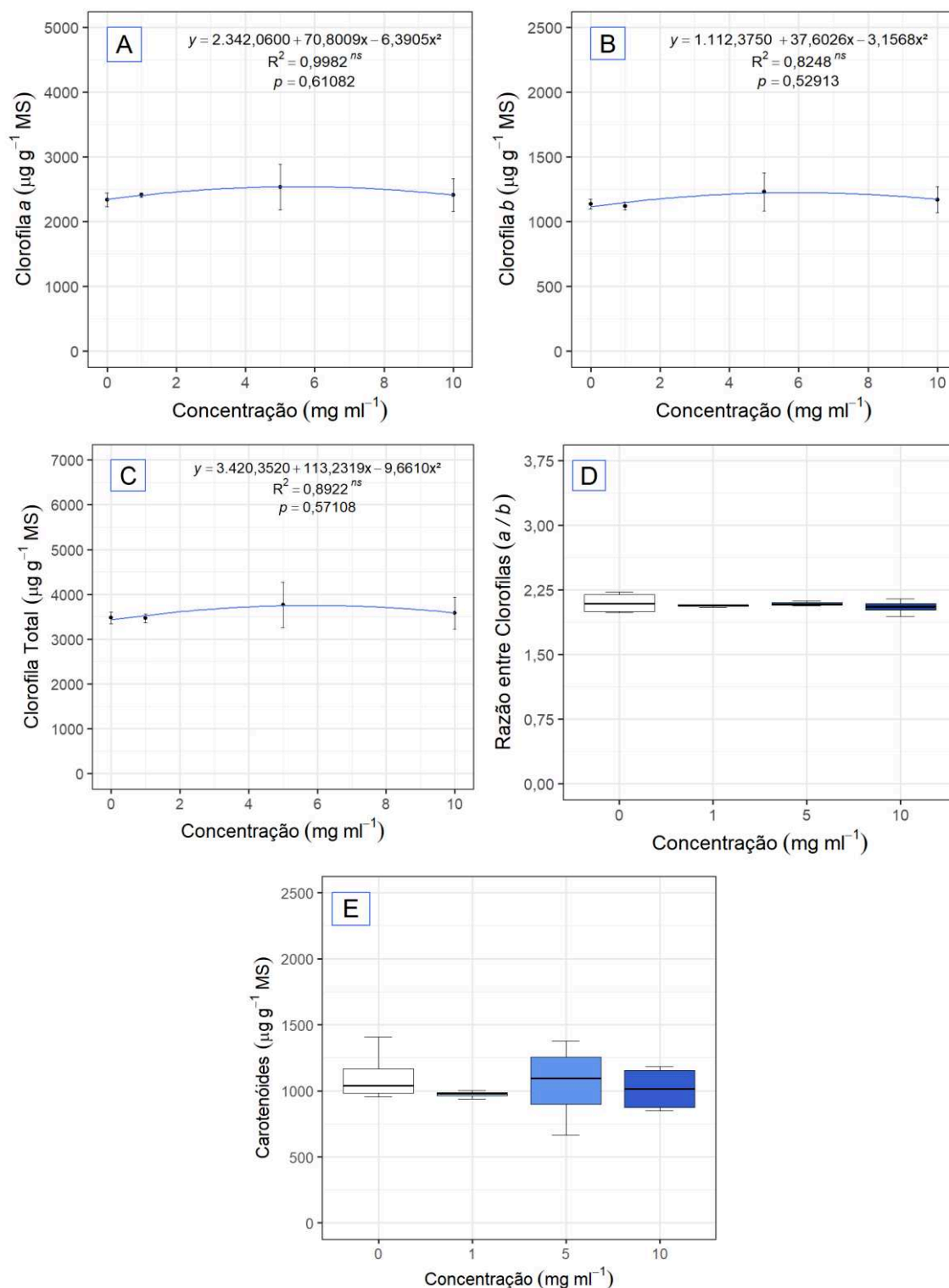


Figura 8. Teor de pigmentos cloroplastídicos por massa seca foliar de plantas jovens de *H. brasiliensis* a submetidas à aplicação mensal de Arbolina, após 240 dias. **A** - Clorofila a; **B** - clorofila b; **C** - clorofila total; **D** - razão clorofilas a e b; **E** - carotenóides. As barras referem-se às médias e as dispersões correspondem ao erro-padrão.

3.3.2 Aminoácidos e proteínas solúveis totais

Aos 240 dias foi verificada tendência de aumento para concentração de 5 mg ml⁻¹ para aminoácidos livres (Figura 9A). Prolina foi avaliada separadamente, sendo possível visualizar aumento linear da quantidade deste iminoácido em relação a doses crescentes de Arbolina, porém sem diferença significativa entre tratamentos (Figura 9B). Para aminoácidos livres totais, foi observado ajuste quadrático similar ao de aminoácidos livres (sem prolina) (Figura 9C). Para proteínas solúveis totais, embora baixo ajuste dos modelos de regressão, o teste de médias Scott-Knott demonstrou redução significativa da quantidade deste metabólito nas folhas em plantas tratadas com Arbolina (Figura 9D). O ajuste quadrático foi significativo para a razão aminoácidos livres totais e proteínas solúveis totais, mostrando maior razão para o tratamento de 5 mg ml⁻¹ (Figura 9E).

