

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**ESTUDO DA RESISTÊNCIA DE GENÓTIPOS DE SOJA À
HERBIVORIA DE *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera:
Noctuidae)**

Victoria Patricia Peña Arroyo*

Tese apresentada como parte dos
requisitos para a obtenção do título de
DOUTORA EM CIÊNCIAS, área de
concentração: QUÍMICA
ORGÂNICA

Orientador: Prof. Dr. Felipe Christoff Wouters

Coorientador: Prof. Dr. Moacir Rossi Forim

* Bolsista (CNPq)

São Carlos - SP

2025



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia
Programa de Pós-Graduação em Química

Folha de Aprovação

Defesa de Tese de Doutorado da candidata Victoria Patricia Pena Arroyo, realizada em 29/08/2025.

Comissão Julgadora:

Prof. Dr. Felipe Christoff Wouters (UFSCar)

Profa. Dra. Regina Vincenzi Oliveira (BMS)

Prof. Dr. Celio Fernando Figueiredo Angolini (UFABC)

Prof. Dr. Marcos Rafael Gusmão (EMBRAPA)

Profa. Dra. Dulce Helena Ferreira de Souza (UFSCar)

O Relatório de Defesa assinado pelos membros da Comissão Julgadora encontra-se arquivado junto ao Programa de Pós-Graduação em Química.

*“Y dediqué mi corazón a conocer la
sabiduría, y también a entender las
locuras y los desvaríos; conocí que
aun esto era aflicción de
espíritu. Porque en la mucha
sabiduría hay mucha molestia; y
quien añade ciencia, añade dolor”
(Eclesiastés 1:17-18)*

AGRADECIMENTOS

Desejo expressar minha gratidão a Deus, meu guia constante, que me acompanhou ao longo da vida, concedendo-me paciência e sabedoria para alcançar meus objetivos com êxito.

Ao meu esposo Yeison, que esteve ao meu lado em cada etapa desta jornada. Por cada palavra de incentivo e por cada sacrifício silencioso que me permitiu chegar até aqui. Aos meus pais, por seu apoio incondicional em toda a minha formação e por serem exemplos de trabalho e honestidade.

Ao meu orientador, o professor Felipe Wouters, cuja orientação e contribuição foram fundamentais para minha formação no doutorado, sendo fonte constante de inspiração.

Ao professor Moacir Rossi Forim pelo incentivo e pela generosidade em disponibilizar seu laboratório para a realização dos experimentos. À professora Regina Vincenzi Oliveira e ao Dr. Paulino Ribeiro Villas Boas pelo apoio essencial prestado à execução dos experimentos deste projeto.

À Dra. Dorai Periotto Zandonai, pelo apoio e carinho constantes que sempre me acompanharam. A Josi e Maria Clara, pela amizade, apoio e enriquecedora troca de experiências. Aos meus amigos, Jesús, Karen, Guille, pela torcida e incentivo durante todo este processo.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de São Carlos pela oportunidade de desenvolver o Doutorado Acadêmico.

Aos órgãos de fomento, principalmente a Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pois sem o apoio financeiro não seria possível a realização deste trabalho.

A todos muito obrigada!

LISTA DE TABELAS

TABELA 3.1 – Resumo do experimento de injúria por <i>S. frugiperda</i> para a análise nutricional de genótipos de soja.....	26
TABELA 3.2 – Parâmetros utilizados na realização das análises de Ca, Mg, K, P, B, Cu, Fe, Mn e Zn por espectroscopia de ruptura induzida por laser (LIBS).....	27
TABELA 4.1 – Metabólitos acumulados diferencialmente ($VIP > 3$) nas folhas dos genótipos PI 229358, IAC 100, BRS 257, IAC PL-1 e PI 407270 após ataque de SF, obtidos a partir das análises PLS-DA.....	63
TABELA A.1 – Parâmetros usados em cada etapa de pré-processamento de arquivos mzXML no software MZmine 3.9.0.....	134
TABELA A.2 – Metabólitos diferencialmente acumulados em folhas de genótipos de soja em condições constitutivas, obtidos a partir da PCA e do mapa de calor.....	135
TABELA A.3 – Parâmetros de validação cruzada e do teste de permutação do modelo gerado por PLS-DA para os genótipos PI 229358, IAC 100, BRS 257, IAC PL-1 e PI 407270.....	139
TABELA A.4 – Metabólitos diferenciais induzidos após ataque de <i>Spodoptera frugiperda</i> , obtidos a partir dos gráficos de <i>volcano</i> , nas folhas dos genótipos PI 229358, IAC 100, BRS 257, IAC PL-1 e PI 407270.....	140

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1.1 – Estágios fenológicos da soja e períodos de maior ocorrência de algumas pragas desfolhadoras na cultura.....	4
FIGURA 1.2 – Caminhos de dispersão da soja desde o centro de origem para outras regiões do mundo.....	5
FIGURA 1.3 – Lagartas nas formas verde (a) e escura (b) de <i>Anticarsia gemmatilis</i> , lagarta de <i>Spodoptera frugiperda</i> (c); e sintoma da injúria causada na folha de soja (d).....	8
FIGURA 1.4 – Categorias de defesa das plantas contra herbívoros.....	10
FIGURA 1.5 – Via de biossíntese do metabolismo primário e secundário em plantas sob estresse biótico.....	12
FIGURA 1.6 – Flavonóis e isoflavonas presentes nas folhas de soja.....	17
FIGURA 3.1 – Esquema da planta de soja nos estágios de desenvolvimento: a) V3 e b) V5.....	24
FIGURA 3.2 – Esquema ilustrando as etapas preparatórias anteriores à inserção da sequência de análise por UHPLC-q-TOF-MS/MS.....	32
FIGURA 3.3 – Esquema ilustrando as etapas de processamento e análise de dados metabolômicos não direcionados por UHPLC-q-TOF-MS/MS.....	34
FIGURA 4.1 – Área foliar consumida (média $\pm$ erro padrão) em teste com chance de escolha para larvas de quarto ínstar (L4) de <i>S. frugiperda</i> , em relação a cinco genótipos de soja.....	36

FIGURA 4.2 – Duração do estágio larval (média $\pm$ erro padrão) de <i>S. frugiperda</i> quando alimentada com diferentes genótipos de soja.....	36
FIGURA 4.3 – Peso ganho no 9º dia (média $\pm$ erro padrão) por larvas de <i>S. frugiperda</i> desenvolvidas em diferentes genótipos de soja.....	37
FIGURA 4.4 – Massa foliar consumida até o 9º dia (média $\pm$ erro padrão) por lagartas de <i>S. frugiperda</i> alimentadas com diferentes genótipos de soja.....	38
FIGURA 4.5 – Peso úmido (média $\pm$ erro padrão) de pupas de <i>S. frugiperda</i> desenvolvidas em diferentes genótipos de soja.....	38
FIGURA 4.6 – Número de sementes produzidas em genótipos de soja (média $\pm$ erro padrão) com e sem desfolha causada por lagartas de <i>S. frugiperda</i>	39
FIGURA 4.7 – Peso de sementes produzidas em genótipos de soja (média $\pm$ desvio padrão) com e sem desfolha causada por lagartas de <i>S. frugiperda</i>	39
FIGURA 4.8 – Principais classes químicas e número de metabólitos caracterizados nas folhas dos genótipos PI 229358, IAC 100, BRS 257, IAC PL-1 e PI 407270.....	45
FIGURA 4.9 – Análise de componentes principais (PCA) dos perfis metabólicos (a) e gráficos de <i>loadings</i> dos metabólitos (b), com QC à esquerda e sem QC à direita, mostrando PC1 e PC2 nas folhas dos genótipos PI 229358, IAC 100, BRS 257, IAC PL-1 e PI 407270 sob condições constitutivas.....	47

FIGURA 4.10 – Metabólitos representativos sob condições constitutivas que foram determinantes para o agrupamento na análise por PCA dos genótipos estudados.....	49
FIGURA 4.11 – Mapa de calor dos 50 metabólitos mais representativos sob condições constitutivas nos genótipos PI 229358, IAC 100, BRS 257, IAC PL-1 e PI 407270.....	51
FIGURA 4.12 – Gráfico de pontuação PLS-DA (a) e gráfico de importância variável na projeção (VIP) (b) do genótipo PI 229358 (P1)	56
FIGURA 4.13 – Gráfico de pontuação PLS-DA (a) e gráfico de importância variável na projeção (VIP) (b) do genótipo IAC 100 (P2)	57
FIGURA 4.14 – Gráfico de pontuação PLS-DA (a) e gráfico de importância variável na projeção (VIP) (b) do genótipo BRS 257 (P3)	59
FIGURA 4.15 – Gráfico de pontuação PLS-DA (a) e gráfico de importância variável na projeção (VIP) (b) do genótipo IAC PL-1 (P4)	60
FIGURA 4.16 – Gráfico de pontuação PLS-DA (a) e gráfico de importância variável na projeção (VIP) (b) do genótipo PI 407270 (P5)	62
FIGURA 4.17 – Gráfico de <i>volcano</i> exibindo diferenças nas alterações metabólicas entre tecidos de soja injuriados por <i>Spodoptera frugiperda</i> e tecidos de soja sob condições constitutivas.....	72
FIGURA 4.18 – Metabólitos selecionados como possíveis biomarcadores de resistência contra <i>S. frugiperda</i> presentes nas folhas de soja.....	81
FIGURA 4.19 – Quantidade relativa de carbono (C) e nitrogênio (N) (%) e relação de C/N (média $\pm$ desvio padrão) em diferentes genótipos de soja....	84

FIGURA 4.20 – Quantidade relativa (média $\pm$ desvio padrão) de fósforo (P I), potássio (K I), cálcio (Ca II), ferro (Fe I), manganês (Mn II), boro (B I), cobre (Cu I) e zinco (Zn II) em diferentes genótipos de soja.....	86
FIGURA A.1- Representação hierárquica das principais classes químicas caracterizadas nos genótipos PI 229358, IAC 100; BRS 257, IAC PL-1 e PI 407270.....	121
FIGURA A.2 – Cromatogramas de íons totais (TIC) para amostras dos extratos de folhas locais dos genótipos a) PI 229358, b) IAC 100, c) PI 407270, d) BRS 257, e) IAC PL-1 e f) controle de qualidade (QC).....	122
FIGURA A.3 – Gráfico <i>biplot</i> obtido da Análise de componentes principais (PCA) dos perfis metabólicos, com QC acima e sem QC abaixo, mostrando quais metabólitos (representados pelos vetores) são responsáveis pelas diferenças entre os genótipos estudados sob condições constitutivas.....	123
FIGURA A.4 – Gráfico de vulcano exibindo diferenças nas alterações metabólicas entre tecidos de soja injuriados por <i>Spodoptera frugiperda</i> e tecidos de soja sob condições constitutivas.....	124
FIGURA A.5 – Metabólitos selecionados como biomarcadores de resistência contra <i>S. frugiperda</i> presentes nas folhas de soja.....	125
FIGURA A.6 – Espectros de massas dos metabólitos (ID_7416, ID_7092 e ID_8795) selecionados como biomarcadores de resistência contra <i>S. frugiperda</i> presentes nas folhas de soja.....	126
FIGURA A.7 – Espectros de massas dos metabólitos (ID_8697, ID_7625 e ID_6734) selecionados como biomarcadores de resistência contra <i>S. frugiperda</i> presentes nas folhas de soja.....	127

FIGURA A.8 – Espectros de massas dos metabólitos (ID_5065, ID_4344 e ID_2148) selecionados como biomarcadores de resistência contra <i>S. frugiperda</i> presentes nas folhas de soja.....	128
FIGURA A.9 – Espectros de massas dos metabólitos (ID_3620, ID_3190 e ID_2680) selecionados como biomarcadores de resistência contra <i>S. frugiperda</i> presentes nas folhas de soja.....	129
FIGURA A.10 – Espectros de massas dos metabólitos (ID_2750, ID_2059 e ID_1768) selecionados como biomarcadores de resistência contra <i>S. frugiperda</i> presentes nas folhas de soja.....	130
FIGURA A.11 – Abundâncias relativas (média $\pm$ desvio padrão) de metabólitos selecionados como biomarcadores de resistência contra <i>S. frugiperda</i> em diferentes genótipos de soja.....	131
FIGURA A.12 – Abundâncias relativas (média $\pm$ desvio padrão) de metabólitos selecionados como biomarcadores de resistência contra <i>S. frugiperda</i> em diferentes genótipos de soja.....	132
FIGURA A.13 – Quantidade relativa (média $\pm$ desvio padrão) de fósforo (P I), potássio (K I), ferro (Fe I), manganês (Mn II), e magnésio (Mg II) em diferentes genótipos de soja.....	133

RESUMO

ESTUDO DA RESISTÊNCIA DE GENÓTIPOS DE SOJA À HERBIVORIA DE *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). A soja [*Glycine max* (L.) Merrill] possui elevada importância socioeconômica, sendo o Brasil seu maior produtor e exportador. No entanto, essa cultura enfrenta desafios devido a pragas, como *Spodoptera frugiperda* (SF), que comprometem sua produtividade. O controle químico, embora amplamente empregado, favorece o surgimento de pragas resistentes e acarreta impactos ambientais e à saúde. Para mitigar esses efeitos, as plantas ativam mecanismos de defesa, produzindo compostos que afetam o desenvolvimento e o comportamento dos insetos. O uso de cultivares resistentes é estratégico para minimizar perdas, sendo que tais defesas variam conforme o genótipo, o órgão da planta e o tipo de herbivoria, tornando crucial sua identificação e compreensão na interação inseto-planta para aprimorar a caracterização da resistência da soja. Deste modo, este estudo investigou a resistência de quatro genótipos de soja cultivados (PI 229358, IAC 100, BRS 257, IAC PL-1) e um selvagem (PI 407270) à herbivoria de SF, considerando os efeitos da domesticação. Foram realizados ensaios biológicos, análises nutricionais e metabólicas em folhas jovens, velhas e injuriadas no estágio de desenvolvimento V3, antes e após indução por SF. O perfil metabólico foi analisado por UHPLC-q-TOF-MS/MS, com uma abordagem não direcionada. PI 229358 e IAC 100 demonstraram resistência constitutiva, enquanto BRS 257, IAC PL-1 e PI 407270 apresentaram tolerância. Folhas jovens concentraram compostos como ácidos graxos insaturados, octadecanóides e diterpenos, enquanto folhas velhas apresentaram maior abundância de flavonóis e triterpenos. A herbivoria ativou respostas metabólicas, especialmente nas variedades resistentes e na soja selvagem. Foram anotados biomarcadores de resistência à SF, como derivados de quercetina, isoflavonas, triterpenóides, uma cumarina, ácidos graxos e fitoprostanos. O estudo evidencia que a domesticação não eliminou completamente a resistência e destaca a complexidade dos mecanismos de defesa da soja, contribuindo para o melhoramento de cultivares e estratégias sustentáveis de controle de pragas.

ABSTRACT

STUDY OF SOYBEAN GENOTYPE RESISTANCE TO *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) HERBIVORY. Soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) holds significant socioeconomic importance, with Brazil being its largest producer and exporter. However, this crop faces challenges due to pests such as *Spodoptera frugiperda* (SF), which compromise its productivity. Although chemical control is widely employed, its prolonged use promotes the emergence of resistant pests and causes adverse effects on health and the environment. To mitigate these impacts, plants activate defense mechanisms by producing compounds that affect insect development and behavior. The use of resistant cultivars is a strategic approach to minimize losses, as such defenses vary according to genotype, plant organ, and type of herbivory. Therefore, identifying and understanding these mechanisms in insect-plant interactions is crucial to improving soybean resistance characterization. This study investigated the resistance of four cultivated soybean genotypes (PI 229358, IAC 100, BRS 257, IAC PL-1) and one wild genotype (PI 407270) to SF herbivory, considering the effects of domestication. Biological assays, nutritional and metabolic analyses were conducted on young, mature, and injured leaves at the V3 developmental stage, both before and after SF induction. Metabolic profiling was performed using UHPLC-q-TOF-MS/MS with a non-targeted approach. PI 229358 and IAC 100 exhibited constitutive resistance, while BRS 257, IAC PL-1, and PI 407270 showed tolerance. Young leaves concentrated compounds such as unsaturated fatty acids, octadecanoids, and diterpenes, whereas mature leaves presented higher levels of flavonols and triterpenes. Herbivory triggered metabolic responses, particularly in resistant varieties and the wild soybean, suggesting systemic defense mechanisms. Resistance biomarkers to SF were identified, including quercetin derivatives, isoflavones, triterpenoids, a coumarin, fatty acids, and phytoprostanes. The study highlights that domestication has not entirely eliminated resistance and underscores the complexity of soybean defense mechanisms, contributing to the improvement of cultivars and sustainable pest control strategies.

SUMÁRIO

1 – INTRODUÇÃO.....	1
1.1 – Características da soja.....	3
1.2 - Domesticação da soja.....	3
1.3 - Pragas que atacam as folhas da soja.....	8
1.4 – Estratégias de defesa das plantas contra herbívoros.....	9
1.5 – Respostas de defesa das plantas sob estresse biótico.....	11
1.6 – Respostas de defesa da soja contra herbivoria.....	15
1.7 – A metabolômica aplicada ao estudo do estresse biótico em plantas.....	19
2 – OBJETIVOS.....	21
3 - PARTE EXPERIMENTAL.....	22
3.1 - Obtenção das plantas e insetos.....	22
3.2 - Ensaio de resistência de genótipos de soja à <i>S. frugiperda</i>	23
3.2.1 - Teste de escolha livre.....	23
3.2.2 – Ensaio de desenvolvimento da fase larval.....	23
3.2.3 – Teste de tolerância.....	25
3.3 – Análise nutricional de genótipos de soja.....	26
3.4 – Análise de Dados.....	28
3.5 – Indução de flavonoides por <i>S. frugiperda</i>	28
3.5.1 – Coleta e extração das amostras.....	29
3.5.2 – Análises cromatográficas e espectrométricas.....	30

3.5.3 – Processamento e análise de dados.....	32
4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	35
4.1 – Resistência de genótipos de soja à <i>S. frugiperda</i> (SF).....	35
4.2 – Análise metabolômica das folhas de genótipos de soja.....	45
4.2.1 – Visão geral do perfil metabólico das folhas de diferentes genótipos de soja.....	45
4.2.2 – Comparação do perfil metabólico das folhas de diferentes genótipos de soja sob condições constitutivas.....	46
4.2.3 – Alterações no perfil metabólico de diferentes tecidos dos genótipos estudados após o ataque de <i>S. frugiperda</i>	54
4.2.3.1 – Alterações no perfil metabólico das folhas do genótipo PI 229358 após o ataque de <i>S. frugiperda</i>	55
4.2.3.2 – Alterações no perfil metabólico das folhas do genótipo IAC 100 após o ataque de <i>S. frugiperda</i>	56
4.2.3.3 – Alterações no perfil metabólico das folhas do genótipo BRS 257 após o ataque de <i>S. frugiperda</i>	58
4.2.3.3 – Alterações no perfil metabólico das folhas do genótipo IAC PL-1 após o ataque de <i>S. frugiperda</i>	59
4.2.3.4 – Alterações no perfil metabólico das folhas do genótipo PI 407270 após o ataque de <i>S. frugiperda</i>	61
4.2.4 – Análise de diferença de biomarcadores entre genótipos.....	80
4.3 – Análise nutricional das folhas de genótipos de soja.....	83
5 – CONCLUSÕES.....	95

6 – REFERÊNCIAS.....	98
7 – APÊNDICE.....	121

1 – INTRODUÇÃO

A soja, (*Glycine max* (L.) Merrill), é uma das culturas mais importantes no cenário socioeconômico mundial. É cultivada, particularmente, para fins industriais ou para alimentação de animais e humanos, devido à sua composição nutricional de alta qualidade¹⁻⁴. Atualmente no Brasil, esta cultura destaca-se como um dos principais produtos agrícolas⁵, com uma produção estimada de 167.869 mil toneladas, o que mantém o país como o maior produtor e exportador da oleaginosa segundo o 7º levantamento da safra 2024/25⁶.

Embora seja notório o aumento na produção da soja no país, sua cultura é habitualmente afetada pelo ataque de diversas pragas e distintos estresses abióticos que podem provocar lesões e limitar sua produção ocasionando enormes perdas. Além disso, existem indícios de que a soja é geralmente afetada pela perda de diversidade genética obtida durante o processo de domesticação, o que limita o potencial de reprodução de variedades de soja com alta tolerância ao estresse ambiental e às características de resistência contra pragas⁷.

Dentre os principais grupos de insetos-pragas que têm afetado negativamente a produção da soja no Brasil, tem se distinguido o ataque de lagartas, destacando-se as espécies do gênero *Spodoptera* spp. As lagartas desse gênero são consideradas pragas com um alto potencial de ocasionar danos na cultura, já que podem se alimentar inicialmente das folhas e posteriormente das vagens na fase inicial de formação^{8,9}.

Para mitigar os impactos das doenças que comprometem a produtividade da soja, diversas estratégias de controle são adotadas, incluindo a utilização de cultivares resistentes, a rotação e sucessão de culturas com espécies não hospedeiras, além do controle químico e biológico. O controle baseado no uso de produtos químicos, é a estratégia mais usada. No entanto, o uso inadequado destas substâncias facilita o desenvolvimento de pragas mais resistentes, causando impactos negativos na saúde humana e no meio ambiente. Ademais, a redução ou

perda da eficácia dos pesticidas, a escassez de cultivares resistentes e a diminuição da durabilidade da resistência genética dessas cultivares, tornou o controle contra estas pragas um desafio^{1,10}.

Contudo, as plantas podem adotar duas estratégias principais para se protegerem contra a herbivoria: podem minimizar o dano que recebem, através de mecanismos de resistência, ou podem compensar os efeitos da herbivoria, demonstrando tolerância ao impacto causado pelos herbívoros¹¹. Como mecanismo de resistência, as plantas utilizam metabólitos secundários que são capazes de modificar o comportamento de insetos e/ou inibir o seu crescimento e desenvolvimento. Dentre esses metabólitos estão os derivados de alcaloides, flavonoides e terpenoides¹²⁻¹⁴. No entanto, apesar da toxicidade dessas substâncias, alguns insetos desenvolvem adaptações que minimizam seus efeitos nocivos, garantindo sua sobrevivência¹⁴.

Estudos comparativos entre espécies cultivadas e selvagens mostraram que, em contraste com *G. max*, a soja selvagem *Glycine soja* Sieb. & Zucc pode adaptar-se mais facilmente a condições ambientais intensas^{15,16} e geralmente apresenta maior resistência a insetos e patógenos. Além disso, tem sido mostrado que variedades cultivadas apresentam resistência a diferentes insetos-pragas¹⁷⁻¹⁹. Isto provavelmente está associado às funções defensivas dos metabólitos acumulados em seus tecidos. Nesse contexto, identificar as substâncias envolvidas na resistência da soja representa um grande potencial para o desenvolvimento de variedades resistentes e novos alvos para o manejo de pragas agrícolas, favorecendo o desenvolvimento sustentável da agricultura e proteção ambiental^{12,20-24}.

1.1 – Características da soja

A soja é uma planta herbácea de ciclo anual, pertencente à família Fabaceae, gênero *Glycine* e subgênero *Soja*. Caracteriza-se pela reprodução autógama e apresenta variações em determinados traços morfológicos, influenciados pelas condições ambientais²⁵.

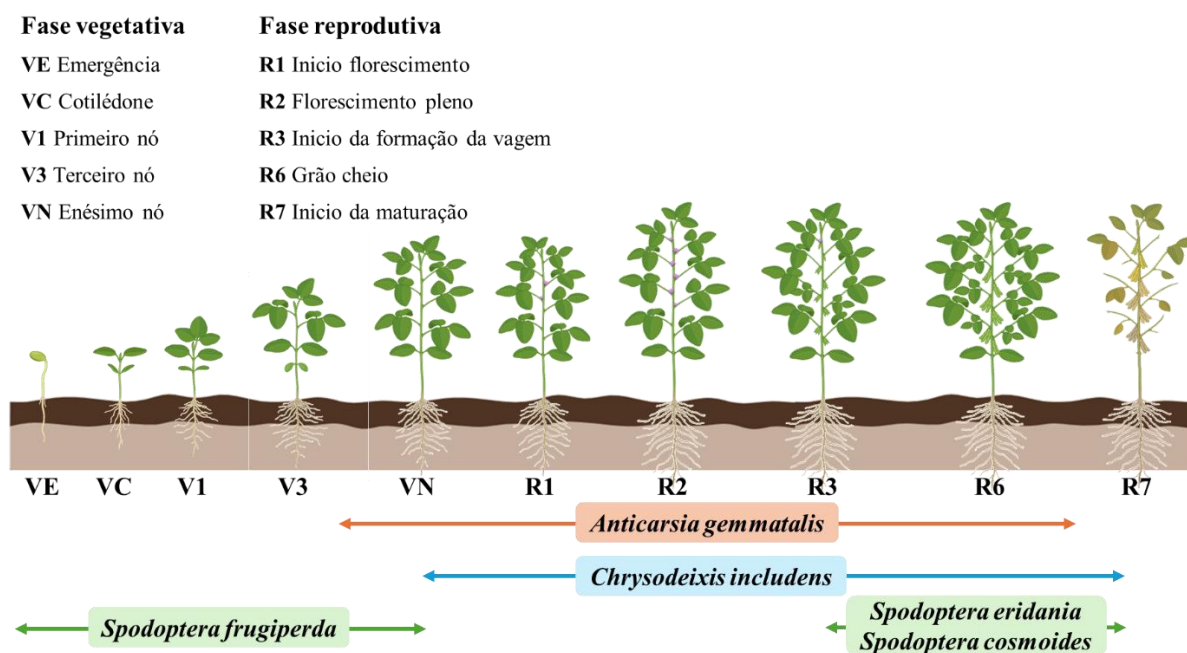
A soja apresenta três tipos de folhas ao longo de seu desenvolvimento. As cotiledonares são as primeiras a surgir, seguidas pelas folhas simples ou unifolioladas, que aparecem precocemente e se dispõem de forma oposta. Posteriormente, as folhas compostas ou trifolioladas se desenvolvem, organizando-se alternadamente na haste em padrão dístico, permanecendo até a senescência. Suas flores emergem em racemos terminais ou axilares e variam em coloração, podendo ser brancas, amarelas ou púrpuras, conforme a variedade. Os frutos são vagens achatadas e pubescentes, apresentando coloração cinza, amarela ou preta, enquanto as sementes exibem formatos arredondado, achatado ou alongado, com variação de tamanho e tonalidade²⁶⁻²⁸.

Para descrever os estágios fenológicos da soja, FEHR e CAVINESS^{29,30} estabeleceram uma metodologia que divide o ciclo da planta em duas fases principais. A fase vegetativa compreende desde a germinação e emergência até o início do florescimento, enquanto a fase reprodutiva tem início com a floração e se estende até a maturação fisiológica dos grãos (FIGURA 1.1).

1.2 - Domesticação da soja

A domesticação é considerada um processo de coevolução que ocorre quando seres humanos cultivam plantas selvagens, resultando na formação de novas espécies ou populações distintas que desempenham um papel fundamental na sobrevivência humana^{31,32}.

FIGURA 1.1 – Estágios fenológicos da soja e períodos de maior ocorrência de algumas pragas desfolhadoras na cultura. Adaptado de FEHR e CAVINESS³⁰. Criado com BioRender.com.

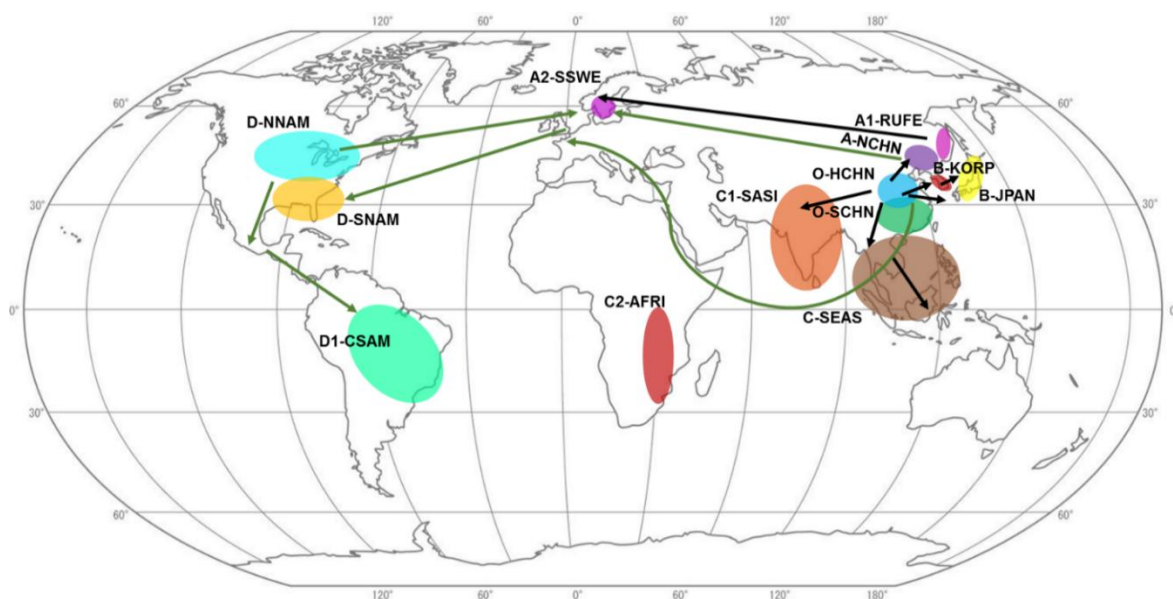


A soja cultivada (*G. max*) foi domesticada a partir de seu progenitor selvagem (*Glycine soja* Sieb. & Zucc.) há aproximadamente 6000-9000 anos em regiões ao longo do Rio Amarelo ou Vale de Huang-Huai na China Central. Logo, foi introduzida na Coreia e no Japão há cerca de 2000 anos, na América do Norte em 1765 e na América Central e do Sul ao longo da primeira metade do século XX^{33,34} (FIGURA 1.2).

A expansão da soja no Brasil teve início na região sul, sendo posteriormente introduzida em novas áreas de cultivo graças à adoção de tecnologias avançadas. Entre essas inovações, destacam-se o uso de sementes com qualidade fisiológica, genética e sanitária aprimorada, a implementação do sistema de semeadura direta, o desenvolvimento de cultivares adaptadas a latitudes mais baixas e a maior resistência da soja a pragas e doenças³⁵.

Desta maneira, a soja domesticada se dispersou por todo o mundo e múltiplas variedades de soja se adaptaram às diferentes regiões para cultivo em sistemas agrícolas obtendo plantas com alto desempenho que atendem às necessidades do ser humano^{36,37}.

FIGURA 1.2 – Caminhos de dispersão da soja desde o centro de origem para outras regiões do mundo. As setas indicam as direções da dispersão da soja. As setas verdes (→) mostram o caminho da domesticação da soja, do nordeste da China até América do Sul. Treze populações regionais são indicadas em elipses de cores diferentes. Adaptado de LIU et al.³⁸



A principal teoria aponta que a domesticação das culturas e a expansão simultânea da agricultura em escala global alteraram os ecossistemas e provocaram diversas consequências evolutivas nas plantas. Entre essas mudanças, destaca-se a redução da diversidade genética e, em certa medida, a diminuição da resistência a herbívoros em comparação com suas ancestrais selvagens³⁹⁻⁴¹. Além disso, há evidências de que as plantas domesticadas passam por transformações significativas em sua morfologia e fisiologia, fenômeno conhecido como síndrome da domesticação. Essas modificações incluem características físicas mais acentuadas, formas mais simples⁴², mudanças no perfil nutricional^{43,44} e defesas reduzidas^{32,45,46}.

No caso da soja, muitos atributos mudaram durante sua domesticação, por exemplo, sofreram um aumento na taxa fotossintética da folha, no tamanho da semente e o hábito de crescimento mudou de hastes entrelaçadas para hastes eretas⁴⁷. Além do anterior, algumas características foram perdidas, como redução substancial da diversidade genética e perda de resistência ao estresse^{16,23,34,48}.

No trabalho de GAO *et al*¹⁵ foi revelado através de comparações transcriptômicas que *Glycine soja* passou por uma evolução acelerada em todo seu genoma, o qual lhe permite adaptar-se e enfrentar diferentes condições e ambientes em comparação com *Glycine max*¹⁵. Foi relatado que devido à reprodução seletiva, as plantas domesticadas e selvagens regularmente diferem em suas características defensivas e conteúdo de nutrientes^{46,49-52}. HYEON *et al*⁵³ examinaram as variações metabólicas induzidas pela domesticação da soja preta e foi observado que a soja preta selvagem possuía quantidades maiores de flavonoides e fenilpropanoides, enquanto a soja preta cultivada apresentou altos níveis de aminoácidos, polissacarídeos e ácidos graxos.

Similarmente, D.-Y. YUN *et al*⁴ caracterizaram o metaboloma de três genótipos de soja em sementes e folhas e os resultados mostraram que a expressão dos metabólitos primários e secundários foram diferentes nas sementes e folhas, assim como entre os genótipos de soja. Por exemplo, foram observados diferentes glicosídeos de kaempferol nas folhas, mas não nas sementes e os níveis de derivados de quercetina e epicatequina foram menores na soja domesticada.

Também foi encontrado que as plantas cultivadas apresentam uma redução importante nos compostos defensivos^{54,55}. No trabalho de Fernandez *et al*⁵⁶ foi usada uma abordagem meta-analítica para estudar se a suscetibilidade aos herbívoros de diferentes culturas é principalmente impulsionada por uma redução nas defesas da planta e/ou um aumento na qualidade nutricional. Os resultados confirmaram maior herbivoria e níveis mais baixos de defesas nas plantas domesticadas em contraste com as parentes selvagens.

Em contraposição, alguns estudos têm indicado que as plantas cultivadas podem se defender melhor do ataque de herbívoros comparadas com suas parentes selvagens. Por exemplo, GARVEY et al⁵⁷. mostraram que a domesticação de *Capsicum annuum* L., 1753 (a pimenta malagueta) não afetou as defesas contra o inseto *Manduca sexta* (Linnaeus, 1763), mas melhorou a atração volátil para recrutar inimigos naturais. Por sua parte PAUDEL et al¹⁹. observaram uma maior indutibilidade de produtos químicos defensivos, tricomas e voláteis induzidos por herbívoros em uma variedade de tomate cultivada em comparação com a variedade selvagem. Estes resultados mostram que não todas as culturas diminuíram seus traços de resistência quando domesticadas.

SHLICHTA et al⁵⁸. analisaram as concentrações de glicosídeos cianogênicos em variedades cultivadas e silvestres de feijão-lima, observando sua influência na preferência e no desempenho de herbívoros. As folhas das plantas cultivadas continham mais desses compostos do que as silvestres, enquanto as sementes apresentavam concentrações significativamente menores. Lagartas de *Spodoptera exigua* (Hübner, 1808) preferiram folhas selvagens, mas sobreviveram melhor nas cultivadas. Os besouros demonstraram preferência pelas sementes de plantas cultivadas, onde as fêmeas se desenvolveram mais rapidamente. Os resultados indicam que a seleção artificial afeta a resistência dos insetos de maneira diferenciada nos tecidos vegetais consumidos por humanos.

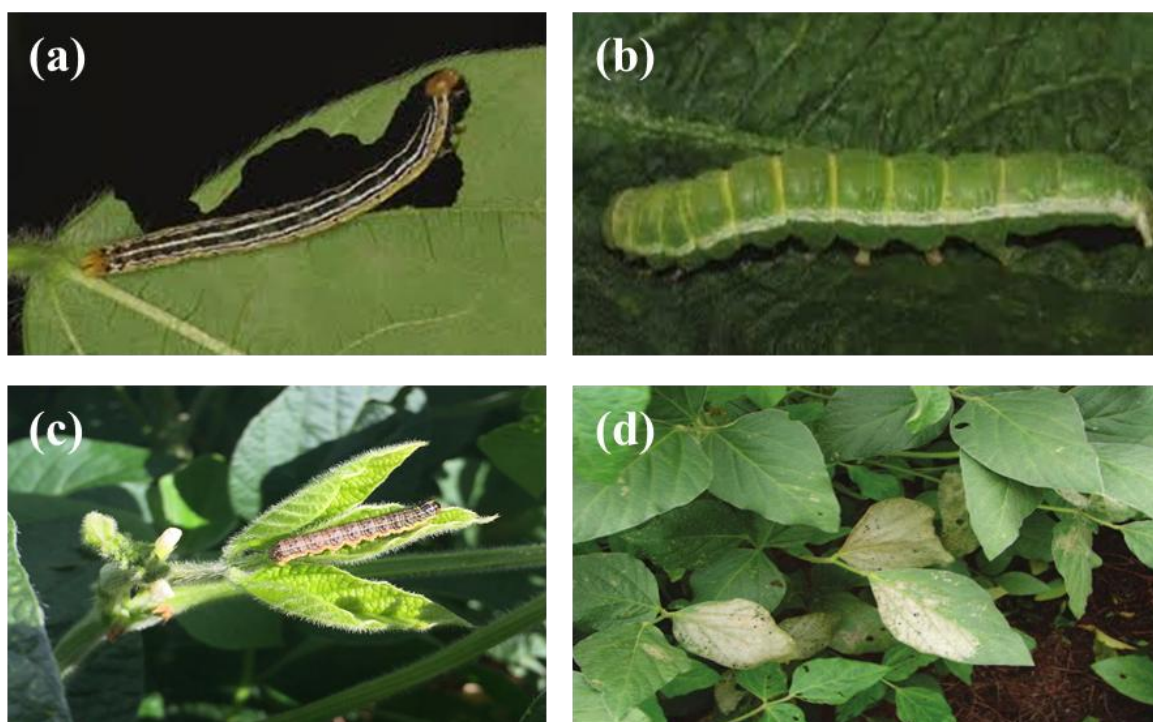
Além do anteriormente exposto, a soja selvagem tem sido empregada para encontrar traços de resistência ao pulgão da soja (*Aphis glycines* Matsumura) e à lagarta *Spodoptera litura* Fabricius, 1775 que são consideradas pragas da soja com resistência a alguns inseticidas^{59,60}. Deste modo, tem sido evidenciado que *Glycine soja* possui recursos genéticos que podem ser importantes para o desenvolvimento de variedades resistentes a pragas e ao estresse ambiental⁷.

1.3 - Pragas que atacam as folhas da soja

Ao longo de seu desenvolvimento, a soja é alvo de diversas pragas que podem comprometer sua produtividade (FIGURA 1.1). Entre as principais, destacam-se a lagarta-da-soja (*Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818), a lagarta falsa-medideira (*Chrysodeixis includens* Walker, 1858), a lagarta-das-maçãs (*Heliothis virescens* Fabricius, 1777) e diversas espécies do gênero *Spodoptera*, como *S. frugiperda* Smith, 1797, *S. cosmioides* Walker, 1858 e *S. eridania* Stoll, 1782.

A lagarta-da-soja é considerada uma das pragas desfolhadoras mais prejudiciais no Brasil, podendo causar a completa desfolha das plantas caso não seja controlada. Já a lagarta falsa-medideira, a lagarta-das-maçãs e as lagartas do gênero *Spodoptera* apresentam um amplo espectro de alimentação, atacando folhas, flores, vagens e até os grãos da soja, o que as torna pragas de grande impacto na cultura^{12,61–64} (FIGURA 1.3).

FIGURA 1.3 – Lagartas nas formas verde (a) e escura (b) de *Anticarsia gemmatalis*, lagarta de *Spodoptera frugiperda* (c); e sintoma da injúria causada na folha de soja (d). Adaptado de MOSCARDI et al.⁶⁵



A espécie *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) é uma das pragas mais destrutivas e economicamente importantes do milho no Brasil. Esta praga tem a capacidade de atacar diferentes plantas hospedeiras, embora tenha preferência por espécies pertencentes às gramíneas durante seu estágio larval⁶⁶⁻⁶⁸. Esta lagarta tem hábito noturno, preferência em consumir folhas novas, e regularmente sua densidade limita-se a um inseto por planta, devido a seu comportamento canibalístico. Ao final da fase larval, as lagartas penetram no chão, onde se tornam pupas. Fêmeas adultas são capazes de colocar cerca de 100 ovos sobre uma mesma folha.

No caso do milho, as lagartas primeiro colonizam a planta no decorrer do estágio de espiral vegetativa, se abrigoando e se alimentando de folhas jovens. No algodão, as lagartas de *S. frugiperda* (SF) iniciam se alimentando da parte inferior da folha, logo se movem para os quadros e flores, e então vão para a parte inferior dentro da cobertura vegetal para se alimentar das cápsulas antes da reprodução⁶⁹.

Na cultura da soja, SF é considerada uma praga secundária, não obstante pode causar danos equivalentes ou até maiores que *A. gemmatilis*. Este inseto possui a capacidade de se alimentar de estágios muito jovens da planta o que intensifica a perda da área fotossintética, aumentando os prejuízos econômicos. No início, SF consegue-se alimentar das folhas, e posteriormente consome as vagens conforme a planta entra nos estágios reprodutivos^{69,70}.

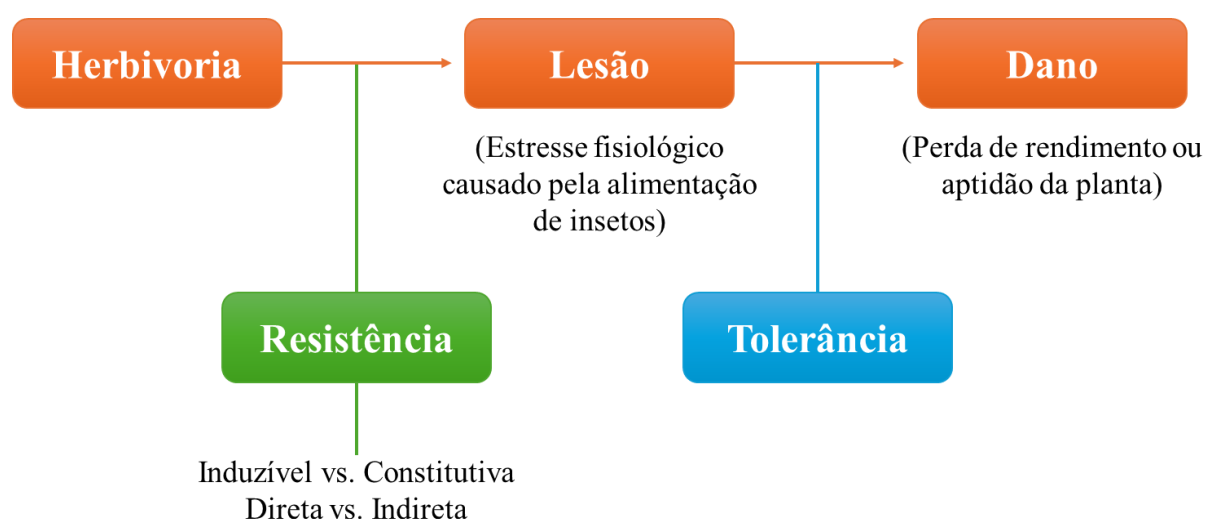
1.4 – Estratégias de defesa das plantas contra herbívoros

As plantas são atacadas por uma variedade de organismos, dentre os quais podem ser destacados patógenos e herbívoros. O estresse causado por esses organismos sobre o desenvolvimento das plantas levou-as a desenvolver variadas estratégias defensivas⁷¹. Por um lado, as plantas podem minimizar o dano que recebem, através de mecanismos de resistência, ou podem compensar os efeitos da herbivoria, demonstrando tolerância ao impacto causado pelos herbívoros¹¹.