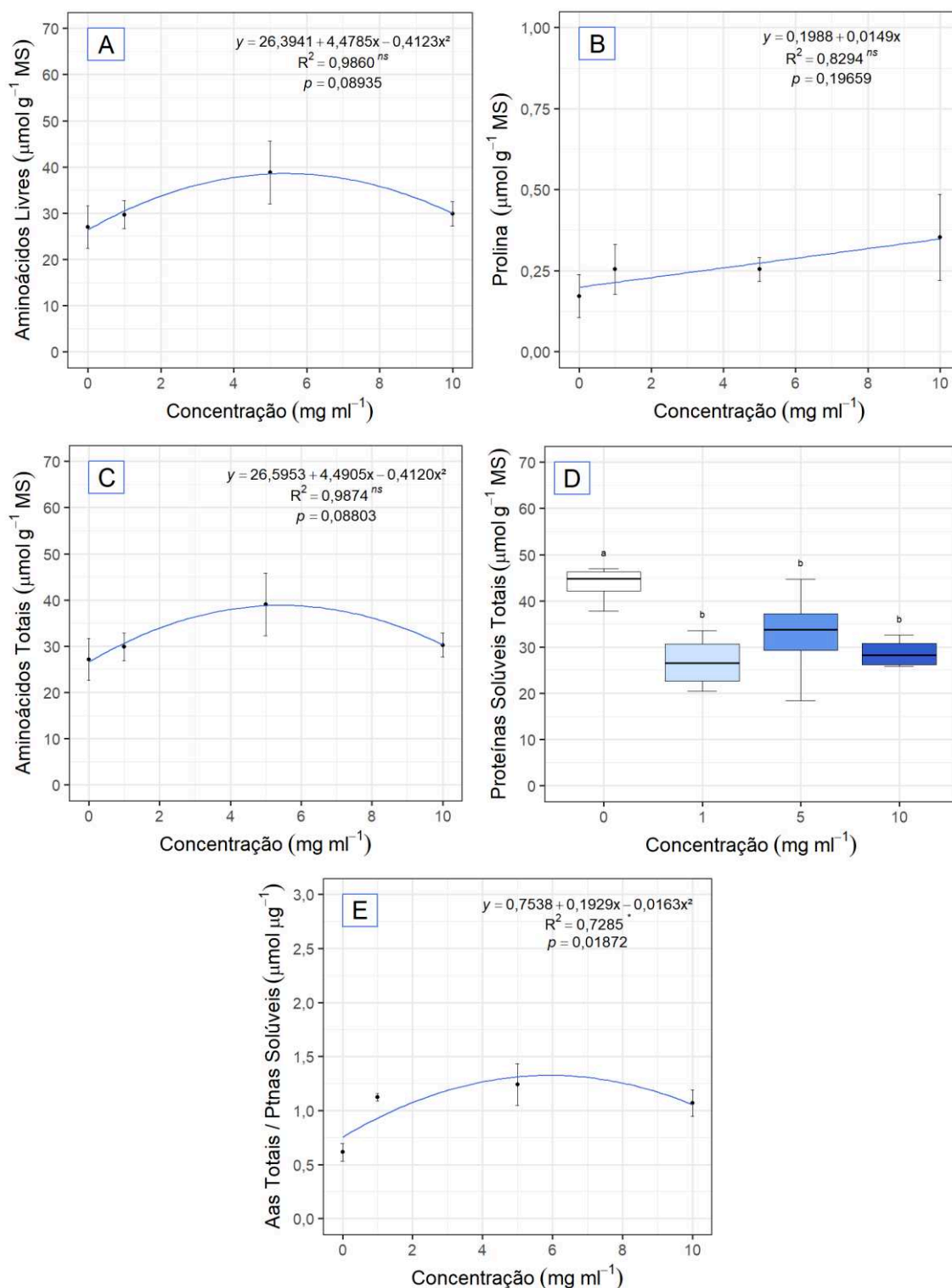


Figura 9. Teor de aminoácidos e proteínas solúveis totais de folhas expandidas de *H. brasiliensis* submetidas à aplicação mensal de Arbolina, após 240 dias. **A** - Aminoácidos livres; **B** - prolina; **C** - proteínas; **D** - aminoácidos totais; **E** - razão aminoácidos totais e proteínas solúveis totais. As barras referem-se às médias e as dispersões correspondem ao erro-padrão. Letras minúsculas indicam valores significativamente distintos entre os tratamentos, de acordo com teste Scott-Knott ($p < 0,05$).

3.3.3 Açúcares solúveis e amido

Foram avaliadas as concentrações de açúcares solúveis e amido ao longo do período luminoso. Para os níveis de glicose não foram observadas alterações significativas entre as doses de Arbolina nos horários avaliados (Figura 10A). Os níveis de frutose diferiram somente entre os tratamentos, sendo possível verificar menores níveis deste açúcar para plantas tratadas com Arbolina (Figura 10B). A sacarose variou somente em função dos horários, no qual foi possível observar maiores níveis deste açúcar para todos os tratamentos ao meio-dia (Figura 10C).