Os mecanismos de resistência, podem ser classificados em defesas constitutivas ou induzidas e diretas ou indiretas⁷² (ver FIGURA 1.4). As defesas constitutivas estão sempre presentes independentemente do estresse causado, enquanto as defesas induzíveis são ativadas após o ataque do herbívoro⁷³. Estudos indicam que algumas defesas constitutivas podem ser intensificadas durante o processo de herbivoria^{74,75}. No entanto, as defesas induzidas desempenham um papel essencial na resistência da planta hospedeira, pois apresentam menor custo metabólico e maior especificidade contra pragas^{68,76}.

As defesas diretas correspondem a características que atuam diretamente sobre o organismo agressor. Exemplos incluem a presença de cera na superfície foliar, espinhos, tricomas, o aumento da espessura e lignificação da parede celular, além de deposições minerais. Também fazem parte desse grupo os metabólitos secundários, proteínas antinutricionais e enzimas que comprometem o crescimento e desenvolvimento dos consumidores. Em contraste, as defesas indiretas favorecem a atuação de inimigos naturais por meio da liberação de compostos voláteis, diminuindo assim a herbivoria^{13,77–80}.

FIGURA 1.4 – Categorias de defesa das plantas contra herbívoros. Adaptado de STOUT.⁷²



1.5 – Respostas de defesa das plantas sob estresse biótico

As plantas podem se proteger contra seus atacantes por meio da formação de barreiras físicas ou da produção de compostos bioativos especializados. Esses compostos podem ser induzíveis e parte da defesa constitutiva, atuando de forma repelente, antinutritiva ou tóxica para os herbívoros^{14,80}.

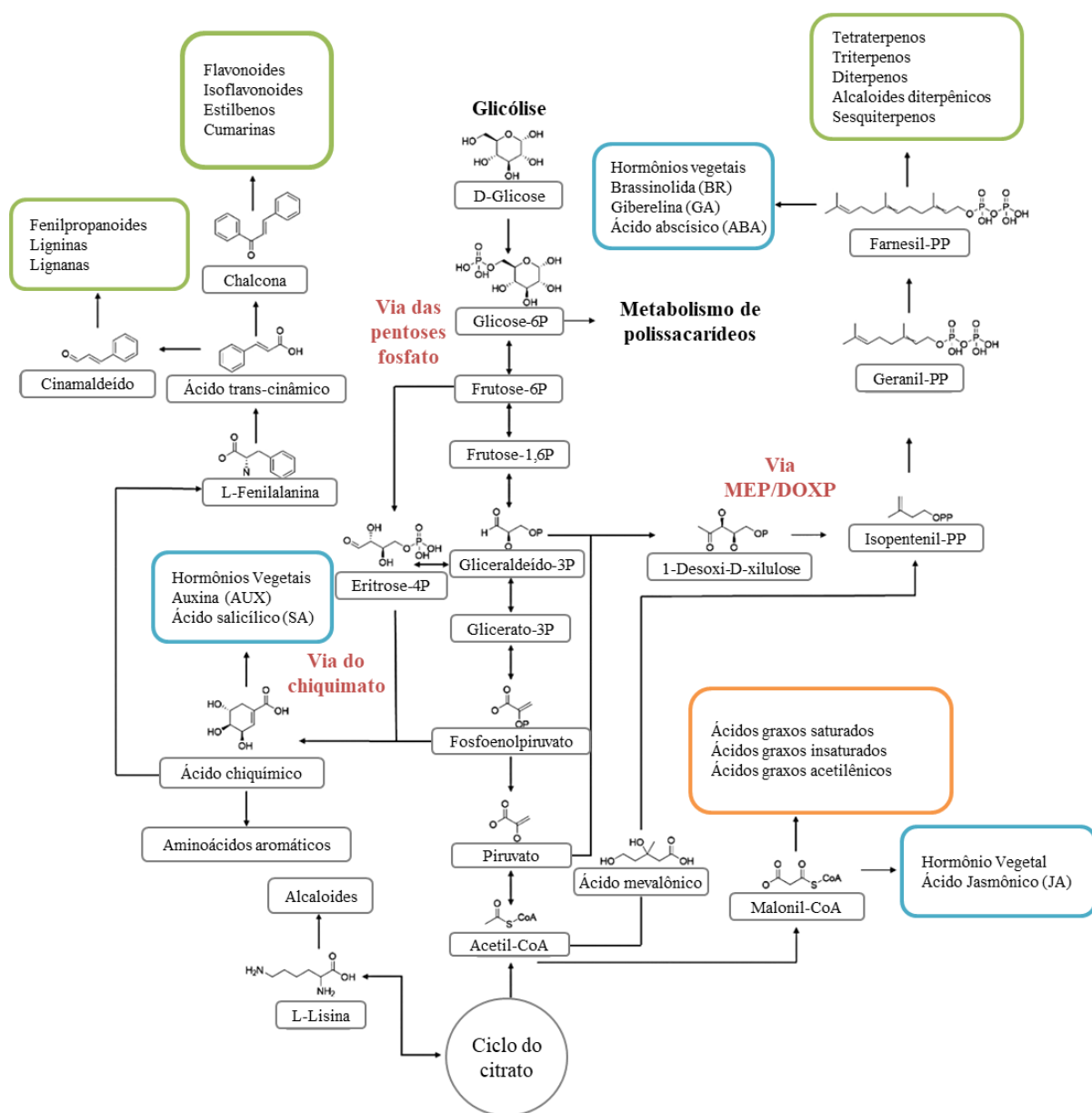
A reação de uma planta aos danos causados por herbívoros envolve tanto a resposta às lesões quanto o reconhecimento de moléculas específicas provenientes dos insetos, como componentes da secreção oral e do fluido de oviposição. Essas moléculas ativam vias de sinalização que desencadeiam mecanismos de defesa, resultando na produção de diversas substâncias, incluindo proteínas antinutricionais, que dificultam a digestão do material vegetal pelos insetos^{14,81}. Estas respostas defensivas são cuidadosamente moduladas para otimizar o uso de recursos e ajustar as cascatas de sinalização.

Após o dano provocado por insetos mastigadores, a resposta da planta é modulada por uma rede de fitormônios, cujas interações sinérgicas e antagônicas regulam a expressão gênica e a produção de metabólitos protetores. Esses fitormônios atuam como sinais para a ativação de mecanismos de defesa tanto locais quanto sistêmicos na planta. Entre os principais sinais de feridas intracelulares encontrados, destacam-se os fitormônios ácido jasmônico (JA), ácido salicílico (SA) e etileno. A via JA é ativada por ferimentos e pela alimentação de insetos. O etileno, por sua vez, age em sinergia com JA, diminuindo os níveis de compostos de defesa constitutivos e estimulando a produção de JA e voláteis^{14,82}.

Além da ativação de mecanismos de defesa física e química induzidos pela herbivoria, diversas modificações ocorrem no metabolismo primário das plantas em resposta ao ataque de insetos. Estas respostas são sustentadas por três vias metabólicas principais: o ciclo do ácido cítrico, a via do chiquimato e a via do mevalonato (FIFURA 1.5). Os metabólitos produzidos ao

longo dessas vias formam parte do metaboloma da planta, abrangendo tanto o metabolismo primário, responsável pela síntese de carboidratos, aminoácidos e lipídios, quanto o metabolismo secundário¹⁰.

FIGURA 1.5 – Via de biossíntese do metabolismo primário e secundário em plantas sob estresse biótico. A cor das caixas representa a classe de compostos: verde (metabólitos secundários), laranja (metabólitos primários) e azul (hormônios vegetais). As principais vias metabólicas estão sublinhadas em vermelho. Adaptado de SILVA et al.¹⁰



Os ataques de insetos frequentemente provocam a redistribuição de metabólitos primários, tanto já presentes quanto recém-assimilados, entre os tecidos afetados e os sistêmicos. O deslocamento desses compostos para o local do ataque pode servir para fortalecer as defesas da planta ou ser resultado da manipulação metabólica pelos insetos. Por outro lado, o fluxo de metabólitos para longe das áreas de alimentação pode atuar como um mecanismo de defesa, privando os herbívoros de nutrientes, preservando recursos para o crescimento posterior da planta ou estimulando a associação com micróbios benéficos do solo como uma resposta de defesa indireta⁸³.

Por exemplo, NABITY et al.⁸⁴ investigou a resposta da fotossíntese à indução de defesas relacionadas ao ácido jasmônico (JA) por herbívoros em *Nicotiana attenuata* Steud. Os resultados mostraram que o ataque de herbívoros causou uma supressão sustentada nas trocas gasosas e na fotossíntese em plantas selvagens, acompanhada pelo aumento dos metabólitos de defesa. Em contraste, plantas sem defesas induzidas por JA apresentaram menor supressão fotossintética e não aumentaram a produção de metabólitos de defesa. O anterior sugere um aumento na demanda energética da planta em resposta ao estresse.

De forma similar, as respostas ao estresse de *Brassica nigra* (L.) W. D. J. Koch foram analisadas após exposição sucessiva ao ozônio (O₃) e ao herbívoro especialista *Pieris brassicae* (Linnaeus, 1758). Os efeitos do O₃ mostraram semelhanças com os processos de senescência e deficiência de fosfato. Já a transição de exposição ao O₃ para herbivoria desencadeou mecanismos de defesa típicos da planta, incluindo redução do metabolismo central, ativação das vias do ácido jasmônico e etileno, além da emissão de compostos voláteis⁸⁵.

A via metabólica dos aminoácidos é parte integrante do sistema imunológico das plantas. LI et al.⁸⁶ analisaram como plantas de chá (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze, 1887) redistribuem nitrogênio para fortalecer sua defesa contra *Ectropis obliqua* Prout, 1915. A herbivoria foliar provocou mudanças diferenciadas nos metabólitos defensivos e no metabolismo de compostos

nitrogenados entre respostas locais e sistêmicas. A forte relação entre o metabolismo de aminoácidos e a ativação das defesas secundárias sugere que a realocação de nitrogênio pode ser crucial para aumentar a resistência da planta ao ataque.

Por sua parte, KANOBE et al.⁸⁷ mostraram que a infestação por pulgões em plantas de soja parece suprimir as defesas vegetais ao inibir respostas reguladas pelo JA, possivelmente através de um "sequestro metabólico". O ataque de *Aphis glycines* reduziu os níveis de ácidos graxos poli-insaturados, como o ácido linolênico, precursor do JA, enquanto levou ao aumento do ácido palmítico nas folhas e dos ácidos esteárico e oleico nas sementes. Além disso, foi levantada a hipótese de que os pulgões interferem na via de dessaturação de ácidos graxos, possivelmente diminuindo a atividade das enzimas FAD2 e FAD6, o que pode comprometer a produção de metabólitos essenciais à defesa da planta.

O metabolismo secundário das plantas está fortemente envolvido nas respostas de defesa das plantas contra fatores bióticos. Os metabólitos secundários são fundamentais para a sobrevivência das plantas, auxiliando na defesa contra microrganismos, herbívoros e radiação UV, além de contribuírem para a atração de polinizadores e sinalização⁸⁸. Podem ser divididos em três grupos principais: fenólicos (como flavonoides), compostos nitrogenados (como alcaloides) e terpenoides⁸⁰. Sua biossíntese ocorre a partir de diversas vias metabólicas primárias, incluindo glicólise, ciclo do ácido tricarboxílico, via das pentoses fosfato, via do chiquimato e metabolismo de aminoácidos aromáticos⁸⁸.

KOLLNER et al.⁸⁹ investigaram o padrão de emissão de sesquiterpenos em folhas de milho danificadas por herbívoros. Os resultados mostraram um aumento nas concentrações de JA e seu derivado de leucina nos tecidos emissores sugerindo a participação dos jasmonatos na propagação do sinal de dano. Foi notado que a produção de sesquiterpenos no milho ocorreu apenas no local do ferimento e nas regiões distais da folha. Este mecanismo pode facilitar a localização de presas por inimigos naturais dos herbívoros em plantas de milho.

A braquicerina, um alcaloide indólico monoterpeneo característico dos brotos de *Psychotria brachyceras*, apresenta regulação em resposta a ferimentos ou à aplicação de jasmonato. As maiores concentrações desse composto são observadas nas inflorescências, o que sugere um possível papel na defesa da planta. Foi verificado que danos às folhas promovem um aumento localizado na concentração do alcaloide. Os resultados indicam que a braquicerina não age diretamente como um mecanismo de resistência contra herbívoros, mas desempenha uma função de defesa química indireta ao regular o estresse oxidativo associado a danos mecânicos⁹⁰.

1.6 – Respostas de defesa da soja contra herbivoria

No decorrer do tempo, a soja tem criado diversos mecanismos de defesa em consequência do ataque de diferentes tipos de pragas, como a produção de inibidores de protease (IP) e metabólitos secundários de defesa contra insetos herbívoros⁹¹.

Os IP, são geralmente concentrados em tecidos de armazenamento como uma defesa contra herbívoros, no entanto, sua aplicação torna-se eficaz quando é sintetizado em resposta a feridas⁹². PAIXÃO et al.⁹³ estudaram as respostas bioquímicas de lagartas de *Anticarsia gemmatilis* ao se alimentarem de uma variedade de soja resistente. Os resultados mostraram que agentes que elevam os IP produzidos pela planta podem alterar a capacidade dos insetos para digerir proteínas. No entanto, sabe-se que esta lagarta é capaz de se adaptar aos IP naturais de sua planta hospedeira e ao inibidor sintético da tripsina benzamidina, como mostrado por MOREIRA et al.⁹⁴.

FELTON et al.⁹⁵ mostraram que as plantas produzem espécies reativas de oxigênio como mecanismo de defesa contra herbívoros e patógenos. Essas alterações oxidativas podem intensificar a atividade de enzimas como lipoxigenase, peroxidase e polifenoloxidase. A lipoxigenase, presente em leguminosas como soja e feijão vermelho, tem sido associada à resistência de

ácidos na soja, correlacionando-se com o aumento da peroxidação lipídica e a redução de carotenóides devido à ação dessa enzima⁹⁵.

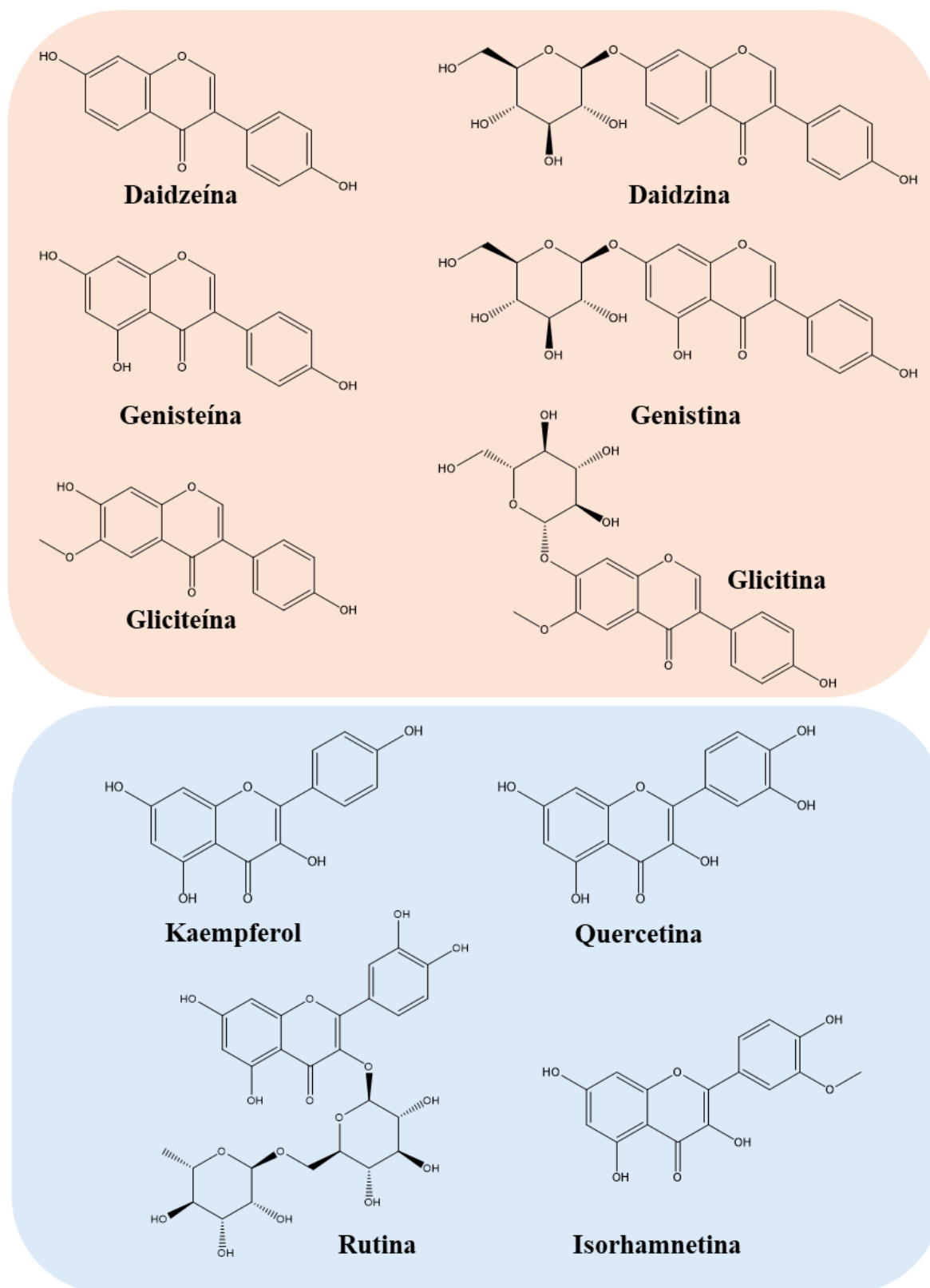
Dentre os metabólitos secundários, os flavonoides são os compostos mais estudados na soja. Estas substâncias estão presentes em concentrações variadas em diferentes partes da soja e desempenham funções como regulação do estresse oxidativo, participação em sinalizações hormonais, proteção contra a radiação UV e íons metálicos e defesa contra patógenos e insetos⁹⁶⁻⁹⁸.

Na soja, os flavonoides mais abundantes são os conjugados das isoflavonas daidzeína, genisteína e gliciteína (prevalecendo nas suas formas glicosiladas, daidzina, genistina, glicitina e suas formas malonilglicosiladas) e os flavonóis kaempferol, quercetina e isorhamnetina, junto com seus derivados glicosídeos (FIGURA 1.6)^{22,96,98,99}.

Trabalhos anteriores de nosso grupo de pesquisa mostraram que, além dos flavonoides já mencionados a soja apresenta também outros derivados como isoflavonas metiladas (aformosina e formononetina) e preniladas (4-prenilcoumestrol)¹⁰⁰. Também foi observado que os flavonoides apresentam dinâmica de alocação diferente, isto é, as isoflavonas são alocadas preferencialmente nas folhas velhas e nos primeiros estágios de vida, enquanto os flavonóis se acumulam majoritariamente nas folhas jovens de plantas adultas^{98,100,101}. Adicionalmente, foi evidenciado que folhas de diferentes idades possuem diferenças em sua composição e que as abundâncias desses compostos diferem de acordo com o genótipo, sendo observados níveis maiores na soja selvagem¹⁰¹.

Foi verificado também que o uso de flavonoides individuais em dietas artificiais afeta o desenvolvimento e comportamento de herbívoros. No trabalho de HOFFMANN-CAMPO *et al.*²⁴ foi avaliado o efeito da rutina (quercetina 3-O-rutinosídeo) contida em uma dieta artificial no comportamento e nutrição de *Anticarsia gemmatilis* e os resultados mostraram que este flavonol provocou uma diminuição no peso e consumo de dieta pelas lagartas.

FIGURA 1.6 – Flavonóis (azul) e isoflavonas (laranja) presentes nas folhas de soja



A resistência da soja contra o ataque de herbívoros está relacionada à concentração de flavonoides em seus tecidos. Estudos indicam que compostos como rutina, genistina, genisteína, apigenina e kaempferol desempenham um papel fundamental na defesa contra insetos como *Anticarsia gemmatilis*¹⁷, *Piezodorus guildinii*¹⁰² e *Acyrtosiphon pisum* Harris, 1776. Além disso, a herbivoria pode induzir a produção de substâncias fenólicas, afetando negativamente o desenvolvimento de SF¹⁸.

A produção de flavonoides nas plantas varia conforme o tipo de herbivoria. O besouro-japonês (*Popillia japonica* Newman, 1841) induz maior concentração de flavonóis, enquanto a lagarta *Vanessa cardui* Linnaeus, 1758 aumenta os níveis de genisteína. Já o pulgão *A. glycines* não provoca alterações na composição de flavonoides nas folhas de soja¹⁰³. Além disso, SF apresenta desempenho semelhante em cultivares de soja com diferentes níveis de resistência, enquanto o tripses *Caliothrips phaseoli* Hood, 1912 prefere e se desenvolve mais rapidamente em uma variedade específica, possivelmente devido a diferenças nas defesas induzidas e constitutivas¹⁰⁴.

Vários estudos têm demonstrado que voláteis de plantas induzidos por herbívoros agem indiretamente sobre herbívoros atraindo seus inimigos naturais. Por exemplo, foi visto que a herbivoria por *A. gemmatilis* em plantas de soja aumentou a emissão de vários compostos orgânicos voláteis (COV). Os bioensaios mostraram que *Podisus nigrispinus* Dallas, 1851 discriminou significativamente apenas entre os odores de plantas não danificadas e danificadas da linhagem não transgênica¹⁰⁵.

De forma similar, STRAPASSON et al.¹⁰⁶ analisaram a emissão de COV pela soja transgênica e convencional em resposta à lagarta-medideira *Chrysodeixis includens*. Ambos os tipos de soja produziram COV, com maiores emissões em plantas transgênicas. As fêmeas de *Meteorus rubens* Nees, 1811 preferiram os odores de plantas transgênicas atacadas. Estes resultados sugerem

que as interações tritróficas mediadas por COV neste sistema modelo não são afetadas negativamente.

1.7 – A metabolômica aplicada ao estudo do estresse biótico em plantas

A metabolômica é a análise abrangente de todos os metabólitos em um sistema biológico. Fornece uma avaliação qualitativa e quantitativa de analitos de baixo peso molecular que definem o estado metabólico de um sistema biológico. A maioria dos experimentos em metabolômica de plantas são realizados utilizando uma combinação de ferramentas analíticas de separação e detecção, conhecidas como abordagens hifenadas ou acopladas^{107,108}.

A cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (UHPLC-q-TOF-MS/MS) tornou-se uma técnica amplamente utilizada em metabolômica devido à sua alta robustez, sensibilidade e seletividade, permitindo a identificação precisa e a quantificação de metabólitos em baixas concentrações. Sua versatilidade possibilita a análise de diversos compostos, como fenólicos, alcaloides e lipídios. De modo geral, os estudos metabolômicos se classificam em duas abordagens: os estudos alvo (do inglês, *targeted*), que investigam metabólitos ou grupos específicos em resposta a um determinado estímulo, e os estudos não-alvo (do inglês, *untargeted*), que analisam de forma abrangente o conjunto completo de metabólitos presentes no sistema biológico^{107–109}.

Avanços tecnológicos recentes têm impulsionado o uso da metabolômica em pesquisas de ecologia química, permitindo a análise de mediadores químicos essenciais, mesmo em concentrações reduzidas e em sistemas biológicos complexos, como as plantas. Sua aplicação tem aprimorado a compreensão do estresse biótico em diversas culturas alimentares, incluindo soja, milho, arroz, cevada e outros grãos^{10,110}.

Considerando essas informações, propomos a hipótese de que as variações nos níveis de resistência entre os genótipos de soja estão associadas à diversidade do perfil metabólico presente em seus tecidos. Além disso, sugerimos que o cultivo e a seleção artificial voltados para o aumento da produtividade das culturas de soja podem ter reduzido suas defesas contra determinados herbívoros. O conhecimento gerado a partir dessas comparações contribuirá para aprimorar a compreensão da ecologia evolutiva das interações entre insetos e plantas na soja, auxiliando na identificação de características potenciais de resistência para um controle mais eficiente dos insetos.

2 – OBJETIVOS

Este trabalho pretende investigar a resistência de genótipos de soja frente a herbivoria de *S. frugiperda*, comparando-as entre 4 genótipos cultivados de soja (*G. max*) e 1 genótipo selvagem (*G. soja*), a fim de estudar os efeitos da domesticação da soja nessas defesas.

Para isso, são propostos os seguintes objetivos específicos:

- ✓ Avaliar o crescimento e o desenvolvimento de lagartas de *S. frugiperda* por meio de bioensaios de alimentação com folhas de quatro genótipos cultivados de soja e um genótipo selvagem;
- ✓ Determinar a preferência alimentar de lagartas de *S. frugiperda* por folhas de quatro genótipos cultivados de soja e um genótipo selvagem;
- ✓ Avaliar o impacto da desfolha causada por *S. frugiperda* na aptidão das plantas (produção de sementes) de quatro genótipos cultivados de soja e um genótipo selvagem;
- ✓ Examinar as diferenças nutricionais entre quatro genótipos cultivados de soja e um genótipo selvagem antes e após a injúria causada por *S. frugiperda*;
- ✓ Analisar as variações no perfil metabólico das folhas de soja antes e após a injúria causada por *S. frugiperda*, considerando quatro genótipos cultivados de soja e um genótipo selvagem;
- ✓ Comparar as mudanças (qualitativas e quantitativas) no perfil metabólico das folhas-alvo (injurizadas) e sistêmicas (jovens e velhas) após a indução por *S. frugiperda* nos diferentes genótipos.

3 - PARTE EXPERIMENTAL

3.1 - Obtenção das plantas e insetos

As cultivares BRS 257, IAC PL-1, IAC 100 (com hábito de crescimento determinado e de ciclo precoce) e PI 229358 (com hábito de crescimento indeterminado e ciclo normal), classificadas como convencionais, da espécie *Glycine max*, e PI 407270, pertencente à espécie *Glycine soja* (soja selvagem), foram obtidas por meio do Banco Ativo de Germoplasma (BAG) da Embrapa Soja, localizado em Londrina-PR.

As sementes de cada variedade foram selecionadas e submetidas simultaneamente ao processo de germinação, em um substrato composto por terra vegetal, areia grossa e vermiculita, na proporção de 1:1:1. Após a germinação, as plântulas foram cuidadosamente transplantadas para vasos plásticos N° 02 (1 L) e N° 04 (4,5 L), contendo um substrato formado por areia grossa, terra vegetal Mogifertil (composta por turfa, serragem de madeira e bagaço de cana) e esterco de gado Mogifertil (constituído por esterco de gado, bagaço de cana, turfa e serragem de madeira), misturados na proporção de 1:2:1.

As plantas foram cultivadas em casa de vegetação, no Departamento de Botânica da UFSCar, sob um telado transparente, para protegê-las contra agentes externos e a infestação de pragas. A irrigação foi realizada a cada dois dias, garantindo quantidades semelhantes de água entre os vasos e os dias, a fim de evitar estresse hídrico até o momento da coleta. Embora os genótipos PI 229358 e PI 407270 apresentem hábito de crescimento indeterminado, o tempo de desenvolvimento entre os genótipos ocorreu de forma sincronizada. Os experimentos foram conduzidos entre janeiro e março dos anos de 2022, 2023 e 2024.

Os ovos de SF foram obtidos comercialmente da empresa Pragas.com (Piracicaba – SP). As lagartas foram mantidas em dieta artificial à base de farinha de feijão branco¹¹¹ em incubadora do tipo BOD a $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$,

umidade relativa de $60 \pm 10\%$ e fotoperíodo de 12h até a realização dos experimentos.

3.2 - Ensaio de resistência de genótipos de soja à *S. frugiperda* (SF)

3.2.1 - Teste de escolha livre

Para a realização do teste de escolha livre, as plantas foram cultivadas conforme descrito no item 3.1, e o experimento foi conduzido seguindo a metodologia proposta por SARDINHA DE SOUZA et al.¹¹², com algumas modificações. Discos foliares de 1,5 cm de diâmetro foram excisados da primeira folha trifoliolada (ver FIGURA 3.1a) das variedades testadas (estágio de desenvolvimento V3, de acordo com a classificação de FEHR e CAVINESS³⁰) e dispostos em placas de Petri de 9 cm de diâmetro. Em cada placa de Petri, cinco discos foliares correspondentes a cada genótipo foram posicionados de forma equidistante entre si.

Posteriormente, lagartas de SF de terceiro instar foram liberadas no centro das placas. Doze horas após a sua liberação, as folhas que sofreram herbivoria foram fotografadas (antes e após desse período). A câmera foi posicionada em um tripé comum, voltada para baixo, a 30 cm da mesa. Acima do papel foi colocada uma régua para estabelecer a equivalência entre pixel e centímetros. As imagens foram analisadas por meio do programa de processamento digital de imagem *ImageJ*, para determinar a área foliar consumida (cm²) no período de 12 horas¹⁸. O experimento foi conduzido com 30 réplicas, avaliando-se se havia preferência ou não-preferência significativa das lagartas por folhas específicas, de acordo com o genótipo.

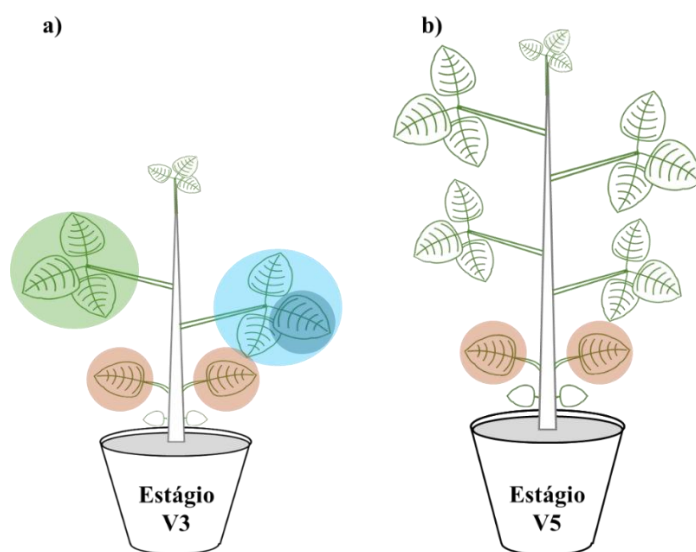
3.2.2 – Ensaio de desenvolvimento da fase larval

A possível toxicidade das variedades foi determinada pelo aumento do peso úmido das lagartas durante o período de tratamento, calculado como a diferença entre o peso final e o peso inicial (peso ganho no 9º dia). O experimento

foi conduzido seguindo a metodologia proposta por SARDINHA DE SOUZA et al.¹¹², com algumas modificações. Para isso, um único folíolo correspondente às folhas trifolioladas do estágio de desenvolvimento V3³⁰ (FIGURA 3.1a) foi colocado em uma placa de Petri de 9 cm de diâmetro, com o pecíolo enrolado em algodão úmido para evitar o ressecamento da folha. Posteriormente, o folíolo foi oferecido a uma lagarta de SF de terceiro instar e substituído diariamente.

As lagartas foram pesadas diariamente até entrarem na fase de pré-pupa, considerada quando cessam a alimentação e apresentam enrugamento do tegumento. As medições foram realizadas em uma balança analítica de precisão, tanto para as lagartas quanto para as pupas, estas últimas com 48 horas de idade. A mortalidade das lagartas foi registrada ao longo do experimento. Diariamente, foram retirados os excrementos das lagartas das placas, além da umectação ou substituição do algodão para evitar o ressecamento. A duração da fase larval (em dias) foi registrada, assim como a massa foliar consumida durante esse período. Foram conduzidos cinco tratamentos, cada um com 24 réplicas.

FIGURA 3.1 – Esquema da planta de soja nos estágios de desenvolvimento: **a)** V3 e **b)** V5. As folhas coloridas indicam aquelas utilizadas nos experimentos. Laranja: folhas unifolioladas e/ou velhas; azul: primeira folha trifoliolada e/ou folha local; verde: segunda folha trifoliolada e/ou jovem.



3.2.3 – Teste de tolerância

Para estimar a capacidade das plantas de reduzir os efeitos negativos na aptidão pela injúria de lagartas de SF, inicialmente, as plantas foram cultivadas na casa de vegetação, conforme mencionado no item 3.1. Quando os genótipos alcançaram o estágio de desenvolvimento V5³⁰ (FIGURA 3.1b), as plantas foram transferidas para o laboratório e mantidas sob iluminação artificial composta por LEDs até a conclusão dos experimentos.

O experimento foi conduzido com base na metodologia proposta por BOEGE et al¹¹³, com algumas modificações. Para sua realização, uma lagarta de SF de quarto instar foi colocada na folha unifoliada de cada genótipo de soja. As plantas foram cobertas com sacos de tule para impedir que as lagartas escapassem, permitindo que as lagartas se alimentassem livremente de qualquer folha da planta. As lagartas foram retiradas antes de consumir o 50% da área foliar, aproximadamente 3 dias depois. O grupo controle também recebeu o mesmo tratamento, porém, sem a inclusão das lagartas.

Após esse período, as lagartas foram removidas e mantidas em casa de vegetação até sua reprodução. Para avaliar o impacto da desfolha na aptidão das plantas, foi quantificado o número de sementes produzidas em cada tratamento. A tolerância das plantas foi estimada por meio da vulnerabilidade dos genótipos estudados à desfolha por SF através da quantificação do número e peso (g) de sementes produzidas pelas plantas em cada tratamento (diferenças na aptidão medida pela produção de sementes entre plantas danificadas e não danificadas). Considerando cinco genótipos, dois tratamentos (grupo controle e com injúria) e cinco réplicas biológicas, no total foram utilizadas 50 plantas.

3.3 – Análise nutricional de genótipos de soja

Para fornecer informações detalhadas sobre possíveis mecanismos químicos subjacentes à resistência dos genótipos de soja, conforme observado nos bioensaios, plantas dos genótipos estudados foram cultivadas para a coleta de folhas destinadas à análise de nutrientes.

Para a realização da análise nutricional dos genótipos de soja, inicialmente, as plantas foram cultivadas, e os experimentos foram conduzidos conforme descrito no item 3.2.3. Após a conclusão do experimento, as plantas foram mantidas no laboratório por 24 horas. Transcorrido esse período, as folhas foram coletadas (sem caule e sem pecíolo), lavadas três vezes com água deionizada e secadas à temperatura ambiente. Em seguida, foram embaladas em sacos de papel individuais devidamente rotulados e secas em estufa com circulação de ar a 40°C, durante 72 horas.

Considerando cinco genótipos, dois tratamentos (grupo controle e com injúria) e o número de réplicas biológicas, foram utilizadas, ao todo, 252 plantas, resultando em 70 amostras. Na TABELA 3.1, apresenta-se um resumo do experimento.

TABELA 3.1 – Resumo do experimento de injúria por *S. frugiperda* para a análise nutricional de genótipos de soja.

	Cultivares	Selvagem
Tratamento (Indução e controle)	2	2
Réplicas biológicas	7 (2 plantas por réplica)	7 (10 plantas por réplica)
Variedades	4	1
Número de plantas	112	140
Número de lagartas	56	70

Após a secagem, as amostras foram trituradas com moinho analítico (IKA A11) e, em seguida peneiradas a 80 mesh, de modo a atingir um tamanho de partícula inferior a 0,25 mm. Logo, foram tomadas alíquotas de 1 mg para a

determinação de carbono, nitrogênio e enxofre por meio de análises elementares CHNS. Os macronutrientes carbono (C) e nitrogênio (N) foram quantificados por meio de um Analisador Elementar EA1108 – Fisons, na Central Analítica do Departamento de Química da Universidade Federal de São Carlos, em São Carlos, estado de São Paulo, Brasil.

Para as amostras restantes, foram tomadas alíquotas de 250 mg, às quais foi adicionado dióxido de titânio (TiO₂) na concentração de 5% em peso como padrão interno. Finalmente, a mistura foi homogeneizada e prensada a 3 tons, resultando em pastilhas de 250 a 300 mg, que foram armazenadas sob refrigeração em sacos plásticos até a respectiva análise. Esta parte foi realizada com base na metodologia proposta por BORDUCHI et al¹¹⁴, com algumas modificações.

Assim, os conteúdos dos macronutrientes cálcio (Ca), magnésio (Mg), potássio (K) e fósforo (P), bem como dos micronutrientes, boro (B), cobre (Cu), ferro (Fe), manganês (Mn) e zinco (Zn), foram determinados por espectroscopia de ruptura induzida por laser (LIBS) no laboratório de óptica e fotônica da Embrapa Instrumentação, em São Carlos, estado de São Paulo, Brasil. Na TABELA 3.2, apresenta-se os parâmetros do sistema utilizados para a realização das leituras.

TABELA 3.2 – Parâmetros utilizados na realização das análises de Ca, Mg, K, P, B, Cu, Fe, Mn e Zn por espectroscopia de ruptura induzida por laser (LIBS).

Parâmetros do Sistema	Real	LabView
Delay entre pulsos	0.10 µs	550n
Delay Espectrometro	0.1 µs	-299.4u
Número de pulsos	10	
Gain	2500	
Gate Width	20 µs	

3.4 – Análise de Dados

A fim de comparar as médias entre grupos, foi realizada uma Análise de Variância (ANOVA) de fator único, seguida pelo teste post-hoc de Tukey, quando a normalidade da distribuição dos dados e as suposições de homogeneidade de variância foram confirmadas. Caso essas suposições fossem violadas, mesmo após a transformação dos dados, utilizou-se o teste de Kruskal–Wallis. Antes da análise, os testes de Shapiro–Wilk e Levene foram empregados para verificar, respectivamente, a normalidade da distribuição dos dados e a homogeneidade de variância.

3.5 – Indução de compostos por *S. frugiperda* (SF)

Para a realização dos experimentos de indução de compostos por SF, as plantas foram cultivadas conforme descrito no item 3.1. Lagartas de SF de quarto a quinto ínstar foram colocadas individualmente na primeira folha trifoliada de plantas de soja no estágio de desenvolvimento V3 (ver FIGURA 3.1a). Os folíolos foram cobertos com sacos de organza para impedir que as lagartas mudassem de folhas durante o experimento, e as lagartas foram retiradas antes que fosse consumido 50% da área foliar (aproximadamente 6 horas). Para esta parte do experimento as plantas foram mantidas no laboratório sob condições controladas.

Depois de retirar as lagartas, as plantas foram mantidas no laboratório durante 24 horas até a coleta das amostras. Após as 24 horas de experimento, as folhas que sofreram herbivoria (folha local), as folhas sistêmicas (folhas velhas e jovens das plantas) e as folhas das plantas controle (sem herbivoria), foram coletadas e congeladas rapidamente com nitrogênio líquido para sua extração (ver FIGURA 3.1 (a)).

A escolha dos tecidos foliares e estágios para indução foi baseada em trabalhos realizados anteriormente no grupo de pesquisa, onde foi observada uma alocação diferencial de flavonoides da soja entre folhas jovens e velhas, em plantas de diferentes estágios de desenvolvimento e entre distintos genótipos^{100,101}. Os resultados do conteúdo e das alterações metabólicas antes e após indução complementarão o entendimento sobre as diferentes estratégias empregadas pela planta para resistir ao estresse biótico.

3.5.1 – Coleta e extração das amostras

O procedimento para a coleta e extração do material vegetal foi feito da seguinte maneira: primeiro as folhas foram cortadas, pesadas e imediatamente congeladas em nitrogênio líquido, sendo posteriormente mantidas em ultrafreezer a -80°C até a etapa de extração. Considerando cinco genótipos, dois tratamentos (grupo controle e o injuriado por SF), a coleta de três tipos de folhas (locais e sistêmicas de cada planta) e cinco réplicas por grupo (N = 5), obteve-se um total de 150 amostras.

Para a extração, as amostras congeladas foram transferidas para tubos Falcon de 50 mL contendo o solvente extrator metanol grau HPLC-UV (lote I1196807209, marca Supelco - Sigma Aldrich) e água ultrapura do sistema MilliparkR Express 40 (0,22µm, lote F1NB56187 da Milli-Q) na proporção 1:1 (v/v). O volume da mistura dos solventes foi normalizado de acordo com a massa de cada amostra, mantendo uma concentração de 0.0596 g/mL. Em seguida, as amostras foram homogeneizadas com um Ultra Turrax (IKA-T10 B S32) à temperatura ambiente. As suspensões resultantes foram centrifugadas a 10000 rpm por 20 min a 4°C, e os sobrenadantes foram filtrados através de filtros de seringa de PVDF com diâmetro de 13 mm e poro de 0,22 µm, sendo posteriormente transferidos para *vials* para análise por UHPLC-q-TOF-MS/MS.

Com o objetivo de verificar a presença de possíveis interferentes na análise química subsequente, foram elaborados dois brancos: um do solvente e outro do processo de extração. O primeiro corresponde à composição do solvente de extração, enquanto o segundo refere-se ao processo completo de extração, submetido a todas as etapas metodológicas, porém sem a inclusão do material vegetal

3.5.2 – Análises cromatográficas e espectrométricas

Os extratos obtidos após a filtração foram diluídos na proporção de 1:1 com metanol grau HPLC-UV (lote I1196807209, marca Supelco - Sigma Aldrich) e analisados em um Sistema UHPLC Agilent 1290 Infinity II acoplado a um espectrômetro de massas (Impact HD QTOF™ mass spectrometer, Bruker Daltonics, Bremen, Germany) com analisador de tempo de voo quadrupolo (QTOF) e com uma fonte de ionização por eletrospray (ESI) operando somente no modo positivo de ionização (ESI+). As condições cromatográficas e espectrométricas foram otimizadas de acordo com parâmetros previamente utilizados em trabalhos desenvolvidos no grupo de pesquisa.

Para a separação dos compostos orgânicos, foi utilizada uma coluna SB-C18 Rapid Resolution HD (2,1 x 100 mm; 1,8µm), da Agilent, mantida a 30 °C, com um volume de injeção de 2 µL e um fluxo de 0.4 mL/min. A fase móvel foi composta por água ultrapura do sistema MilliparkR Express 40 (0,22 µm, lote F1NB56187), como solvente A, e acetonitrila grau LC (lote JA120730, marca Supelco - Sigma Aldrich), como solvente B, ambos contendo 0,1% (v/v) de ácido fórmico (> 98%), reagente ACS da Sigma- Aldrich (lote STBH3710).

O gradiente foi programado da seguinte forma: 0 - 1 min, 10% B; 1 - 8 min, 10% - 20% B; 8 - 12 min, 20% - 40% B; 12 - 14 min, 40% - 80% B; 14 - 16 min, 80% - 100% B; de 16 - 18 min, foi utilizado 100% B para a limpeza; e de 18,10 - 20 min, 10% B para retornar às condições iniciais. As condições do espectrômetro de massas foram definidas da seguinte forma: tensão capilar: 4000

V; deslocamento da placa terminal: -450 V; gás nebulizador: 4,0 bar; vazão do gás de secagem: 8,0 L/min; temperatura do gás de secagem: 180 °C; faixa do MS (varredura completa): 50–1300 Da.

Para a análise no modo MS/MS, foi empregada a aquisição dependente de dados (DDA). As condições do espectrômetro de massas foram definidas da seguinte forma: funil RF 1: 250,0 Vpp; energia do quadrupolo: 5,0 eV; armazenamento pré-pulso: 6,0 µs; radiofrequência (RF) de colisão: 550,0Vpp e tempo de transferência de íons: 90,0 µs.

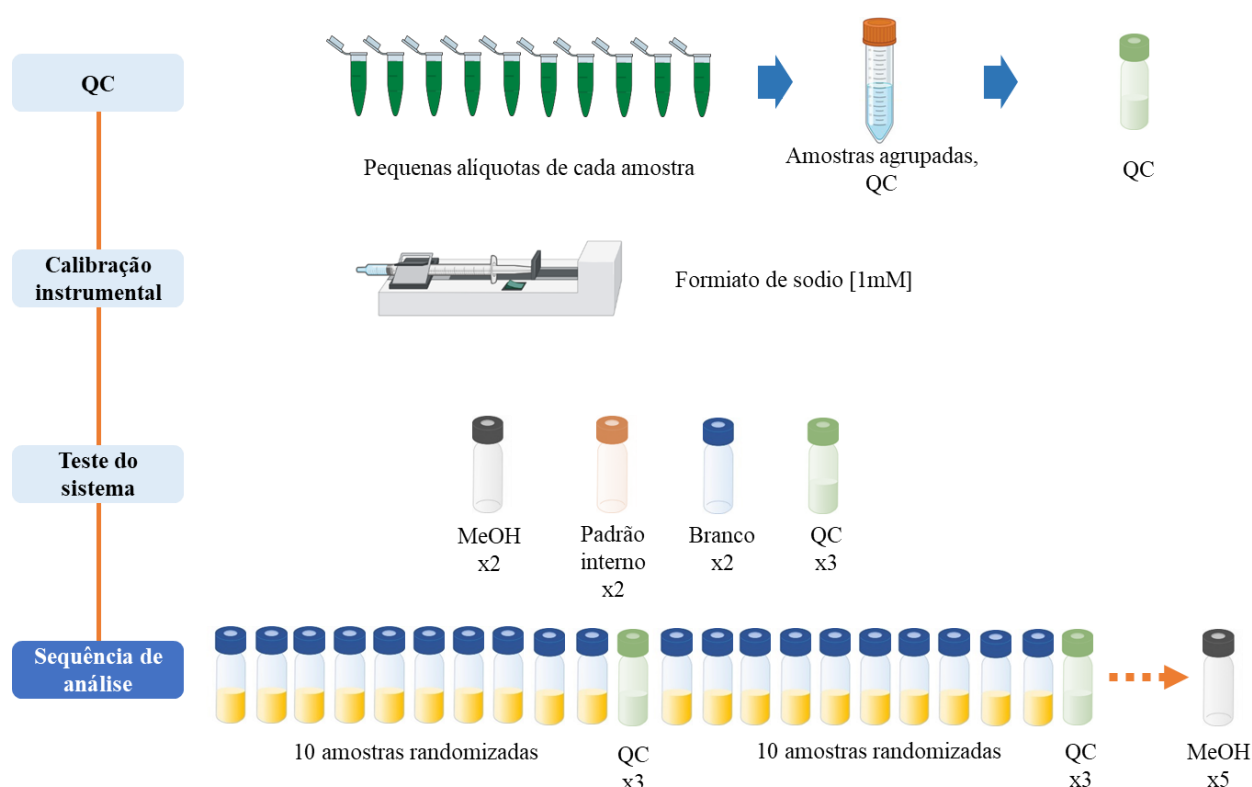
A calibração do espectrômetro de massas foi realizada externamente antes do lote de injeção. Para isso, utilizou-se uma solução de formiato de sódio a 1 mM preparada em acetonitrila/água (9:1, v/v). As massas teóricas dos íons de calibração no modo de ionização positiva foram: 158,964069; 226,951493; 294,938917; 362,926341; 430,913765; 498,901189; 566,888613; 634,876037; e 702,863461, correspondendo às espécies $\text{Na}(\text{NaCOOH})^n+$, com n variando de 2 a 10.

Adicionalmente, foi conduzido um teste preliminar do sistema UHPLC-q-TOF-MS/MS, envolvendo a injeção duplicada de metanol e de uma solução padrão contendo 120 ng/mL de acetato de L-leucina-encefalina anidro (BACHEM, lote 1064605), com fórmula molecular $\text{C}_{28}\text{H}_{37}\text{N}_5\text{O}_7$ e massa exata 556,2765 Da. Em sequência, foram realizadas duas injeções do branco da extração das amostras e três injeções de uma amostra de controle de qualidade (QC). A amostra correspondente ao QC foi preparada por meio da adição de 20 µL de cada amostra vegetal coletada (150 amostras, incluindo as replicatas biológicas) em um tubo Eppendorf de 5 mL, obtendo-se um volume total de 4 mL.

Por fim, a sequência de análise foi definida, consistindo na inserção de 10 amostras de forma aleatória, seguidas do QC por três vezes, até que todas as amostras fossem analisadas. A solução de calibração foi injetada ao final de cada corrida analítica (no tempo de 16 a 20 min, sem prejudicar a identificação dos analitos), e todos os espectros foram recalibrados internamente utilizando o

modelo de regressão quadrática de calibração de alta precisão (HPC) antes do pré-processamento dos dados. Os espectros foram calibrados usando o *software* ProfileAnalysis 2.0 (Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha) (ver FIGURA 3.2).

FIGURA 3.2 – Esquema ilustrando as etapas preparatórias anteriores à inserção da sequência de análise por UHPLC-q-TOF-MS/MS. Padrão interno: acetato de leucina-encefalina anidro [120 ng/ml]; MeOH: metanol; QC: controle de qualidade. *Criado com BioRender.com.*



3.5.3 – Processamento e análise de dados

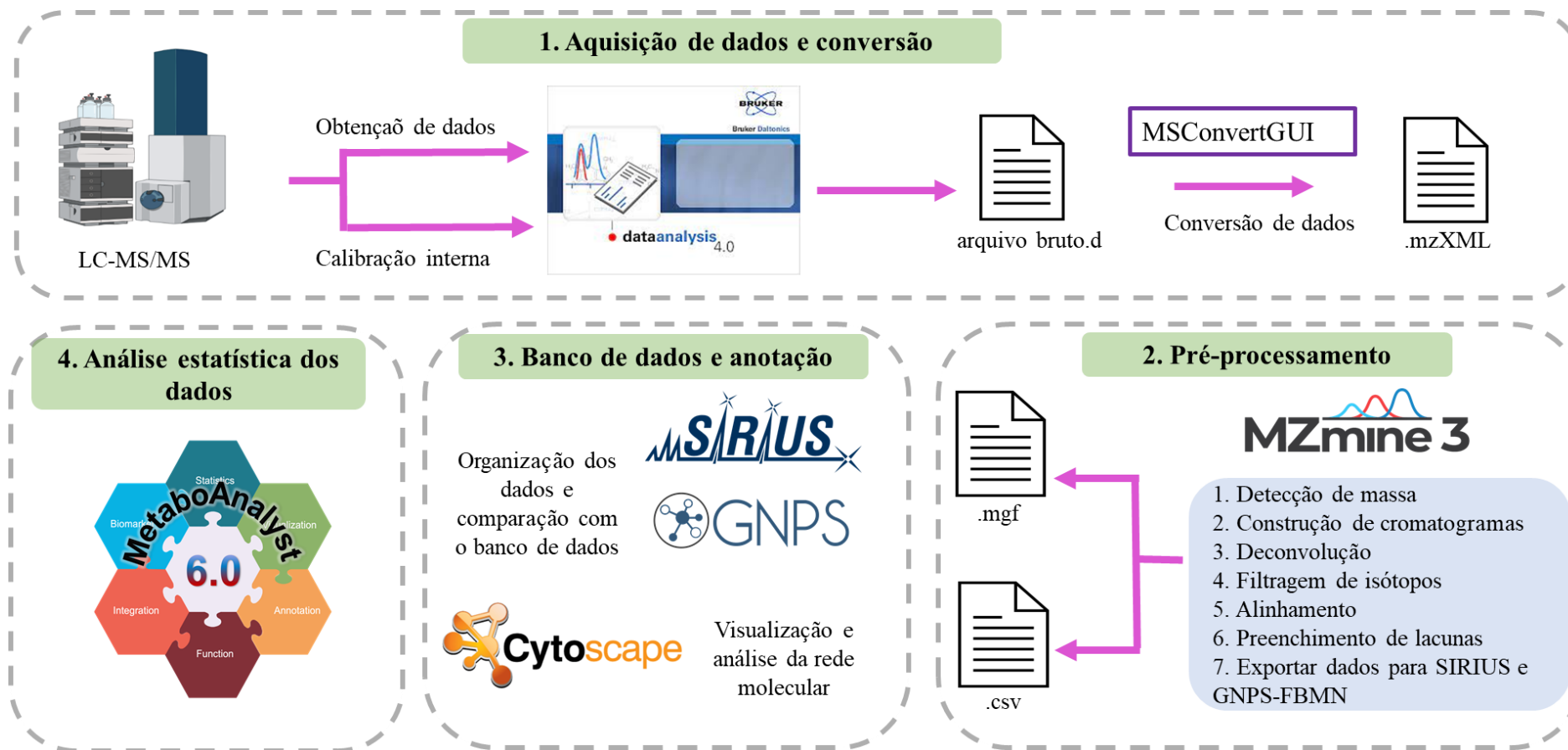
Os arquivos de dados brutos (formato “d” nativo do instrumento) foram convertidos para o formato “mzXML” no programa MSConvertGUI para seu pré-processamento no software MZmine 3. Na TABELA A.1, são apresentados os parâmetros utilizados durante a etapa de pré-processamento dos arquivos mzXML no software MZmine 3, versão 3.9.0.

Finalmente, os dados pré-processados foram exportados como arquivo “.mgf” e submetidos à plataforma GNPS (Global Natural Products Social Molecular Networking) para a montagem da rede molecular. A rede molecular gerada foi importada e analisada no software Cytoscape®. As anotações dos íons e as comparações com os bancos de dados (por exemplo, Lipid, PlantCyc, ChEBI, KNApSACk, PubChem, COCONUT, GNPS, HMDB, KEGG, PubMed e Natural Products) foram realizadas por meio do software de código aberto SIRIUS, que utiliza ferramentas de fragmentação *in silico*. Por fim, para a análise estatística dos dados, utilizamos a plataforma web Metaboanalyst.

A matriz de dados resultante foi exportada como um arquivo “.csv”, convertido para “.txt” e importada em Metaboanalyst (versão 6.0). Recursos com pelo menos 25% de desvio padrão relativo (RSD) dos QCs foram removidos. Análises multivariadas (PCA, Heatmaps e PLS-DA) foram aplicadas para verificar tendências, as pontuações VIP indicaram recursos significativos para separação de grupos, enquanto o gráfico de *volcano* e ANOVA ($p \leq 0,05$) mostraram quais dos recursos eram estatisticamente significativos. A partir do modelo PLS-DA, foi realizada uma validação cruzada para avaliar os valores de R^2 (coeficiente de determinação) e Q^2 (coeficiente de predição cruzada), e um teste de permutação foi realizado (2000 permutações).

Todas as etapas para a análise metabolômica estão simplificadas na FIGURA 3.3.

FIGURA 3.3 – Esquema ilustrando as etapas de processamento e análise de dados metabolômicos não direcionados por UHPLC-q-TOF-MS/MS.



4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 – Resistência de genótipos de soja à *S. frugiperda* (SF)

Para determinar a resistência dos genótipos de soja estudados, foram avaliados diferentes parâmetros que incluem: área foliar consumida (teste com chance de escolha), duração do estágio larval, taxa de mortalidade larval, peso ganho no 9º dia, consumo alimentar até 9º dia (teste sem escolha) e peso úmido de pupas. No que se refere à tolerância de genótipos de soja à herbivoria de SF, esta categoria foi estimada por meio da vulnerabilidade dos genótipos estudados à desfolha por SF através da quantificação do número de sementes produzidas pelas plantas em cada tratamento (diferenças na aptidão medida pela produção de sementes entre plantas danificadas e não danificadas).

No experimento de alimentação com chance de escolha para lagartas de quarto instar de SF, não foram observadas diferenças significativas na área foliar consumida entre os genótipos analisados. O consumo variou entre 4,32 e 13,19 cm² (FIGURA 4.1). A duração média do estágio larval de SF foi significativamente maior quando os insetos comeram folhas das cultivares IAC 100 (21.4 dias), PI 229358 (17.8 dias) e BRS 257 (16.1 dias), enquanto IAC PL-1 (14.2 dias) e PI 407270 (14.3 dias) resultaram em períodos mais curtos de desenvolvimento larval (FIGURA 4.2).

A cultivar IAC 100 se destacou por apresentar uma maior taxa de mortalidade em contraste com os outros genótipos (54.2%). BRS 257 e PI 407270 apresentaram as taxas de mortalidade mais baixas (4.2% e 8.3%), seguidas por IAC PL-1 e PI 229358 (12.5% e 16.7%, respectivamente). Lagartas alimentadas com IAC 100 e PI 229358 mostraram menor peso ganho no 9º dia (95.81 mg e 135.89, respectivamente), enquanto o peso ganho no 9º dia foi maior em IAC PL-1 (304.19 mg) e PI 407270 (246.25 mg) (FIGURA 4.3).

FIGURA 4.1 – Área foliar consumida (média $\pm$ erro padrão) em teste com chance de escolha para lagartas de quarto instar (L4) de *S. frugiperda*, em relação a cinco genótipos de soja. Não há diferença significativa entre as áreas foliares consumidas (teste de Kruskal-Wallis; estatística de teste = 5,34371; $p = 0,253813$).

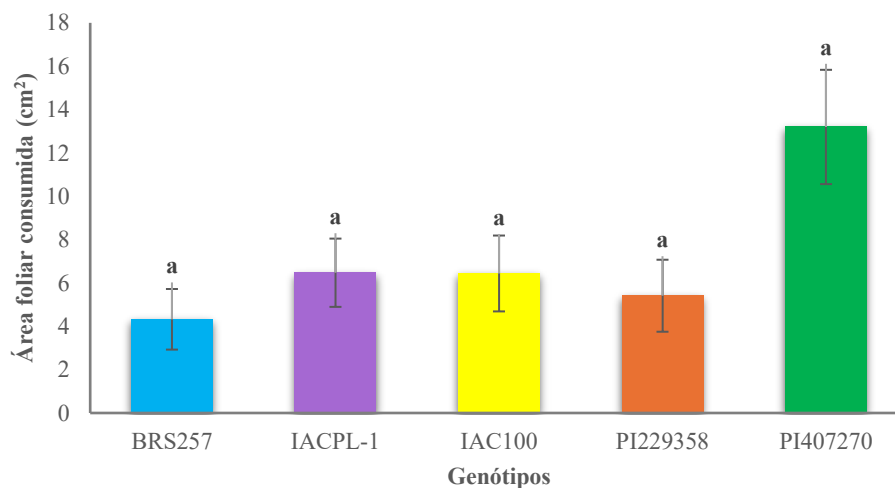


FIGURA 4.2 – Duração do estágio larval (média $\pm$ erro padrão) de *S. frugiperda* quando alimentada com diferentes genótipos de soja. Barras com letras distintas diferem significativamente (teste de Kruskal-Wallis; estatística de teste = 58,2405; $p = 6,79368E-12$).

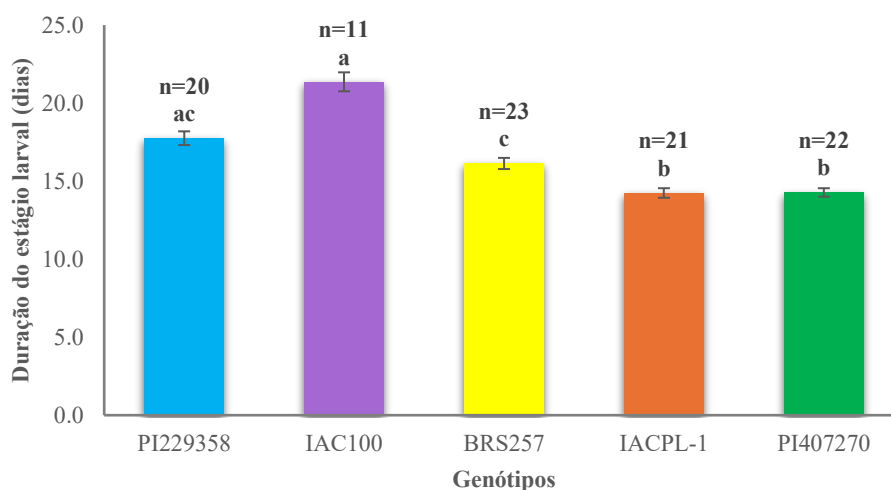
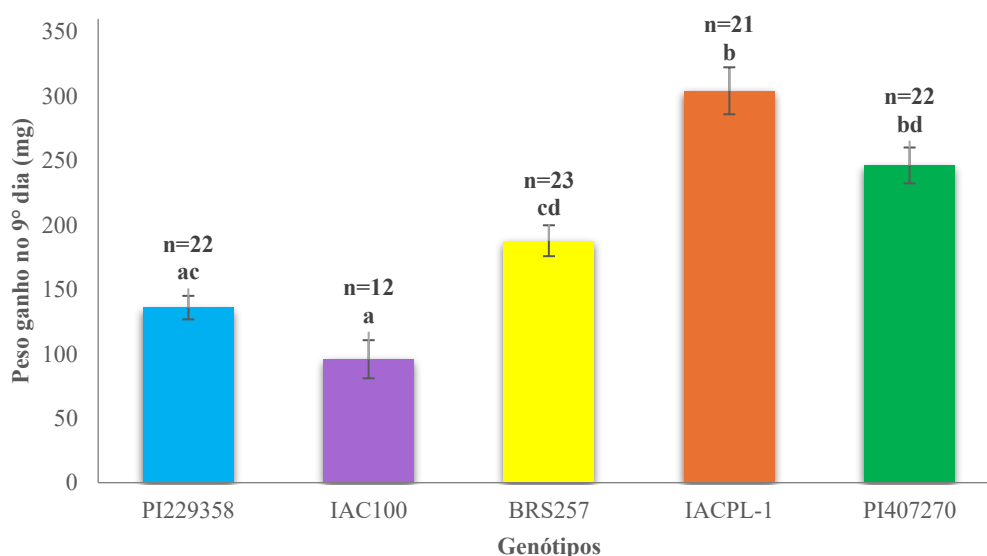


FIGURA 4.3 – Peso ganho no 9º dia (média $\pm$ erro padrão) por lagartas de *S. frugiperda* desenvolvidas em diferentes genótipos de soja. Barras com letras distintas diferem significativamente (teste de Kruskal-Wallis; estatística de teste = 58,5465; $p = 5,85942E-12$).



Em relação a massa foliar consumida até o 9º dia, foi observado que o consumo alimentar foi menor em IAC 100 (758.82 mg) e PI 229358 (974.47 mg), enquanto IAC PL-1 (1938.35 mg) e PI 407270 (1512.54 mg) foram as mais consumidas (FIGURA 4.4). O peso úmido médio de pupas de SF foi maior para PI 407270 (186.49 mg) e diferia dos genótipos PI 229358 (140.21 mg), IAC 100 (137.00 mg) e BRS 257 (152.18 mg) (FIGURA 4.5).

Os resultados mostraram que, em condições constitutivas, PI 407270 (15,8 e 0,41g) apresenta uma produção média mais baixa de sementes, em contraste com as cultivares IAC 100 (49,6 e 6,83g) e IAC PL-1 (39,6 e 9,00g), que mostraram uma maior produção de sementes, tanto em número quanto em peso. Também foi observado que os danos causados pela desfolha de SF reduziram o número (de 49,6 para 26) e o peso (de 6,83g para 3,86g) de sementes produzidas pela variedade IAC 100, em comparação com o grupo controle (não injuriado). Isto sugere, que a cultivar IAC 100 foi menos tolerante à desfolha por lagartas de SF, em contraste com os demais genótipos (FIGURA 4.6 e 4.7).

FIGURA 4.4 – Massa foliar consumida até o 9º dia (média $\pm$ erro padrão) por lagartas de *S. frugiperda* alimentadas com diferentes genótipos de soja. Barras com letras distintas diferem significativamente (teste de Kruskal-Wallis; estatística de teste = 61,56095; $p = 1,36269\text{E-}12$).

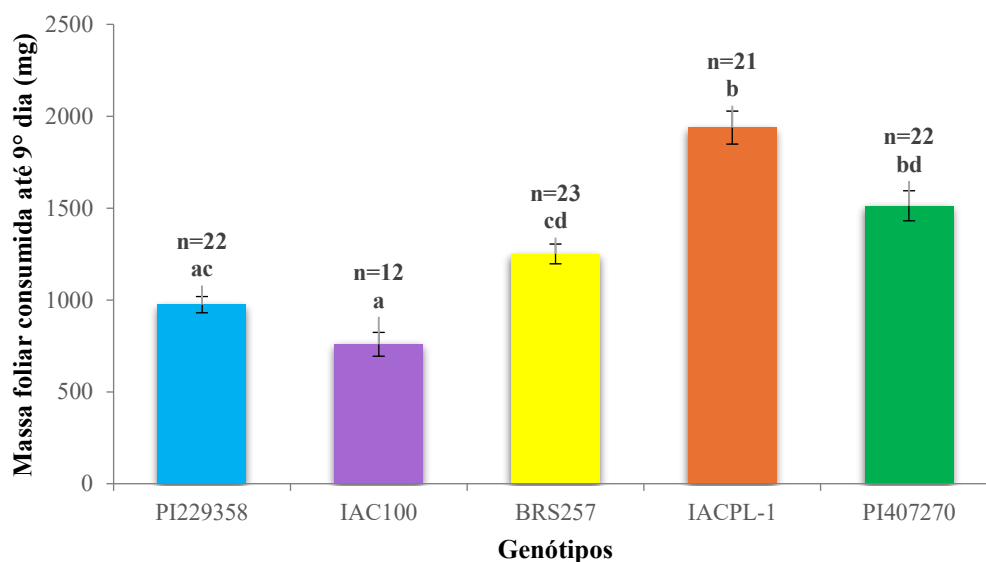


FIGURA 4.5 – Peso úmido (média $\pm$ erro padrão) de pupas de *S. frugiperda* desenvolvidas em diferentes genótipos de soja. Barras com letras distintas diferem significativamente (teste de Kruskal-Wallis; estatística de teste = 24,3572; $p = 6,77285\text{E-}05$).

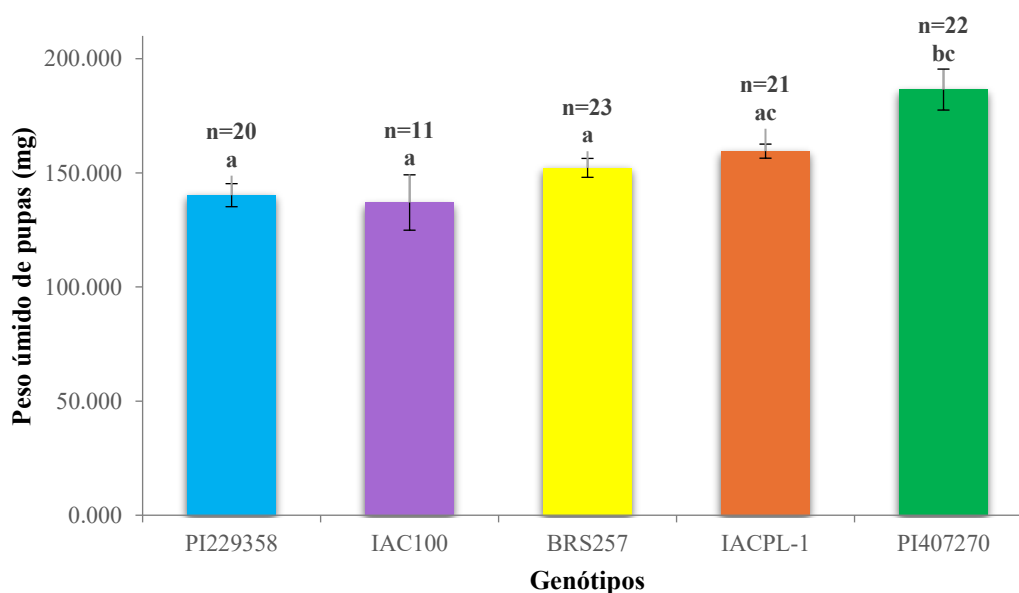


FIGURA 4.6 – Número de sementes produzidas em genótipos de soja (média $\pm$ erro padrão) com e sem desfolha causada por lagartas de *S. frugiperda*. As barras verdes com letras distintas indicam diferenças significativas (ANOVA, um fator; $F = 11.97$; $p < 0,05$; procedimento de diferença honestamente significativa (HSD) de Tukey, $p < 0,05$). As barras azuis com "*" e "ns" indicam, respectivamente, diferenças significativas (Teste t, $p < 0,05$) e ausência de diferenças significativas entre o grupo controle e o grupo induzido para o mesmo genótipo.

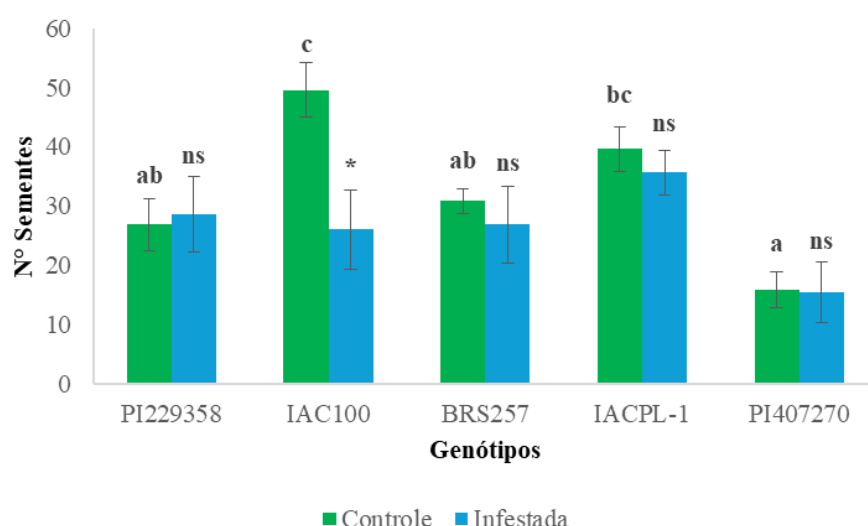
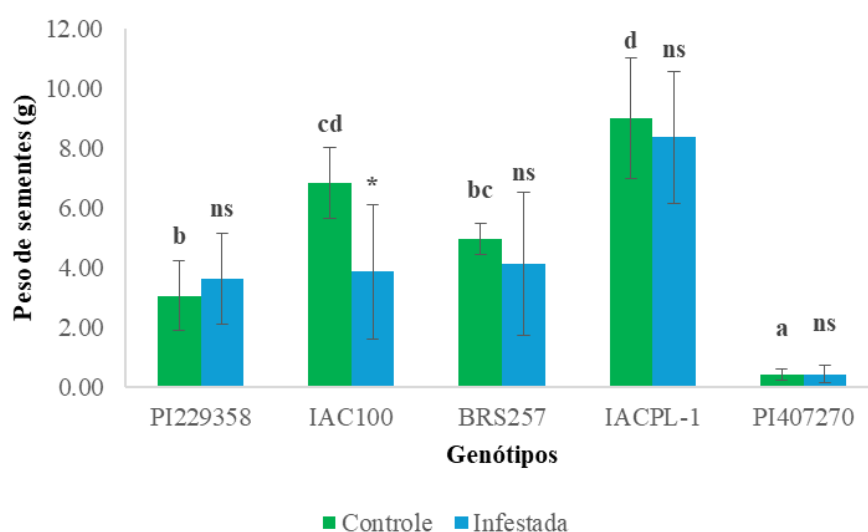


FIGURA 4.7 – Peso de sementes produzidas em genótipos de soja (média $\pm$ erro padrão) com e sem desfolha causada por lagartas de *S. frugiperda*. As barras verdes com letras distintas indicam diferenças significativas (ANOVA, um fator; $F = 38,36$; $p < 0,05$; procedimento de diferença honestamente significativa (HSD) de Tukey, $p < 0,05$). As barras azuis com "*" e "ns" indicam, respectivamente, diferenças significativas (Teste t, $p < 0,05$) e ausência de diferenças significativas entre o grupo controle e o grupo induzido para o mesmo genótipo.



Com base nos resultados obtidos neste trabalho, foi observado que alguns genótipos de soja afetaram significativamente os parâmetros biológicos de SF. Os genótipos IAC 100 e PI 229358 promoveram o prolongamento da fase larval de SF, possivelmente devido à ingestão de compostos deletérios envolvidos na defesa da planta contra o inseto⁷².

A extensão do estágio larval, pode ter ocorrido, segundo MACHADO et al.¹¹⁵ como uma estratégia compensatória, permitindo que as lagartas de SF alcançassem a massa ideal mesmo diante de uma oferta limitada de alimento. Na prática, a extensão do ciclo larval do inseto eleva sua vulnerabilidade a predadores naturais e outros agentes que contribuem para sua mortalidade.

Adicionalmente, foi observado que as folhas da cultivar IAC 100 provocaram a mortalidade da metade das lagartas, sugerindo que seus efeitos adversos são mais intensos em relação aos demais genótipos. A elevada taxa de mortalidade durante a fase larval pode estar relacionada aos efeitos potenciais dos metabólitos secundários, que desempenham um papel característico na resistência da planta¹¹⁶.

O baixo consumo foliar de PI 229358 e IAC 100 por lagartas de SF, em contraste com os outros genótipos, pode estar relacionado à presença de compostos com ação dissuasiva, tóxica e pela falta de estimulantes alimentares. Além disso, características físicas e morfológicas como a dureza das folhas e a presença de tricomas, podem afetar a alimentação do inseto, bem como fatores nutricionais que impactam negativamente o desenvolvimento do herbívoro^{117,118}. Resultados semelhantes foram observados em outro estudo onde IAC 100 foi menos consumida por lagartas de *A. gemmatilis*. Adicionalmente o período larval foi mais longo quando as lagartas foram alimentadas com este mesmo genótipo¹¹⁹.

Lagartas de SF alimentadas com IAC 100 e PI 229358 ganharam menos peso, confirmando a resistência destas cultivares. COELHO et al.¹¹⁷ constataram que lagartas de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) pesaram menos quando alimentadas com PI 229358. Da mesma

forma, lagartas de *A. gemmatalis*¹¹⁹, *S. frugiperda*¹²⁰, *S. cosmioides*¹¹⁶ exibiram pesos reduzidos quando alimentadas com IAC 100. Esse peso reduzido pode estar associado à ocorrência de metabólitos secundários característicos desses genótipos.

O maior peso médio das pupas na soja selvagem (PI 407270) sugere uma baixa resistência da planta. Assim, a diminuição do peso das pupas nas variedades PI 229358, IAC 100 e BRS 257, em comparação com a soja selvagem, pode estar relacionada à menor quantidade de reservas acumuladas durante a fase larval e à redução no valor nutricional do alimento ingerido¹²¹.

Esses fatores, combinados, podem afetar negativamente o desempenho reprodutivo do inseto, resultando em uma menor frequência de cópulas, oviposição reduzida e queda na fertilidade. A alimentação durante as fases iniciais da vida é essencial para insetos, uma vez que a planta hospedeira precisa fornecer os nutrientes necessários para garantir seu desenvolvimento saudável até a fase adulta^{117,121}.

Nossos resultados concordam com os achados de BOIÇA JÚNIOR et al.¹²⁰, onde lagartas de SF alimentadas com folhas de IAC 100 tiveram efeitos negativos no crescimento, resultando em aumento nas taxas de mortalidade, prolongamento da duração do estágio larval e redução no peso das lagartas e pupas. Em um estudo semelhante com *S. cosmioides*, a variedade IAC 100 foi atribuída com resistência moderada devido ao baixo peso e ao prolongamento que ocorreu na fase larval do inseto quando ele consumiu folhas¹¹⁶.

Outro estudo mostrou que o peso das pupas de *A. gemmatalis* foi significativamente reduzido quando as lagartas foram alimentadas com IAC 100¹¹⁹. De forma similar, foi evidenciado que os genótipos IAC 100 e DM 339 afetaram negativamente o desenvolvimento larval e pupal e a sobrevivência larval de *Spodoptera eridania* (Cramer)¹²². Assim, nossos resultados confirmam a resistência múltipla dos genótipos PI 229358 e IAC 100, que se caracteriza pela expressão de resistência contra diversas espécies de artrópodes.

A cultivar IAC 100 tem sido amplamente estudada como fonte de resistência a insetos-praga da soja. Este genótipo apresenta níveis significativos de metabólitos defensivos, o que sugere que esses compostos podem estar envolvidos na resistência observada. Por exemplo, ao analisar extratos de folhas de IAC 100, PI 274454 e PI 22768, foram encontradas altas concentrações de rutina e genistina. Essas substâncias atuaram como agentes dissuasivos e contribuindo para a resistência contra *A. gemmatilis*¹⁷. Especificamente, a rutina demonstrou efeitos adversos sobre SF, prolongando a fase larval, diminuindo o peso das lagartas, pupas e a viabilidade pupal¹²³.

Por sua parte, BOIÇA JÚNIOR et al¹²⁴. investigaram a presença de fenólicos, taninos, fibras e ligninas em diferentes partes das cultivares de soja, incluindo folhas, vagens e grãos. Os achados indicaram que as concentrações desses compostos estão ligadas à resistência da cultivar IAC-100 contra *C. virescens*, destacando os taninos como um dos principais mecanismos químicos de defesa contra esse inseto. Além disso, tem sido encontrado que a resistência de cultivares de soja a insetos está relacionada com o conteúdo e indução de isoflavonoides¹²⁵, glicosídeos de quercetina e kaempferol^{64,126}, substâncias fenólicas¹⁸ e compostos orgânicos voláteis^{105,127}.

IAC 100 apresentou baixa tolerância aos danos causados por SF e alta resistência em contraste aos outros genótipos. Este resultado, pode ser consistente com a expectativa de que, quando a resistência de uma planta não é suficiente para reduzir a herbivoria, os mecanismos de tolerância podem ser favorecidos¹²⁸. O anterior pode explicar o fato das variedades PI 229358, BRS 257, IAC PL-1 e PI 407270 ter apresentado menor resistência, porém, maior tolerância em contraste com IAC 100, minimizando assim os impactos negativos do consumo foliar de SF.

Ademais, a diminuição no número e no peso das sementes produzidas pela cultivar IAC 100 após injúria por SF pode estar relacionada a um aumento nos compostos defensivos, com consequente detrimento da

produtividade e da qualidade das sementes. Tem sido relatado que plantas expostas a diferentes estresses abióticos durante a fase reprodutiva podem ter seu crescimento geral impactado, bem como o estado nutricional, afetando o desenvolvimento, o tamanho, a qualidade e a produção das sementes¹²⁹. Sementes mais pesadas geralmente contêm níveis mais elevados de nutrientes essenciais, como proteínas e amido, influenciando diretamente a qualidade nutricional¹³⁰.

É interessante ressaltar que a cultivar PI 229358 demonstrou resistência contra SF, embora em menor grau do que a IAC 100, e, além disso, apresentou tolerância aos danos causados por SF. Embora, os experimentos de resistência e tolerância foram feitos nos estágios V3-V4 e V4-V5, respectivamente, pode ser sugerido que PI 229358 pode expressar simultaneamente resistência e tolerância ao longo dos estágios mencionados. MAURICIO et al¹¹. demonstraram que *Arabidopsis thaliana* apresenta variação genética tanto para resistência quanto para tolerância. Esses achados indicam que ambas as estratégias podem coexistir de forma estável em populações dessa espécie.

Por outro lado, BOEGE et al¹¹³. mostraram que a redução progressiva da resistência, acompanhada pelo aumento da tolerância ao longo da maturação de plantas de *R. sativus*, está alinhada com o custo de aptidão associado à produção de glucosinolatos e com a ausência de custos relacionados à tolerância durante o estágio reprodutivo. Em outras palavras, ao se aproximarem do final de seu ciclo de vida, as plantas anuais direcionam a maior parte de seus recursos para a reprodução. Dessa forma, investir em resistência para preservar folhas de baixo valor, que em breve senescerão, tende a ser mais dispendioso do que simplesmente tolerar os danos.

Outro aspecto relevante na resistência das plantas é a emissão de compostos voláteis, uma estratégia que pode ser empregada para atrair inimigos naturais dos herbívoros, influenciar a oviposição dos adultos e, conseqüentemente, reduzir os danos. Além disso, é importante considerar que a

soja geralmente se associa a rizobactérias benéficas, que podem contribuir para a produção de compostos defensivos. Esse processo, no entanto, pode ser afetado pelo cultivo artificial, especialmente em plantas selvagens, que crescem naturalmente em ambientes silvestres^{105,106,127,131–133}.

Considerando todos os parâmetros avaliados e os efeitos deletérios sobre SF, pode ser sugerido que as cultivares PI 229358 e IAC 100 (em maior nível) apresentam características de resistência química constitutivas, que reduzem os danos causados por SF aumentando a duração do estágio larval, diminuindo o peso ganho e o consumo alimentar do inseto. BRS 257, IAC PL-1 e PI 407270 apresentaram pouca resistência (principalmente IAC PL-1 e PI 407270) a SF, porém, junto com PI 229358 apresentaram características de tolerância, que minimizam os efeitos negativos da aptidão após danos por SF.

Além disso, o elevado consumo foliar, a menor duração do estágio larval e o maior ganho de peso, sugerem que esses genótipos podem apresentar defesas reduzidas contra SF, um conteúdo nutricional superior ou compostos que atuam como estimulantes de alimentação em comparação com PI 229358 e IAC 100.

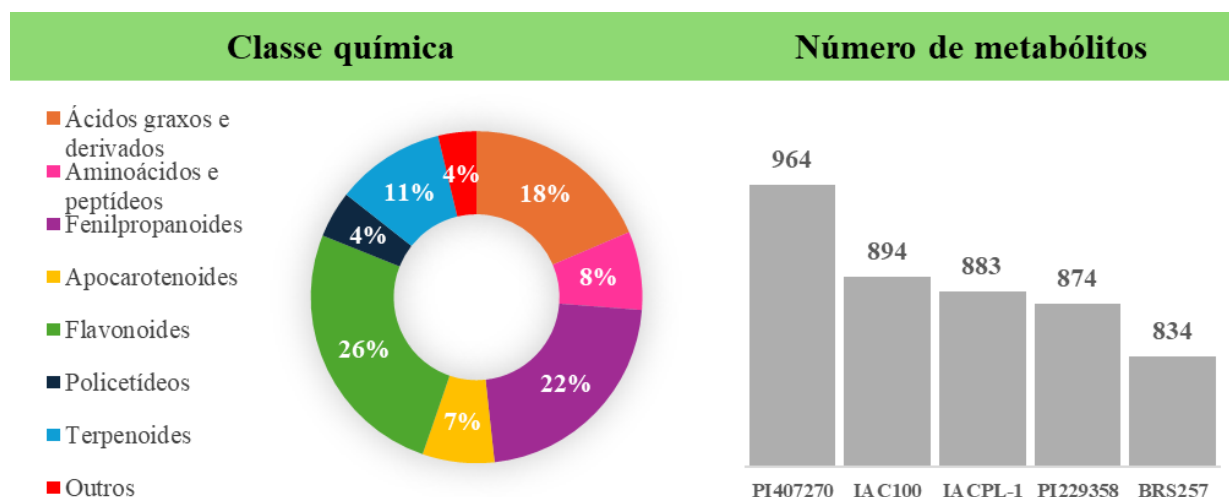
Os resultados obtidos indicam que os genótipos analisados ainda precisam ser caracterizados quanto à resistência e/ou tolerância a mais uma espécie de inseto-praga. Além disso, é essencial que sejam avaliados em condições de campo para determinar seus níveis de resistência e tolerância a SF. Desta forma, estes achados terão grande utilidade para produtores de soja e para programas de melhoramento voltados à resistência de plantas hospedeiras.

4.2 – Análise metabolômica das folhas de genótipos de soja

4.2.1 – Visão geral do perfil metabólico das folhas de diferentes genótipos de soja

A análise do perfil metabólico dos cinco genótipos estudados, por meio da rede molecular, permitiu a detecção de 3307 *features*. Desses, 1098 foram divididos em oito classes químicas principais, incluindo ácidos graxos e derivados, aminoácidos e peptídeos, apocarotenoides, fenilpropanoides, flavonoides, policetídeos, terpenoides e outros (referentes a alguns alcaloides, ácidos fenólicos (C6-C1), feniletanoides e sacarídeos). A FIGURA 4.8 fornece uma visão geral das principais classes químicas e do número de metabólitos anotados em cada genótipo estudado.