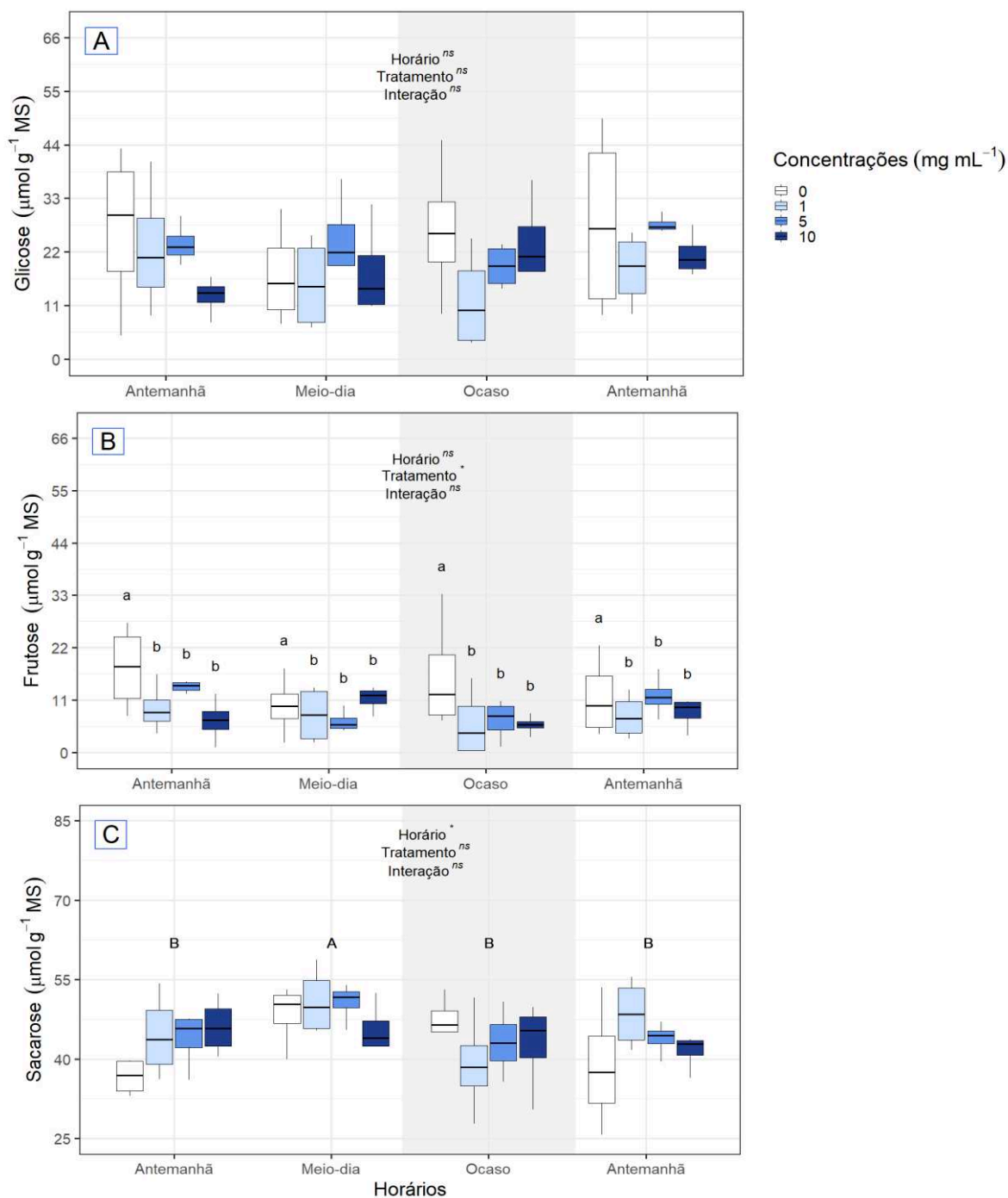


Figura 10. Variações nos níveis de açúcares solúveis ao longo do dia em folhas expandidas de *Hevea brasiliensis* submetidas à aplicação mensal de Arbolina, após 240 dias. **A** - Glicose; **B** - frutose; **C** - sacarose. As barras referem-se às médias e as dispersões correspondem ao erro-padrão. Letras maiúsculas distintas acima das dispersões indicam valores significativamente diferentes entre os dias e letras minúsculas indicam valores significativamente distintos entre os tratamentos, ambos de acordo com teste Scott-Knott ($p < 0,05$).

A quantidade de amido variou significativamente em função dos horários, conforme esperado para este metabólito, e em função dos tratamentos (Figura 11).

Foi verificado comportamento quadrático entre os tratamentos para a primeira antemanhã e meio-dia, e comportamento linear para ocaso e para segunda antemanhã (Figura 11A). Ao avaliar a taxa de síntese de amido, embora não significativo, é possível observar tendência de maior síntese para dose de 5 mg ml⁻¹ (Figura 11B). Já para a taxa de consumo de amido, é possível supor uma maior demanda por este polímero para a dose de 5 mg ml⁻¹ (Figura 11C). É também visualizado menor acúmulo e consumo de amido para a concentração de 10 mg ml⁻¹.