FIGURA 4.8 – Principais classes químicas e número de metabólitos caracterizados nas folhas dos genótipos PI 229358, IAC 100, BRS 257, IAC PL-1 e PI 407270.



Metabólitos pertencentes às classes dos flavonoides, fenilpropanoides, ácidos graxos e terpenoides compreenderam a maioria dos compostos detectados nos diferentes tecidos das variedades de soja estudadas. A soja selvagem exibiu um maior número de metabólitos totais em comparação com as outras variedades, destacando-se os grupos dos fenilpropanoides e flavonoides.

Os terpenoides, também foram predominantes na soja selvagem e nas cultivares resistentes (FIGURA 4.8 e FIGURA A.1).

É importante mencionar que a classe dos ácidos graxos e derivados inclui principalmente metabólitos do tipo octadecanoides, amidas graxas, glicerolipídeos e ácidos graxos insaturados. Por sua vez, o grupo dos fenilpropanoides contém uma variedade de ácidos cinâmicos, cumarinas e lignanas. Os flavonoides foram categorizados principalmente pelo conteúdo de compostos fenólicos, como flavonóis, isoflavonas, flavonas, flavanonas e antocianidinas. Estes resultados mostram que as técnicas de extração utilizadas e a aquisição dos dados por meio da abordagem não direcionada permitiram a obtenção e anotação de uma diversidade de classes químicas.

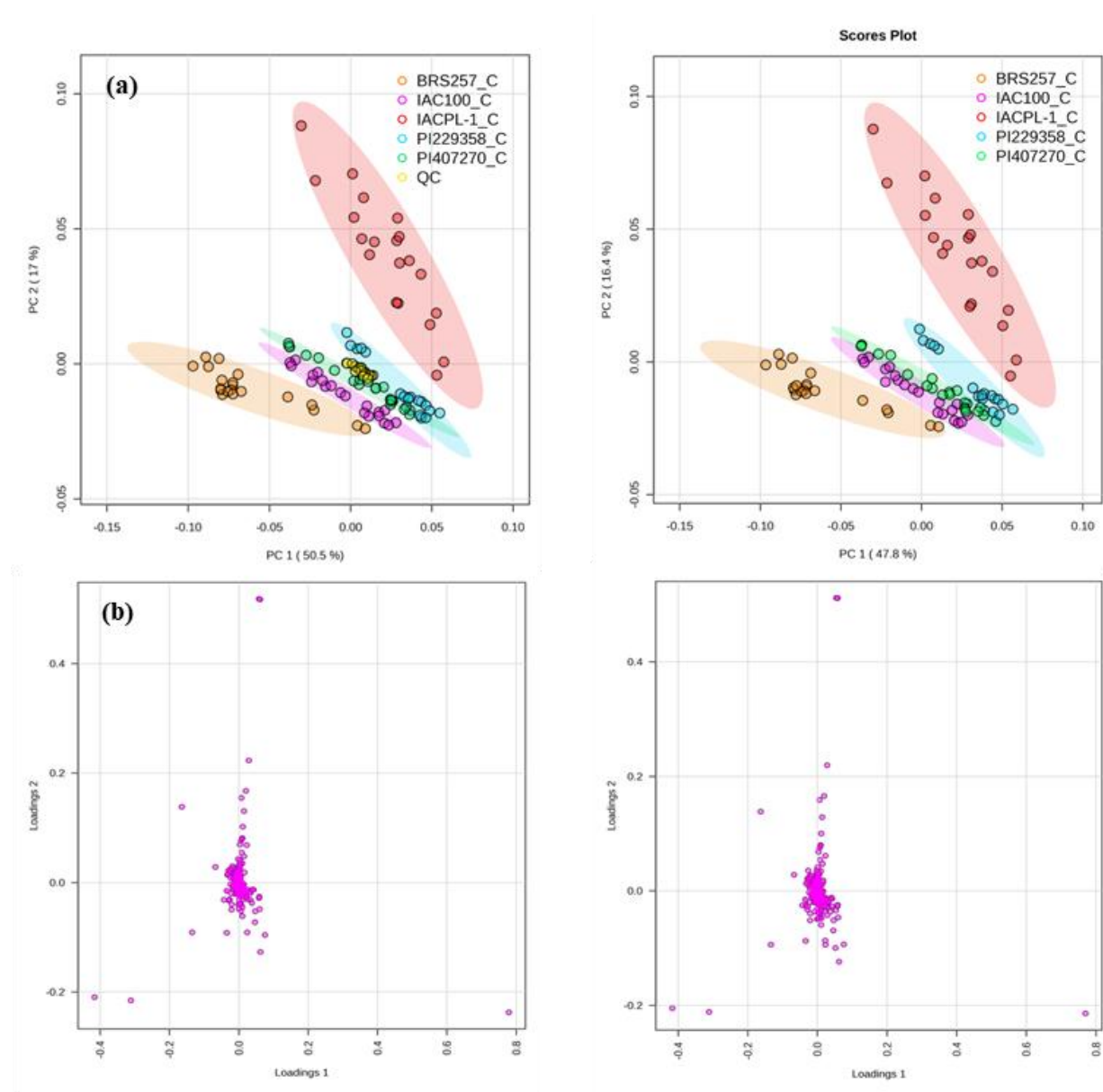
4.2.2 – Comparação do perfil metabólico das folhas de diferentes genótipos de soja sob condições constitutivas

A fim de comparar os perfis metabólicos (ver FIGURA A.2) dos extratos foliares correspondentes aos genótipos PI 229358, IAC 100 (resistentes); BRS 257, IAC PL-1 (susceptíveis) e PI 407270 (selvagem), foi realizada uma análise multivariada detalhada para investigar as tendências e agrupamentos dos dados, bem como anotar os principais metabólitos que modularam as diferenças entre as plantas estudadas. Inicialmente, foi realizada uma análise de componentes principais (PCA) utilizando dados metabólicos de tecidos foliares dos diferentes genótipos em condições constitutivas.

Os dados mostraram que as amostras de controle de qualidade (QC) e a maioria das réplicas se agruparam, destacando uma boa qualidade dos dados. Além disso, foram observados cinco grupos de amostras com base na separação entre os genótipos, sendo as variedades resistentes (PI 229358 e IAC 100) e a soja selvagem (PI 407270) próximas entre si (FIGURA 4.9a). A primeira componente principal (PC1) representou 50,5% da variação nas folhas e evidenciou

principalmente diferenças entre as cultivares BRS 257 e IAC PL-1. A segunda componente principal (PC2) refletiu essencialmente diferenças entre IAC PL-1 e os outros genótipos, explicando 17% da variância nas folhas (FIGURA 4.9a).

FIGURA 4.9 – Análise de componentes principais (PCA) dos perfis metabólicos (a) e gráficos de *loadings* dos metabólitos (b), com QC à esquerda e sem QC à direita, mostrando PC1 e PC2 nas folhas dos genótipos PI 229358, IAC 100, BRS 257, IAC PL-1 e PI 407270 sob condições constitutivas. C: controle; QC: controle de qualidade. [PERMANOVA] F-value: 47,562 e 47,739; R-squared: 0,67404 e 0,66778; p-value (baseado em 999 permutations): 0.001.

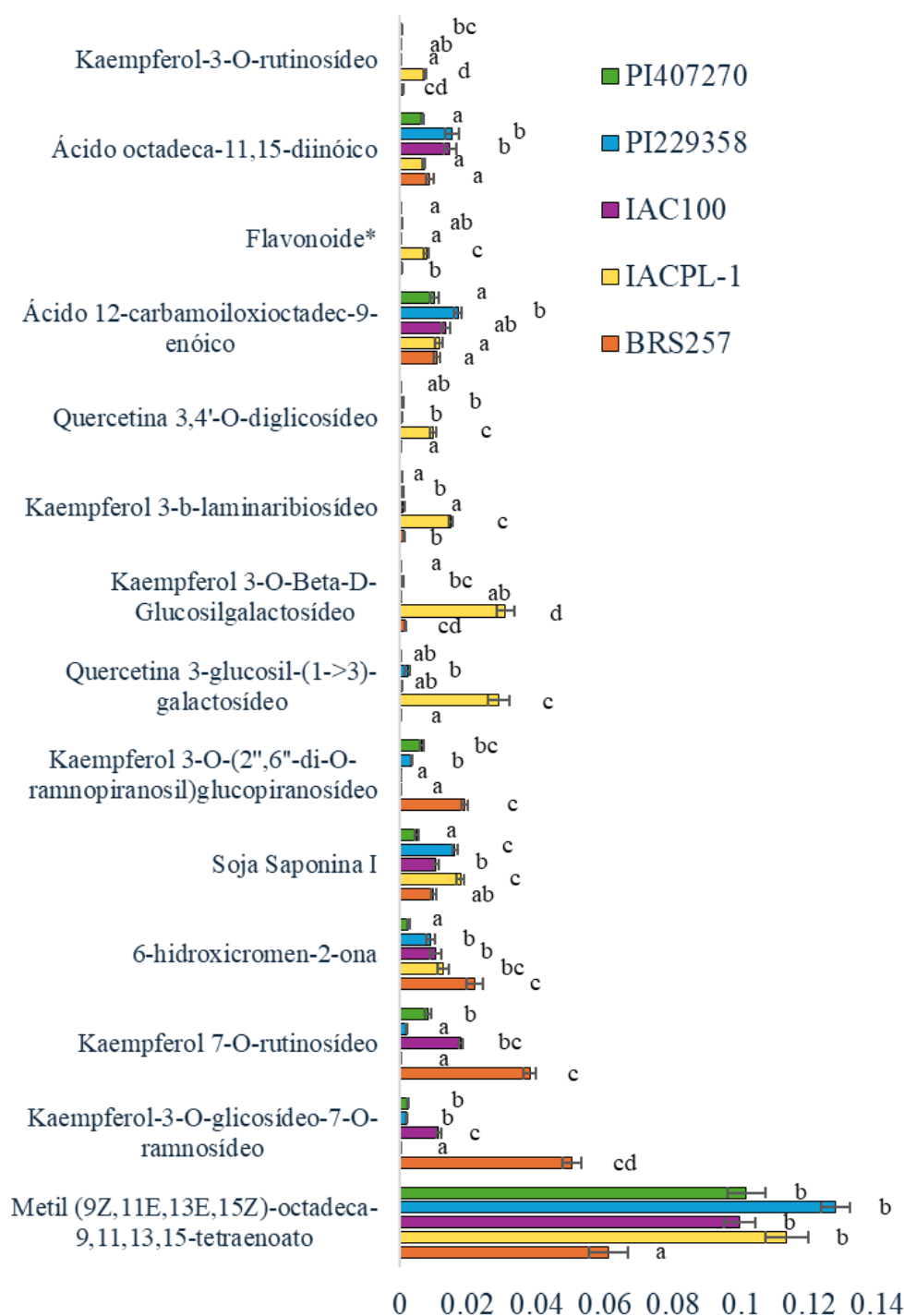


Um ácido graxo insaturado, uma cumarina e três glicosídeos de kaempferol foram os principais metabólitos contribuintes na PC1, enquanto uma saponina triterpênica, dois diglicosídeos de kaempferol e dois de quercetina foram os principais metabólitos contribuintes na PC2 (FIGURA 4.9b e FIGURA A.3). Com base nesses metabólitos, foram exibidos gráficos de barras (FIGURA 4.10) para visualizar as diferenças entre os genótipos.

Dentre os compostos apresentados no gráfico de barras (FIGURA 4.10), observou-se que os níveis de kaempferol-3-O-glicosídeo-7-O-ramnosídeo, kaempferol 7-O-rutinosídeo e kaempferol 3-O-(2",6"-di-O-ramnopiranosil) glucopiranosídeo foram mais elevados principalmente nas folhas da cultivar BRS 257, em contraste com as folhas de IAC PL-1 (ambas suscetíveis). Por sua vez, o ácido graxo metil (9Z,11E,13E,15Z) -octadeca-9,11,13,15-tetraenoato, mostrou-se menos abundante no genótipo BRS 257 em comparação com os outros genótipos.

Os flavonóis quercetina 3-glucosil-(1-3) -galactosídeo, quercetina 3,4'-O-diglicosídeo, kaempferol 3-O- β -D-glucosilgalactosídeo, kaempferol 3- β -laminaribiosídeo, kaempferol-3-O-rutinosídeo e o flavonoide* (não anotado) estavam mais abundantes na cultivar suscetível IAC PL-1. Em relação ao triterpenoide soja saponina I, foram observados níveis maiores nas cultivares IAC PL-1 e PI 229358 (susceptível e resistente, respectivamente). Os níveis do ácido octadeca-11,15-diinoico foram mais elevados nas cultivares resistentes IAC 100 e PI 229358 em comparação com os outros genótipos. Quanto à soja selvagem, verificou-se que apresentava menor conteúdo do derivado cumarínico 6-hidroxicromen-2-ona em seus tecidos.

FIGURA 4.10 – Metabólitos representativos sob condições constitutivas que foram determinantes para o agrupamento na análise por PCA dos genótipos estudados. Os valores são médias $\pm$ erro padrão (EP), obtidos a partir da área da resposta do detector do equipamento, em unidades arbitrárias (não representam concentração absoluta). Barras com letras diferentes para o mesmo metabólito são significativamente diferentes (Teste de Kruskal-Wallis, $p < 0.05$).



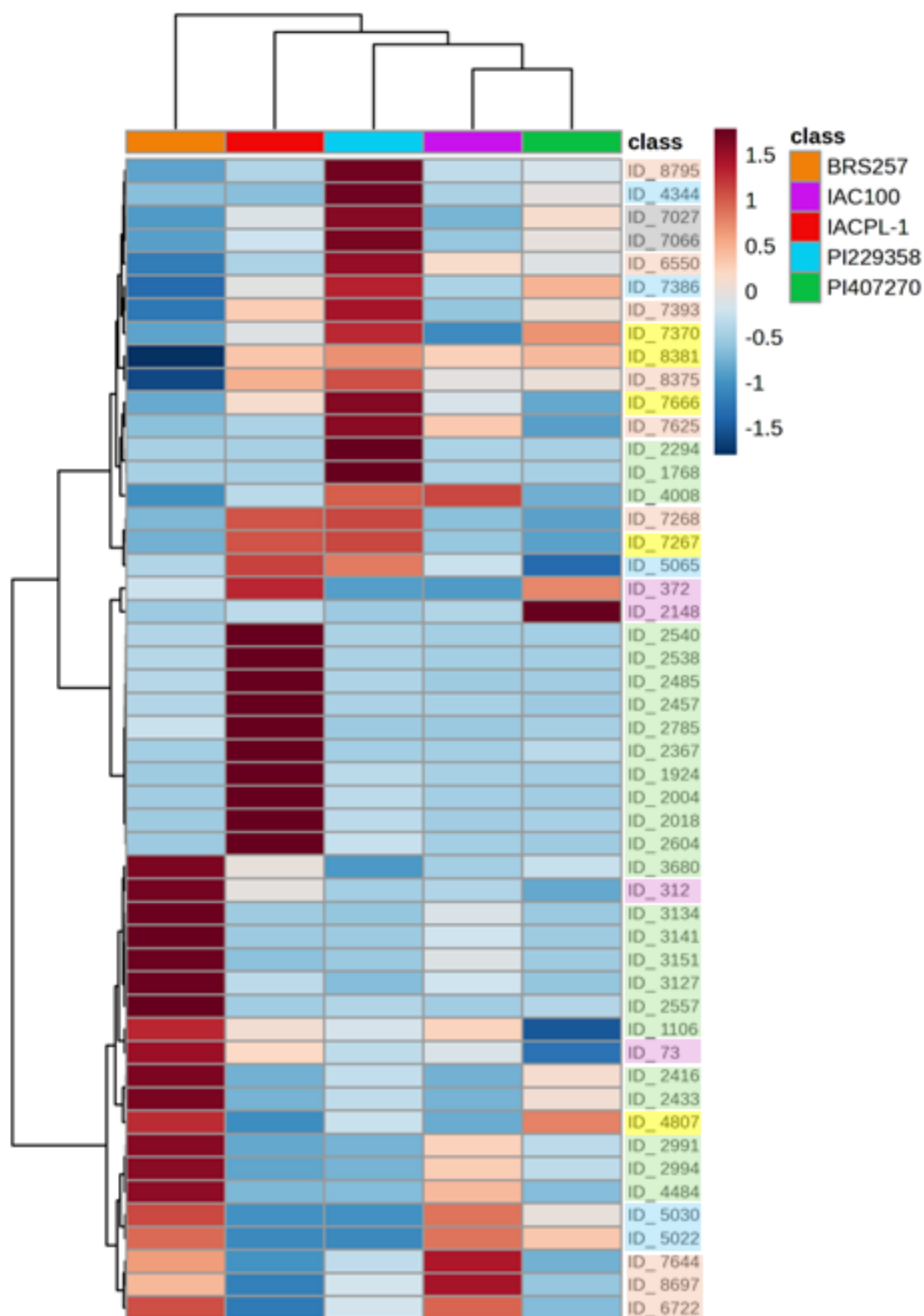
Na FIGURA 4.11, é apresentado um mapa de calor que compara os cinco genótipos estudados em relação aos cinquenta metabólitos mais significativos detectados e anotados. Os IDs sublinhados em verde, roxo, azul, amarelo, laranja e cinza representam compostos das classes dos flavonoides, cumarinas, terpenoides, octadecanoides, ácidos graxos e policetídeos, respectivamente. Os resultados coincidem com a PCA, indicando também a proximidade entre as variedades IAC 100 e PI 407270, bem como a separação das cultivares BRS 257 e IAC PL-1 com respeito aos outros genótipos. Na TABELA A.2, apresenta-se um resumo das informações químicas de cada metabólito exibido no gráfico de barras e no mapa de calor, juntamente com sua respectiva anotação (FIGURA 4.10 e FIGURA 4.11, respectivamente).

O mapa de calor (FIGURA 4.11) mostra que a cultivar suscetível BRS 257 apresentou maior proporção de compostos pertencentes à classe dos flavonoides, cumarinas, triterpenoides, octadecanoides e alguns ácidos graxos, comparada aos outros genótipos. Por outro lado, o alto conteúdo de flavonoides, bem como de um ácido graxo, um octadecanoide e o triterpenoide soja saponina I, evidencia, mais uma vez, a distinção da cultivar suscetível IAC PL-1 em contraste com as outras variedades.

Em relação às cultivares resistentes, PI 229358 se caracterizou por apresentar níveis mais elevados de alguns ácidos graxos, octadecanoides, dois policetídeos; três triterpenos do tipo oleanano; um triglicosídeo de quercetina e isorhamnetina, quando comparado aos outros genótipos. A cultivar IAC 100 exibiu maior conteúdo de dois triterpenos, três ácidos graxos e um flavonoide do tipo kaempferol. Por sua vez, a soja selvagem expressou maior abundância de duas cumarinas e de metil jasmonato (ID_4807).

]

FIGURA 4.11 – Mapa de calor dos 50 metabólitos mais representativos sob condições constitutivas nos genótipos PI 229358, IAC 100, BRS 257, IAC PL-1 e PI 407270. A escala de cores à direita indica o conteúdo dos metabólitos, sendo altos (vermelho) e baixos (azul).



Dentre as classes químicas já mencionadas, os flavonoides sobressaíram pela sua presença em todos os genótipos. No entanto, as variedades resistentes (PI 229358 e IAC 100) e a soja selvagem mostraram menor variedade e conteúdo quando comparadas às cultivares suscetíveis BRS 257 e IAC PL-1. Proporções maiores de alguns glicosídeos de quercetina e kaempferol explicam a diferenciação da cultivar IAC PL-1, enquanto a abundância de flavonoides, principalmente glicosídeos de kaempferol nos tecidos da variedade BRS 257, esclarece por que seu perfil metabólico se distingue mais dos outros genótipos.

Estes resultados estão de acordo com diversos estudos reportados na literatura, nos quais foram analisados os perfis metabólicos de genótipos de soja. Por exemplo, ROMANI et al.⁹⁸ investigaram o conteúdo de flavonóis em diferentes partes da soja e encontraram um alto teor de derivados de kaempferol e quercetina nas folhas. De maneira semelhante, outros autores observaram que os níveis constitutivos de alguns conjugados das classes quercetina, kaempferol e isorhamnetina são os mais abundantes nas folhas de determinados genótipos de soja^{99,104,134}.

Os flavonoides desempenham uma ampla variedade de funções fisiológicas, incluindo proteção contra radiação UV, regulação do estresse oxidativo, sinalização hormonal, estabelecimento de simbioses, variação na coloração das flores, atração de insetos e defesa contra patógenos e herbívoros^{97,135,136}. Além disso, são considerados moduladores do transporte de auxinas, conferindo-lhes um grande potencial para regular o desenvolvimento de órgãos individuais e da planta como um todo. Também podem se acumular nas folhas, atuando como filtros UV e prevenindo, assim, a morte celular programada. Os derivados de kaempferol e quercetina, por exemplo, apresentam essa função, sendo que a quercetina é mais eficaz como antioxidante em comparação aos flavonóis mono-hidroxilados¹³⁷⁻¹³⁹.

É interessante destacar que as cultivares resistentes exibiram diversidade e abundância de ácidos graxos e triterpenos em seus tecidos. Os terpenoides atuam como fitohormônios, moduladores de proteínas, reguladores da fluidez de membranas e antioxidantes. Além disso, desempenham um papel essencial nas interações ecológicas das plantas, contribuindo para a defesa contra herbívoros e patógenos e funcionando como sinais e recompensas para polinizadores e micorrizas¹⁴⁰.

Os ácidos graxos, por outro lado, ocorrem nas plantas como componentes estruturais das membranas, servindo como forma de armazenamento de carbono e energia e atuando em redes de transdução de sinal. Também, são reconhecidos como mediadores de interações com fungos micorrízicos arbusculares e como componentes da cutícula da planta, funcionando como barreira contra a perda de água e a invasão de patógenos¹⁴¹.

Os elevados conteúdos e a diversidade de alguns flavonoides nas cultivares suscetíveis sugerem que esses compostos não atuam exclusivamente como defesas constitutivas contra herbivoria, mas também como agentes de proteção contra o estresse abiótico causado pela radiação UV ou simplesmente como reguladores do desenvolvimento da planta. A abundância de ácidos graxos e triterpenos nas variedades resistentes sugere que esses podem ser considerados como possíveis defesas constitutivas da soja. Também, podem atuar como sinalizadores e/ou formas de armazenamento para a expressão de compostos defensivos após a percepção, por parte da planta, de algum tipo de estresse biótico ou abiótico.

A soja selvagem, por sua vez, apresentou alto conteúdo de metil jasmonato em seus tecidos. O metil jasmonato é um composto volátil derivado do ácido linolênico, amplamente distribuído entre as plantas. Foi identificado como um regulador celular essencial, mediando diversos processos de desenvolvimento, como germinação, senescência, crescimento de mudas e amadurecimento de frutos, além de respostas de defesa contra estresses bióticos e abióticos.

É possível que o alto conteúdo de metil jasmonato na soja selvagem tenha sido desenvolvido como um mecanismo de adaptação ao estresse imposto por condições adversas durante seu crescimento, contribuindo para a redução dos danos associados. Ademais, a abundância desse fitormônio pode estar relacionada a processos de desenvolvimento da planta, ao controle da ativação gênica, ao aumento do conteúdo de compostos fenólicos e cutina nas folhas e à sinalização sistêmica de longa distância^{142–144}.

A prevalência de flavonoides, ácidos graxos, cumarinas, terpenoides e metil jasmonato detectada nos diferentes genótipos de soja evidencia o papel essencial desses compostos no metabolismo da planta. As diferenças nos níveis e na diversidade dessas substâncias parecem constituir a principal distinção metabólica entre os genótipos. Esses resultados estão em concordância com os dados da literatura sobre genótipos de soja, na qual também foram detectados vários metabólitos pertencentes a essas classes^{145–149}.

4.2.3 – Alterações no perfil metabólico de diferentes tecidos dos genótipos estudados após o ataque de *S. frugiperda* (SF)

Para obter informações metabólicas mais detalhadas sobre as plantas estudadas, nesta seção foram comparadas as modulações sob condições constitutivas e após injúria por SF, confrontando as respostas defensivas apresentadas por cada genótipo nos três tecidos avaliados (folha velha, folha local e folha jovem). Para isso, foi aplicada uma análise discriminante de mínimos quadrados parciais (PLS-DA).

Para todos os genótipos, os parâmetros de validação cruzada do modelo gerado por PLS-DA apresentaram um coeficiente de determinação (R^2) e de validação cruzada (Q^2) adequados para a discriminação entre os três tipos de tecidos estudados e seus respectivos tratamentos (ver TABELA A.3). Metabólitos com pontuação de importância variável na projeção (VIP) superior a 3 foram

considerados importantes para o modelo PLS-DA (ver TABELA 4.1). Detalhadamente, no gráfico VIP, 15 metabólitos foram selecionados como os mais influentes para cada genótipo. Os IDs sublinhados em verde, roxo, azul, amarelo, laranja e cinza representam compostos das classes dos flavonoides, cumarinas, terpenoides, octadecanoides, ácidos graxos e policetídeos, respectivamente.

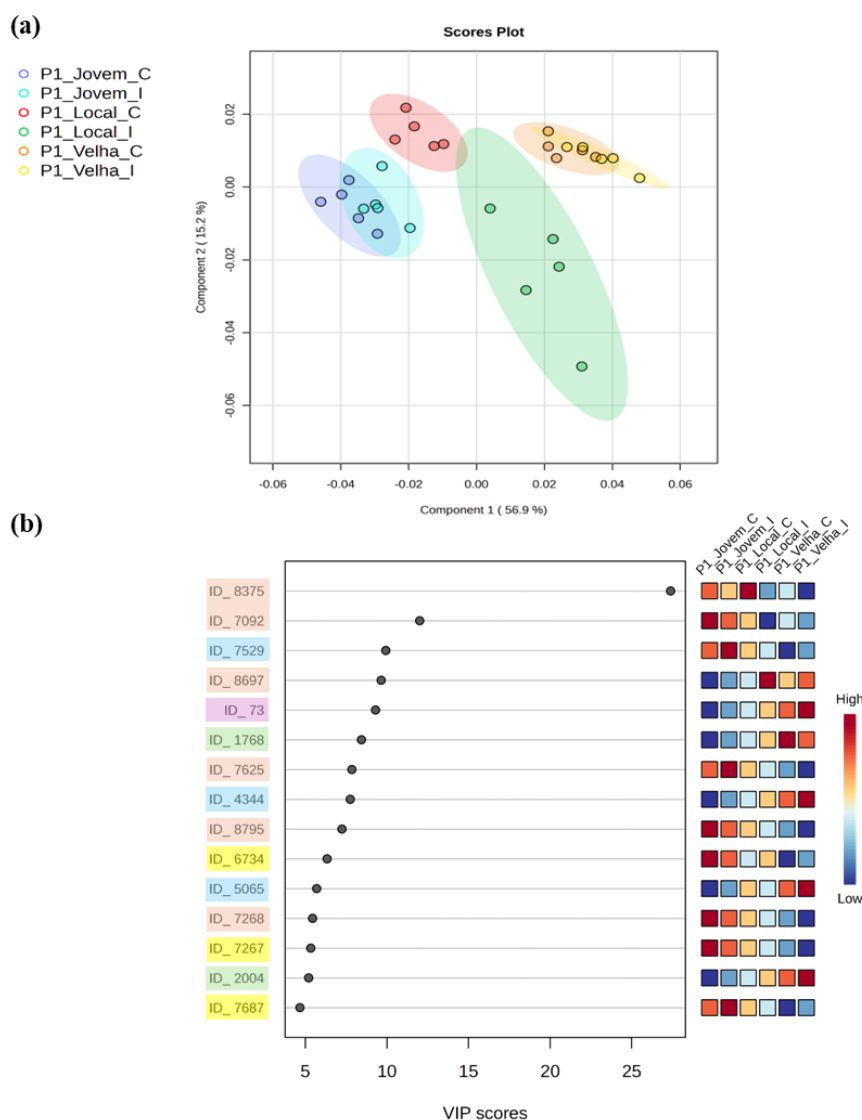
4.2.3.1 – Alterações no perfil metabólico das folhas do genótipo PI 229358 após o ataque de *S. frugiperda* (SF)

Na FIGURA 4.12, é apresentada uma análise estatística multivariada PLS-DA para os tecidos da cultivar PI 229358. Conforme mostrado na FIGURA 4.12a, os três tecidos da cultivar PI 229358 foram claramente separados com base na primeira componente principal. As amostras correspondentes à folha velha mostraram diferenças marcantes em contraste com as folhas jovens. Por sua parte, a segunda componente refletiu principalmente as diferenças entre a folha local controle e a folha local induzida por SF.

No gráfico VIP da cultivar PI 229358, apresentado na FIGURA 4.12b, 15 metabólitos foram selecionados como os mais influentes. Em relação às abundâncias relativas dos metabólitos mencionados, observou-se que as folhas jovens apresentaram uma maior proporção de ácidos graxos, dos octadecanoides, e um diterpenoide, em contraste com as folhas velhas. O conteúdo desses metabólitos também foi maior (exceto ID_6734, que estava em menor proporção) na folha local do grupo controle, comparada à folha local induzida por SF.

Por sua parte, dois triterpenoides, dois glicosídeos de quercetina, um ácido graxo e uma cumarina mostraram-se mais abundantes nas folhas velhas em relação às folhas jovens. A folha local induzida por SF, também apresentou maior conteúdo desses compostos em comparação com a folha local controle (exceto ID_5065, que estava em menor proporção).

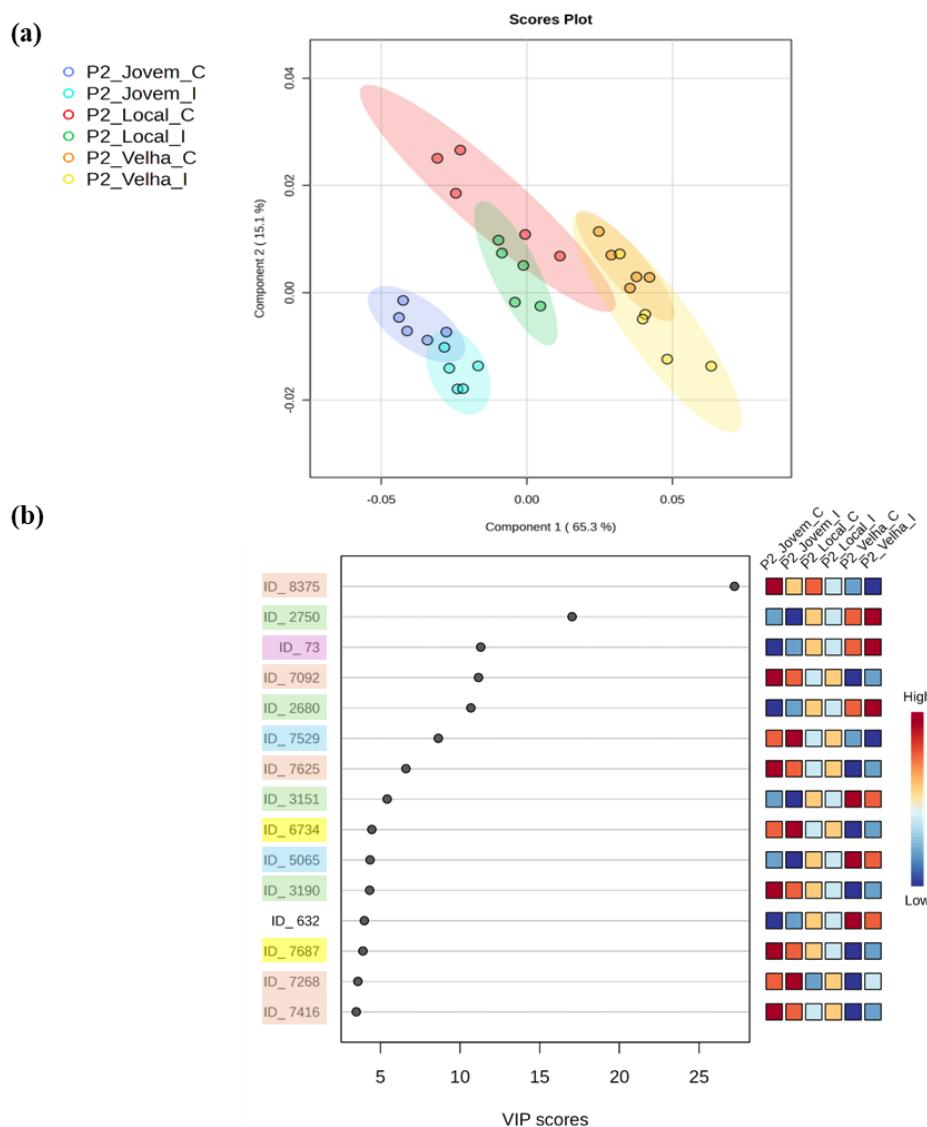
FIGURA 4.12 – Gráfico de pontuação PLS-DA (a) e gráfico de importância variável na projeção (VIP) (b) do genótipo PI 229358 (P1). C e I indicam, respectivamente, amostras de controle e induzidas por *S. frugiperda*.



4.2.3.2 – Alterações no perfil metabólico das folhas do genótipo IAC 100 após o ataque de *S. frugiperda* (SF)

A análise PLS-DA para a cultivar IAC 100, apresentada na FIGURA 4.13, mostrou que os três tecidos estudados estavam claramente separados entre si, com um leve afastamento entre os grupos controle e induzido. Isso ocorreu com base na primeira e segunda componente principal, respectivamente (FIGURA 4.13a).

FIGURA 4.13 – Gráfico de pontuação PLS-DA (a) e gráfico de importância variável na projeção (VIP) (b) do genótipo IAC 100 (P2). C e I indicam, respectivamente, amostras de controle e induzidas por *S. frugiperda*.



Por sua parte, o gráfico VIP dos metabólitos responsáveis pelas diferenças entre os tecidos e grupos mostra que as folhas jovens apresentam maior conteúdo de ácidos graxos, dois octadecanoides, um diglicosídeo de isorhamnetina e um diterpenoide, em contraste com as folhas velhas. A abundância desses metabólitos também foi maior (exceto ID_8375, ID_3190 e ID_7687, que estavam em menor proporção) na folha local induzida por SF em comparação com a folha local do grupo controle.

Em contrapartida, três flavonóis, uma cumarina, um triterpenoide e o fenilpropanoide ID_632 mostraram-se menos abundantes nas folhas jovens em

relação às folhas velhas. A folha local induzida por SF também apresentou menor conteúdo desses compostos em comparação com a folha local controle. É importante mencionar que, entre os 15 metabólitos selecionados pelo gráfico VIP, a cultivar IAC 100 mostrou algumas diferenças com respeito a PI 229358, pois continha seis compostos diferenciados (ID_3190, ID_7416, ID_2750, 2680, ID_3151 e ID_632).

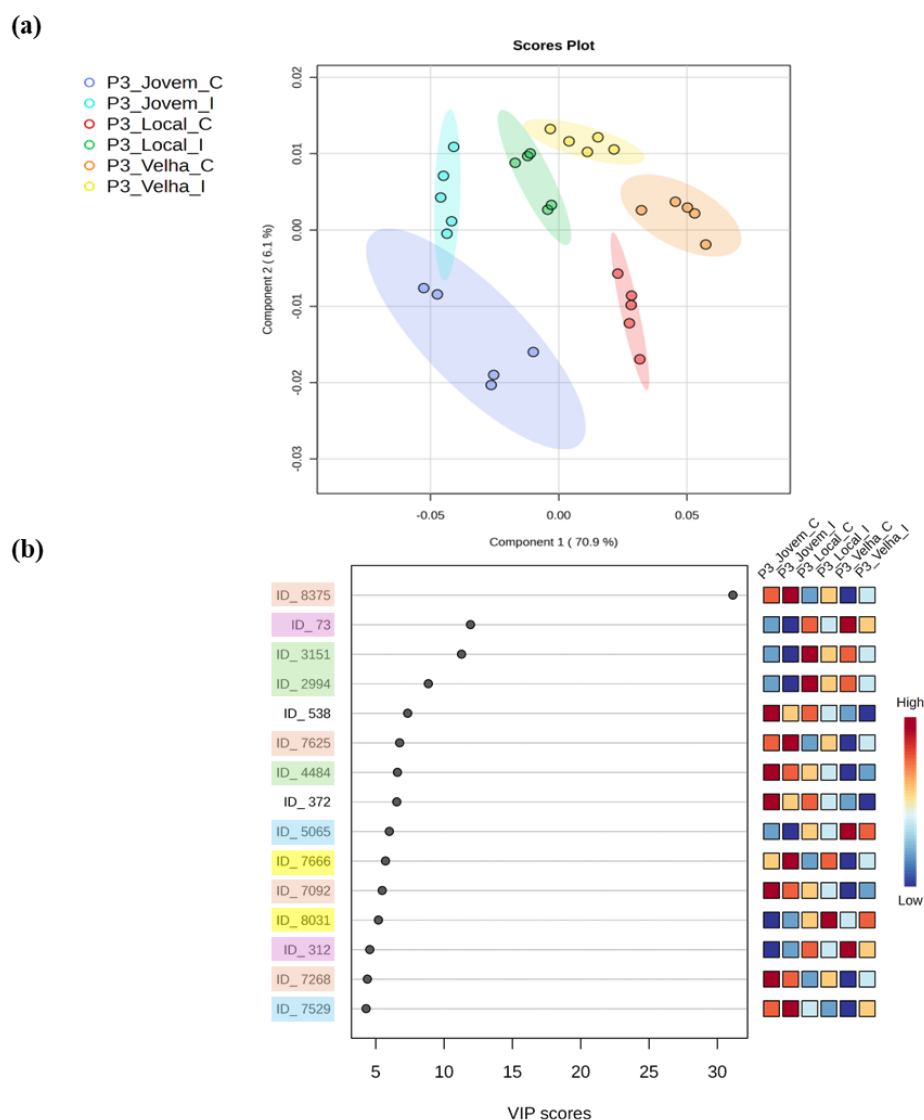
4.2.3.3 – Alterações no perfil metabólico das folhas do genótipo BRS 257 após o ataque de *S. frugiperda* (SF)

Para a cultivar BRS 257, observou-se uma ampla separação entre os três tecidos e entre os grupos controle e tratado. A primeira componente destacou as diferenças entre as folhas velhas (incluindo, controle e tratamento) e a folha local do grupo controle, com respeito às folhas jovens e à folha local tratada. A segunda componente, refletiu principalmente alterações entre os grupos controle e tratado (FIGURA 4.14a).

O gráfico VIP mostrou que as folhas jovens apresentam níveis mais elevados de ácidos graxos, um octadecanoide, dos compostos ID_538 e ID_372, um diterpenoide e uma isoflavona, em contraste com as folhas velhas. O conteúdo desses metabólitos também foi maior na folha local do grupo controle, exceto para ID_8375, ID_7625, ID_7666 e ID_7268, que estavam em menor proporção, quando comparado à folha local induzida por SF (FIGURA 4.14b).

Por sua vez, dois flavonóis, duas cumarinas, um triterpenoide e um octadecanoide mostraram-se menos abundantes nas folhas jovens em relação às folhas velhas. A folha local do grupo controle apresentou conteúdos maiores desses compostos em comparação com a folha local induzida por SF. Um octadecanoide (na folha jovem), três ácidos graxos, dois octadecanoides (na folha velha e local) e um terpeno (na folha velha) tornaram-se mais abundantes após o ataque de SF: Isso sugere uma possível indução causada pelo estresse biótico.

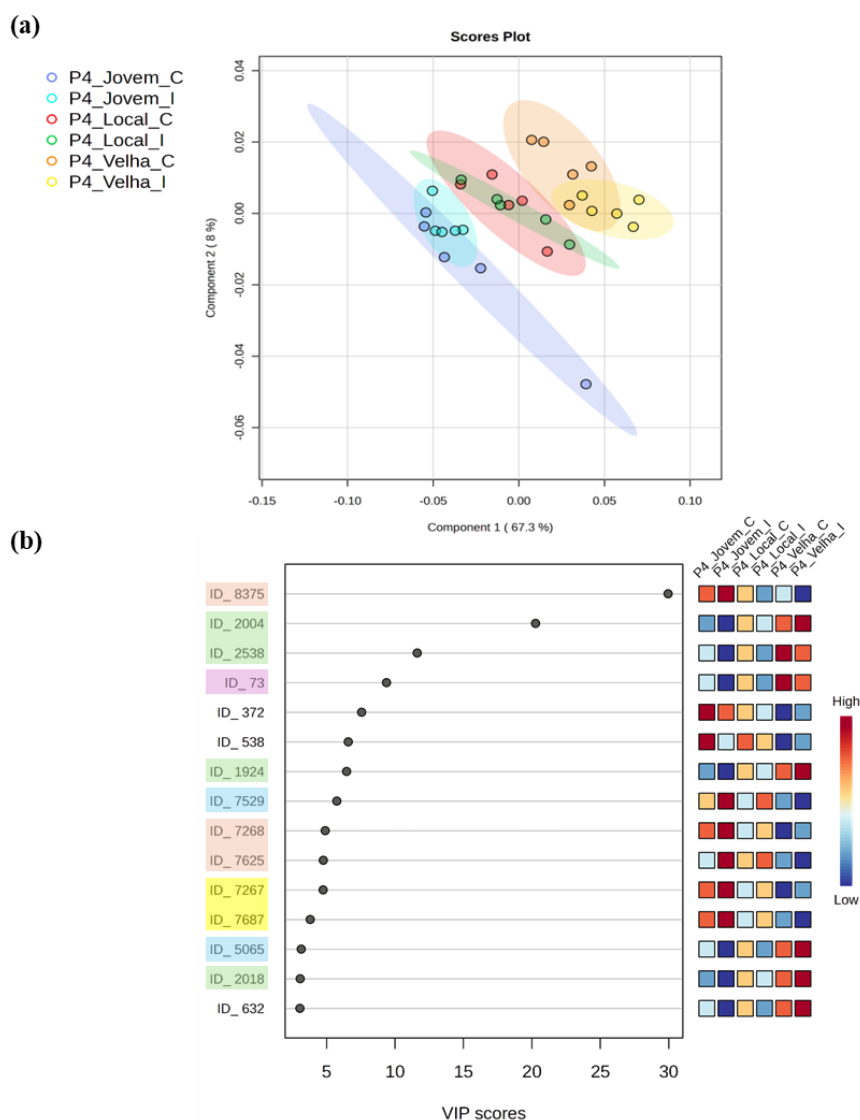
FIGURA 4.14 – Gráfico de pontuação PLS-DA (a) e gráfico de importância variável na projeção (VIP) (b) do genótipo BRS 257 (P3). C e I indicam, respectivamente, amostras de controle e induzidas por *S. frugiperda*.



4.2.3.3 – Alterações no perfil metabólico das folhas do genótipo IAC PL-1 após o ataque de *S. frugiperda* (SF)

Conforme mostrado na FIGURA 4.15a, os três tecidos da cultivar IAC PL-1 foram visivelmente separados com base na primeira componente principal. As amostras correspondentes à folha velha apresentaram diferenças acentuadas em contraste com as folhas jovens. Por sua vez, a segunda componente refletiu pequenas diferenças entre as folhas jovem e velha do grupo controle respeito às folhas que receberam tratamento.

FIGURA 4.15 – Gráfico de pontuação PLS-DA (a) e gráfico de importância variável na projeção (VIP) (b) do genótipo IAC PL-1 (P4). C e I indicam, respectivamente, amostras de controle e induzidas por *S. frugiperda*.



No gráfico VIP desta cultivar (FIGURA 4.15b), os compostos que apresentaram maior proporção nas folhas jovens, em contraste com as folhas velhas, foram: dois ácidos graxos, dois octadecanóides; os compostos ID_372 e ID_538; e um diterpenoide. Por sua parte, quatro flavonóis; uma cumarina; um triterpenoide; e o derivado do ácido cinâmico ID_632 mostraram-se mais abundantes nas folhas velhas em relação às folhas jovens.

A folha local do grupo controle aparentemente mostrou maior conteúdo desses compostos em comparação com a folha local tratada. No entanto, um diterpeno (também presente na folha jovem), dois ácidos graxos e dois octadecanoides mostraram-se mais abundantes na folha local tratada, sugerindo uma possível indução causada pelo estresse biótico.

4.2.3.4 – Alterações no perfil metabólico das folhas do genótipo PI 407270 após o ataque de *S. frugiperda* (SF)

Para a soja selvagem, observou-se que os três tecidos avaliados foram claramente separados com base na primeira componente principal. As amostras correspondentes à folha velha apresentaram diferenças marcadas em contraste com as folhas jovens. Por sua vez, a segunda componente exibiu pequenas diferenças entre as folhas dos grupos controle em relação às folhas induzidas por SF (FIGURA 4.16a).

No gráfico VIP deste genótipo (FIGURA 4.16b), pode-se observar que os compostos com níveis mais elevados nas folhas jovens, em comparação com as folhas velhas, foram: três ácidos graxos, dois octadecanoides, além de duas naftoquinonas. Por sua vez, cinco flavonoides, a naftoquinona ID_4198 e o derivado de ácido cinâmico ID_632 mostraram-se mais abundantes nas folhas velhas em relação às folhas jovens. Os ácidos graxos apresentaram maior abundância na folha local induzida, enquanto flavonoides e cumarinas sofreram redução após danos por SF.

Na TABELA 4.1 são resumidas as informações químicas dos metabólitos anotados acumulados diferencialmente nos tecidos dos genótipos PI 229358, IAC 100; BRS 257, IAC PL-1 e PI 407270 após ataque de SF, exibidos no gráfico VIP.

FIGURA 4.16 – Gráfico de pontuação PLS-DA (a) e gráfico de importância variável na projeção (VIP) (b) do genótipo PI 407270 (P5). C e I indicam, respectivamente, amostras de controle e induzidas por *S. frugiperda*.

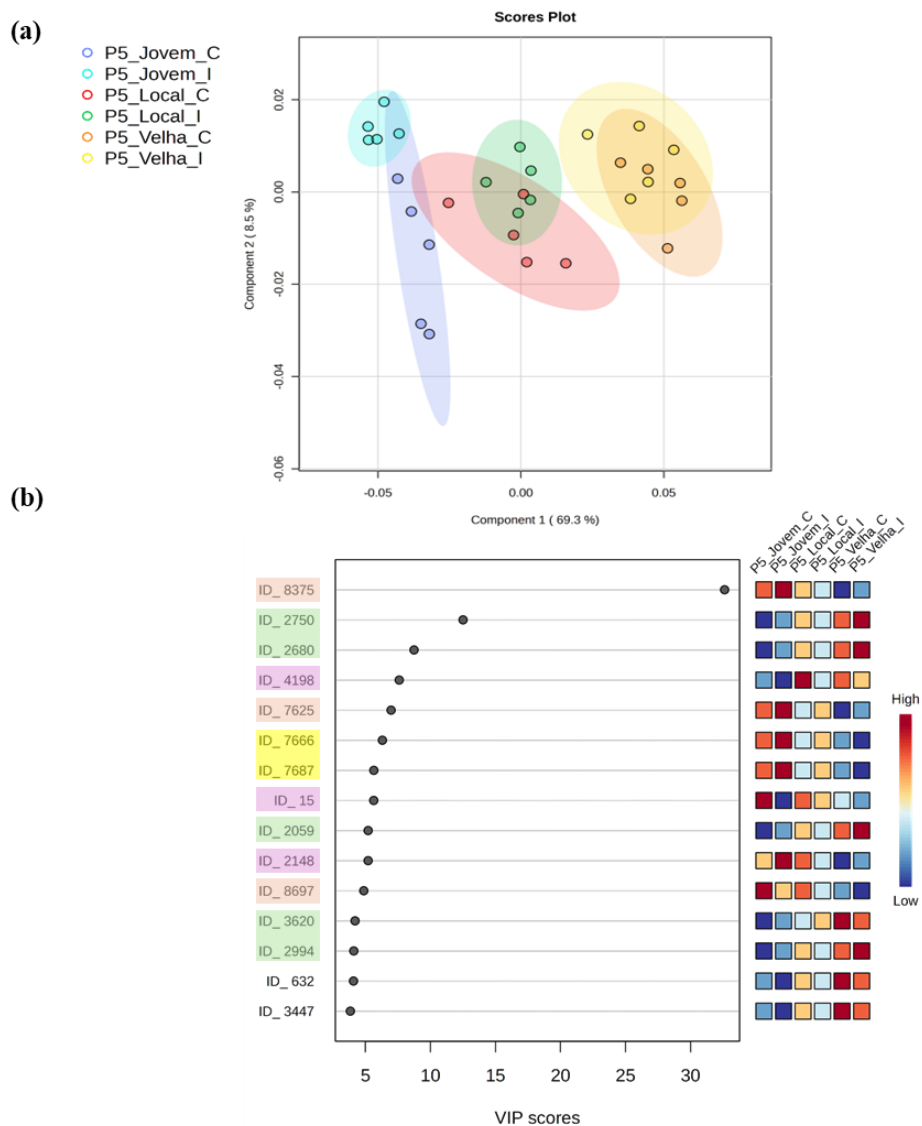


TABELA 4.1 – Metabólitos acumulados diferencialmente (VIP > 3) nas folhas dos genótipos PI 229358, IAC 100, BRS 257, IAC PL-1 e PI 407270 após ataque de *S. frugiperda*, obtidos a partir das análises PLS-DA. Continua

Classe Química	ID	tr (min)	Fórmula Molecular	[M+H] ⁺ Experimental	Erro (ppm)	Presumível metabólito de soja	VIP score
Genótipo PI 229358							
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 7268	14.96	C ₁₃ H ₁₈ O ₂	207.1381	-0.44	Ácido 7-metil-4-metilideno-1,2,3,4,4a,5,6,8a-octa-hidronaftaleno-1-carboxílico	5.44
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 8375	15.73	C ₁₉ H ₃₀ O ₂	291.2325	-2.03	Metil (9Z, 11E, 13E, 15Z)-octadeca-9,11,13,15-tetraenoato	3.22
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 7092	14.89	C ₁₈ H ₂₈ O ₂	277.2164	-0.58	Ácido octadeca-11,15-diinóico	3.02
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 8795	16.04	C ₁₉ H ₃₂ O ₂	293.2475	-0.07	Ácido (10Z, 13Z, 16Z) -nonadeca-10,13,16-trienóico	8.44
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 9046	16.27	C ₁₉ H ₃₀ O ₂	291.2318	0.19	Octadeca-9,11,13,15-tetraenoato de metila	5.20
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 8697	15.96	C ₁₉ H ₃₀ O ₃	307.2271	-0.99	Metil (6Z,8E,12Z,15Z)-10-hidroxiocetadeca-6,8,12,15-tetraenoato	4.22
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 7393	15.06	C ₁₉ H ₂₈ O ₂	289.2162	0.05	Metil (9Z,12Z,15Z)-octadeca-9,12,15-trien-6-inoato	3.42
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 7625	15.20	C ₁₉ H ₃₅ NO ₄	342.2642	-0.83	Ácido 12-carbamoiioxiocetadec-9-enóico	3.97
Cumarinas	ID_ 73	1.15	C ₉ H ₆ O ₃	163.0387	1.58	6-hidroxicromen-2-ona	3.96
Diterpenoides	ID_ 7529	15.13	C ₁₉ H ₃₀ O ₃	307.2270	-0.60	Carbonato de diciclononen-1-il	6.33
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 7416	15.06	C ₁₈ H ₂₆ O ₂	275.2005	0.31	Ácido 3-hex-4-inilideno-6-metilundec-9-inóico	7.85
Flavonoides	ID_ 1685	5.11	C ₃₃ H ₄₀ O ₂₁	773.2128	0.88	Quercetina 3-ramnosil-(1->6)-glucosil-(1->6)-galactosídeo	27.39
Flavonoides	ID_ 4008	11.65	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	287.0549	0.34	Kaempferol	7.24

Continua

Classe Química	ID	tr (min)	Fórmula Molecular	[M+H] ⁺ Experimental	Erro (ppm)	Presumível metabólito de soja	VIP score
Flavonoides	ID_ 1768	5.26	C ₃₃ H ₄₀ O ₂₁	773.2131	0.56	Quercetina 3-(3R-glucosilrutinosídeo)	5.33
Flavonoides	ID_ 2004	5.85	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₇	627.1557	-0.12	Quercetina 3-glucosil-(1->3)-galactosídeo	9.30
Flavonoides	ID_ 2750	7.60	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	611.1608	-0.22	Quercetina 3-O-ramnosídeo 7-O-glicosídeo	3.44
NA	ID_ 538	2.04	C ₉ H ₆ O ₂	147.0438	1.81	NA	3.44
NA	ID_ 372	1.74	C ₉ H ₆ O ₂	147.0438	1.85	NA	9.93
Octadecanoides	ID_ 7267	14.96	C ₁₄ H ₂₂ O ₃	239.1644	-1.00	Metil 2-[(1S,2S)-2-[(2-etilciclopropil)metil]-3-oxociclopentil]acetato	4.02
Octadecanoides	ID_ 6734	14.70	C ₁₈ H ₂₆ O ₃	291.1956	-0.25	Ácido (8Z)-8-[4-oxo-5-[(Z)-pent-2-enil]ciclopent-2-en-1-ilideno]octanóico	3.43
Octadecanoides	ID_ 9042	16.27	C ₁₉ H ₃₂ O ₃	309.2426	-0.59	Metil 13-oxooctadeca-9,11-dienoato	4.67
Octadecanoides	ID_ 8031	15.47	C ₁₉ H ₃₀ O ₄	323.2219	-0.58	Metil 8-[5-(2-hidroxipent-3-en-1-il)-4-oxociclopent-2-en-1-il]octanoato	7.75
Octadecanoides	ID_ 7687	15.22	C ₁₉ H ₃₂ O ₄	347.2195 ^a	-0.57	Ácido 6-[(1R,2S,5R)-2-hidroxi-5-(3-hidroxi-4-inil)ciclopentil]hexanóico	9.65
Triterpenoides	ID_ 4344	12.27	C ₄₈ H ₇₆ O ₂₀	973.4995	0.85	(3beta,5xi,9xi,22beta)-22,24,29-Triidroxi-29-oxoolean-12-en-3-il 6-desoxi-alfa-L-manopiranosil-(1->2)-beta-D-galactopiranosil-(1->2)-beta-D-ácido glicopiranosidurônico	5.70
Triterpenoides	ID_ 5065	13.61	C ₄₈ H ₇₈ O ₁₈	943.5263	-0.20	Soja Saponina I/ Soja Saponina Bb	12.01
Genótipo IAC 100							
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 7268	14.96	C ₁₃ H ₁₈ O ₂	207.1381	-0.44	Ácido 7-metil-4-metilideno-1,2,3,4,4a,5,6,8a-octa-hidronaftaleno-1-carboxílico	3.59
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 7625	15.20	C ₁₉ H ₃₅ NO ₄	342.2642	-0.83	Ácido 12-carbamoiloxioctadec-9-enóico	6.60

Continua

Classe Química	ID	tr (min)	Fórmula Molecular	[M+H] ⁺ Experimental	Erro (ppm)	Presumível metabólito de soja	VIP score
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 8375	15.73	C ₁₉ H ₃₀ O ₂	291.2325	-2.03	Metil (9Z,11E,13E,15Z)-octadeca-9,11,13,15-tetraenoato	27.22
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 7062	14.87	C ₁₉ H ₃₅ NO ₄	342.2642	-0.78	Metil (E)-9-nitrooctadec-9-enoato	3.17
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 7092	14.89	C ₁₈ H ₂₈ O ₂	277.2164	-0.58	Ácido octadeca-11,15-diinóico	11.16
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 8697	15.96	C ₁₉ H ₃₀ O ₃	307.2271	-0.99	Metil (6Z,8E,12Z,15Z)-10-hidroxiocetadeca-6,8,12,15-tetraenoato	3.13
Cumarinas	ID_ 73	1.15	C ₉ H ₆ O ₃	163.0387	1.58	6-hidroxicromen-2-ona	11.30
Diterpenoides	ID_ 7529	15.13	C ₁₉ H ₃₀ O ₃	307.2270	-0.60	Carbonato de diciclononen-1-il	8.64
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 7416	15.06	C ₁₈ H ₂₆ O ₂	275.2005	0.31	Ácido 3-hex-4-inilideno-6-metilundec-9-inóico	3.49
Fenilpropanoides (C6-C3)	ID_ 632	2.21	C ₁₀ H ₈ O ₃	177.0544	1.05	[2-(3-oxoprop-1-enil)fenil] formato	3.99
Flavonoides	ID_ 2750	7.60	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	611.1608	-0.22	Quercetina 3-O-ramnosídeo 7-O-glicosídeo	17.03
Flavonoides	ID_ 2680	7.39	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	611.1609	-0.29	Rutina/ quercetin 3-O-rutinoside	10.68
Flavonoides	ID_ 3151	9.01	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	595.1664	-1.10	Kaempferol-3-O-glicosídeo-7-O-ramnosídeo	5.43
Flavonoides	ID_ 3190	9.08	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₆	625.1765	-0.31	Narcisosídeo/ Isorhamnetina 3-rutinosídeo	4.33
NA	ID_ 372	1.74	C ₉ H ₆ O ₂	147.0438	1.85	NA	3.38
NA	ID_ 538	2.04	C ₉ H ₆ O ₂	147.0438	1.81	NA	3.21
Octadecanoides	ID_ 6734	14.70	C ₁₈ H ₂₆ O ₃	291.1956	-0.25	Ácido (8Z)-8-[4-oxo-5-[(Z)-pent-2-enil]ciclopent-2-en-1-ilideno]octanóico	4.46
Octadecanoides	ID_ 7267	14.96	C ₁₄ H ₂₂ O ₃	239.1644	-1.00	Metil 2-[(1S,2S)-2-[(2-etilciclopropil)metil]-3-oxociclopentil]acetato	3.48

Continua

Classe Química	ID	tr (min)	Fórmula Molecular	[M+H] ⁺ Experimental	Erro (ppm)	Presumível metabólito de soja	VIP score
Octadecanoides	ID_ 8031	15.47	C ₁₉ H ₃₀ O ₄	323.2219	-0.58	Metil 8-[5-(2-hidroxipent-3-en-1-il)-4-oxociclopent-2-en-1-il]octanoato	3.12
Octadecanoides	ID_ 7687	15.22	C ₁₉ H ₃₂ O ₄	347.2195 ^a	-0.58	Ácido 6-[(1R,2S,5R)-2-hidroxi-5-(3-hidroxi-oct-4-inil)ciclopentil]hexanóico	3.91
Triterpenoides	ID_ 5065	13.61	C ₄₈ H ₇₈ O ₁₈	943.5263	-0.20	Soja Saponina I/ Soja Saponina Bb	4.35
Genótipo BRS 257							
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 7268	14.96	C ₁₃ H ₁₈ O ₂	207.1381	-0.44	Ácido 7-metil-4-metilideno-1,2,3,4,4a,5,6,8a-octa-hidronaftaleno-1-carboxílico	4.39
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 7625	15.20	C ₁₉ H ₃₅ NO ₄	342.2642	-0.83	Ácido 12-carbamoilooctadec-9-enóico	6.75
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 8375	15.73	C ₁₉ H ₃₀ O ₂	291.2325	-2.03	Metil (9Z,11E,13E,15Z)-octadeca-9,11,13,15-tetraenoato	31.14
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 7092	14.89	C ₁₈ H ₂₈ O ₂	277.2164	-0.58	Ácido octadeca-11,15-diinóico	5.47
Cumarinas	ID_ 312	1.62	C ₉ H ₆ O ₃	163.0386	2.23	5-hidroxi-1-benzofurano-2-carbaldeído	4.56
Cumarinas	ID_ 73	1.15	C ₉ H ₆ O ₃	163.0387	1.58	6-hidroxicromen-2-ona	11.94
Diterpenoides	ID_ 7529	15.13	C ₁₉ H ₃₀ O ₃	307.2270	-0.60	Carbonato de diciclononen-1-il	5.75
Flavonoides	ID_ 3151	9.01	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	595.1664	-1.10	Kaempferol-3-O-glicosídeo-7-O-ramnosídeo	11.28
Flavonoides	ID_ 2994	8.36	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	595.1664	-1.23	Kaempferol 7-O-rutinosídeo	8.85
Isoflavonoides	ID_ 4484	12.62	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	271.0600	0.39	Genisteína/ 5,7-di-hidroxi-3-(4-hidroxifenil)cromen-4-ona	6.59
NA	ID_ 538	2.04	C ₉ H ₆ O ₂	147.0438	1.81	NA	7.34
NA	ID_ 372	1.74	C ₉ H ₆ O ₂	147.0438	1.85	NA	6.54

Continua

Classe Química	ID	tr (min)	Fórmula Molecular	[M+H] ⁺ Experimental	Erro (ppm)	Presumível metabólito de soja	VIP score
Octadecanoides	ID_ 9042	16.27	C ₁₉ H ₃₂ O ₃	309.2426	-0.59	Metil 13-oxooctadeca-9,11-dienoato	3.44
Octadecanoides	ID_ 7666	15.22	C ₁₉ H ₃₄ O ₅	307.2270 ^e	-0.60	Metil (9S,10E,12S,13S,15Z)-9,12,13-tri-hidroxiocadeca-10,15-dienoato	5.71
Octadecanoides	ID_ 4807	13.32	C ₁₃ H ₂₀ O ₃	225.1484	0.55	Metil jasmonato/Metil 2-[(1R,2R)-3-oxo-2-[(Z)-pent-2-enil]ciclopentil]acetato	3.76
Octadecanoides	ID_ 8031	15.47	C ₁₉ H ₃₀ O ₄	323.2219	-0.58	Metil 8-[5-(2-hidroxipent-3-en-1-il)-4-oxociclopent-2-en-1-il]octanoato	5.20
Octadecanoides	ID_ 7267	14.96	C ₁₄ H ₂₂ O ₃	239.1644	-1.00	Metil 2-[(1S,2S)-2-[(2-etilciclopropil)metil]-3-oxociclopentil]acetato	5.33
Octadecanoides	ID_ 7687	15.22	C ₁₉ H ₃₂ O ₄	347.2195 ^a	-0.57	Ácido 6-[(1R,2S,5R)-2-hidroxi-5-(3-hidroxiocet-4-inil)ciclopentil]hexanoico	3.35
Pequenos Peptídeos	ID_ 15	1.07	C ₉ H ₁₁ NO ₂	166.0861	1.22	L-fenilalanina/Ácido (2S)-2-amino-3-fenilpropanoico	4.06
Triterpenoides	ID_ 5065	13.61	C ₄₈ H ₇₈ O ₁₈	943.5263	-0.20	Soja Saponina I/ Soja Saponina Bb	6.00
Genótipo IAC PL-1							
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 7268	14.96	C ₁₃ H ₁₈ O ₂	207.1381	-0.44	Ácido 7-metil-4-metilideno-1,2,3,4,4a,5,6,8a-octa-hidronaftaleno-1-carboxílico	4.90
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 7625	15.20	C ₁₉ H ₃₅ NO ₄	342.2642	-0.83	Ácido 12-carbamoiloxioctadec-9-enóico	4.76
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 8375	15.73	C ₁₉ H ₃₀ O ₂	291.2325	-2.03	Metil (9Z,11E,13E,15Z)-octadeca-9,11,13,15-tetraenoato	29.95
Cumarinas	ID_ 73	1.15	C ₉ H ₆ O ₃	163.0387	1.58	6-hidroxicromen-2-ona	9.38
Diterpenoides	ID_ 7529	15.13	C ₁₉ H ₃₀ O ₃	307.2270	-0.60	Carbonato de diciclononen-1-il	5.75
Fenilpropanoides (C6-C3)	ID_ 632	2.21	C ₁₀ H ₈ O ₃	177.0544	1.05	[2-(3-oxoprop-1-enil)fenil] formato	3.05

Continua

Classe Química	ID	tr (min)	Fórmula Molecular	[M+H] ⁺ Experimental	Erro (ppm)	Presumível metabólito de soja	VIP score
Flavonoides	ID_ 2018	5.87	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	303.0496	0.87	Quercetina/2-(3,4-di-hidroxifenil)-3,5,7-tri-hidroxicromen-4-ona	3.07
Flavonoides	ID_ 2004	5.85	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₇	627.1557	-0.12	Quercetina 3-glucosil-(1->3)-galactosídeo	20.27
Flavonoides	ID_ 2538	7.02	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	611.1610	-0.54	Panasenosídeo/ Kaempferol 3-O-Beta-D-Glucosilgalactosídeo	11.62
Flavonoides	ID_ 1924	5.71	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₇	627.1555	0.12	Quercetina 3,4'-O-diglucosídeo	6.46
NA	ID_ 372	1.74	C ₉ H ₆ O ₂	147.0438	1.85	NA	7.56
NA	ID_ 538	2.04	C ₉ H ₆ O ₂	147.0438	1.81	NA	6.59
Octadecanoides	ID_ 7267	14.96	C ₁₄ H ₂₂ O ₃	239.1644	-1.00	Metil 2-[(1S,2S)-2-[(2-etilciclopropil)metil]-3-oxociclopentil]acetato	4.75
Octadecanoides	ID_ 7687	15.22	C ₁₉ H ₃₂ O ₄	347.2195 ^a	-0.57	Ácido 6-[(1R,2S,5R)-2-hidroxi-5-(3-hidroxi-4-inil)ciclopentil]hexanoico	3.81
Triterpenoides	ID_ 5065	13.61	C ₄₈ H ₇₈ O ₁₈	943.5263	-0.20	Soja Saponina I/ Soja Saponina Bb	3.15
Genótipo PI 407270							
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 7625	15.20	C ₁₉ H ₃₅ NO ₄	342.2642	-0.83	Ácido 12-carbamoilooctadec-9-enóico	6.98
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 8375	15.73	C ₁₉ H ₃₀ O ₂	291.2325	-2.03	Metil (9Z,11E,13E,15Z)-octadeca-9,11,13,15-tetraenoato	32.62
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 8795	16.04	C ₁₉ H ₃₂ O ₂	293.2475	-0.07	Ácido (10Z,13Z,16Z) -nonadeca-10,13,16-trienóico	3.21
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 8697	15.96	C ₁₉ H ₃₀ O ₃	307.2271	-0.99	Metil (6Z,8E,12Z,15Z)-10-hidroxi-10,12,15-tetraenoato	4.87
Aminoácidos glicosídeos	ID_ 805	2.67	C ₁₅ H ₂₁ NO ₈	344.1338	0.51	Bauhinin/(2Z)-2-[(4R,5S,6S)-5-hidroxi-4-metoxi-6-[(2R,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihidroxi-6-(hidroximetil)oxan-2-il]oxiciclohex-2-en-1-ilideno]acetonitrila	3.26

Conclusão

Classe Química	ID	tr (min)	Fórmula Molecular	[M+H] ⁺ Experimental	Erro (ppm)	Presumível metabólito de soja	VIP score
Fenilpropanoides (C6-C3)	ID_ 632	2.21	C ₁₀ H ₈ O ₃	177.0544	1.05	[2-(3-oxoprop-1-enil)fenil] formato	4.08
Flavonoides	ID_ 2680	7.39	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	611.1609	-0.29	Rutina/ Quercetin 3-O-rutinoside	8.74
Flavonoides	ID_ 2059	5.96	C ₃₃ H ₄₀ O ₂₀	757.2183	0.43	Quercetina 3-ramnosil-(1->4)-ramnosil-(1->6)-glicosídeo	5.21
Flavonoides	ID_ 2750	7.60	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	611.1608	-0.22	Quercetina 3-O-ramnosídeo 7-O-glicosídeo	12.51
Flavonoides	ID_ 2994	8.36	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	595.1664	-1.23	Kaempferol 7-O-rutinosídeo	4.11
Isoflavonoides	ID_ 3620	10.52	C ₂₄ H ₂₂ O ₁₃	519.1137	-0.83	Malonilgenistina	4.21
Cumarinas	ID_ 4198	11.96	C ₉ H ₆ O ₂	147.0439	1.48	3-(3-hidroxifenil)propa-1,2-dien-1-ona	7.60
Cumarinas	ID_ 2148	6.18	C ₉ H ₆ O ₂	147.0438	2.13	Cumarina/Cromeno-2-ona	5.21
Cumarinas	ID_ 4106	11.85	C ₉ H ₆ O ₂	147.0438	1.79	3-(4-hidroxifenil)propa-1,2-dien-1-ona	3.69
Octadecanoides	ID_ 6734	14.70	C ₁₈ H ₂₆ O ₃	291.1956	-0.25	Ácido (8Z)-8-[4-oxo-5-[(Z)-pent-2-enil]ciclopent-2-en-1-ilideno]octanóico	3.29
Octadecanoides	ID_ 7666	15.22	C ₁₉ H ₃₄ O ₅	307.2270 ^e	-0.60	Metil (9S,10E,12S,13S,15Z)-9,12,13-tri-hidroxiocetadeca-10,15-dienoato	6.31
Octadecanoides	ID_ 7687	15.22	C ₁₉ H ₃₂ O ₄	347.2195 ^a	-0.57	Ácido 6-[(1R,2S,5R)-2-hidroxi-5-(3-hidroxiocet-4-inil)ciclopentil]hexanóico	5.647
Pequenos Peptídeos	ID_ 15	1.07	C ₉ H ₁₁ NO ₂	166.0861	1.22	L-fenilalanina/Ácido (2S)-2-amino-3-fenilpropanóico	5.64
Policetídeos cíclicos	ID_ 7066	14.88	C ₁₉ H ₃₀ O ₄	323.2220	-0.95	2,5-dimetoxi-3-undecilciclohexa-2,5-dieno-1,4-diona	3.10

a, b, c, d, e valor correspondente ao aduto [M+Na]⁺, [M+K]⁺, [M+H₃N+H]⁺, [M-H₂O+H]⁺ e [M-H₄O₂+H]⁺, respectivamente.

Com base nas diferenças observadas na análise PLS-DA, o gráfico de *volcano* foi utilizado para anotar os metabólitos que diferiam significativamente entre o grupo controle e o grupo induzido por SF para os três tipos de folhas estudados de forma independente (ver FIGURA 4.17 e FIGURA A.4). Para isso, foram considerados como pontos de interesse aqueles que aparecem mais próximos do topo e mais distantes do centro, ou seja, aqueles que apresentam alta significância estatística e acentuada variação de magnitude.

Além disso, para quantificar esses resultados de forma mais rigorosa, os compostos candidatos foram definidos como regulados positiva ou negativamente de forma significativa se sua expressão excedesse um limite de *fold change* (FC) de 2 com um FDR ($p < 0,05$).

Esses parâmetros “Altamente Significativos”, resultaram em 2000 metabólitos (para cada genótipo), dos quais 14, 18, 183, 2 e 18 foram induzidos após a injúria por SF nos genótipos PI 229358, IAC 100, BRS 257, IAC PL-1 e PI 407270, respectivamente. Na TABELA A.4, são resumidos os metabólitos diferenciais que foram induzidos após ataque de SF, obtidos a partir dos gráficos de *volcano*. Também, estão devidamente classificados de acordo com o genótipo e tipo de tecido onde foram induzidos.

Os genótipos PI 229358 e PI 407270 mostraram indução de compostos unicamente na folha local, conforme mostrado na FIGURA 4.17a e FIGURA 4.17g, respectivamente. Para PI 229358, os compostos responsáveis pelas alterações após o ataque de SF foram: cinco ácidos graxos; o glicerolípídeo ID_ 6349; o feniletanoide ID_ 186; e o ácido fenólico ID_ 189, que foram regulados positivamente. Por outro lado, os ácidos graxos ID_ 7122 e ID_ 6417, os terpenoides ID_ 8561 e ID_ 7120, e o glicerolípídeo ID_ 7136 sofreram regulação negativa (ver também a TABELA A.4).

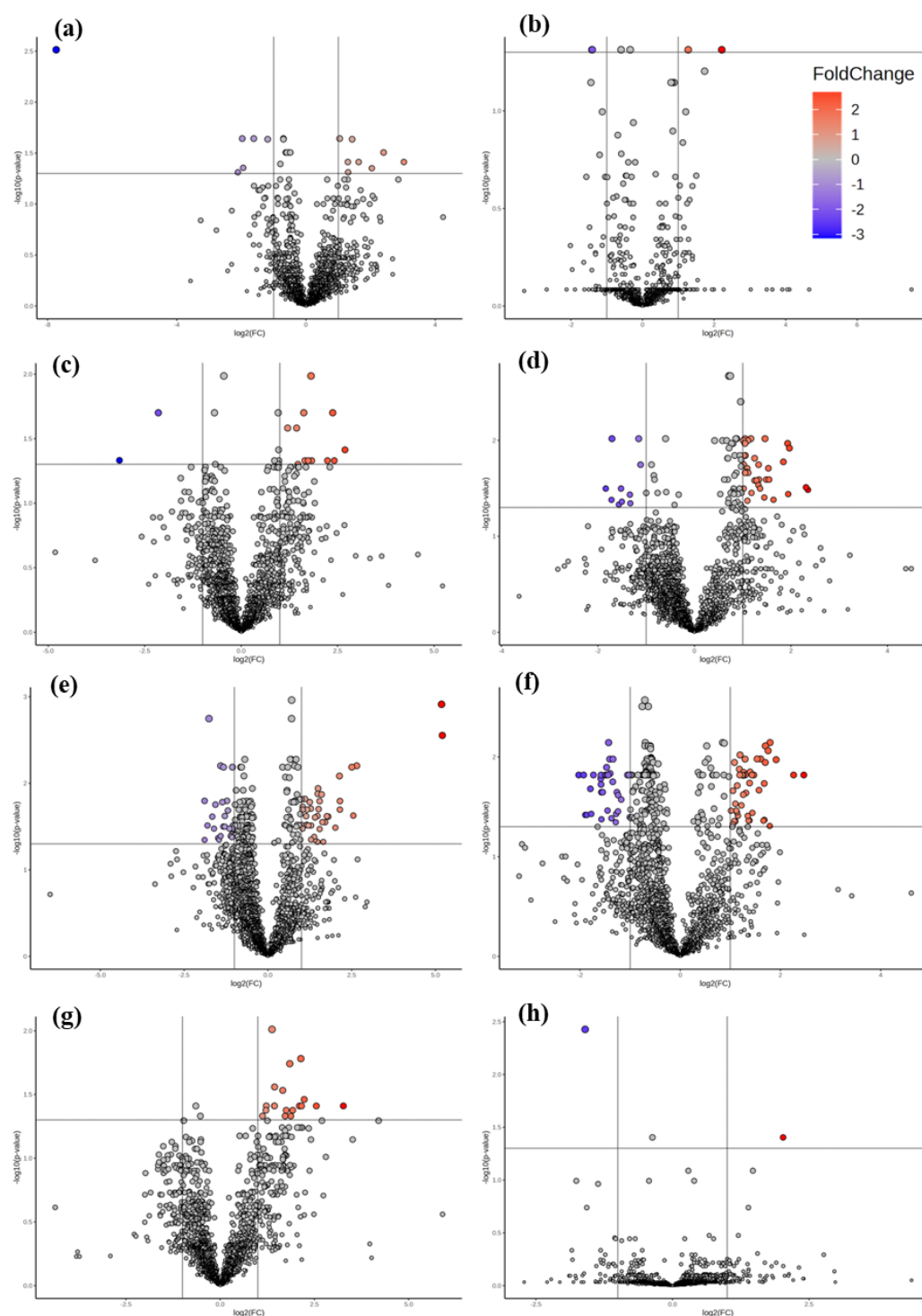
Por sua vez, a soja selvagem (PI 407270) apresentou aumentos nos níveis de sete ácidos graxos; três octadecanoides; dois sesquiterpenos; dos compostos não anotados ID_ 8487, ID_ 6909 e ID_ 7105; um esteroide; um glicerolípido; e uma lignana (FIGURA 4.17g e TABELA A.4).

O genótipo IAC 100 apresentou aumentos nos níveis de quatro ácidos graxos; dois eicosanoides; dois terpenoides; um octadecanoide; um policetídeo; um alcaloide; e do composto ID_ 6833 (na folha local). Além disso, houve aumento de um terpeno e um octadecanoide (na folha jovem). Os compostos ID_ 3448 e ID_ 2660 apresentaram redução na folha local, enquanto dois terpenoides tiveram diminuição na folha jovem após indução (FIGURA 4.17c e b, ver também TABELA A.4).

A cultivar BRS 257 apresentou regulações positivas em seus três tipos de folhas, principalmente em compostos pertencentes aos ácidos graxos e terpenoides. De maneira semelhante, alguns ácidos graxos (folha velha e folha jovem), terpenoides (folha local e folha jovem) e peptídeos (folha local), apresentaram regulações negativas nessa cultivar (ver TABELA A.4). Por sua vez, a cultivar IAC PL-1 apresentou apenas uma alteração positiva e uma negativa na folha velha, referentes ao ácido dodecanodióico (ID_ 6627) e ao ácido (2S)-5-[2-[2-[5-[2-[2-(butilamino)-2-oxoetoxi]etoxi]-2-oxopentoxi]etoxi]etilamino]-2-[[[(17Z)-17-hidrazinil-17-hidrazinilidenoheptadecanoil]amino]-5-oxopentanóico (ID_ 8573), respectivamente.

Os resultados da análise PLS-DA e do gráfico de *volcano* indicam alterações no metabolismo primário e secundário das variedades de soja em resposta ao ataque de SF. Entre os metabólitos primários, destacaram-se compostos da classe dos ácidos graxos, incluindo ácidos graxos insaturados, octadecanoides, eicosanoides, ésteres graxos, esteroides e glicerolídeos. Já entre os metabólitos secundários, terpenos, cumarinas e flavonoides foram identificados como relevantes. Esses achados sugerem padrões comuns de resposta das variedades de soja ao estresse ocasionado pelo ataque de SF.

FIGURA 4.17 – Gráfico de *volcano* exibindo diferenças nas alterações metabólicas entre tecidos de soja injuriados por *S. frugiperda* e tecidos de soja sob condições constitutivas. Folha local de PI 229358 (a); folha jovem (b) e folha local (c) de IAC 100; folha velha (d), folha local (e) e folha jovem (f) de BRS 257; folha local de PI 407270 (g) e folha velha de IAC PL-1 (h). Cada ponto representa um metabólito cuja regulação detectável foi positiva (vermelho), negativa (azul) ou não significativa (cinza) após ataque de *S. frugiperda*.



Foram observadas diferenças na diversidade e nos níveis de metabólitos entre as folhas jovens e velhas; isso se verifica em cada genótipo sob condições constitutivas. Folhas jovens exibiram níveis maiores de ácidos graxos insaturados, octadecanoides e diterpenos, enquanto folhas velhas continham mais flavonóis e triterpenos.

Após o ataque de SF, diversos compostos foram regulados positivamente, principalmente nas folhas locais e jovens das variedades resistentes e da soja selvagem. As folhas jovens, por serem mais vulneráveis à herbivoria, exibiram defesas induzidas mais robustas em comparação com as folhas velhas. Essas mudanças na abundância de metabólitos nas folhas jovens e velhas sugerem a ativação de mecanismos sistêmicos em resposta ao ataque de SF. As folhas locais mostraram diferenças marcantes entre os grupos controle e tratado, possivelmente devido aos danos diretos às barreiras estruturais dos tecidos, resultando em respostas defensivas.

Embora não tenha sido identificado um padrão uniforme na alteração de ácidos graxos após a indução por SF entre genótipos, alguns compostos, destacaram-se por sua presença nas variedades resistentes e por serem regulados de maneira diferenciada entre os tecidos analisados. Os ácidos graxos são considerados blocos de construção para a maioria dos lipídios celulares, sendo essenciais para a função da membrana em respostas ao estresse, além de contribuírem para o crescimento e desempenho da planta¹⁵⁰. Eles também participam da geração de oxilipinas e da biossíntese do ácido jasmônico, um hormônio chave na defesa vegetal, atuando como sinalizadores na resposta da planta ao ataque.

O ácido 3-hex-4-enilideno-6-metilundec-9-inoico (ID_7416) apresentou padrões distintos entre os genótipos resistentes de soja. Foi mais abundante nas folhas local e velha de IAC 100, enquanto seu nível diminuiu em PI 229358 após o ataque de SF (Ver TABELA 4.1). Esse composto pertence à

classe dos ácidos acetilênicos, caracterizados por conter ligações triplas e serem instáveis quimicamente¹⁵¹.

Moléculas desse tipo já foram associadas à resistência contra patógenos devido às suas propriedades antimicrobianas, antifúngicas e inseticidas^{152–156}. Os níveis elevados de ID_7416 na folha local de IAC 100 sugerem que ele pode desempenhar um papel relevante na defesa dessa cultivar, possivelmente como um mecanismo adaptativo contra herbivoria.

O ácido (10Z,13Z,16Z)-nonadeca-10,13,16-trienóico (ID_8795) apresentou variações nos genótipos estudados, sendo regulado positivamente em todos os tecidos da soja selvagem, mas reduzido em PI 229358. Esse ácido graxo poliinsaturado integra os lipídios da membrana celular e desempenha funções estruturais e adaptativas frente a estresses bióticos e abióticos¹⁵⁷.

A redução de ácidos graxos trienoicos nas membranas do cloroplasto pode aumentar a tolerância a altas temperaturas e a resistência a patógenos¹⁵⁸, embora estudos com *Arabidopsis thaliana* tenham demonstrado que mutações comprometendo a produção destes compostos tornam as plantas suscetíveis a infecções¹⁵⁷. Assim, o papel defensivo de esses metabólitos parece depender do tipo de estresse e do genótipo, exigindo mais estudos para esclarecer a função de ID_8795 PI 229358 e na soja selvagem.

Os metabólitos ID_6734 e ID_8697 foram induzidos na soja selvagem e variedades resistentes. O ácido (8Z)-8-[4-oxo-5-[(Z)-pent-2-enil]ciclopent-2-en-1-ilideno]octanóico (ID_6734), um fitoprostano pertencente à classe das oxilipinas, foi regulado positivamente em todos os tecidos, exceto nas folhas jovens de PI 229358 e PI 407270. Fitoprostanos são lipídios oxidados gerados durante o estresse oxidativo e atuam como reguladores do crescimento, desenvolvimento e defesa das plantas^{159,160}.

Alguns fitoprostanos desencadeiam respostas de desintoxicação e induzem a produção de fitoalexinas, metabólitos secundários antimicrobianos que aumentam a tolerância ao estresse biótico¹⁶¹. Além disso, estudos indicam que

esses compostos podem funcionar como biomarcadores de estresse oxidativo, como observado em plantas de melão submetidas a estresse térmico¹⁶².

O composto ID_8697, um éster metílico de ácidos graxos hidroxilados, possível constituinte da cutina, apresentou regulação diferenciada após injúria por SF: foi reduzido na soja selvagem e na cultivar IAC 100, enquanto PI 229358 apresentou aumento desse composto em seus tecidos. A superfície das plantas, protegida por ceras cuticulares hidrofóbicas, desempenha funções essenciais contra estresses ambientais e ataques biológicos, além de atuar na sinalização de defesa. A composição química da cera varia conforme a espécie, o estágio de desenvolvimento e o estado fisiológico, influenciando aspectos como locomoção e alimentação dos insetos, além da aceitação do hospedeiro para oviposição^{163,164}.

Por exemplo, RACOVITA et al.¹⁶⁵ analisaram o perfil químico das misturas lipídicas que revestem as folhas de *Aloe arborescens*, identificando ácidos graxos 3-hidroxi e seus ésteres metílicos. Esses compostos foram isolados e testados quanto à atividade antioxidante, antibacteriana e anticolinesterásica. Os testes mostraram que ambos apresentaram efeito antioxidante e inibição contra *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, sendo que o ácido graxo hidroxilado demonstrou maior atividade, possivelmente devido ao grupo carboxílico livre¹⁶⁶.

Com base no exposto anteriormente, pode-se inferir que a indução de ácidos graxos na soja é um processo bastante complexo e que evidencia a importância dessas substâncias na adaptação morfológica e fisiológica das plantas, bem como seu papel como moléculas de sinalização que promovem resistência ou suscetibilidade a ameaças bióticas. Em outras palavras, os ácidos graxos desempenham um papel crucial na regulação das respostas de defesa das plantas e podem atuar como biomarcadores de estresse oxidativo causado pelos danos de SF em genótipos de soja.

Após o ataque de SF, houve aumento de sesquiterpenos e diterpenos nos tecidos das plantas, enquanto os triterpenos foram reduzidos. Alguns sesquiterpenos e diterpenos estão associados aos sintomas de ferrugem, além de influenciarem o crescimento, a nodulação da raiz e a fotoproteção da soja¹⁶⁷⁻¹⁶⁹. YU et al.¹⁷⁰ analisaram o conteúdo de terpenoides nos tegumentos e cotilédones de sementes de soja. Foi observado que os genótipos cultivados apresentavam níveis maiores de diterpenoides, associados ao sabor e à germinação, enquanto a soja selvagem possuía maior abundância de triterpenoides, relacionados à resistência e à formação de cera.