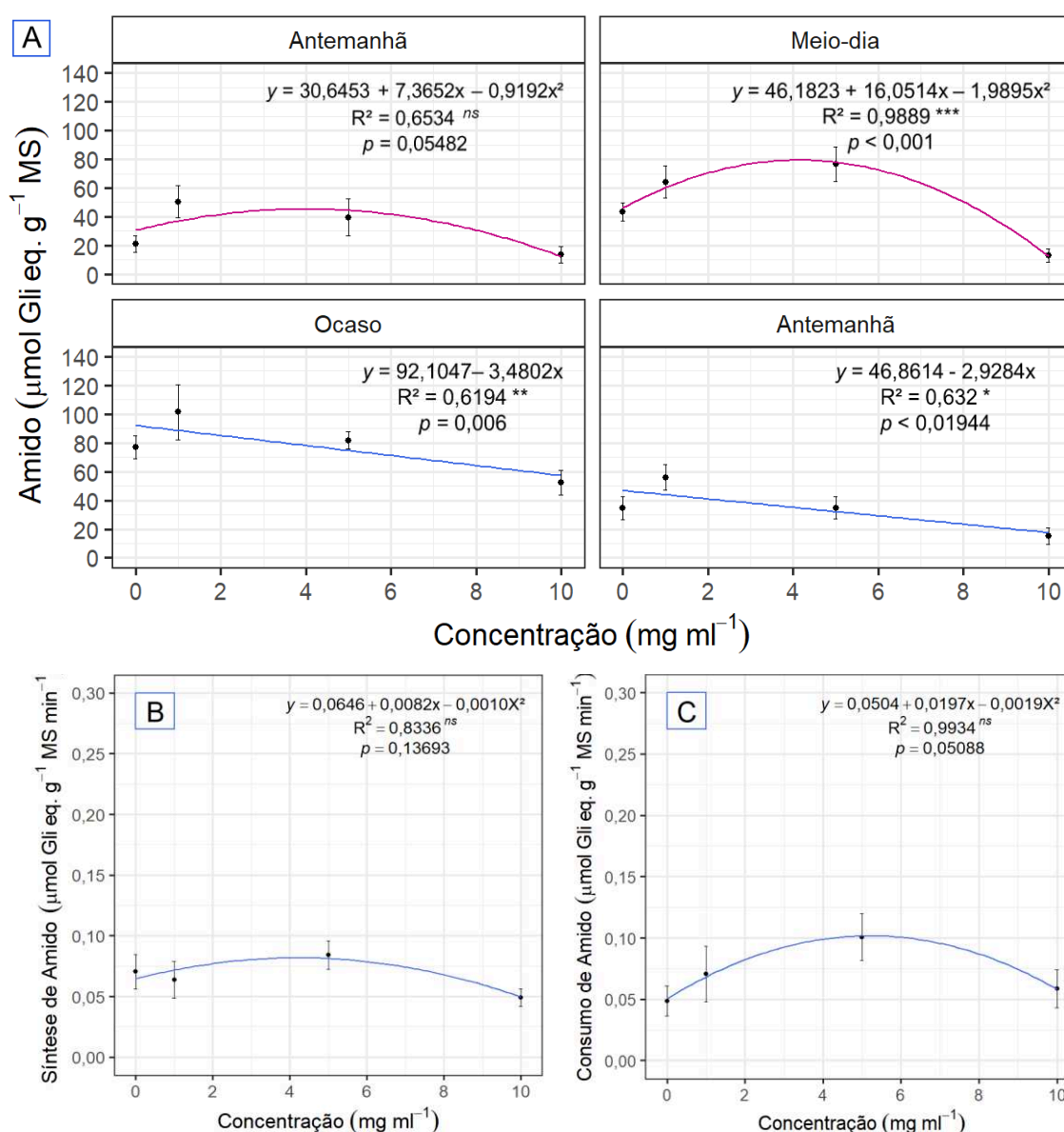


Figura 11. Padrões de acúmulo e consumo de amido em folhas expandidas de seringueira submetidas à aplicação mensal de Arbolina, após 240 dias. **A** - Flutuações de amido ao longo do dia; **B** - taxa de síntese de amido; **C** - taxa de consumo de amido. As barras referem-se às médias e as dispersões correspondem ao erro-padrão.

4. DISCUSSÃO

4.1. Efeitos da aplicação foliar de Arbolina sobre o crescimento de plantas jovens de seringueira

Ao estimular o desempenho fotossintético, o uso de CDs está diretamente associado ao aumento da taxa de crescimento e de alocação de biomassa. Essa correlação pode ser observada em estudos com a administração de CDs no crescimento de plântulas e no desenvolvimento do sistema radicular de algumas culturas, como feijão-mungu, alface e arroz (Li et al., 2018; Wang et al., 2018; Hu et al., 2022; Hu et al., 2022).

Nas condições de cultivo utilizadas no experimento do presente estudo, a aplicação foliar de diferentes doses de Arbolina não promoveu alterações marcantes no crescimento vegetativo de plantas jovens de seringueira. Resultados semelhantes foram observados por Soppelsa et al. (2018) para macieiras (*Malus x domestica* Borkh) cultivar “Jonathan”, no qual a aplicação de bioestimulantes não alterou a dinâmica de crescimento das plantas. De forma similar, Butruille (2021) ao testar diferentes doses de Arbolina via aplicação foliar e aplicação no substrato em morangueiros (*Fragaria x ananassa* Duch) cultivar “Portola”, não visualizou resposta diferencial no crescimento das plantas. Em contrapartida, resultados promissores foram observados por Oliveira et al. (2024), no qual as concentrações 240 e 320 mg l⁻¹, faixa de concentração próxima à utilizada por Butruille (2021), promoveram o crescimento de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* Walp) cultivar “Pingo-de-ouro 1-2”, sob estresse salino. Estes resultados suportam a hipótese de que a resposta à CDs não é igual entre culturas, e que a concentração e formas de aplicação devem ser adequadas para cada.

Estudos com CDs são recentes e existem contra-argumentos do seu uso em plântulas devido à possível toxidez e interferências no crescimento. De acordo com Chen et al. (2018), a exposição de plântulas de *A. thaliana* a doses crescentes de 125 até 1.000 mg l⁻¹ de CDs levou à redução em comprimento das raízes. Essa redução também foi visualizada para as massas frescas de raízes e parte aérea, e para a atividade da Rubisco e de outras enzimas do ciclo de Calvin-Benson (Chen et al. 2018). Adicionalmente, os autores levantam a hipótese de alteração do potencial osmótico nas células das plântulas de *A. thaliana*, devido ao aumento da quantidade

de L-valina, L-homoserina e glicina, sendo um dos prováveis aspectos responsáveis pela fitotoxidez observada no estudo.

Embora CDs sejam recomendados como bioestimulantes da fotossíntese e, por este fato, aumentar o crescimento e a produtividade de algumas espécies, para além das respostas diferenciais entre espécies, é possível que seu potencial seja mais evidente em condições de estresse.