Embora a maioria dos triterpenos foi regulada negativamente nos genótipos de soja analisados, o triterpenoide oleanano ID_4344 e a soja saponina I (ID_5065) apresentaram aumento na cultivar PI 229358. Esses compostos possuem efeitos antialimentares contra *Spodoptera litura*, prolongando seu desenvolvimento e aumentando a mortalidade larval e pupal^{171,172}.

De forma semelhante, YANG et al.¹⁷³, demonstraram que a β -amirina e o ácido oleanólico reduziram significativamente a massa larval de *Manduca sexta*. Triterpenoides glicosilados também exibem forte atividade dissuasiva contra herbívoros e apresentam efeitos inseticidas contra nematoides¹⁷⁴, besouros¹⁷⁵ e pulgões¹⁷⁶, sugerindo seu papel defensivo nas plantas.

Os compostos ID_4198, ID_2148 e ID_312 (BRS 257), pertencentes às cumarinas, foram induzidos após injúria por SF. Enquanto a naftoquinona 3-(3-hidroxifenil)propa-1,2-dien-1-ona (ID_4198) apresentou redução em todos os tecidos da soja selvagem, a cumarina (ID_2148) aumentou nas folhas velha e jovem. Em contraste, o 5-hidroxi-1-benzofurano-2-carbaldeído (ID_312) foi regulado negativamente na folha local e velha de BRS 257.

As cumarinas, produzidas pela via fenilpropanoide, desempenham papéis essenciais na defesa vegetal¹⁷⁷, atuando como toxinas, ativadores de respostas defensivas e inibidores alimentares, prejudicando o metabolismo dos herbívoros e diminuindo seu crescimento, desenvolvimento e reprodução¹⁷⁸. Por

exemplo, foi observado que a cumarina apresentou efeito inseticida e inibidor de peso em lagartas de *Hyphantria cunea*¹⁷⁹. Adicionalmente, CORZO et al.¹⁸⁰ avaliaram a atividade de algumas cumarinas contra lagartas de SF. Os resultados indicaram que estes metabólitos causaram mortalidade de pupas, deformidades em adultos e atividade reguladora de crescimento de insetos, com efeitos altamente significativos.

Os flavonoides desempenharam um papel importante na defesa dos genótipos estudados contra SF, atuando como antioxidantes e diferenciadores metabólicos. A quercetina 3-(3R-glucosilrutinosídeo) (ID_1768) foi expressa exclusivamente na cultivar PI 229358, aumentando na folha local e jovem após o ataque, enquanto foi reduzida na folha velha. Esses compostos influenciam a palatabilidade foliar e a longevidade dos herbívoros¹⁸¹. Estudos indicam que danos causados pelo besouro *Popillia japonica* elevaram as concentrações de triglicosídeos de quercetina¹⁸², sugerindo que tais flavonoides podem estar envolvidos na defesa contra herbívoros.

Na cultivar IAC 100, a isorhamnetina 3-rutinosídeo (ID_3190) apresentou uma regulação diferenciada após injúria por SF, com redução nas folhas jovem e local e um leve aumento na folha velha. Esse flavonol O-metilado, derivado da quercetina, é descrito como um possível fotoprotetor em soja exposta à radiação UV¹⁸³. Estudos indicam que a produção de flavonóis, como rutina e isorhamnetina rutinosídeo, é uma característica genética constitutiva de cultivares resistentes, como IAC 17 e IAC 100¹⁸⁴. Além disso, a isorhamnetina 3-rutinosídeo aumentou após infecção fúngica¹⁸⁵ e demonstrou capacidade de inibir o crescimento do patógeno *Fusarium proliferatum*¹⁸⁶.

A soja selvagem apresentou indução dos flavonoides quercetina 3-ramnosil-(1->4)-ramnosil-(1->6)-glicosídeo (ID_2059) e malonilgenistina (ID_3620) na folha jovem, enquanto o diglicosídeo de quercetina ID_2750 foi regulado positivamente na folha jovem de PI 229358, IAC 100 e na soja selvagem. O flavonol rutina (ID_2680) também teve aumento nas folhas jovem e velha da

soja selvagem e da cultivar IAC 100. Flavonoides são essenciais na resistência constitutiva e induzida da soja, com conjugados de quercetina, kaempferol e genisteína desempenhando papéis defensivos contra *Anticarsia gemmatilis*¹⁸⁷.

Genótipos resistentes de soja apresentam folhas ricas em derivados de quercetina, como a rutina, e genisteína, compostos associados à defesa contra lagartas, aumentando sua mortalidade e inibindo o crescimento^{17,24,123,188,189}. BENTIVENHA et al.¹⁰² verificaram que cultivares como PI 229358 e IAC 100 exibiram antibiose e resistência induzida contra *Piezodorus guildinii*. Além disso, um triglicosídeo de quercetina (ID_2059), detectado na soja selvagem, foi isolado pela primeira vez da cultivar de soja “Clark”, amplamente usada como progenitora nos EUA¹⁹⁰.

A malonilgenistina aumentou após ataque de *Caliothrips phaseoli*, afetando o desempenho dos tripes e sua preferência alimentar¹⁰⁴. Estudos indicam que diglicosídeos e triglicosídeos de kaempferol e quercetina são relevantes na defesa contra *Popillia japonica*¹⁰³, e que a radiação solar UV-B influencia a resistência da soja contra *Anticarsia gemmatilis*, alterando os níveis de triglicosídeos de quercetina e kaempferol.

A indução dos metabólitos ID_6734, ID_8697 e ID_2750 após injúria por SF reforça a proximidade entre as variedades resistentes e a soja selvagem, conforme indicado pela análise de PCA e pelo mapa de calor. A cultivar IAC 100 originada do cruzamento de IAC 78/2318 e IAC 12, tem como genitor a PI 229358¹⁹¹, estabelecendo uma relação genética corroborada por estudos com base na produção de flavonóis¹⁸⁴. Esse vínculo sugere que tais genótipos são valiosas fontes genéticas para pesquisas sobre resistência a insetos.

Vários autores relataram que os níveis constitutivos de alguns conjugados das classes quercetina, kaempferol e isorhamnetina são os mais abundantes nas folhas de certos genótipos de soja e podem desempenhar um papel relevante na resistência à herbivoria^{12,187}. Dessa forma, podemos sugerir que muitos dos flavonoides detectados nas distintas variedades de soja estudadas neste

trabalho podem ser fatores importantes que conferem resistência a diversos tipos de estresses.

Nas cultivares suscetíveis analisadas, verificou-se a regulação de flavonoides após o ataque de SF. A cultivar IAC PL-1 demonstrou menor responsividade ao ataque, apresentando regulações negativas de flavonoides. Apesar disso, exibiu altos níveis constitutivos de flavonóis do tipo kaempferol e quercetina em seu perfil metabólico.

Em contraste, a BRS 257 foi o genótipo mais responsivo; no entanto, os metabólitos induzidos pertenciam majoritariamente às classes dos ácidos graxos e terpenos. Compostos da classe quercetina estavam praticamente ausentes em seu perfil metabólico e não foram induzidos após injúria causada por SF. Esse achado sugere que, após cruzamentos sucessivos, compostos secundários responsáveis pelas defesas da planta foram reduzidos.

Algumas das substâncias com propriedades defensivas já mencionadas sofreram uma diminuição na abundância nos tecidos dos genótipos após os danos causados por SF. É possível que a regulação negativa dos metabólitos observada nos genótipos seja ocasionada por um ajuste metabólico induzido por fitohormônios, como o ácido jasmônico, relacionado à defesa ou ao processo de senescência. Assim, o aumento de alguns compostos do metabolismo primário também pode ser justificado como um mecanismo da planta para concentrar o gasto de energia na produção de metabólitos, que desempenham um papel crucial nas reações de defesa do hospedeiro.

Os genótipos PI 229358 e IAC 100 apresentaram características de resistência acentuadas e foram considerados fontes inadequadas para o desenvolvimento de SF, de acordo com os resultados dos ensaios biológicos previamente relatados. É possível que a cultivar IAC 100, além de exibir respostas de defesa induzidas por SF, também apresente resistência constitutiva frente ao inseto. Esse efeito se evidencia pelas altas taxas de mortalidade, pelo aumento na

duração do estágio larval, pela redução do peso larval e pela diminuição do consumo alimentar do inseto, conforme observado nos testes biológicos.

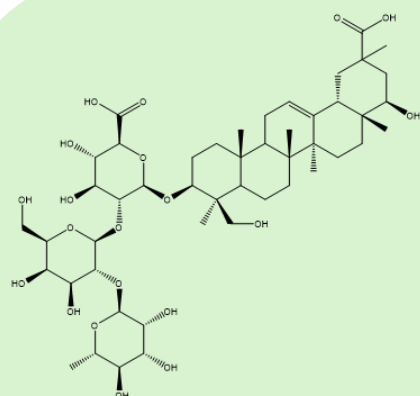
Os flavonoides ID_1768, ID_2059, ID_2750, ID_2680 e ID_3620, o triterpenoide ID_4344, a cumarina ID_2148, os ácidos graxos ID_8697, ID_7416 e ID_7625, além dos fitoprostanos ID_6734 e ID_7687, detectados nas variedades resistentes e na soja selvagem, parecem ser compostos específicos expressos em resposta à injúria causada por SF. O anterior sugere que tais metabólitos podem desempenhar um papel na resistência desses genótipos à praga. No entanto, para validar suas funções defensivas, são necessários ensaios adicionais que envolvam genótipos resistentes de soja expostos a SF, juntamente com testes de toxicidade.

Embora esses compostos tenham sido detectados no perfil metabólico das variedades estudadas, observou-se variação na diversidade, nos níveis de expressão e nos tecidos onde foram alocados. Esses resultados indicam diferenças na resposta ao estresse entre os genótipos analisados e sugerem que determinados metabólitos podem ter efeitos distintos dependendo da variedade. Para compreender melhor a importância desses compostos no metabolismo da soja, assim como suas possíveis funções como reguladores do estresse biótico e seus mecanismos de ação, estudos adicionais são necessários.

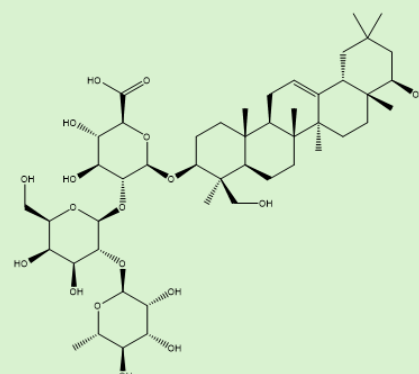
4.2.4 – Análise de diferença de biomarcadores entre genótipos

Com base nos resultados obtidos nas análises PLS-DA, 16 metabólitos foram anotados e selecionados como possíveis biomarcadores de resistência contra SF, incluindo os ácidos graxos ID_7416, ID_8697, ID_8795, ID_7092, ID_7625; os octadecanoides ID_6734, ID_7687; os terpenoides ID_4344, ID_5065; os flavonoides ID_1768, ID_2750, ID_2680, ID_2059, ID_3190, ID_3620; e a cumarina ID_2148 (ver FIGURA 4.18, FIGURA A.5 - FIGURA A.10). Todos mostraram diferenças significativas em seus níveis constitutivos ou sofreram alterações após injúria por SF quando comparados entre genótipos. Isso confirma os resultados observados na análise PLSDA.

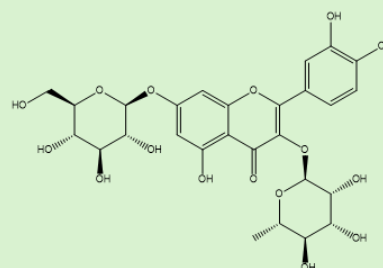
FIGURA 4.18 – Metabólitos selecionados como possíveis biomarcadores de resistência contra *S. frugiperda* presentes nas folhas de soja



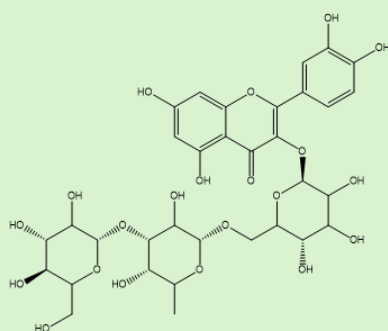
(3b,5xi,9xi,22b)-22,24,29-Triidroxil-29-oxoolean-12-en-3-il 6-desoxi-a-L-manopiranosil-(1->2)-b-D-galactopiranosil-(1->2)-b-D-ácido glicopiranosidurônico (ID_4344)



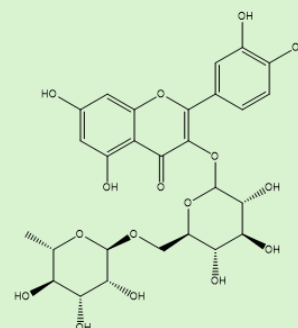
Soja Saponina I (ID_5065)



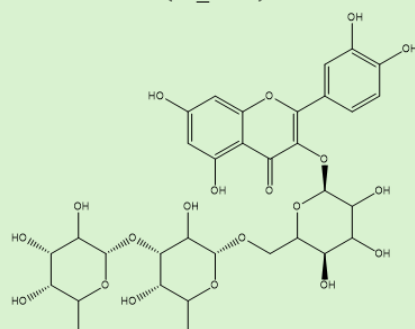
Quercetina 3-O-ramnosídeo 7-O-glicosídeo (ID_2750)



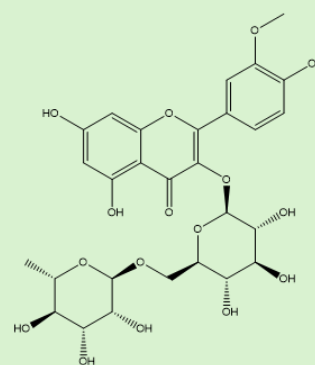
Quercetina 3-(3R-glucosilrutinosídeo) (ID_1768)



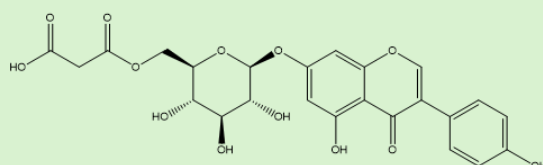
Rutina (ID_2680)



Quercetina 3-ramnosil-(1->4)-ramnosil-(1->6)-glicosídeo (ID_2059)



Isorhamnetina 3-rutinosídeo (ID_3190)



Malonilgenistina (ID_3620)

Os resultados indicaram que os ácidos graxos ID_7416, ID_8697, ID_7092 e os octadecanoides ID_7687, ID_6734 estavam em maior abundância constitutiva nas folhas dos genótipos IAC 100 e/ou PI 229358 em contraste com os outros genótipos. De forma similar, verificou-se que o terpenoide ID_4344 e os flavonoides ID_2750, ID_2680, ID_3190 e ID_1768 apresentavam níveis constitutivos mais elevados em IAC 100, PI 229358 e/ou na soja selvagem, quando comparados com as variedades suscetíveis (ver FIGURA A.11 e FIGURA A.12).

Também foram observadas algumas diferenças entre amostras controle e injuriadas por SF, destacando-se o aumento na indução dos ácidos graxos ID_8795 e ID_7092 nas folhas de IAC 100 e/ou da soja selvagem. Por sua vez, a cultivar PI 229358 e, em algumas ocasiões, a soja selvagem se caracterizaram por apresentar aumentos nos níveis dos flavonoides ID_2750, ID_2680, ID_3620, ID_2059, ID_1768 e ID_3190 após injúria por SF. Esses resultados sugerem ainda mais que esses metabólitos podem ser biomarcadores potenciais associados à resistência da soja contra a injúria de SF (ver FIGURA 4.18 e FIGURAS A.5, A.7 e A.8).

4.3 – Análise nutricional das folhas de genótipos de soja

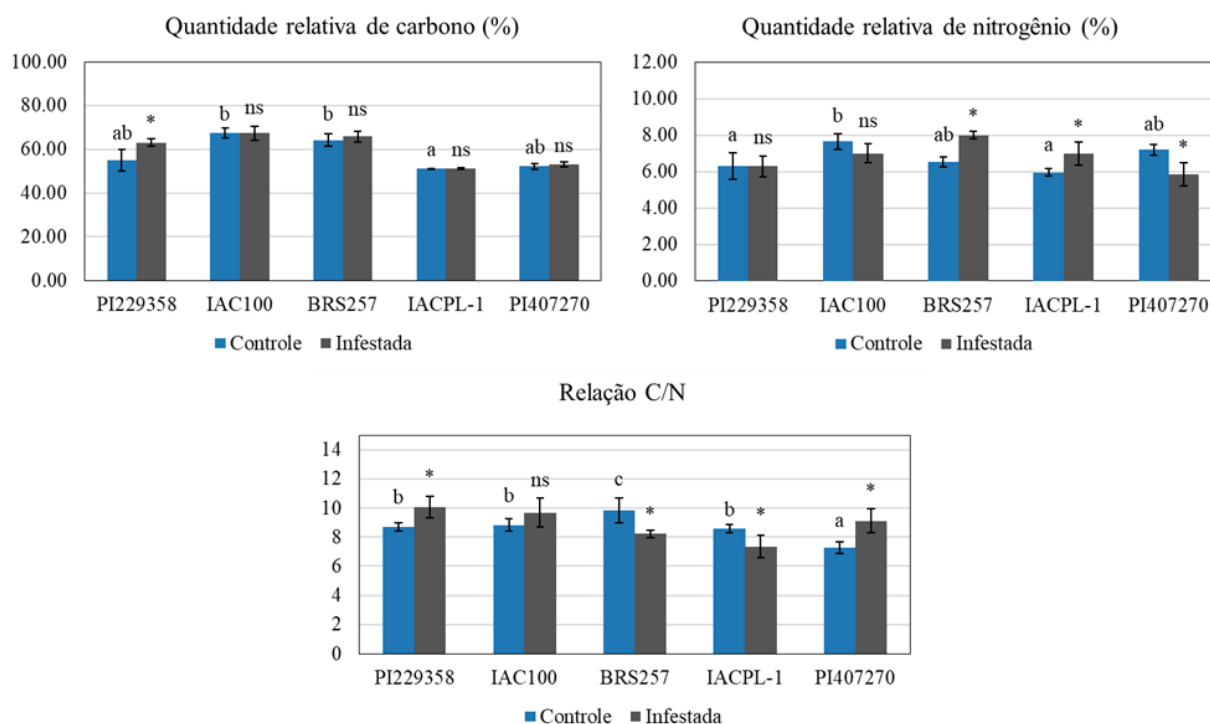
A análise do conteúdo de carbono (C) e nitrogênio (N), antes e após injúria por SF nos genótipos de soja estudados, revelou algumas diferenças. Em relação ao C, a cultivar resistente IAC 100 apresentou níveis constitutivos maiores desse elemento, em contraste com a cultivar suscetível IAC PL-1. Além disso, a cultivar resistente PI 229358 exibiu um aumento na abundância de C após a injúria por SF. Quanto ao N, a cultivar IAC 100 apresentou maiores níveis desse nutriente, superando as variedades PI 229358 e IAC PL-1. Após a injúria por SF, as cultivares suscetíveis BRS 257 e IAC PL-1 mostraram aumentos nos níveis de N, enquanto a soja selvagem mostrou redução.

Por sua parte, maiores relações de carbono/nitrogênio (C/N) foram encontradas na cultivar BRS 257, em comparação com os outros genótipos. A soja selvagem (PI 407270), por outro lado, apresentou uma menor relação C/N com respeito aos demais genótipos. A relação C/N aumentou após injúria por SF nas variedades PI 229358 e na soja selvagem, enquanto nas cultivares suscetíveis BRS 257 e IAC PL-1 houve redução (ver FIGURA 4.19).

De forma geral, maiores quantidades constitutivas de fósforo, potássio, ferro e manganês foram encontradas nos genótipos resistentes e na soja selvagem. IAC 100 apresentou menores conteúdos de cálcio em contraste com a soja selvagem, enquanto a cultivar suscetível BRS 257 exibiu níveis mais baixos de zinco e boro em comparação com a soja selvagem e os outros genótipos, respectivamente. Os conteúdos de cobre e magnésio não mostraram diferenças significativas entre as variedades estudadas (ver FIGURA 4.20 e FIGURA A.13).

Após a injúria por SF, a maioria dos genótipos afetados apresentou regulações negativas no conteúdo dos elementos analisados. As variedades resistentes PI 229358 e IAC 100 mostraram reduções nos níveis de cálcio, ferro e potássio, enquanto a soja selvagem exibiu padrão semelhante, exceto para o cálcio.

FIGURA 4.19 – Quantidade relativa de carbono (C) e nitrogênio (N) (%) e relação de C/N (média $\pm$ desvio padrão) em diferentes genótipos de soja. As colunas azuis e cinza representam, respectivamente, amostras controle e amostras injuriadas por *S. frugiperda*. As barras azuis com letras distintas indicam diferenças significativas (ANOVA de um fator, $p < 0,05$; procedimento de diferença honestamente significativa (HSD) de Tukey, $p < 0,05$; ou teste de Kruskal-Wallis, $p < 0,05$). As barras cinzas com "*" e "ns" indicam, respectivamente, diferenças significativas (Teste t, $p < 0,05$) e ausência de diferenças significativas entre o grupo controle e o grupo induzido para o mesmo genótipo



Em contraste, a cultivar BRS 257 foi a única a demonstrar aumentos no conteúdo de potássio após o estresse. Os níveis de manganês diminuíram em todos os genótipos, com exceção da soja selvagem. IAC 100 apresentou redução nos níveis de fósforo e zinco, enquanto IAC PL-1 exibiu queda apenas nos níveis de fósforo. As variedades suscetíveis sofreram alterações negativas no conteúdo de cobre após o ataque de SF (ver FIGURA 4.20 e FIGURA A.13).

A nutrição mineral é um dos principais determinantes do crescimento, desenvolvimento e funcionamento das plantas. Macro (N, P, K, Ca, Mg) e micronutrientes (B, Cu, Fe, Mn, Zn) exercem influência fundamental sobre o metabolismo vegetal, sendo essencial que estejam disponíveis em quantidades adequadas para garantir um desempenho fisiológico otimizado¹⁹². Compreender

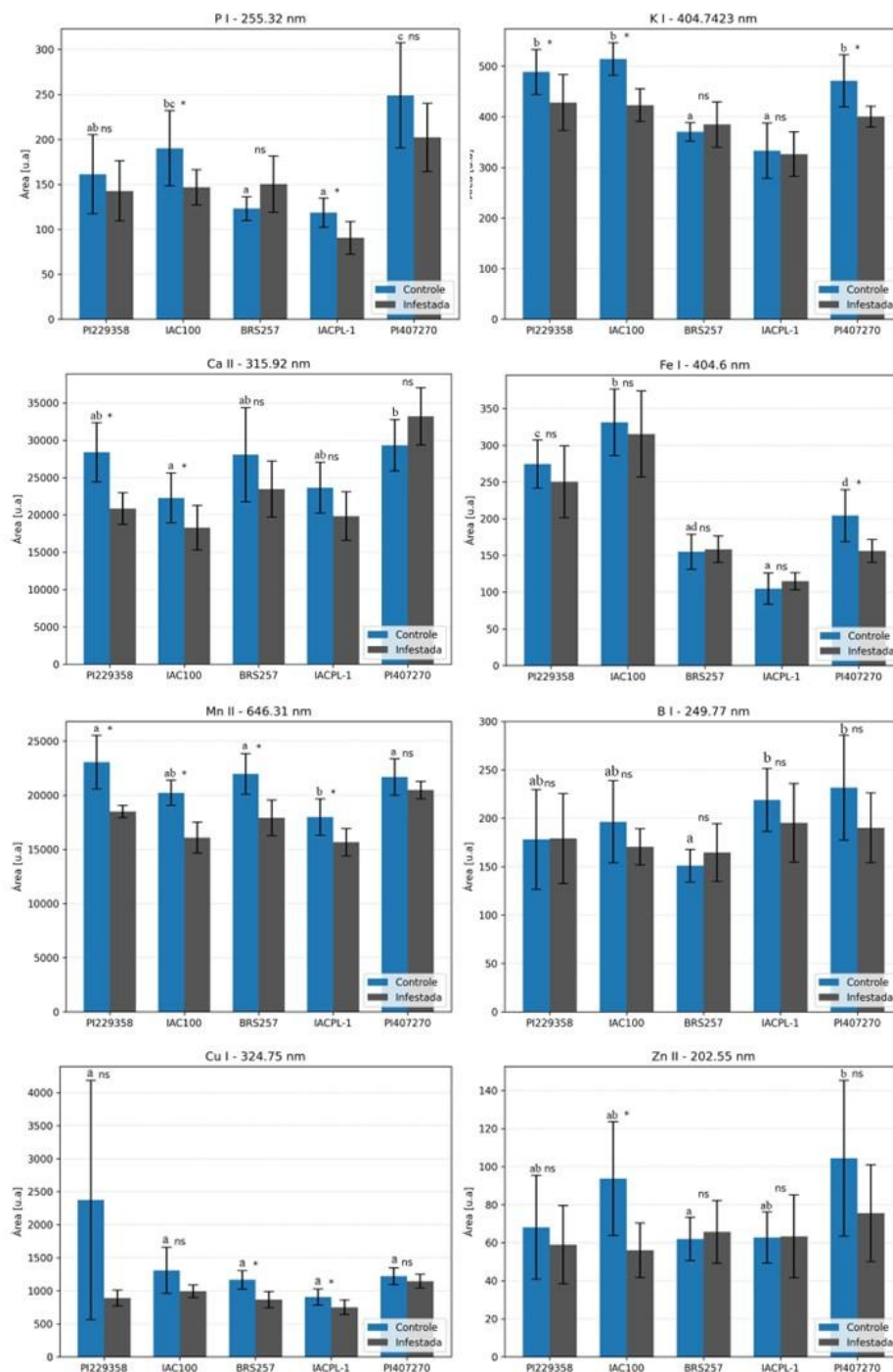
as interações de nutrientes entre macro e micronutrientes é vital; a deficiência de um pode interromper as vias metabólicas de outros, afetando a homeostase geral dos nutrientes¹⁹³.

Os nutrientes C, N, P, e K desempenham papéis fundamentais em diversos processos celulares, crescimento desenvolvimento e resposta ao estresse nas plantas^{194,195}. O equilíbrio entre C e N é crucial para a conclusão do ciclo de vida da planta e para a formação dos órgãos destinados à colheita¹⁹⁵. O K regula a homeostase iônica, a osmose e a atividade enzimática, processos mediados por um sistema de sinalização envolvendo íons Ca^{2+} . O Ca, por sua vez, contribui para a estrutura vegetal e atua como um mensageiro em respostas a variações ambientais. Já o Mg, como componente da clorofila, é indispensável para a fotossíntese e o metabolismo energético¹⁹⁶.

Micronutrientes como o Mn desempenham um papel crucial como cofatores enzimáticos, contribuindo para a manutenção da atividade fotossintética. O Fe é essencial para vários processos celulares fundamentais, principalmente ligados à respiração, fotossíntese, metabolismo energético e biossíntese. O Cu, além de ser um cofator enzimático vital, quando em excesso, ativa mecanismos de sinalização mediados por íons Ca^{2+} para proteger a planta contra toxicidade e garantir o equilíbrio do metal¹⁹⁶.

O B é indispensável para o crescimento e desenvolvimento vegetal, sendo que sua deficiência altera o estado intracelular de Ca^{2+} , desencadeando vias de sinalização que ajustam a resposta da planta e restauram a homeostase. Por fim, o Zn está envolvido em processos regulados por sinalização de Ca^{2+} , influenciando respostas adaptativas ao status do nutriente¹⁹⁶.

FIGURA 4.20 – Quantidade relativa (média $\pm$ desvio padrão) de fósforo (P I), potássio (K I), cálcio (Ca II), ferro (Fe I), manganês (Mn II), boro (B I), cobre (Cu I) e zinco (Zn II) em diferentes genótipos de soja. As colunas azuis e cinza representam, respectivamente, amostras controle e amostras injuriadas por *S. frugiperda*. As barras azuis com letras distintas indicam diferenças significativas (ANOVA de um fator, $p < 0,05$; procedimento de diferença honestamente significativa (HSD) de Tukey, $p < 0,05$). As barras cinzas com "*" e "ns" indicam, respectivamente, diferenças significativas (Teste t, $p < 0,05$) e ausência de diferenças significativas entre o grupo controle e o grupo induzido para o mesmo genótipo



Alguns efeitos da nutrição vegetal na biossíntese de metabólitos secundários foram relatados anteriormente. Por exemplo, a síntese de metabólitos na soja é amplamente influenciada pelos níveis de N. LI et al.¹⁹⁷ demonstraram que a soja selvagem apresenta maior resistência ao estresse causado pela baixa disponibilidade de N, promovendo a produção de aminoácidos essenciais, carboidratos solúveis, ácidos orgânicos e graxos, além da síntese de metabólitos secundários favoráveis, como fenóis e flavonoides.

Adicionalmente, foi observado que a deficiência de P inibe a acumulação de N nos nódulos radiculares, levando as plantas a aumentarem a produção de aminoácidos e derivados, enquanto os flavonoides desempenham um papel crucial na adaptação do sistema simbiótico de nódulos à privação de P¹⁹⁸. Verificou-se que o estresse hídrico compromete o metabolismo do N, diminuindo a disponibilidade de N solúvel e promovendo o acúmulo de aminoácidos livres, vitais para o ajuste osmótico¹⁹⁹. Em contraste, AHANGER et al.²⁰⁰ demonstraram que a suplementação de N em mudas de trigo melhora a eficiência fotossintética e estimula a acumulação de fenóis e flavonoides, tanto em condições normais quanto sob estresse salino.

Diversos estudos destacam a importância do C no direcionamento da produção de metabólitos primários e secundários, fundamentais para o crescimento, a defesa e a saúde geral da planta. Por exemplo, o metabolismo do C está diretamente ligado à fixação de nitrogênio, sendo que as leguminosas fornecem compostos de carbono aos rizóbios para facilitar a assimilação de N, promovendo, assim, o crescimento da planta²⁰¹.

IBRAHIM et al.²⁰² demonstraram que a produção de metabólitos primários, especialmente carboidratos, está correlacionada com a síntese de metabólitos secundários, como flavonoides e fenólicos totais, sob níveis elevados de dióxido de carbono. Esse achado reforça a relação direta entre a disponibilidade de C e as respostas metabólicas da planta. Ademais, o aumento na produção de

desses metabólitos foi manifestado com a alta relação C/N e baixo teor proteico em mudas de *Labisia pumila* (Blume).

YAO et al.²⁰³ comprovaram que, sob condições de deficiência de P, raízes de soja exibiram um aumento na diversidade e quantidade de exsudatos, evidenciando mecanismos adaptativos à deficiência nutricional. As principais vias metabólicas impactadas incluíram aquelas envolvidas na síntese de aminoácidos, flavonoides e na regulação do metabolismo energético, além de processos relacionados à eliminação de espécies reativas de oxigênio.

Em plantas de milho, a resposta à baixa disponibilidade de P envolve adaptações metabólicas que incluem a redução do uso de compostos fosforilados, a reciclagem interna de P e regulação de vias metabólicas associadas aos carboidratos e nucleotídeos, contribuindo para a tolerância à deficiência desse nutriente²⁰⁴. A aplicação exógena de Ca e/ou K pode reduzir eficazmente a toxicidade do cádmio, promovendo a saúde e a produtividade de *Cicero arietinum* L. Esse efeito resulta do aumento cumulativo de solutos orgânicos, metabólitos secundários (fenóis totais e flavonoides), elementos minerais essenciais (S, Mn, Ca e K) e da ativação de enzimas antioxidantes de defesa²⁰⁵.

Tem sido relatado que o Fe desempenha um papel central na biossíntese e regulação de metabólitos secundários, como compostos fenólicos e ligninas, pois é indispensável para enzimas como catalase e peroxidase, que participam na produção de compostos fenólicos importantes para a estrutura vegetal e para a mobilização do Fe no solo²⁰⁶. Além disso, o excesso de Mn pode induzir um aumento significativo na expressão de genes relacionados ao metabolismo secundário, estimulando a produção de fenóis totais, flavonoides, taninos e antocianidinas em *Stylosanthes*, uma leguminosa tropical de grande importância²⁰⁷.

A seletividade alimentar de herbívoros generalistas está fortemente associada às características funcionais das plantas, incluindo taxa de crescimento e alocação de recursos. Em geral, a palatabilidade aumenta quando a relação C/N

do tecido foliar diminui, já que o teor de N tem correlação positiva com a preferência alimentar, enquanto o C carbono tem correlação negativa. Plantas de crescimento rápido costumam ser mais palatáveis, pois direcionam seus recursos preferencialmente para o crescimento, em vez de investir em defesas mecânicas ou químicas, que, na maioria dos casos, são derivadas do C²⁰⁸.

Assim, a relação entre os teores de C e N na dieta dos insetos desempenha um papel essencial na compreensão do sucesso dos herbívoros e das interações planta-inseto. Insetos herbívoros ajustam sua ingestão de nutrientes com base no equilíbrio entre proteínas e carboidratos, sendo que uma proporção adequada favorece a sobrevivência e o sucesso reprodutivo. A presença de substâncias capazes de influenciar o crescimento e a sobrevivência dos insetos na fonte alimentar pode alterar a forma como regulam sua nutrição, isto sugere que o C e outros compostos afetam a eficiência alimentar e o desempenho geral²⁰⁹.

FAGAN et al.²¹⁰ constataram que dietas com baixos níveis de N podem limitar o desenvolvimento dos insetos, diminuindo a disponibilidade desse elemento para produção de biomassa. Em contraste, dietas ricas em N favorecem um maior acúmulo corporal do nutriente, promovendo um desenvolvimento mais eficiente e rápido. De maneira semelhante, estudos indicam que lagartas de insetos, como *Manduca sexta*, apresentam taxas de crescimento significativamente maiores quando submetidas a dietas com elevados níveis de P, reforçando o papel essencial desse elemento na nutrição e no desenvolvimento dos herbívoros²¹¹.

A deficiência de K na dieta reduz a taxa de crescimento relativo da *Manduca sexta*, resultando em menor consumo alimentar e menor eficiência na conversão dos nutrientes ingeridos. Insetos expostos a dietas com níveis inapropriados de K, seja por deficiência ou excesso, apresentam um crescimento mais lento e taxas de sobrevivência reduzidas, evidenciando impactos irreversíveis da ingestão inadequada desse nutriente²¹².

Além disso, DONG et al. observaram que a deficiência de B torna as folhas dos cítricos mais atrativas para psílídeos adultos, devido à maior liberação compostos orgânicos voláteis. Paralelamente, essa carência compromete as propriedades mecânicas da parede celular, afetando a formação de pectina e celulose, o que pode facilitar o ataque desses insetos²¹³.

Em outro estudo foram estudados os efeitos dos níveis de Cu e Zn na lagarta *Helicoverpa armigera*. Os resultados indicaram que baixas concentrações de Cu aumentaram a taxa de crescimento e a eficiência alimentar, além de favorecerem o acúmulo de reservas energéticas como glicogênio, proteínas, colesterol e triglicerídeos. Por outro lado, o Zn promoveu o aumento de glicogênio e triglicerídeos, mas reduziu os níveis proteínas e colesterol em determinadas concentrações, sugerindo um efeito mais complexo e, em alguns casos, negativo sobre nutrientes essenciais²¹⁴.

Com base nos relatórios e nos resultados obtidos neste estudo, observa-se que os elevados conteúdos constitutivos de C e Fe na cultivar IAC 100 estão em consonância com os dados da análise metabolômica e dos ensaios biológicos. Isso sugere que os altos níveis de C e Fe podem estar direcionados à síntese de metabólitos primários, além de regular a produção de metabólitos secundários, como terpenos e flavonoides. Embora quantidades elevadas de N, P e K estejam associadas ao aumento da palatabilidade das plantas e ao favorecimento do crescimento de insetos, esta cultivar parece priorizar a biossíntese de metabólitos com propriedades defensivas.

Dessa forma, tais compostos podem estar implicados na extensão do tempo de desenvolvimento e na redução do ganho de peso larval observados para essa variedade. As altas taxas de mortalidade e a menor quantidade de biomassa foliar consumida sugerem que alguns dos metabólitos detectados nessa cultivar podem atuar como antialimentares, contribuindo para sua resistência contra a herbivoria de SF.

A cultivar PI 229358 demonstrou semelhanças com IAC 100 nos ensaios biológicos e no perfil metabólico, porém se caracterizou por apresentar baixa mortalidade e menores níveis constitutivos de compostos, em contraste com IAC 100. No entanto, observou-se PI 229358 induziu compostos defensivos em maior proporção em comparação a os demais genótipos, sugerindo a predominância de um mecanismo de resistência química induzida.

Esses achados concordam com o observado na análise nutricional, visto que, embora os níveis constitutivos de C fossem similares aos da cultivar IAC 100, PI 229358 mostrou um aumento desse nutriente após injúria por SF. Além disso, seus menores níveis constitutivos de N e maiores de Fe podem estar relacionados a uma menor palatabilidade da planta e à presença de metabólitos defensivos, o que pode ser refletido no baixo consumo foliar, na redução do peso das lagartas e na maior duração do estágio larval.

Assim, embora IAC 100 e PI 229358 tenham exibido semelhanças nos ensaios biológicos, os mecanismos de defesa contra SF parecem distintos: enquanto IAC 100 prioriza a resistência constitutiva, PI 229358 apresenta uma estratégia baseada na resistência induzida e na tolerância.

A cultivar BRS 257 apresentou a maior relação C/N entre os genótipos analisados, o que pode indicar maior alocação de C para a produção de metabólitos secundários. De fato, as análises metabolômicas revelaram que BRS 257 e IAC PL-1 exibiram um conteúdo elevado e uma maior diversidade de flavonoides. No entanto, lagartas de SF alimentadas com esses genótipos demonstraram maior consumo foliar, maior ganho de peso e menor duração do estágio larval, sugerindo que esses metabólitos podem estar favorecendo o desenvolvimento das lagartas e atuando como estimulantes.

Após a injúria causada por SF, ambas as cultivares diminuíram sua relação C/N, possivelmente devido ao aumento dos níveis de N. Esse acréscimo de N e a consequente diminuição da relação C/N podem refletir uma redistribuição de recursos para a síntese de compostos voltados ao metabolismo primário, favorecendo a palatabilidade. De fato, análises metabolômicas (ver TABELA A.4) mostraram que BRS 257 apresentou aumentos em diversos metabólitos, incluindo compostos das classes dos ácidos graxos e octadecanoides.

Esses resultados estão alinhados com o teste de tolerância, que evidenciaram características de adaptação à herbivoria. Assim, essas cultivares parecem priorizar o investimento de recursos no crescimento, em detrimento de mecanismos de defesa química, como estratégia para mitigar os impactos negativos sobre sua aptidão após o dano causado por SF. Além disso, ambas as cultivares apresentaram níveis constitutivos reduzidos de Fe.

De maneira específica, a BRS 257 exibiu concentrações menores de B, enquanto a IAC PL-1 mostrou níveis reduzidos de Mn. Esses elementos desempenham papéis fundamentais na biossíntese e regulação de metabólitos secundários nas plantas, e sua limitação pode contribuir para uma maior suscetibilidade dessas cultivares à ação de SF.

Em relação à soja selvagem, os menores níveis constitutivos na relação C/N e os altos conteúdos de P e K podem ter contribuído para sua maior palatabilidade ou valor nutritivo para as lagartas de SF. Esse efeito foi evidenciado nos ensaios biológicos, que mostraram um aumento no consumo foliar, um aumento no ganho de peso das lagartas e uma redução na duração do estágio larval quando alimentadas com esse genótipo.

No entanto, após injúria por SF, esse genótipo apresentou um aumento na relação C/N e uma redução nos níveis de N, diminuindo assim sua palatabilidade ou seu valor nutricional, ao mesmo tempo em que intensificou a produção de compostos defensivos. De fato, após a cultivar PI 229358, esse genótipo mostrou-se altamente responsivo ao ataque de SF e evidenciou

características de tolerância, como demonstrado pelo aumento dos níveis de ácidos graxos, octadecanoides, terpenos e lignanas. Esses achados sugerem que a soja selvagem, embora exiba indução de compostos após injúria por SF, prefere investir em mecanismos de tolerância priorizando seu crescimento.

Todos os elementos analisados sofreram uma redução após injúria por SF, com exceção do K na cultivar BRS 257. O aumento nos níveis de K tem sido associado à maior produção de metabólitos secundários, minerais essenciais e à ativação de enzimas antioxidantes de defesa²⁰⁵, o que parece estar relacionado ao estresse induzido na planta. Nas cultivares suscetíveis, observou-se uma diminuição no conteúdo de Cu após a injúria por SF, possivelmente devido a mecanismos regulatórios necessários para manter equilíbrio desse metal na planta, uma vez que seu excesso pode ser tóxico^{196,215}.

As reduções de K, Fe e Ca após estresse por SF podem estar ligadas, no caso do K, a uma perturbação significativa da homeostase iônica celular, à ativação de canais de K induzidos por espécies reativas de oxigênio, que podem promover o efluxo iônico e, eventualmente, levar à morte celular programada como estratégia de defesa²¹⁶.

As variações nos níveis de Ca em plantas, podem resultar da complexa regulação de sua homeostase durante o estresse biótico, refletindo a necessidade da planta de controlar a intensidade e duração do sinal de Ca para uma resposta imune eficaz e adaptativa²¹⁷. Por fim, a redução do Fe sob estresse biótico pode ser uma estratégia de defesa que envolve a limitação da disponibilidade de ferro para o herbívoro, além do ajuste das respostas imunes e metabólicas da planta para enfrentar o estresse²¹⁸.

As análises metabolômicas e nutricionais realizadas em este estudo indicam que, de modo geral, as variedades resistentes e a soja selvagem possuem perfis metabólicos e nutricionais próximos entre elas, porém com algumas diferenças específicas em relação às variedades suscetíveis. Os níveis de macronutrientes, que influenciam a palatabilidade das plantas e podem

desempenhar um papel nas respostas de defesa das plantas, variam entre elas. Em particular, as cultivares resistentes e a soja selvagem exibem maior conteúdo de P, K, Fe e B em comparação com as suscetíveis.

A soja selvagem apresenta uma predominância de metabólitos secundários em relação às outras variedades, embora seus níveis de macronutrientes sejam semelhantes aos das cultivares resistentes. Esses achados estão alinhados com o trabalho de HYEON et al.⁵³, onde observou-se que a soja preta selvagem possui quantidades maiores de flavonoides e fenilpropanoides, enquanto a soja preta cultivada contém altos níveis de aminoácidos, polissacarídeos e ácidos graxos. Contudo, os resultados contrastam com os achados de FERNANDEZ et al.⁵⁶, GAILLARD et al.⁵⁴ e SOLIS-MONTERO et al.⁵⁵, que indicaram uma redução importante nos compostos defensivos das plantas cultivadas.

5 – CONCLUSÕES

No presente estudo, investigou-se a resistência de quatro genótipos de soja cultivados e um selvagem à herbivoria de SF, a fim de analisar os efeitos da domesticação da soja nessas defesas. Os ensaios biológicos demonstraram que as cultivares PI 229358 e IAC 100 apresentam resistência química constitutiva contra lagartas de SF, evidenciada pelo aumento da duração do estágio larval, pela redução do peso e do consumo alimentar da praga. As variedades BRS 257, IAC PL-1 e PI 407270, manifestaram menor resistência, embora apresentassem características de tolerância que minimizam os danos ocasionados pela herbivoria.

Em relação ao perfil metabólico constitutivo dos genótipos, verificou-se que as variedades resistentes e a soja selvagem possuem perfis metabólicos semelhantes entre si, porém distintos das variedades suscetíveis. As principais diferenças metabólicas foram atribuídas à diversidade e aos níveis de flavonoides, ácidos graxos, cumarinas, terpenoides e metil jasmonato, compostos que desempenham um papel crucial no metabolismo e na resistência da planta.

Além disso, foram observadas variações nos metabólitos entre folhas jovens, velhas e locais, tanto em níveis constitutivos quanto após herbivoria. Folhas jovens concentraram mais ácidos graxos insaturados, octadecanoides e diterpenos, enquanto folhas velhas apresentaram maior abundância de flavonóis e triterpenos. A herbivoria desencadeou respostas metabólicas principalmente em folhas jovens e locais das variedades resistentes e da soja selvagem, sugerindo um mecanismo sistêmico de defesa.

Os flavonoides ID_1768, ID_2059, ID_2750, ID_3190, ID_2680 e ID_3620; os triterpenoides ID_4344 e ID_5065; a cumarina ID_2148; os ácidos graxos ID_8697, ID_7416, ID_8795, ID_7092 e ID_7625; e os fitoprostanos ID_6734 e ID_7687 foram detectados nas variedades resistentes e na soja selvagem, alguns expressos em resposta à herbivoria por SF. Destacaram-se como

possíveis biomarcadores de resistência, cujas funções defensivas precisam ser validadas por estudos complementares.

Quanto às diferenças nutricionais, as cultivares resistentes e a soja selvagem apresentaram maiores teores de nutrientes, como P, K, Fe e B, em comparação às suscetíveis, elementos que podem influenciar tanto a palatabilidade quanto a defesa das plantas. Esses dados indicam que nem todas as culturas reduziram seus traços de resistência ao longo do processo de domesticação em prol de maior crescimento e produtividade. Isso se reflete no fato de que as cultivares PI 229358 e IAC 100 mostram características de resistência em contraste com a soja selvagem.

No entanto, os resultados obtidos aqui ainda precisam ser validados por meio de experimentos em condições naturais e/ou de campo para caracterizar com precisão a resistência e a tolerância desses genótipos. Também, seria interessante realizar ensaios biológicos de maior magnitude, avaliando o ciclo de vida completo do inseto, para determinar se os adultos e sua reprodução são afetados de alguma maneira pelos genótipos. Análises químicas adicionais, incluindo a avaliação do perfil de compostos orgânicos voláteis e do perfil lipídico, são sugeridas para obter um conhecimento mais abrangente dos mecanismos de defesa da soja.

Os achados deste estudo sugerem que nem todas as culturas diminuíram seus traços de resistência durante o processo de domesticação, como apontado por outros autores^{19,57}. Além disso, os dados indicam que essas características podem depender de um equilíbrio entre metabólitos primários e secundários, nutrientes, e à interação entre seus níveis, diversidade e das estratégias de defesa adotadas pela planta.

Dentre os compostos anotados, os biomarcadores identificados podem desempenhar papéis importantes no metabolismo da planta, atuando como reguladores e agentes defensivos contra o estresse causado por SF. Essas

descobertas, contribuem para o melhoramento de cultivares de soja e para a criação de novas estratégias sustentáveis de monitoramento e controle de pragas.

6 – REFERÊNCIAS

1. LEANDRO FINGER, QUITAISKI, P. P., LANGE, D. & CÂMARA, C. D. “Iguaçu National Park as a fountain of natural predators of soy pragas”. Brazilian Journal of Development **4**, 3931–3944, 2018.
2. MICHEREFF, M. F. F., BORGES, M., LAUMANN, R. A., DANIEL, D.; LUCIO, C., BLASSIOLI-MORAES, M. C. “The influence of resistant soybean cultivars on the biological development of *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae)”. J Plant Interact **14**, 544–551, 2019.
3. COLLETTI, A., ATTROVIO, A., BOFFA, L., MANTEGNA, S. & CRAVOTTO, G. “Valorisation of by-Products from soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) Processing”. Molecules **25**, 2129, 2020.
4. YUN, D. Y., KANG, Y. G., KIM, M., KIM, D., KIM, E. H., & HONG, Y. S. “Metabotyping of different soybean genotypes and distinct metabolism in their seeds and leaves”. Food Chem **330**, 127-198, 2020.
5. LIU, S., ZHANG, M., FENG, F. & TIAN, Z. “Toward a “green revolution” for soybean”. Mol Plant **13**, 688–697, 2020.
6. CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos, Brasília, DF, v. **12**, safra 2024/25. N.7 sétimo levantamento, abril 2025.
7. KOFSKY, J., ZHANG, H. & SONG, B.-H. “The untapped genetic reservoir: the past, current, and future applications of the wild soybean (*Glycine soja*)”. Front Plant Sci **9**, 2018.
8. HAAS, B. A.; PASINI, M. P. B.; ENGEL, E.; HORZ, D. C.; VINCENSI, C. P.; MASIERO, C. E. P.; FELTRIN, B. B.; COSTA, R. M. D.; CAMPOS, R. S.; SOUZA, L. M. “Economic efficiency of insecticides on *Anticarsia gemmatilis* on soybean culture”. RevInt: revista interdisciplinar de ensino, pesquisa e extensão **6**, 358–365, 2018.
9. BARROS, E. M., TORRES, J. B. & BUENO, A. F. “Oviposição, desenvolvimento e reprodução de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em diferentes hospedeiros de importância econômica”. Neotrop Entomol **39**, 996–1001, 2010.

10. SILVA, E., BELINATO, J. R., PORTO, C., NUNES, E., GUIMARAES, F., MEYER, M. C., & PILAU, E. J. “Soybean metabolomics based in mass spectrometry: decoding the plant’s signaling and defense responses under biotic stress”. *J Agric Food Chem* **69**, 7257–7267, 2021.
11. MAURICIO, R., RAUSHER, M. D. & BURDICK, D. S. “Variation in the defense strategies of plants: Are resistance and tolerance mutually exclusive?”. *Ecology* **78** 1301–1311, (1997).
12. ROMERO, B., DILLON, F. M. & ZAVALA, J. A. “Different soybean cultivars respond differentially to damage in a herbivore specific manner and decrease herbivore performance”. *Arthropod Plant Interact* **14**, 89–99, 2019.
13. WAR, A. R., PAULRAJ, M. G., AHMAD, T., BUHROO, A. A., HUSSAIN, B., IGNACIMUTHU, S., & SHARMA, H. C. “Mechanisms of plant defense against insect herbivores”. *Plant Signal Behav* **7**, 1306–1320, 2012.
14. FÜRSTENBERG-HÄGG, J., ZAGROBELNY, M. & BAK, S. “Plant defense against insect herbivores”. *Int J Mol Sci* **14**, 10242–10297, 2013.
15. GAO, H., WANG, Y., LI, W., GU, Y., LAI, Y., BI, Y., & HE, C. “Transcriptomic comparison reveals genetic variation potentially underlying seed developmental evolution of soybeans”. *J Exp Bot* **69**, 5089–5104, 2018.
16. BIAN, X. H., LI, W., NIU, C. F., WEI, W., HU, Y., HAN, J. Q., & ZHANG, J. S. “A class B heat shock factor selected for during soybean domestication contributes to salt tolerance by promoting flavonoid biosynthesis”. *New Phytologist* **225**, 268–283, 2020.
17. PIUBELLI, G. C., HOFFMANN-CAMPO, C. B., MOSCARDI, F., MIYAKUBO, S. H. & NEVES DE OLIVEIRA, M. C. “Are chemical compounds important for soybean resistance to *Anticarsia gemmatilis*?”. *J Chem Ecol* **31**, 1509–1525, 2005.
18. PERUCA, R. D., COELHO, R. G., DA SILVA, G. G., PISTORI, H., RAVAGLIA, L. M., ROEL, A. R., & ALCANTARA, G. B. “Impacts of soybean-induced defenses on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) development”. *Arthropod Plant Interact* **12**, 257–266, 2018.
19. PAUDEL, S., LIN, P. A., FOOLAD, M. R., ALI, J. G., RAJOTTE, E. G., & FELTON, G. W. “Induced plant defenses against herbivory in cultivated and wild tomato”. *J Chem Ecol* **45**, 693–707, 2019.

20. HOFFMANN-CAMPO, C. B., MAZZARIN, R. M. & LUSTOSA, P. R. “Resistance mechanisms of soybean genotypes: non-preference test of *Anticarsia gemmatilis* Hubner, 1818 (Lep: Noctuidae)”. *Pesqui Agropecu Bras* **29**, 513–519, 1994.
21. WANG, X., CHEN, H., SHAN, Z., HAO, Q., ZHANG, C., YANG, Z., & ZHOU, X. A. “Herbivore defense responses and associated herbivore defense mechanism as revealed by comparing a resistant wild soybean with a susceptible cultivar”. *Crop J* **3**, 451–467, 2015.
22. DA GRAÇA, J. P., UEDA, T. E., JANEGITZ, T., VIEIRA, S. S., SALVADOR, M. C., DE OLIVEIRA, M. C., & HOFFMANN-CAMPO, C. B. “The natural plant stress elicitor cis-jasmone causes cultivar-dependent reduction in growth of the stink bug, *Euschistus heros* and associated changes in flavonoid concentrations in soybean, *Glycine max*”. *Phytochemistry* **131**, 84–91, 2016.
23. CHANG, C., TIAN, L., MA, L., LI, W., NASIR, F., LI, X., & TIAN, C. “Differential responses of molecular mechanisms and physiochemical characters in wild and cultivated soybeans against invasion by the pathogenic *Fusarium oxysporum* Schltdl”. *Physiol Plant* **166**, 1008–1025, 2019.
24. HOFFMANN-CAMPO, C. B., RAMOS NETO, J. A., OLIVEIRA, M. C. N. DE & OLIVEIRA, L. J. “Detrimental effect of rutin on *Anticarsia gemmatilis*”. *Pesqui Agropecu Bras* **41**, 1453–1459, 2006.
25. TECNOLOGIAS DE PRODUÇÃO DE SOJA - Região Central do Brasil 2011. *Sistemas de Produção* **14**, 1–255, 2010.
26. VERNETTI, F. DE J. & GASTAL, M. F. DA C. “Descrição botânica da soja”. *Circular Técnica* N°7 1–11, 1979.
27. TEJO, D. P., FERNANDES, C. H. DOS S. & BURATTO, J. S. “Soja : fenologia, morfologia e fatores que interferem na produtividade”. *Revista Científica Eletrônica de Agronomia da FAEF* **35**, 1–9, 2019.
28. COLONNELLI, B. L. “Potencial de produtividade e variabilidade espacial de atributos físicos e químicos do solo em plantio direto de soja no município de Paragominas-PA”. Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, PA, 2013.
29. FEHR, W. R., CAVINESS, C. E., BURMOOD, D. T. & PENNINGTON, J. S. “Stage of development descriptions for soybeans, *Glycine Max* (L.) Merrill”. *Crop Sci* **11**, 929–931, 1971.

30. FEHR, W. R. & CAVINESS, C. E. “Stages of soybean development”. Special Report. **80**, 1–11, 1977.
31. PURUGGANAN, M. D. “Evolutionary insights into the nature of plant domestication”. *Current Biology* **29**, R705–R714, 2019.
32. SPENGLER, R. N. “Anthropogenic seed dispersal: rethinking the origins of plant domestication”. *Trends Plant Sci* **25**, 340–348, 2020.
33. JEONG, S.-C.; MOON, J.-K.; PARK, S.-K.; KIM, M.-S.; LEE, K.; LEE, S. R.; JEONG, N.; CHOI, M. S.; KIM, N.; KANG, S.-T.; PARK, E. “Genetic diversity patterns and domestication origin of soybean”. *Theoretical and Applied Genetics* **132**, 1179–1193, 2019.
34. ZHOU, Z.; JIANG, Y.; WANG, Z.; GOU, Z.; LYU, J.; LI, W.; YU, Y.; SHU, L.; ZHAO, Y.; MA, Y.; FANG, C.; SHEN, Y.; LIU, T.; LI, C.; LI, Q.; WU, M.; WANG, M.; WU, Y.; DONG, Y.; WAN, W.; WANG, X.; DING, Z.; GAO, Y.; XIANG, H.; ZHU, B.; LEE, S.-H.; WANG, W.; TIAN, Z. “Resequencing 302 wild and cultivated accessions identifies genes related to domestication and improvement in soybean”. *Nat Biotechnol* **33**, 408–414, 2015.
35. ROCHA, B. G., AMARO, H. T., PORTO, E. M., GONÇALVES, C. C., DAVID, A. M., & LOPES, E. B. “Sistema de semeadura cruzada na cultura da soja: avanços e perspectivas”. *Revista de Ciências Agrárias* **41**, 376–384, 2018.
36. WANG, X., CHEN, L. & MA, J. “Genomic introgression through interspecific hybridization counteracts genetic bottleneck during soybean domestication”. *Genome Biol* **20**, 22, 2019.
37. WANG, J.; CHU, S.; ZHANG, H.; ZHU, Y.; CHENG, H.; YU, D. “Development and application of a novel genome-wide SNP array reveals domestication history in soybean”. *Sci Rep* **6**, 20728, 2016.
38. LIU, X.; HE, J.; WANG, Y.; XING, G.; LI, Y.; YANG, S.; ZHAO, T.; GAI, J. “Geographic differentiation and phylogeographic relationships among world soybean populations”. *Crop J* **8**, 260–272, 2020.
39. MAAG, D.; ERB, M.; BERNAL, J. S.; WOLFENDER, J.-L.; TURLINGS, T. C. J.; GLAUSER, G. “Maize domestication and anti-herbivore defences: leaf-specific dynamics during early ontogeny of maize and its wild ancestors”. *PLoS One* **10**, e0135722, 2015.

40. WHITEHEAD, S. R., TURCOTTE, M. M. & POVEDA, K. “Domestication impacts on plant–herbivore interactions: a meta-analysis”. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* **372**, 20160034, 2017.
41. SHI, S.; CHANG, J.; TIAN, L.; NASIR, F.; JI, L.; LI, X.; TIAN, C. “Comparative analysis of the rhizomicrobiome of the wild versus cultivated crop: insights from rice and soybean”. *Arch Microbiol* **201**, 879–888, 2019.
42. SWARM, S. A.; SUN, L.; WANG, X.; WANG, W.; BROWN, P. J.; MA, J.; NELSON, R. L. “Genetic dissection of domestication-related traits in soybean through genotyping-by-sequencing of two interspecific mapping populations”. *Theoretical and Applied Genetics* **132**, 1195–1209, 2019.
43. YAO, Y.; YOU, Q.; DUAN, G.; REN, J.; CHU, S.; ZHAO, J.; LI, X.; ZHOU, X.; JIAO, Y. “Quantitative trait loci analysis of seed oil content and composition of wild and cultivated soybean”. *BMC Plant Biol* **20**, 1–13, 2020.
44. ZHANG, D.; SUN, L.; LI, S.; WANG, W.; DING, Y.; SWARM, S. A.; LI, L.; WANG, X.; TANG, X.; ZHANG, Z.; TIAN, Z.; BROWN, P. J.; CAI, C.; NELSON, R. L.; MA, J. “Elevation of soybean seed oil content through selection for seed coat shininess”. *Nat Plants* **4**, 30–35, 2018.
45. CHEN, Y. H., GOLS, R. & BENREY, B. “Crop domestication and its impact on naturally selected trophic interactions”. *Annu Rev Entomol* **60**, 35–58, 2015.
46. HERNANDEZ-CUMPLIDO, J.; GIUSTI, M. M.; ZHOU, Y.; KYRYCZENKO-ROTH, V.; CHEN, Y. H.; RODRIGUEZ-SAONA, C. “Testing the ‘plant domestication-reduced defense’ hypothesis in blueberries: the role of herbivore identity”. *Arthropod Plant Interact* **12**, 483–493, 2018.
47. TOGASHI, A. & OIKAWA, S. “Leaf productivity and persistence have been improved during soybean (*Glycine max*) domestication and evolution”. *J Plant Res* **134**, 223–233, 2021.
48. JUNG, J. W., PARK, S. Y., OH, S. D., JANG, Y., SUH, S. J., PARK, S. K., & KIM, J. K. “Metabolomic variability of different soybean genotypes: β -carotene-enhanced (*Glycine max*), wild (*Glycine soja*), and hybrid (*Glycine max* $\times$ *Glycine soja*) soybeans”. *Foods* **10**, 2421, 2021.
49. XU, J. L.; SHIN, J.-S.; PARK, S.-K.; KANG, S.; JEONG, S.-C.; MOON, J.-K.; CHOI, Y. “Differences in the metabolic profiles and antioxidant activities of wild and cultivated black soybeans evaluated by correlation analysis”. *Food Research International* **100**, 166–174, 2017.

50. BATYRSHINA, Z. S., YAAKOV, B., SHAVIT, R., SINGH, A. & TZIN, V. “Comparative transcriptomic and metabolic analysis of wild and domesticated wheat genotypes reveals differences in chemical and physical defense responses against aphids”. *BMC Plant Biol* **20**, 1–20, 2020.
51. CHEN, Q., WANG, X., YUAN, X., SHI, J., ZHANG, C., YAN, N., & JING, C. “Comparison of phenolic and flavonoid compound profiles and antioxidant and α -glucosidase inhibition properties of cultivated soybean (*Glycine max*) and wild soybean (*Glycine soja*)”. *Plants* **10**, 813, 2021.
52. LU, Y., LAM, H., PI, E., ZHAN, Q., TSAI, S., WANG, C., & NGAI, S. “Comparative metabolomics in *Glycine max* and *Glycine soja* under salt stress to reveal the phenotypes of their offspring”. *J Agric Food Chem* **61**, 8711–8721, 2013.
53. HYEON, H., XU, J. L., KIM, J. K. & CHOI, Y. “Comparative metabolic profiling of cultivated and wild black soybeans reveals distinct metabolic alterations associated with their domestication”. *Food Research International* **134**, 109290, 2020.
54. GAILLARD, M. D. P., GLAUSER, G., ROBERT, C. A. M. & TURLINGS, T. C. J. “Fine-tuning the ‘plant domestication-reduced defense’ hypothesis : specialist vs generalist herbivores”. *New Phytologist* **217**, 355–366, 2018.
55. SOLÍS-MONTERO, V., MARTÍNEZ-NATARÉN, D. A., PARRA-TABLA, V., IBARRA-CERDEÑA, C. & MUNGUÍA-ROSAS, M. A. “Herbivory and anti-herbivore defences in wild and cultivated *Cnidoscolus aconitifolius*: disentangling domestication and environmental effects”. *AoB Plants* **12**, 2020.
56. FERNANDEZ, A. R., SÁEZ, A., QUINTERO, C., GLEISER, G. & AIZEN, M. A. “Intentional and unintentional selection during plant domestication: herbivore damage, plant defensive traits and nutritional quality of fruit and seed crops”. *New Phytologist* **231**, 1586–1598, 2021.
57. GARVEY, M., CREIGHTON, C. & KAPLAN, I. “Pepper domestication enhances parasitoid recruitment to herbivore-damaged plants”. *Arthropod Plant Interact* **14**, 695–703, 2020.
58. SHLICHTA, J. G., CUNY, M. A. C., HERNANDEZ-CUMPLIDO, J., TRAINER, J. & BENREY, B. “Contrasting consequences of plant domestication for the chemical defenses of leaves and seeds in lima bean plants”. *Basic Appl Ecol* **31**, 10–20, 2018.

59. CONZEMIUS, S. R., HESLER, L. S., VARENHORST, A. J. & TILMON, K. J. “Resistance to soybean aphid biotype 4 in plant introductions of *Glycine soja*”. *Euphytica* **215**, 98, 2019.
60. OKI, N., KAGA, A., SHIMIZU, T., TAKAHASHI, M., KONO, Y., & TAKAHASHI, M. “QTL mapping of antixenosis resistance to common cutworm (*Spodoptera litura* Fabricius) in wild soybean (*Glycine soja*)”. *PLoS One* **12**, e0189440, 2017.
61. PIUBELLI, G. C., HOFFMANN-CAMPO, C. B., MOSCARDI, F., MIYAKUBO, S. H. & DE OLIVEIRA, M. C. N. “Baculovirus-resistant *Anticarsia gemmatilis* responds differently to dietary rutin”. *Entomol Exp Appl* **119**, 53–60, 2006.
62. BEL, Y., ZACK, M., NARVA, K. & ESCRICHE, B. “Specific binding of *Bacillus thuringiensis* Cry1Ea toxin, and Cry1Ac and Cry1Fa competition analyses in *Anticarsia gemmatilis* and *Chrysodeixis includens*”. *Sci Rep* **9**, 18201, 2019.
63. ÁVILA, C. J. & GROGOLLI, J. F. J. “Pragas da Soja e seu Controle”. *Tecnologia e produção: Soja 2013/2014*. Fundação MS **247**, 2014.
64. DILLON, F. M., CHLUDIL, H. D. & ZAVALA, J. A. “Solar UV-B radiation modulates chemical defenses against *Anticarsia gemmatilis* larvae in leaves of field-grown soybean”. *Phytochemistry* **141**, 27–36, 2017.
65. MOSCARDI, F.; BUENO, A. D. F.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; ROGGIA, S.; HOFFMANN-CAMPO, C. B.; POMARI, A. F.; CORSO, I. C.; YANO, S. A. C. “Artrópodes que atacam as folhas da soja”. *Soja: Manejo Integrado de Insetos e outros Artrópodes-Praga* **860**, 2012.
66. OMOTO, C., BERNARDI, O., SALMERON, E., SORGATTO, R. J., DOURADO, P. M., CRIVELLARI, A., & HEAD, G. P. “Field-evolved resistance to Cry1Ab maize by *Spodoptera frugiperda* in Brazil”. *Pest Manag Sci* **72**, 1727–1736 (2016).
67. LUTTRELL, R. G., MINK, J. S. & KNIGHTEN, K. “Damage to cotton fruiting structures by the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae)”. *J Cotton Sci* **3**, 35–44, 1999.

68. GORDY, J. W., LEONARD, B. R., BLOUIN, D., DAVIS, J. A. & STOUT, M. J. “Comparative effectiveness of potential elicitors of plant resistance against *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) in four crop plants”. PLoS One **10**, e0136689, 2015.
69. BARROS, E. M., TORRES, J. B., RUBERSON, J. R. & OLIVEIRA, M. D. “Development of *Spodoptera frugiperda* on different hosts and damage to reproductive structures in cotton”. Entomol Exp Appl **137**, 237–245, 2010.
70. DE FREITAS BUENO, R. C. O., DE FREITAS BUENO, A., MOSCARDI, F., POSTALI PARRA, J. R. & HOFFMANN-CAMPO, C. B. “Lepidopteran larva consumption of soybean foliage: basis for developing multiple-species economic thresholds for pest management decisions”. Pest Manag Sci **67**, 170–174, 2011.
71. VILELA, A. A., TOREZAN-SILINGARDI, H. M. & DEL-CLARO, K. “Conditional outcomes in ant–plant–herbivore interactions influenced by sequential flowering”. Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants **209**, 359–366, 2014.
72. STOUT, M. J. “Reevaluating the conceptual framework for applied research on host-plant resistance”. Insect Sci **20**, 263–272, 2013.
73. CHEN, X., RICHTER, A. R., STOUT, M. J. & DAVIS, J. A. “Effects of induced plant resistance on soybean looper (Lepidoptera: Noctuidae) in soybean”. Arthropod Plant Interact **12**, 543–551, 2018.
74. TRAW, M. B. & DAWSON, T. E. “Differential induction of trichomes by three herbivores of black mustard”. Oecologia **131**, 526–532, 2002.
75. BIXENMANN, R. J., COLEY, P. D., WEINHOLD, A. & KURSAR, T. A. “High herbivore pressure favors constitutive over induced defense”. Ecol Evol **6**, 6037–6049, 2016.
76. ACEVEDO, F. E., PEIFFER, M., RAY, S., TAN, C.-W. & FELTON, G. W. “Silicon-mediated enhancement of herbivore resistance in agricultural crops”. Front Plant Sci **12**, 2021.
77. ALJBORY, Z. & CHEN, M. “Indirect plant defense against insect herbivores: a review”. Insect Sci **25**, 2–23, 2018.
78. GOLS, R. “Direct and indirect chemical defences against insects in a multitrophic framework”. Plant Cell Environ **37**, 1741–1752, 2014.

79. WARI, D., ABOSHI, T., SHINYA, T. & GALIS, I. “Integrated view of plant metabolic defense with particular focus on chewing herbivores”. *J Integr Plant Biol* **64**, 449–475, 2022.
80. CHEN, M.-S. “Inducible direct plant defense against insect herbivores: A review”. *Insect Sci* **15**, 101–114, 2008.
81. NURUL AZMINA ABDUL MALIK, KUMAR, I. S. & NADARAJAH, K. “Elicitor and receptor molecules : orchestrators of plant defense and immunity”. *Int J Mol Sci* **21**, 1–34, 2020.
82. MAFFEI, M. E., MITHÖFER, A. & BOLAND, W. “Before gene expression: early events in plant–insect interaction”. *Trends Plant Sci* **12**, 310–316, 2007.
83. ZHOU, S., LOU, Y.-R., TZIN, V. & JANDER, G. “Alteration of plant primary metabolism in response to insect herbivory”. *Plant Physiol* **169**, pp.01405.2015, 2015.
84. NABITY, P. D., ZAVALA, J. A. & DELUCIA, E. H. “Herbivore induction of jasmonic acid and chemical defences reduce photosynthesis in *Nicotiana attenuata*”. *J Exp Bot* **64**, 685–694, 2013.
85. PAPAIZIAN, S., KHALING, E., BONNET, C., LASSUEUR, S., REYMOND, P., MORITZ, T., & ALBRECHTSEN, B. R. “Central metabolic responses to ozone and herbivory affect photosynthesis and stomatal closure”. *Plant Physiol* **172**, 2057–2078, 2016.
86. LI, L., LI, T., JIANG, Y., YANG, Y., ZHANG, L., JIANG, Z., & YANG, H. “Alteration of local and systemic amino acids metabolism for the inducible defense in tea plant (*Camellia sinensis*) in response to leaf herbivory by *Ectropis oblique*”. *Arch Biochem Biophys* **683**, 108301, 2020.
87. KANOBE, C., MCCARVILLE, M. T., O’NEAL, M. E., TYLKA, G. L. & MACINTOSH, G. C. “Soybean aphid infestation induces changes in fatty acid metabolism in soybean”. *PLoS One* **10**, e0145660, 2015.
88. AHARONI, A. & GALILI, G. “Metabolic engineering of the plant primary–secondary metabolism interface”. *Curr Opin Biotechnol* **22**, 239–244, 2011.
89. KÖLLNER, T. G., LENK, C., SCHNEE, C., KÖPKE, S., LINDEMANN, P., GERSHENZON, J., & DEGENHARDT, J. “Localization of sesquiterpene formation and emission in maize leaves after herbivore damage”. *BMC Plant Biol* **13**, 15, 2013.

90. PORTO, D. D., MATSUURA, H. N., VARGAS, L. R. B., HENRIQUES, A. T. & FETT-NETO, A. G. “Shoot accumulation kinetics and effects on herbivores of the wound-induced antioxidant indole alkaloid brachycerine of *Psychotria brachyceras*”. *Nat Prod Commun* **9**, 2014.
91. DE BORTOLI, S. A., MURATA, A. T., VACARI, A. M., DE BORTOLI, C. P. & RAMALHO, D. G. “Herbivoria em soja: Efeito na composição química das folhas e na biologia da lagarta da soja e do percevejo verde pequeno”. *Comunicata Scientiae* **3**, 192–198, 2012.
92. BOWN, D. P., WILKINSON, H. S. & GATEHOUSE, J. A. “Regulation of expression of genes encoding digestive proteases in the gut of a polyphagous lepidopteran larva in response to dietary protease inhibitors”. *Physiol Entomol* **29**, 278–290, 2004.
93. PAIXÃO, G. P., LOURENÇÃO, A. L., SILVA, C. R., MENDONÇA, E. G., SILVA, P. L., OLIVEIRA, J. A., & OLIVEIRA, M. G. A. “Biochemical responses of *Anticarsia gemmatilis* (Lepidoptera: Noctuidae) in soybean cultivars sprayed with the protease inhibitor berenil”. *J Agric Food Chem* **61**, 8034–8038, 2013.
94. MOREIRA, L. F., CAMPOS, W. G., RIBEIRO, F. R., GUEDES, R. N. C. & OLIVEIRA, M. G. A. “Survival and developmental impairment induced by the trypsin inhibitor bis-benzamidine in the velvetbean caterpillar (*Anticarsia gemmatilis*)”. *Crop Protection* **30**, 1285–1290, 2011.
95. FELTON, G. W., BI, J. L., SUMMERS, C. B., MUELLER, A. J. & DUFFEY, S. S. “Potential role of lipoxygenases in defense against insect herbivory”. *J Chem Ecol* **20**, 651–666, 1994.
96. SILVA, P. L. D., CORDEIRO, G., SILVA, C. R. D., BARROS, R. A., SILVA, C. R. D., ZANUNCIO, J. C., & OLIVEIRA, M. G. “Does mechanical damage on soybean induces the production of flavonoids?”. *Annals of the Brazilian Academy of Sciences* **90**, 3415–3422, 2018.
97. TAYLOR, L. P. & GROTEWOLD, E. “Flavonoids as developmental regulators”. *Curr Opin Plant Biol* **8**, 317–323, 2005.
98. ROMANI, A., VIGNOLINI, P., GALARDI, C., AROLDI, C., VAZZANA, C., & HEIMLER, D. “Polyphenolic Content in Different Plant Parts of Soy Cultivars Grown under Natural Conditions”. *J Agric Food Chem* **51**, 5301–5306, 2003.

99. PERLATTI, B., FERNANDES, J. B., SILVA, M. F., ARDILA, J. A., CARNEIRO, R. L., SOUZA, B. H., & FORIM, M. R. "Application of a Quantitative HPLC-ESI-MS/MS Method for Flavonoids in Different Vegetables Matrices". J Braz Chem Soc **27**, 475–483, 2015.
100. COSTA, J. O. "Perfil químico e dinâmica espacial e temporal de flavonoides de soja [*Glycine max* (L.) Merr.]". Universidade Federal de São Carlos, São Carlos - SP, 2021.
101. PEÑA, V. "Comparação do perfil de metabólitos secundários de cultivares de soja". Universidade Federal de São Carlos, São Carlos - SP, 2021.
102. BENTIVENHA, J. P. F.; CANASSA, V. F.; BALDIN, E. L. L.; BORGUINI, M. G.; LIMA, G. P. P.; ANDRÉ L. LOURENÇÃO. "Role of the rutin and genistein flavonoids in soybean resistance to *Piezodorus guildinii* (Hemiptera : Pentatomidae)". Arthropod. Plant. Interact. **12**, 311–320, 2018
103. O'NEILL, B. F.; ZANGERL, A. R.; DERMODY, O.; BILGIN, D. D.; CASTEEL, C. L.; ZAVALA, J. A.; DELUCIA, E. H.; BERENBAUM, M. R. "Impact of elevated levels of atmospheric CO₂ and herbivory on flavonoids of soybean (*Glycine max* Linnaeus)". J. Chem. Ecol. **36**, 35–45, 2010.
104. ROMERO, B.; DILLON, F. M.; ZAVALA, J. A. "Different soybean cultivars respond differentially to damage in a herbivore - specific manner and decrease herbivore performance". Arthropod. Plant. Interact. **14**, 89–99, 2020.
105. STRAPASSON, P., PINTO-ZEVALLOS, D. M. & ZARBIN, P. H. G. "Soybean (*Glycine max*) plants genetically modified to express resistance to glyphosate: can they modify airborne signals in tritrophic interactions?" Chemoecology **26**, 7–14, 2016.
106. STRAPASSON, P., PINTO-ZEVALLOS, D. M., DA SILVA GOMES, S. M. & ZARBIN, P. H. G. "Volatile organic compounds induced by herbivory of the soybean looper *Chrysodeixis includens* in transgenic glyphosate-resistant soybean and the behavioral effect on the parasitoid, *metecorus rubens*". J Chem Ecol **42**, 806–813, 2016.
107. PILON, A. C., SELEGATO, D. M., FERNANDES, R. P., BUENO, P. C., PINHO, D. R., CARNEVALE, F., & LOPES, N. P. Metabolômica de plantas: Métodos e desafios". Quim Nova **43**, 329–354, 2020.

108. GORROCHATEGUI, E., JAUMOT, J., LACORTE, S. & TAULER, R. “Data analysis strategies for targeted and untargeted LC-MS metabolomic studies: Overview and workflow”. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* **82**, 425–442, 2016.
109. CANUTO, G. A., COSTA, J. L. D., CRUZ, P. L. D., SOUZA, A. R. L. D., FACCIO, A. T., KLASSEN, A., & TAVARES, M. F. “Metabolômica: definições, estado-da-arte e aplicações representativas”. *Quim Nova* **41**, 75–91, 2017.
110. PLUMB, R. S., GETHINGS, L. A., RAINVILLE, P. D., ISAAC, G., TRENGOVE, R., KING, A. M., & WILSON, I. D. “Advances in high throughput LC/MS based metabolomics: A review”. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* **160**, 116954, 2023.
111. BERGOMAZ, R. & BOPPRE, M. “A simple instant diet for rearing arctiidae and other moths”. *J Lepid Soc*, **40**(3), 131-137, 1986.
112. SARDINHA DE SOUZA, B. H., BOIÇA-JÚNIOR, A. L., JANINI, J. C., GONÇALVES DA SILVA, A. & LOBATO-RODRIGUES, N. E. “Feeding of *Spodoptera eridania* (Lepidoptera: Noctuidae) on soybean genotypes”. *Rev Colomb Entomol* **38**, 215–223, 2012.
113. BOEGE, K., DIRZO, R., SIEMENS, D. & BROWN, P. “Ontogenetic switches from plant resistance to tolerance: minimizing costs with age?”. *Ecol Lett* **10**, 177–187, 2007.
114. BORDUCHI, L. C. L., MILORI, D. M. B. P., MEYER, M. C. & VILLAS-BOAS, P. R. “Reducing matrix effects on the quantification of Ca, Mg, and Fe in soybean leaf samples using calibration-free LIBS and one-point calibration”. *Spectrochim Acta Part B At Spectrosc* **198**, 106561, 2022.
115. PINHEIRO, J. B., GARCIA, A. H., ROSA, S. R. A., FERREIRA, G. A., MACHADO, V. D. O. F., & VELOSO, V. D. R. S. “Aspectos biológicos de *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) em cultivares de soja (*Glycine max* Merrill)”. *Pesqui Agropecu Trop* **29**, 39–41, 2007.
116. QUEIROZ, E. B. D., MIRANDA, D. D. S., SILVA, F. C. D., BORELLA, C., ALMEIDA, A. C. D. S., HIROSE, E., & JESUS, F. G. D. “Antibiosis in soybean genotypes to *Spodoptera cosmioides* (Lepidoptera: Noctuidae). *Rev Bras Entomol* **64**, 2020.

117. COELHO, M., GODOY, A. F., BAPTISTA, Y. A., BENTIVENHA, J. P. F., LOURENÇÃO, A. L., BALDIN, E. L. L., & CATCHOT, A. L. “Assessing soybean genotypes for resistance to *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae)”. J Econ Entomol **113**, 471–481, 2020.
118. DE QUEIROZ, E. B., DA SILVA, F. C., JUNIOR, C. B., ARAÚJO, M. S., HIROSE, E., & DE JESUS, F. G. “Antixenosis in soybean to *Spodoptera cosmioides* (Lepidoptera: Noctuidae) mediated by leaf color and trichome density”. Phytoparasitica **48**, 813–821, 2020.
119. ONGARATTO, S., SILVEIRA, C. M., SANTOS, M. C., GORRI, J. E. R., SARTORI, M. M. P., HUNT, T. E., & BALDIN, E. L. L. “Resistance of soybean genotypes to *Anticarsia gemmatilis* (Lepidoptera: Erebidae): antixenosis and antibiosis characterization”. J Econ Entomol **114**, 2571–2580, 2021.
120. BOIÇA JÚNIOR, A. L., SOUZA, B. H. S., COSTA, E. N. & PAIVA, L. B. “Influence of fall armyworm previous experience with soybean genotypes on larval feeding behavior”. Arthropod Plant Interact **11**, 89–97, 2017.
121. FAVETTI, B. M., BUTNARIU, A. R. & FOERSTER, L. A. “Biology and reproductive capacity of *Spodoptera eridania* (Cramer) (Lepidoptera, Noctuidae) in different soybean cultivars”. Rev Bras Entomol **59**, 89–95, 2015.
122. SOUZA, B. H. S., SILVA, A. G., JANINI, J. C. & BOICA JÚNIOR, A. L. “Antibiosis in soybean genotypes and the resistance levels to *Spodoptera eridania* (Cramer) (Lepidoptera: Noctuidae)”. Neotrop Entomol **43**, 582–587, 2014.
123. SILVA, T. R. F. B., ALMEIDA, A. C. D. S., MOURA, T. D. L., SILVA, A. R. D., FREITAS, S. D. S., & JESUS, F. G. “Effect of the flavonoid rutin on the biology of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae)”. Acta Sci Agron **38**, 165, 2016.
124. BOICA JUNIOR, A. L., EDUARDO, W. I., DE SOUZA, B. H. S., DE MORAES, R. F. O., LOUVANDINI, H., BARBOSA, J. C., & STOUT, M. J. “Protocol for assessing soybean antibiosis to *Chloridea virescens*”. Entomol Exp Appl **170**, 689–699, 2022.
125. DILLON, F. M., TEJEDOR, M. D., ILINA, N., CHLUDIL, H. D., MITHÖFER, A., PAGANO, E. A., & ZAVALA, J. A. “Solar UV-B radiation and ethylene play a key role in modulating effective defenses against *Anticarsia gemmatilis* larvae in field-grown soybean”. Plant Cell Environ **41**, 383–394, 2018.

126. SOUZA, B. H., COSTA, E. N., RIBEIRO, Z. A., PERLATTI, B., CRUZ, M. C., FORIM, M. R., & STOUT, M. J. “Soybean leaf age and plant stage influence expression of resistance to velvetbean caterpillar and fall armyworm”. *Chemoecology* **31**, 377–390, 2021.
127. WAN, N. F., DENG, J. Y., HUANG, K. H., JI, X. Y., ZHANG, H., JIANG, J. X., & LI, B. “Nucleopolyhedrovirus infection enhances plant defences by increasing plant volatile diversity”. *Biocontrol Sci Technol* **27**, 1292–1307, 2017.
128. BUSTOS-SEGURA, C., FORNONI, J. & NÚÑEZ-FARFÁN, J. “Evolutionary changes in plant tolerance against herbivory through a resurrection experiment”. *J Evol Biol* **27**, 488–496, 2014.
129. SEHGAL, A., SITA, K., SIDDIQUE, K. H., KUMAR, R., BHOGIREDDY, S., VARSHNEY, R. K., & NAYYAR, H. “Drought or/and heat-stress effects on seed filling in food crops: impacts on functional biochemistry, seed yields, and nutritional quality”. *Frontiers in plant science*, **9**, 1705, 2018.
130. VAZ PATTO, M. C., AMAROWICZ, R., ARYEE, A. N., BOYE, J. I., CHUNG, H. J., MARTIN-CABREJAS, M. A., & DOMONEY, C. “Achievements and challenges in improving the nutritional quality of food legumes”. *Critical reviews in plant sciences*, **34**(1-3), 105-143, 2015.
131. FARAG, M. A., ZHANG, H. & RYU, C.-M. “Dynamic chemical communication between plants and bacteria through airborne signals: induced resistance by bacterial volatiles”. *J Chem Ecol* **39**, 1007–1018, 2013.
132. LEE, B., FARAG, M. A., PARK, H. B., KLOEPPER, J. W., LEE, S. H., & RYU, C. M. “Induced resistance by a long-chain bacterial volatile: elicitation of plant systemic defense by a c13 volatile produced by *Paenibacillus polymyxa*”. *PLoS One* **7**, e48744, 2012.
133. LALLER, R., KHOSLA, P. K., NEGI, N., AVINASH, H., THAKUR, N., KASHYAP, S., & HUSSAIN, I. “Bacterial volatiles as PGPRs: Inducing plant defense mechanisms during stress periods”. *South African Journal of Botany* **159**, 131–139, 2023.
134. HO, H. M., CHEN, R. Y., LEUNG, L. K., CHAN, F. L., HUANG, Y., & CHEN, Z. Y. “Difference in flavonoid and isoflavone profile between soybean and soy leaf”. *Biomedicine & Pharmacotherapy* **56**, 289–295, 2002.
135. ZHAO, J. & DIXON, R. A. “The ‘ins’ and ‘outs’ of flavonoid transport”. *Trends Plant Sci* **15**, 72–80, 2010.