4.2. Efeitos da aplicação foliar de Arbolina sobre a eficiência fotossintética de plantas jovens de seringueira

A fotoluminescência de CDs é visualizada como uma forma sustentável de transmissão de energia para planta, podendo melhorar a performance fotossintética (Horst et al., 2021; Ozyurt et al., 2023). Este efeito pode estar associado ao acúmulo da nanopartícula na superfície foliar, o que disponibilizaria uma quantidade superior de fótons no espectro azul aos fotossistemas da planta, ou ainda na regulação de genes associados à estrutura dos fotossistemas (Li et al., 2020b; Guo et al., 2022; Wang et al., 2021).

Estudos visando a compreensão dos efeitos da aplicação de CDs na fluorescência da clorofila *a* são escassos. Em arroz (*Oryza sativa*), a aplicação de CDs foi associada a regulação negativa de fitocromos *b* e aumento da temperatura interna de folhas. Estas alterações podem estar associadas com a absorção e reemissão de fótons pelo CD, que o sobrecarregavam (Panigrahy et al., 2021). Em contrapartida, Wang et al. (2018) verificaram que a exposição de plântulas de feijão-mungu (*Vigna radiata*) às nanopartículas de carbono favoreceram o aumento da atividade do FSI, da cadeia transportadora de elétrons, e da atividade da Rubisco. No presente trabalho, embora tenha sido verificada redução para F_v'/F_m' em função do aumento da concentração de Arbolina, não houve aparente dano no aparato fotoquímico, uma vez que não foram observadas alterações prejudiciais na razão F_v/F_m e nem para cadeia transportadora de elétrons. Portanto, para além da escassez de informações, são verificadas respostas diferenciais, em termos de fluorescência da clorofila *a* em plantas submetidas à CDs.

Em relação aos parâmetros de trocas gasosas e para aspectos de área foliar, não foram observadas alterações significativas nas folhas de seringueira tratadas com diferentes doses de Arbolina. Resultados similares com formas de aplicação distintas de Arbolina foram observados por Butruille (2021), em morangueiros (*Fragaria x*

ananassa Duch) cultivar “Portola”. Assim, embora melhora da performance fotossintética de plantas tenha sido observada em plantas de arroz, alface, soja e tabaco tratadas com CDs (Li et al., 2021; Wang et al., 2021; Hu et al., 2022; Ji et al., 2023), esse efeito não foi evidente em plantas jovens de seringueira.

Recentemente, Oliveira et al. (2024) observaram efeitos positivos da aplicação de Arbolina para feijão-caupi (*Vigna unguiculata* Walp) cultivar “Pingo-de-ouro 1-2” na fotossíntese líquida, na *gs* e na transpiração. Já em melão amarelo (*Cucumis melo*) cultivar “Gladiol F1”, efeitos significativos foram observados somente para transpiração (Vieira et al., 2024). Considerando que nos exemplos com Arbolina as doses administradas não ultrapassaram 1 mg ml⁻¹ da suspensão, é possível observar novamente uma resposta diferencial das culturas à CDs, o que pode justificar os resultados observados no presente estudo.

4.3 Alterações metabólicas em folhas de seringueira em reposta a aplicações mensais de Arbolina

Estudos prévios realizados por Wang et al. (2018) demonstraram que a aplicação de CDs promoveu aumento de cerca de 15% nos níveis de clorofilas totais e 22% nos níveis de carboidratos nas folhas de plântulas de feijão-mungu (*Vigna radiata*). Quando cultivadas sob seca, plântulas de soja tratadas com 5 mg L⁻¹ de suspensão de CDs apresentaram maiores níveis de carboidratos e aminoácidos livres totais quando comparados aos observados em plantas controle sob seca (Ji et al., 2023). Em relação à atividade da Rubisco, Li et al. (2019) observaram que a aplicação de CDs em *A. thaliana* promoveram aumento de 42% da sua atividade enzimática, semelhante ao resultado obtido por Wang et al. (2018) para feijão-mungu (*Vigna radiata*). Junto a esse resultado, maior velocidade de germinação e alongamento radicular também foram testemunhados (Li et al. 2019).

Acredita-se que a Arbolina possa atuar como suporte nutricional, uma vez que também contém nitrogênio em sua estrutura (EMBRAPA, 2020). Essa suposição tem base em estudos prévios indicando efeitos positivos da aplicação de CDs sobre o conteúdo de pigmentos fotossintéticos em diferentes espécies vegetais (Li et al., 2019; Hu et al., 2022; Cen et al., 2023; Ji et al., 2023). No presente estudo, a aplicação de diferentes doses de Arbolina em plantas jovens de seringueira não promoveu alterações nas quantidades de pigmentos fotossintéticos. Entretanto, o ajuste quadrático foi verificado para razão aminoácidos totais e proteínas solúveis totais,

sugerindo maiores valores para as doses de 1 e 5 mg ml⁻¹. A quantidade de proteínas solúveis totais, por sua vez, foi reduzida para todos os tratamentos com Arbolina, similarmente observado para os níveis de frutose, enquanto demais açúcares não foram afetados pelo tratamento. Por fim, os tratamentos 1 e 5 mg ml⁻¹ promoveram maior acúmulo de amido, enquanto plantas submetidas a 10 mg ml⁻¹ de Arbolina tiveram menor síntese e consumo da reserva, embora não se tenha visto alterações na respiração noturna entre tratamentos.

Similarmente, a aplicação de diferentes doses de Arbolina não promoveu alterações na quantidade de pigmentos fotossintéticos em folhas de morangueiro (*Fragaria x ananassa* Duch) cultivar “Portola” (Butruille, 2021). Em relação ao fruto, a aplicação de Arbolina alterou o pH e a coloração, mas sem alterações para os níveis de açúcares totais. Em contrapartida, Viera et al. (2024) observaram que doses de Arbolina próximas a 0,446 l ha⁻¹ juntamente com a lâmina de irrigação de 100% de evapotranspiração da cultura (ETc), promoveram maior produtividade e qualidade de melão amarelo. Esse aumento foi relacionado a um maior conteúdo de clorofilas *a* e *b*, maior transpiração e maior teor de carboidratos. Entretanto, para tratamentos acima de 0,446 l ha⁻¹, também foi observada redução do acúmulo de carboidratos nas folhas de melão amarelo, semelhante ao observado em folhas de seringueira no presente estudo.

Embora CDs sejam reconhecidos pela promoção de maior eficiência fotossintética e aumento na síntese de metabólitos em algumas espécies (Li et al., 2021; Cen et al., 2023; Chowmasundaram et al., 2023), essa relação não foi clara para plantas jovens de seringueira nas condições avaliadas. Em adição, resultados obtidos para outras culturas reforçam que a resposta a Arbolina não é homogênea, sendo necessário mais estudos visando compreender as diversas respostas à aplicação da nanopartícula.

5. CONCLUSÕES

Em condições ideais de disponibilidade hídrica e nutricional, a aplicação foliar mensal de Arbolina, em doses variando de 1 a 10 mg ml⁻¹, não promoveu alterações marcantes no crescimento e desempenho fotossintético de plantas jovens de seringueira. Entretanto, análises metabólicas indicaram uma redução nos níveis de proteínas solúveis totais e frutose para plantas submetidas à nanopartícula. Verificou-se também maior acúmulo de amido em folhas submetidas aos tratamentos de 1 e 5 mg ml⁻¹ de Arbolina, enquanto para plantas submetidas a dose de 10 mg ml⁻¹ observou-se menor síntese e consumo de amido.

Os resultados obtidos contribuem para a compreensão dos efeitos da aplicação de Arbolina na fisiologia de plantas jovens seringueira. Ressalta-se, contudo, a necessidade de investigações adicionais, considerando diferentes doses, métodos e épocas de aplicação e sua interação com estresses abióticos.

REFERÊNCIAS

- Arpita, Kumar P, Kataria N, Narwal N, Kumar S, Kumar R, Khoo KS, Show PL** (2023) Plastic waste-derived carbon dots: insights of recycling valuable materials towards environmental sustainability. *Curr Pollution Rep* **9**: 433–453
- Baker NR** (2004) Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. *Journal of Experimental Botany* **55**: 1607–1621
- Bradford MM** (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* **72**: 248–254
- Butruille NDS** (2021) Influência do método de aplicação e concentrações de Arbolina na produtividade, fisiologia e qualidade de frutos de morangueiro.
- Carillo P, Gibon Y** (2011) Extraction and determination of proline. Protocol
- Cen Q, Xu H, Chen J, Zhao S, Li W, Zheng M, Xiang J, Luo L, Chen F, Zhang H, et al** (2023) Functionalized Biomass Carbon Dots for Improved Growth of Lettuce and *Exocarpium Citri Grandis* Saplings. *ACS Appl Nano Mater* **6**: 16604–16614
- Chen J, Liu B, Yang Z, Qu J, Xun H, Dou R, Gao X, Wang L** (2018) Phenotypic, transcriptional, physiological and metabolic responses to carbon nanodot exposure in *Arabidopsis thaliana* (L.). *Environ Sci: Nano* **5**: 2672–2685
- Chowmasundaram YA, Tan TL, Nulit R, Jusoh M, Rashid SA** (2023) Recent developments, applications and challenges for carbon quantum dots as a photosynthesis enhancer in agriculture. *RSC Adv* **13**: 25093–25117
- Dong Z, Qi J, Yue L, Zhou H, Chen L, Gu J, He Y, Wu H** (2024) Biomass-based carbon quantum dots and their agricultural applications. *Plant Stress* **11**: 100411
- EMBRAPA** (2020) Bioestimulante nanotecnológico melhora desenvolvimento de hortaliças. <https://www.embrapa.br/en/busca-de-noticias/-/noticia/55218218/bioestimulante-nanotecnologico-melhora-desenvolvimento-de-hortalica>

- Evans GC** (1972) The quantitative analysis of plant growth. University of California Press, Berkeley
- Evans JR, Poorter H** (2001) Photosynthetic acclimation of plants to growth irradiance: the relative importance of specific leaf area and nitrogen partitioning in maximizing carbon gain. *Plant, Cell & Environment* **24**: 755–767
- Fernie AR, Roscher A, Ratcliffe RG, Kruger NJ** (2001) Fructose 2,6-bisphosphate activates pyrophosphate: fructose-6-phosphate 1-phosphotransferase and increases triose phosphate to hexose phosphate cycling in heterotrophic cells. *Planta* **212**: 250–263
- Ferreira EB, Cavalcanti PP, Nogueira DA** (2014) ExpDes: An R package for ANOVA and experimental designs. *AM* **05**: 2952–2958
- Gedda G, Sankaranarayanan SA, Putta CL, Gudimella KK, Rengan AK, Girma WM** (2023) Green synthesis of multi-functional carbon dots from medicinal plant leaves for antimicrobial, antioxidant, and bioimaging applications. *Sci Rep* **13**: 6371
- Gonçalves JFDC, Barreto DCDS, Santos Junior UMD, Fernandes AV, Sampaio PDTB, Buckeridge MS** (2005) Growth, photosynthesis and stress indicators in young rosewood plants (*Aniba rosaeodora* Ducke) under different light intensities. *Braz J Plant Physiol* **17**: 325–334
- Gonçalves PDS, Bortoletto N, Sambugaro R, Furtado EL, Bataglia OC, Ortolani AA, Godoy Júnior G** (2001) Desempenho de clones de seringueira de origem amazônica no planalto do Estado de São Paulo. *Pesq agropec bras* **36**: 1469–1477
- Gonçalves PDS, Cardoso M, Ortolani AA** (1990) Origem, variabilidade e domesticação da *Hevea*, uma revisão. **25**: 135–156
- Guo B, Liu G, Wei H, Qiu J, Zhuang J, Zhang X, Zheng M, Li W, Zhang H, Hu C, et al** (2022) The role of fluorescent carbon dots in crops: Mechanism and applications. *SmartMat* **3**: 208–225

- Hoagland DR, Arnon DI** (1950) The water-culture method for growing plants without soil. Agricultural Experiment Station 40
- Hora Júnior BTD, De Macedo DM, Barreto RW, Evans HC, Mattos CRR, Maffia LA, Mizubuti ESG** (2014) Erasing the Past: A New Identity for the Damoclean Pathogen Causing South American Leaf Blight of Rubber. PLoS ONE **9**: e104750
- Horst FH, Rodrigues CVDS, Carvalho PHPR, Leite AM, Azevedo RB, Neto BAD, Corrêa JR, Garcia MP, Alotaibi S, Henini M, et al** (2021) From cow manure to bioactive carbon dots: a light-up probe for bioimaging investigations, glucose detection and potential immunotherapy agent for melanoma skin cancer. RSC Adv **11**: 6346–6352
- Hu J, Jia W, Wu X, Zhang H, Wang Y, Liu J, Yang Y, Tao S, Wang X** (2022) Carbon dots can strongly promote photosynthesis in lettuce (*Lactuca sativa* L.). Environ Sci: Nano **9**: 1530–1540
- Hunt R** (1990) Basic growth analysis. doi: 10.1007/978-94-010-9117-6
- IBÁ** (2024) IBÁ 2024. Relatório anual. <https://iba.org/datafiles/publicacoes/relatorios>
- Jalani BS, Ramli O** (2003) PRODUCTION SYSTEMS AND AGRONOMY | Rubber. Encyclopedia of Applied Plant Sciences. Elsevier, pp 970–978
- Ji Y, Yue L, Cao X, Chen F, Li J, Zhang J, Wang C, Wang Z, Xing B** (2023) Carbon dots promoted soybean photosynthesis and amino acid biosynthesis under drought stress: reactive oxygen species scavenging and nitrogen metabolism. Science of The Total Environment **856**: 159125
- Khan I, Awan SA, Rizwan M, Hassan ZU, Akram MA, Tariq R, Brestic M, Xie W** (2022) Nanoparticle's uptake and translocation mechanisms in plants via seed priming, foliar treatment, and root exposure: a review. Environ Sci Pollut Res **29**: 89823–89833
- Kramer DM, Avenson TJ, Kanazawa A, Cruz JA, Ivanov B, Edwards GE** (2004) The Relationship between photosynthetic electron transfer and its regulation. *in*

gc papageorgiou, govindjee, eds, chlorophyll a fluorescence. Springer Netherlands, Dordrecht, pp 251–278

Langer M, Paloncýová M, Medved' M, Pykal M, Nachtigallová D, Shi B, Aquino AJA, Lischka H, Otyepka M (2021) Progress and challenges in understanding of photoluminescence properties of carbon dots based on theoretical computations. *Applied Materials Today* **22**: 100924

Li H, Huang J, Liu Y, Lu F, Zhong J, Wang Y, Li S, Lifshitz Y, Lee S-T, Kang Z (2019) Enhanced RuBisCO activity and promoted dicotyledons growth with degradable carbon dots. *Nano Res* **12**: 1585–1593

Li H, Huang J, Lu F, Liu Y, Song Y, Sun Y, Zhong J, Huang H, Wang Y, Li S, et al (2018) Impacts of carbon dots on rice plants: boosting the growth and improving the disease resistance. *ACS Appl Bio Mater* **1**: 663–672

Li Y, Gao J, Xu X, Wu Y, Zhuang J, Zhang X, Zhang H, Lei B, Zheng M, Liu Y, et al (2020a) Carbon dots as a protective agent alleviating abiotic stress on rice (*Oryza sativa* L.) through promoting nutrition assimilation and the defense system. *ACS Appl Mater Interfaces* **12**: 33575–33585

Li Y, Xu X, Lei B, Zhuang J, Zhang X, Hu C, Cui J, Liu Y (2021) Magnesium-nitrogen co-doped carbon dots enhance plant growth through multifunctional regulation in photosynthesis. *Chemical Engineering Journal* **422**: 130114

Li Y, Xu X, Wu Y, Zhuang J, Zhang X, Zhang H, Lei B, Hu C, Liu Y (2020b) A review on the effects of carbon dots in plant systems. *Mater Chem Front* **4**: 437–448

Liang S, Wang M, Gao W, Luo S, Huang N, Qin Y (2021) Fluorescent carbon dots derived from magnolia withered leaves for promoting growth and fluorescent labeling of bean sprouts. *Carbon Trends* **4**: 100063

Lim TM, Narayanan R (1972) Estimation of the area of rubber leaves (*Hevea brasiliensis* Muell. arg.) using two leaflet parameters. *Ex Agric* **8**: 311–314

Lisec J, Schauer N, Kopka J, Willmitzer L, Fernie AR (2006) Gas chromatography mass spectrometry–based metabolite profiling in plants. *Nat Protoc* **1**: 387–396

- Liu H, Zhong X, Pan Q, Zhang Y, Deng W, Zou G, Hou H, Ji X** (2024) A review of carbon dots in synthesis strategy. *Coordination Chemistry Reviews* **498**: 215468
- Luo W-K, Zhang L-L, Yang Z-Y, Guo X-H, Wu Y, Zhang W, Luo J-K, Tang T, Wang Y** (2021) Herbal medicine derived carbon dots: synthesis and applications in therapeutics, bioimaging and sensing. *J Nanobiotechnol* **19**: 320
- Makita Y** (2020) Climate change and *Hevea* species. <https://www.foreststreesagroforestry.org/fta-event/natural-rubber-systems-and-climate-change/>
- Nair KP** (2021) Tree crops: harvesting cash from the world's important cash crops. doi: 10.1007/978-3-030-62140-7
- Oliveira LKBD, Costa RSD, Silva JDS, Silva BAD, Lima KVG, Pinto MBDS, Batista ABP, Silva FJLD, Silva TID, Mesquita RO** (2024) Morphophysiology of cowpea under salt stress and application of carbon-based nanobiostimulant in the vegetative stage. *Rev bras eng agríc ambient* **28**: e279070
- Ozyurt D, Kobaisi MA, Hocking RK, Fox B** (2023) Properties, synthesis, and applications of carbon dots: A review. *Carbon Trends* **12**: 100276
- Panigrahy M, Das S, Poli Y, Sahoo PK, Kumari K, Panigrahi KCS** (2021) Carbon nanoparticle exerts positive growth effects with increase in productivity by down-regulating phytochrome b and enhancing internal temperature in rice. *Rice Science* **28**: 289–300
- Posit Software** (2023) RStudio: integrated development environment for R. <http://www.rstudio.com>
- Priyadarshan PM** (2017) Biology of *Hevea* rubber. doi: 10.1007/978-3-319-54506-6
- Priyadarshan PM, Clément-Demange A** (2004) Breeding *Hevea* Rubber: formal and molecular genetics. *advances in genetics*. Elsevier, pp 51–115
- Qi D, Xie G, Wu Z** (2019) Seasonal changes impact on growth of rubber (*Hevea brasiliensis*) seedlings under different cultivation. *OJF* **09**: 397–406

- Qu S, Wang X, Lu Q, Liu X, Wang L** (2012) A biocompatible fluorescent ink based on water-soluble luminescent carbon nanodots. *Angew Chem Int Ed* **51**: 12215–12218
- Secco RS, Bigio NC** (2022) Hevea In: Flora e Funga do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro., <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB22704>
- Senevirathna AMWK, Stirling CM, Rodrigo VHL** (2003) Growth, photosynthetic performance and shade adaptation of rubber (*Hevea brasiliensis*) grown in natural shade. *Tree Physiology* **23**: 705–712
- Sławski J, Maciejewski J, Szukiewicz R, Gieczewska K, Grzyb J** (2023) Quantum dots assembled with photosynthetic antennae on a carbon nanotube platform: a nanohybrid for the enhancement of light energy harvesting. *ACS Omega* **8**: 41991–42003
- Soppelsa S, Kelderer M, Casera C, Bassi M, Robatscher P, Andreotti C** (2018) Use of biostimulants for organic apple production: effects on tree growth, yield, and fruit quality at harvest and during storage. *Front Plant Sci* **9**: 1342
- Sterling A, Rodríguez N, Quiceno E, Trujillo F, Clavijo A, Suárez-Salazar JC** (2019) Dynamics of photosynthetic responses in 10 rubber tree (*Hevea brasiliensis*) clones in Colombian Amazon: Implications for breeding strategies. *PLoS ONE* **14**: e0226254
- Urbanczyk-Wochniak E, Baxter C, Kolbe A, Kopka J, Sweetlove LJ, Fernie AR** (2005) Profiling of diurnal patterns of metabolite and transcript abundance in potato (*Solanum tuberosum*) leaves. *Planta* **221**: 891–903
- Vieira NQB, Simões WL, Silva JABD, Salviano AM, Silva JSD, Braga MB, Guimarães MJM, Martins MDS** (2024) Cultivation of yellow melon subjected to different irrigation levels and application of arbolina® biostimulant. *Rev Caatinga* **37**: e12452
- Wang H, Zhang M, Song Y, Li H, Huang H, Shao M, Liu Y, Kang Z** (2018) Carbon dots promote the growth and photosynthesis of mung bean sprouts. *Carbon* **136**: 94–102

- Wang X, Xie H, Wang P, Yin H** (2023) Nanoparticles in plants: uptake, transport and physiological activity in leaf and root. *Materials* **16**: 3097
- Wang Y, Xie Z, Wang X, Peng X, Zheng J** (2021) Fluorescent carbon-dots enhance light harvesting and photosynthesis by overexpressing *PsbP* and *PsiK* genes. *J Nanobiotechnol* **19**: 260
- Wellburn AR** (1994) The Spectral Determination of chlorophylls *a* and *b*, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *Journal of Plant Physiology* **144**: 307–313
- World Integrated Trade Solution (WITS)** Rubber; natural rubber latex, whether or not pre-vulcanised, in primary forms or in plates, sheets or strip imports by country in 2022.
- World Integrated Trade Solution (WITS)** Rubber; natural rubber latex, whether or not pre-vulcanised, in primary forms or in plates, sheets or strip imports by country in 2022.
- World Integrated Trade Solution (WITS)** Rubber; mixtures of natural and synthetic rubbers of heading no. 4001 and 4002, in primary forms or in plates, sheets or strip imports by country in 2022.
- Xiao J, Momen R, Liu C** (2021) Application of carbon quantum dots in supercapacitors: A mini review. *Electrochemistry Communications* **132**: 107143
- Yan F, Sun Z, Zhang H, Sun X, Jiang Y, Bai Z** (2019) The fluorescence mechanism of carbon dots, and methods for tuning their emission color: a review. *Microchim Acta* **186**: 583
- Yemm EW, Cocking EC, Ricketts RE** (1955) The determination of amino-acids with ninhydrin. *Analyst* **80**: 209