136. BRUNETTI, C., DI FERDINANDO, M., FINI, A., POLLASTRI, S. & TATTINI, M. Flavonoids as antioxidants and developmental regulators: relative significance in plants and humans”. *Int J Mol Sci* **14**, 3540–3555 2013.
137. AGATI, G., BRUNETTI, C., DI FERDINANDO, M., FERRINI, F., POLLASTRI, S., & TATTINI, M. “Functional roles of flavonoids in photoprotection: New evidence, lessons from the past”. *Plant Physiology and Biochemistry* **72**, 35–45, 2013.
138. CHEYNIER, V., COMTE, G., DAVIES, K. M., LATTANZIO, V. & MARTENS, S. “Plant phenolics: Recent advances on their biosynthesis, genetics, and ecophysiology”. *Plant Physiology and Biochemistry* **72**, 1–20, 2013.
139. SAMANTA, A., DAS, G., & DAS, S. K. “Roles of flavonoids in plants”. *Carbon*, **100**(6), 12-35, 2011.
140. PICHERSKY, E. & RAGUSO, R. A. “Why do plants produce so many terpenoid compounds?”. *New Phytologist* **220**, 692–702, 2018.
141. CAHOON, E. B. & LI-BEISSON, Y. “Plant unusual fatty acids: learning from the less common”. *Curr Opin Plant Biol* **55**, 66–73, 2020.
142. YU, X., ZHANG, W., ZHANG, Y., ZHANG, X., LANG, D., & ZHANG, X. “The roles of methyl jasmonate to stress in plants”. *Functional Plant Biology* **46**, 197, 2019.
143. LI, C., WANG, P., MENZIES, N. W., LOMBI, E. & KOPITTKKE, P. M. “Effects of methyl jasmonate on plant growth and leaf properties”. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* **181**, 409–418, 2018.
144. CHEONG, J.-J. & CHOI, Y. DO. “Methyl jasmonate as a vital substance in plants”. *Trends in Genetics* **19**, 409–413, 2003.
145. GARCÍA-VILLALBA, R., LEÓN, C., DINELLI, G., SEGURA-CARRETERO, A., FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ, A., GARCIA-CAÑAS, V., & CIFUENTES, A. “Comparative metabolomic study of transgenic versus conventional soybean using capillary electrophoresis–time-of-flight mass spectrometry”. *J Chromatogr A* **1195**, 164–173, 2008.
146. LEE, Y. H., KIM, B., HWANG, S.-R., KIM, K. & LEE, J. H. “Rapid characterization of metabolites in soybean using ultra high performance liquid chromatography coupled with electrospray ionization quadrupole time-of-flight mass spectrometry (UPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS) and screening for α -glucosidase

inhibitory and antioxidant properties through different solvent systems”. J Food Drug Anal **26**, 277–291, 2018.

147. PENG, H., LI, W., LI, H., DENG, Z. & ZHANG, B. “Extractable and non-extractable bound phenolic compositions and their antioxidant properties in seed coat and cotyledon of black soybean (*Glycine max* (L.) merr)”. J Funct Foods **32**, 296–312, 2017.

148. TAREQ, F. S., KOTHA, R. R., NATARAJAN, S., SUN, J. & LUTHRIA, D. L. “An untargeted metabolomics approach to study the variation between wild and cultivated soybeans”. Molecules **28**, 5507, 2023.

149. LIN, H., RAO, J., SHI, J., HU, C., CHENG, F., WILSON, Z. A., & QUAN, S. “Seed metabolomic study reveals significant metabolite variations and correlations among different soybean cultivars”. J Integr Plant Biol **56**, 826–836, 2014.

150. LI, N., XU, C., LI-BEISSON, Y. & PHILIPPAR, K. “Fatty acid and lipid transport in plant cells”. Trends Plant Sci **21**, 145–158, 2016.

151. MINTO, R. E. & BLACKLOCK, B. J. “Biosynthesis and function of polyacetylenes and allied natural products”. Prog Lipid Res **47**, 233–306, 2008.

152. RIDGWAY, N., MCPHEE, M., FOSTER, J., PELECH, S. & DELLAIRE, G. “Regulation of phosphatidylcholine synthesis at the inner nuclear membrane and nuclear lipid droplets”. Journal of Biological Chemistry **300**, 106360, 2024.

153. HAQUE, M. E., HAQUE, M., RAHMAN, M. M., RAHMAN, M. M., KHONDKAR, P., WAHED, M. I., & SARKER, S. D. “E-octadec-7-en-5-ynoic acid from the roots of *Capparis zeylanica*”. Fitoterapia **75**, 130–133, 2004.

154. XU, T., TRIPATHI, S. K., FENG, Q., LORENZ, M. C., WRIGHT, M. A., JACOB, M. R., & AGARWAL, A. K. “A potent plant-derived antifungal acetylenic acid mediates its activity by interfering with fatty acid homeostasis”. Antimicrob Agents Chemother **56**, 2894–2907, 2012.

155. JEON, J. E., KIM, J. G., FISCHER, C. R., MEHTA, N., DUFOUR-SCHROIF, C., WEMMER, K., & SATTELY, E. “A pathogen-responsive gene cluster for highly modified fatty acids in tomato”. Cell **180**, 176-187.e19, 2020.

156. SANTOS, P., BUSTA, L., YIM, W. C., CAHOON, E. B. & KOSMA, D. K. “Structural diversity, biosynthesis, and function of plant falcarin-type polyacetylenic lipids”. J Exp Bot **73**, 2889–2904, 2022.

157. YAENO, T., MATSUDA, O. & IBA, K. "Role of chloroplast trienoic fatty acids in plant disease defense responses". *The Plant Journal* **40**, 931–941, 2004.
158. UPCHURCH, R. G. "Fatty acid unsaturation, mobilization, and regulation in the response of plants to stress". *Biotechnol Lett* **30**, 967–977, 2008.
159. MUELLER, M. J. "Archetype signals in plants: the phytoprostanes". *Curr Opin Plant Biol* **7**, 441–448, 2004.
160. KNIEPER, M., VIEHHAUSER, A. & DIETZ, K.-J. "Oxylipins and reactive carbonyls as regulators of the plant redox and reactive oxygen species network under stress". *Antioxidants* **12**, 814, 2023.
161. LOEFFLER, C., BERGER, S., GUY, A., DURAND, T., BRINGMANN, G., DREYER, M., & MUELLER, M. J. "B1-phytoprostanes trigger plant defense and detoxification responses". *Plant Physiol* **137**, 328–340, 2005.
162. YONNY, M. E., RODRÍGUEZ TORRESI, A., CUYAMENDOUS, C., REVERSAT, G., OGER, C., GALANO, J. M., & NAZARENO, M. A. "Thermal stress in melon plants: phytoprostanes and phytofurans as oxidative stress biomarkers and the effect of antioxidant supplementation". *J Agric Food Chem* **64**, 8296–8304, 2016.
163. LEWANDOWSKA, M., KEYL, A. & FEUSSNER, I. "Wax biosynthesis in response to danger: its regulation upon abiotic and biotic stress". *New Phytologist* **227**, 698–713, 2020.
164. WANG, X., KONG, L., ZHI, P. & CHANG, C. "Update on cuticular wax biosynthesis and its roles in plant disease resistance". *Int J Mol Sci* **21**, 5514, 2020.
165. RACOVITA, R. C., PENG, C., AWAKAWA, T., ABE, I. & JETTER, R. "Very-long-chain 3-hydroxy fatty acids, 3-hydroxy fatty acid methyl esters and 2-alkanols from cuticular waxes of *Aloe arborescens* leaves". *Phytochemistry* **113**, 183–194, 2015.
166. BEN NEJMA, A., ZNATI, M., NGUIR, A., DAICH, A., OTHMAN, M., LAWSON, A. M., & BEN JANNET, H. "Phytochemical and biological studies of *Atriplex inflata* f. Muell.: isolation of secondary bioactive metabolites". *Journal of Pharmacy and Pharmacology* **69**, 1064–1074, 2017.

167. TAVARES-SILVA, P., LIMA, M. F., CRUZ, L. S., DE MORAES, R. M., DE SOUZA, S. R., & FURLAN, C. M. “Alterations in the flavonoid pathway and VOCs confer photoprotection in UVB-irradiated soybean”. *Theor Exp Plant Physiol* **34**, 551–562, 2022.
168. ALI, M., MIAO, L., SOUDY, F. A., DARWISH, D. B. E., ALRDAHE, S. S., ALSHEHRI, D., & ZHAO, J. “Overexpression of terpenoid biosynthesis genes modifies root growth and nodulation in soybean (*Glycine max*)”. *Cells* **11**, 2622, 2022.
169. PARMEZAN, T. R., BRITO, S. L., CARVALHO, K. D., AQUINO, M. D., BIRKETT, M., PICKETT, J., & MARCELINO-GUIMARÃES, F. C. “Transcriptional profile of genes involved in the production of terpenes and glyceollins in response to biotic stresses in soybean”. *Genetics and Molecular Biology*, **43**(4), e20190388, 2020.
170. YU, Q., REN, Z., LIU, L., ZHANG, L., YIN, X., SHEN, W., & LIU, B. “LC/MS and MALDI-MSI reveal the different distribution of terpenoids in *Glycine Max* and *Glycine Soja* seeds”. *LWT*, 117781, 2025.
171. GONZÁLEZ-COLOMA, A., LÓPEZ-BALBOA, C., SANTANA, O., REINA, M. & FRAGA, B. M. “Triterpene-based plant defenses”. *Phytochemistry Reviews* **10**, 245–260, 2011.
172. KANNAN, S., VIJAYAKUMAR, B., SURESHKUMAR, C., MOHANKUMAR, R. & NARASIMHAN, S. “Insect antifeedant and growth regulating activities of b-amyrin from *Sarcostemma acidum*”. *Asian Journal of Chemistry* **25**, 1167–1168, 2013.
173. YANG, C., HALITSCHKE, R. & O’CONNOR, S. E. “OXIDOSQUALENE CYCLASE 1 and 2 influence triterpene biosynthesis and defense in *Nicotiana attenuata*”. *Plant Physiol* **194**, 2580–2599, 2024.
174. D’ADDABBO, T., CARBONARA, T., LEONETTI, P., RADICCI, V., TAVA, A., & AVATO, P. “Control of plant parasitic nematodes with active saponins and biomass from *Medicago sativa*”. *Phytochemistry Reviews* **10**, 503–519, 2011.
175. Da Silva, P., Eyraud, V., Carre-Pierrat, M., Sivignon, C., Rahioui, I., Royer, C., & Gressent, F. “High toxicity and specificity of the saponin 3-GlcA-28-AraRhaxyl-medicagenate, from *Medicago truncatula* seeds, for *Sitophilus oryzae*”. *BMC Chem Biol* **12**, 3, 2012.

176. DE GEYTER, E., SMAGGHE, G., RAHBÉ, Y. & GEELLEN, D. “Triterpene saponins of *Quillaja saponaria* show strong aphicidal and deterrent activity against the pea aphid *Acyrtosiphon pisum*’. Pest Manag Sci **68**, 164–169, 2012.
177. ZAYNAB, M., KHAN, J., AL-YAHYAI, R., SADDER, M. & LI, S. “Toxicity of coumarins in plant defense against pathogens”. Toxicon **250**, 108118, 2024.
178. ZHOU, H., JIAN, Y., SHAO, Q., GUO, F., ZHANG, M., WAN, F., & DING, W. “Development of sustainable insecticide candidates for protecting pollinators: insight into the bioactivities, selective mechanism of action and QSAR of natural coumarin derivatives against aphids”. J Agric Food Chem **71**, 18359–18374, 2023.
179. YUAN, L., LI, T., HUANG, Y., ZHANG, A., YAN, S., & JIANG, D. “Identification and potential application of key insecticidal metabolites in *Tilia amurensis*, a low-preference host of *Hyphantria cunea*”. Pestic Biochem Physiol **199**, 105796, 2024.
180. CORZO, F. L., RUIZ, D. M., ROMANELLI, G., PUCCI ALCAIDE, F. & GILABERT, M. “Biological activity of coumarins against *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae)”. Int J Pest Manag 1–8, 2024.
181. JEFFRIES, K. A., FAN, Z., SUN, X., OLMEDO, G. M., ZHAO, W., MATTIA, M., & PLOTTO, A. “New insights in the flavor and chemistry of Huanglongbing tolerant citrus hybrids with/without *Poncirus trifoliata* in their pedigree”. Frontiers in Horticulture **3**, 2024.
182. O’NEILL, B. F., ZANGERL, A. R., DERMODY, O., BILGIN, D. D., CASTEEL, C. L., ZAVALA, J. A., & BERENBAUM, M. R. “Impact of elevated levels of atmospheric CO₂ and herbivory on flavonoids of soybean (*Glycine max* Linnaeus)”. J Chem Ecol **36**, 35–45, 2010.
183. WINTER, T. R. & ROSTÁS, M. “Ambient ultraviolet radiation induces protective responses in soybean but does not attenuate indirect defense”. Environmental Pollution **155**, 290–297, 2008.
184. PINHEIRO, V. J., GÓMEZ, J. D., GOUVEIA, A. S., COUTINHO, F. S., TEIXEIRA, R. M., LORIATO, V. A., & RAMOS, H. J. “Gene expression, proteomic, and metabolic profiles of Brazilian soybean genotypes reveal a possible mechanism of resistance to the velvet bean caterpillar *Anticarsia gemmatilis*”. Arthropod Plant Interact **18**, 15–32, 2024.

185. FUNG, S. M., RAZALI, Z. & SOMASUNDRAM, C. “Involvement of phenolic compounds and their composition in the defense response of *Fusarium oxysporum* infected berangan banana plants”. *Sains Malays* **50**, 23–33, 2021.
186. LALAK-KAŃCZUGOWSKA, J., WITASZAK, N., WAŚKIEWICZ, A., BOCIANOWSKI, J. & STĘPIEŃ, Ł. “Plant metabolites affect *Fusarium proliferatum* metabolism and in vitro fumonisin biosynthesis”. *Int J Mol Sci* **24**, 3002, 2023.
187. GÓMEZ, J. D., VITAL, C. E., OLIVEIRA, M. G. A. & RAMOS, H. J. O. “Broad range flavonoid profiling by LC/MS of soybean genotypes contrasting for resistance to *Anticarsia gemmatilis* (Lepidoptera: Noctuidae)”. *PLoS One* **13**, e0205010, 2018.
188. HOFFMANN-CAMPO, C. B., HARBORNE, J. B. & MCCAFFERY, A. R. “Pre-ingestive and post-ingestive effects of soya bean extracts and rutin on *Trichoplusia ni* growth”. *Entomol Exp Appl* **98**, 181–194, 2001.
189. SALVADOR, M. C., BOIÇA JR, A. L., DE OLIVEIRA, M. C., DA GRAÇA, J. P., DA SILVA, D. M., & HOFFMANN-CAMPO, C. B. “Do different casein concentrations increase the adverse effect of rutin on the biology of *Anticarsia gemmatilis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae)?”. *Neotrop Entomol* **39**, 774–783, 2010.
190. MURAI, Y., TAKAHASHI, R., KITAJIMA, J. & IWASHINA, T. “New quercetin triglycoside from the leaves of soybean cultivar ‘Clark’”. *Nat Prod Commun* **14**, 2019.
191. VEIGA, R. D. A. “Caracterização morfológica e agrônômica do cultivar de soja IAC 100. IAC, 1999.
192. BERNSTEIN, N., GORELICK, J., ZERAHIA, R. & KOCH, S. “Impact of N, P, K, and humic acid supplementation on the chemical profile of Medical cannabis (*Cannabis sativa* L)”. *Front Plant Sci* **10**, 2019.
193. KUMAR, S., KUMAR, S. & MOHAPATRA, T. “Interaction between macro- and micro-nutrients in plants”. *Front Plant Sci* **12**, 2021.
194. TAKEHISA, H., SATO, Y., ANTONIO, B. A. & NAGAMURA, Y. “Global transcriptome profile of rice root in response to essential macronutrient deficiency”. *Plant Signal Behav* **8**, e24409, 2013.
195. ZHENG, Z.-L. “Carbon and nitrogen nutrient balance signaling in plants”. *Plant Signal Behav* **4**, 584–591, 2009.

196. WANG, T., CHEN, X., JU, C. & WANG, C. “Calcium signaling in plant mineral nutrition: From uptake to transport”. *Plant Commun* **4**, 100678, 2023.
197. LI, M., XU, J., WANG, X., FU, H., ZHAO, M., WANG, H., & SHI, L. “Photosynthetic characteristics and metabolic analyses of two soybean genotypes revealed adaptive strategies to low-nitrogen stress”. *J Plant Physiol* **229**, 132–141, 2018.
198. YAO, Y., YUAN, H., WU, G., YAN, J., ZHAO, D., CHEN, S., & GONG, Z. “Nitrogen fixation capacity and metabolite responses to phosphorus in soybean nodules”. *Symbiosis* **88**, 21–35, 2022.
199. DU, Y., ZHAO, Q., CHEN, L., YAO, X. & XIE, F. “Effect of drought stress at reproductive stages on growth and nitrogen metabolism in soybean”. *Agronomy* **10**, 302, 2020.
200. AHANGER, M. A., QIN, C., BEGUM, N., MAODONG, Q., DONG, X. X., EL-ESAWI, M., & ZHANG, L. “Nitrogen availability prevents oxidative effects of salinity on wheat growth and photosynthesis by up-regulating the antioxidants and osmolytes metabolism, and secondary metabolite accumulation”. *BMC Plant Biol* **19**, 479, 2019.
201. UDVARDI, M. & POOLE, P. S. “Transport and metabolism in legume-rhizobia symbioses”. *Annu Rev Plant Biol* **64**, 781–805, 2013.
202. IBRAHIM, M. H. & JAAFAR, H. Z. E. “Enhancement of leaf gas exchange and primary metabolites under carbon dioxide enrichment up-regulates the production of secondary metabolites in *Labisia pumila* seedlings”. *Molecules* **16**, 3761–3777, 2011.
203. YAO, Y., YUAN, H., LIU, D. & CHENG, L. “Response of soybean root exudates and related metabolic pathways to low phosphorus stress”. *PLoS One* **19**, 2024.
204. LUO, B., MA, P., NIE, Z., ZHANG, X., HE, X., DING, X., & GAO, S. “Metabolite profiling and genome-wide association studies reveal response mechanisms of phosphorus deficiency in maize seedling”. *The Plant Journal* **97**, 947–969, 2019.
205. AHMAD, P., ABDEL LATEF, A. A., ABD_ ALLAH, E. F., HASHEM, A., SARWAT, M., ANJUM, N. A., & GUCEL, S. “Calcium and potassium supplementation enhanced growth, osmolyte secondary metabolite production,

and enzymatic antioxidant machinery in cadmium-exposed chickpea (*Cicer arietinum* L.)". Front Plant Sci **7**, 2016.

206. ROUT, G. R. & SAHOO, S. "Role of iron in plant growth and metabolism". Reviews in Agricultural Science **3**, 1–24, 2015.

207. JIA, Y., LI, X., LIU, Q., HU, X., LI, J., DONG, R., & CHEN, Z. "Physiological and transcriptomic analyses reveal the roles of secondary metabolism in the adaptive responses of *Stylosanthes* to manganese toxicity". BMC Genomics **21**, 861, 2020.

208. SCHÄDLER, M., JUNG, G., AUGÉ, H. & BRANDL, R. "Palatability, decomposition and insect herbivory: patterns in a successional old-field plant community". Oikos **103**, 121–132, 2003.

209. BEHMER, S. T. "Insect herbivore nutrient regulation". Annu Rev Entomol **54**, 165–187, 2009.

210. FAGAN, W. F., SIEMANN, E., MITTER, C., DENNO, R. F., HUBERTY, A. F., WOODS, H. A., & ELSER, J. J. "Nitrogen in insects: Implications for trophic complexity and species diversification". American Naturalist **160**, 784–802, 2002.

211. PERKINS, M. C., WOODS, H. A., HARRISON, J. F. & ELSER, J. J. "Dietary phosphorus affects the growth of larval *Manduca sexta*". Arch Insect Biochem Physiol **55**, 153–168, 2004.

212. WULFSON, L. S. & STAMP, N. E. "Effects of potassium levels over the range occurring in host plants on the growth of an insect herbivore (*Manduca sexta*)". Entomol Exp Appl **61**, 59–72, 1991.

213. DONG, Z., LIU, X., SRIVASTAVA, A. K., TAN, Q., LOW, W., YAN, X., & HU, C. "Boron deficiency mediates plant–insect (*Diaphorina citri*) interaction by disturbing leaf volatile organic compounds and cell wall functions". Tree Physiol **43**, 597–610, 2023.

214. BAGHBAN, A., SENDI, J. J., ZIBAEI, A. & KHOSRAVI, R. "Effect of heavy metals (Cd, Cu, and Zn) on feeding indices and energy reserves of the cotton boll worm *Helicoverpa armigera* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae)". J Plant Prot Res **54**, 367–373, 2014.

215. RAVET, K. & PILON, M. "Copper and iron homeostasis in plants: the challenges of oxidative stress". Antioxid Redox Signal **19**, 919–932, 2013.

216. SHABALA, S. & POTTOSIN, I. “Regulation of potassium transport in plants under hostile conditions: implications for abiotic and biotic stress tolerance”. *Physiol Plant* **151**, 257–279, 2014.
217. ALDON, D., MBENGUE, M., MAZARS, C. & GALAUD, J. P. “Calcium signalling in plant biotic interactions”. *International Journal of Molecular Sciences*, **19**(3), 665, 2018.
218. MORKUNAS, I., WOŹNIAK, A., MAI, V. C., RUCIŃSKA-SOBKOWIAK, R. & JEANDET, P. “The role of heavy metals in plant response to biotic stress”. *Molecules* **23**, 2320, 2018.

7 - APÊNDICE

FIGURA A.1- Representação hierárquica das principais classes químicas caracterizadas nos genótipos PI 229358, IAC 100; BRS 257, IAC PL-1 e PI 407270. Os valores, representam o número de metabólitos pertencentes à respectiva classe química nesse genótipo.

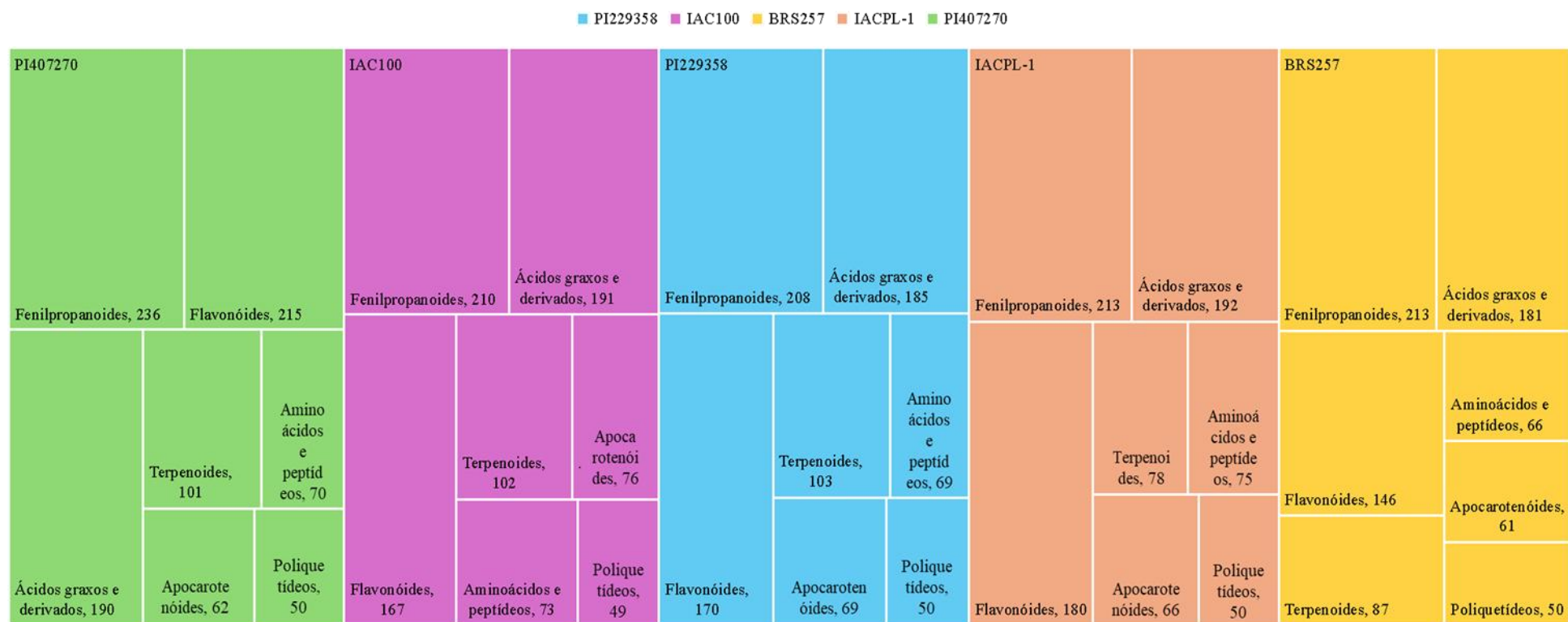


FIGURA A.2 – Cromatogramas de íons totais (TIC) para amostras dos extratos de folhas locais dos genótipos **a)** PI 229358, **b)** IAC 100, **c)** PI 407270, **d)** BRS 257, **e)** IAC PL-1 e **f)** controle de qualidade (QC).

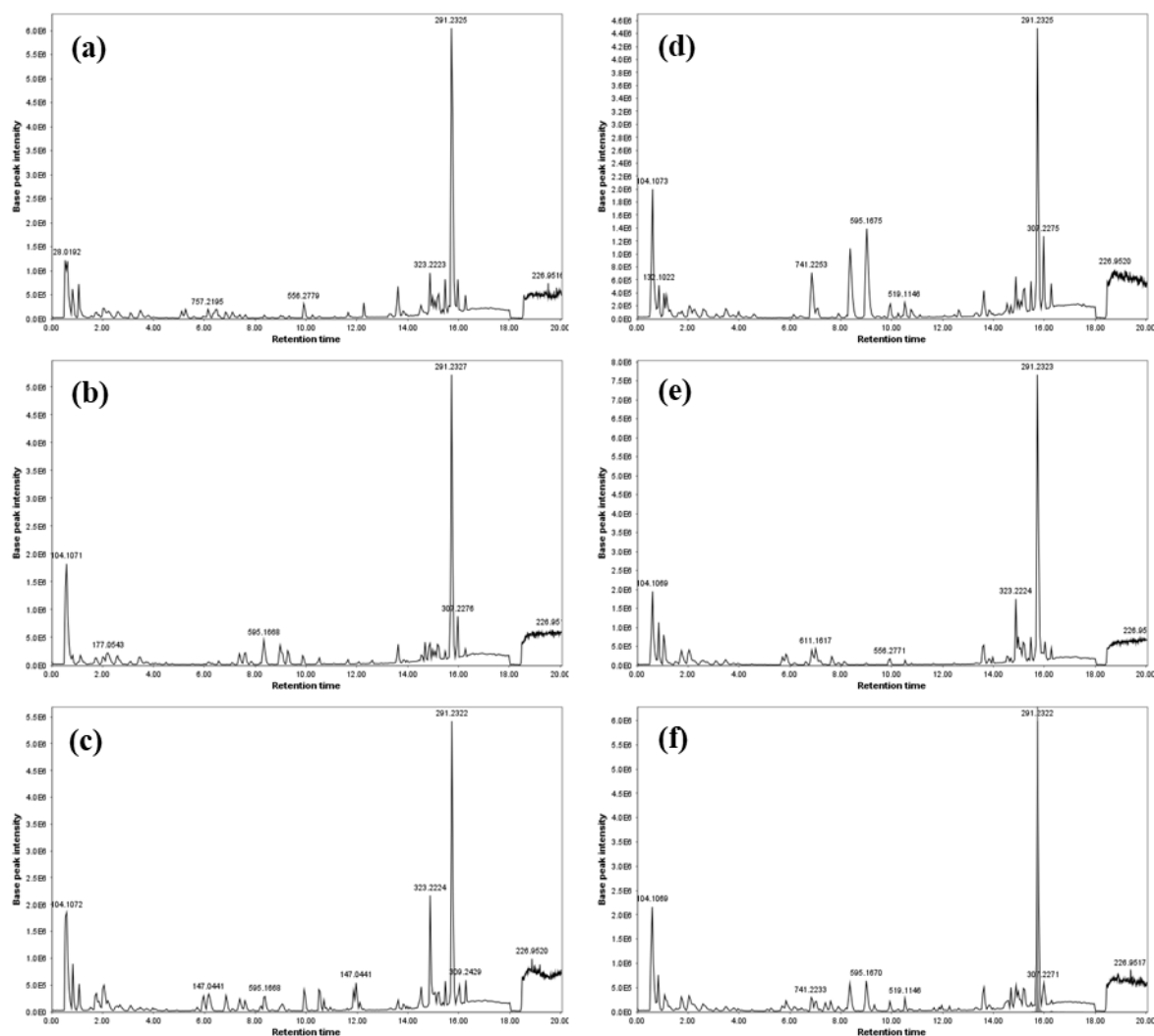


FIGURA A.3 – Gráfico *biplot* obtido da Análise de componentes principais (PCA) dos perfis metabólicos, com QC acima e sem QC abaixo, mostrando quais metabólitos (representados pelos vetores) são responsáveis pelas diferenças entre os genótipos estudados sob condições constitutivas.

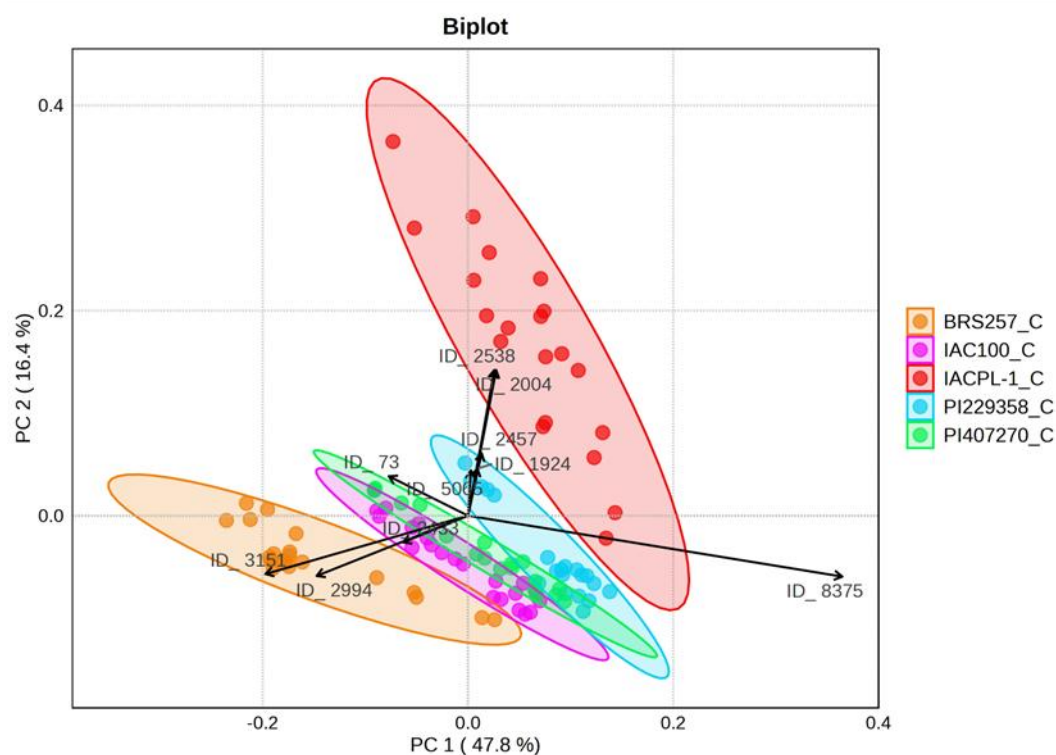
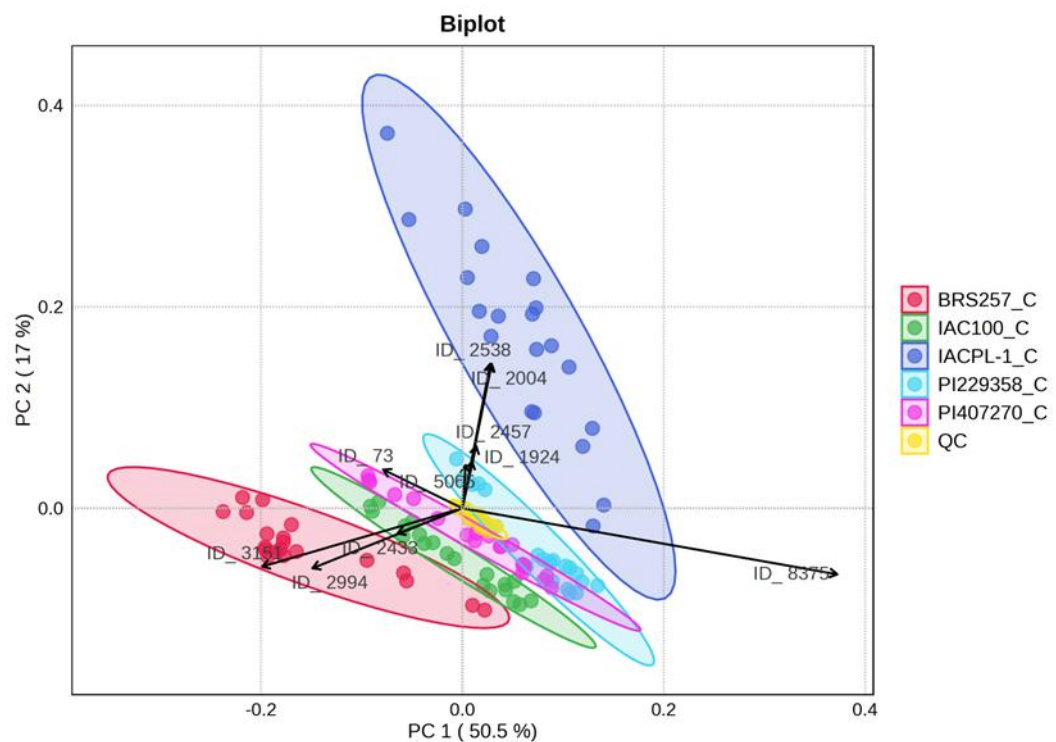


FIGURA A.4 – Gráfico de vulcano exibindo diferenças nas alterações metabólicas entre tecidos de soja injuriados por *S. frugiperda* e tecidos de soja sob condições constitutivas. Folha velha (a) e folha jovem (b) de PI 229358; folha velha de IAC 100 (c); folha local (d) e jovem (e) de IAC PL-1; folha velha (f) e jovem (g) de PI 407270 (g). Cada ponto representa um metabólito cuja regulação detectável foi positiva (vermelho), negativa (azul) e não significativa (cinza) após ataque de *S. frugiperda*.

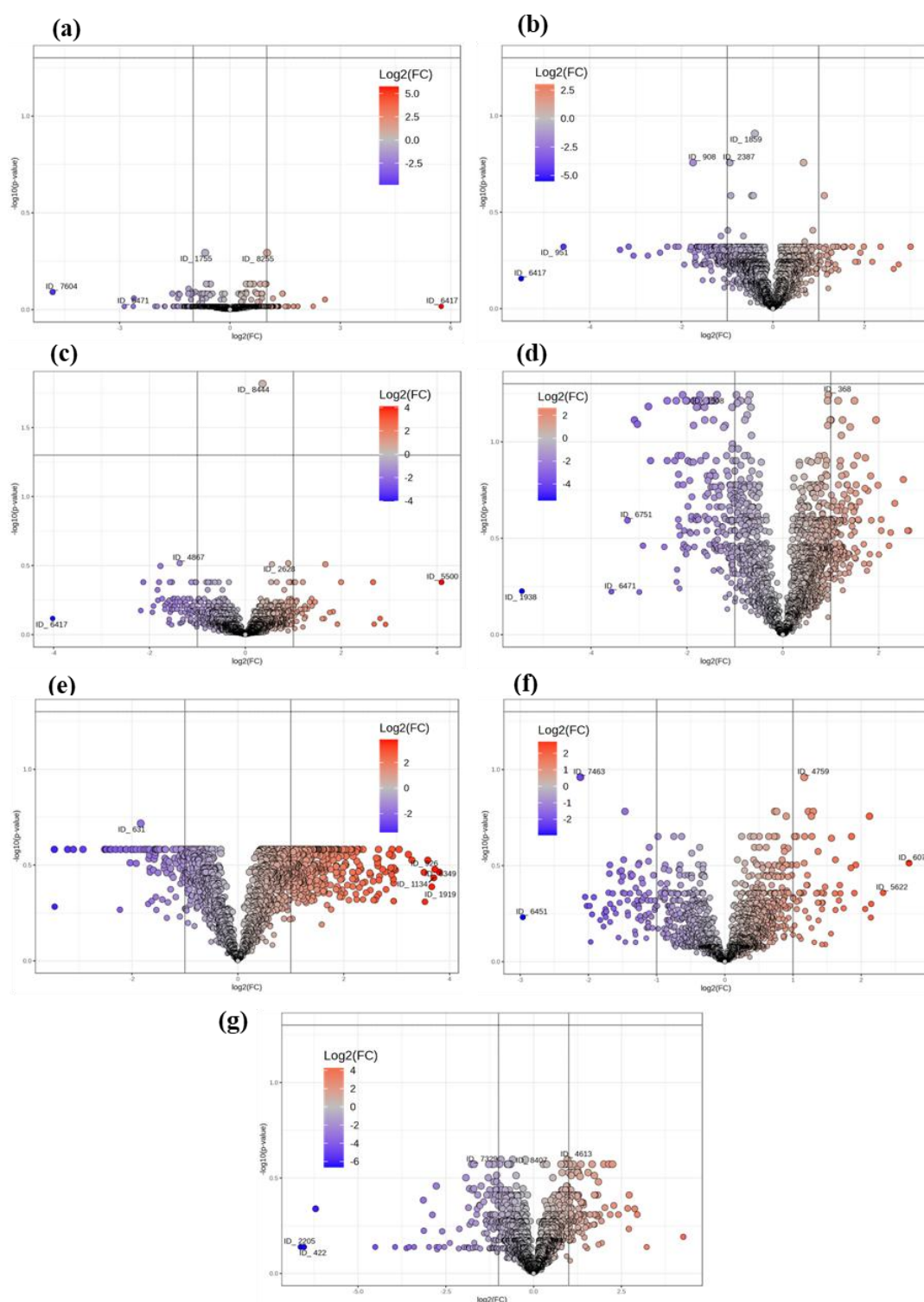


FIGURA A.5 – Metabólitos selecionados como biomarcadores de resistência contra *S. frugiperda* presentes nas folhas de soja

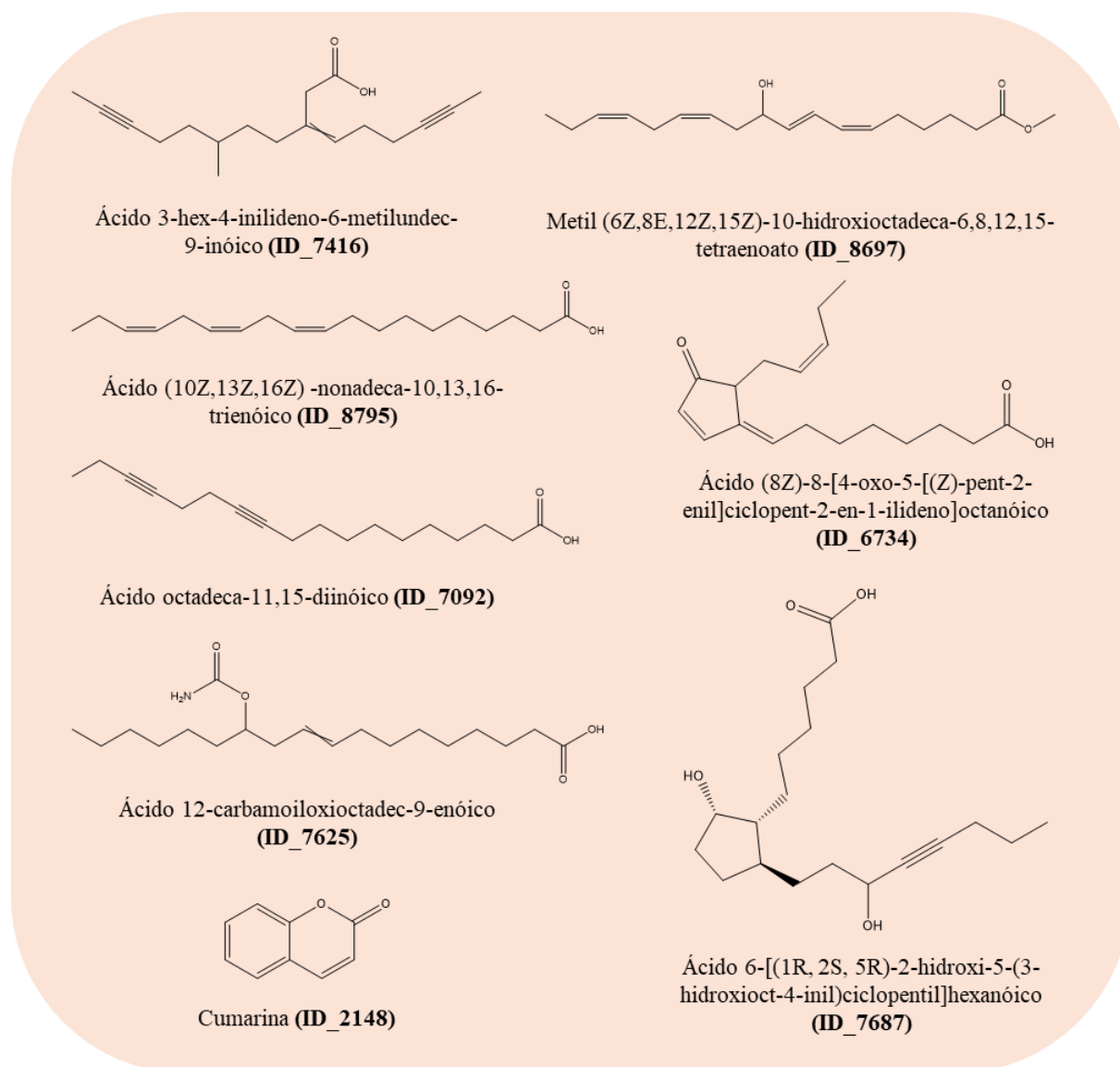


FIGURA A.6 – Espectros de massas dos metabólitos (ID_7416, ID_7092 e ID_8795) selecionados como biomarcadores de resistência contra à *S. frugiperda*, presentes nas folhas de soja. À esquerda, espectros de MS brutos; à direita, espectros experimentais e teóricos de MS² sobrepostos. Os sinais verdes representam fragmentos explicados pelo modelo de fragmentação gerado pelo SIRIUS (considerados confiáveis), enquanto os sinais pretos indicam fragmentos presentes no espectro experimental que não foram associados a nenhum fragmento previsto pelo modelo.

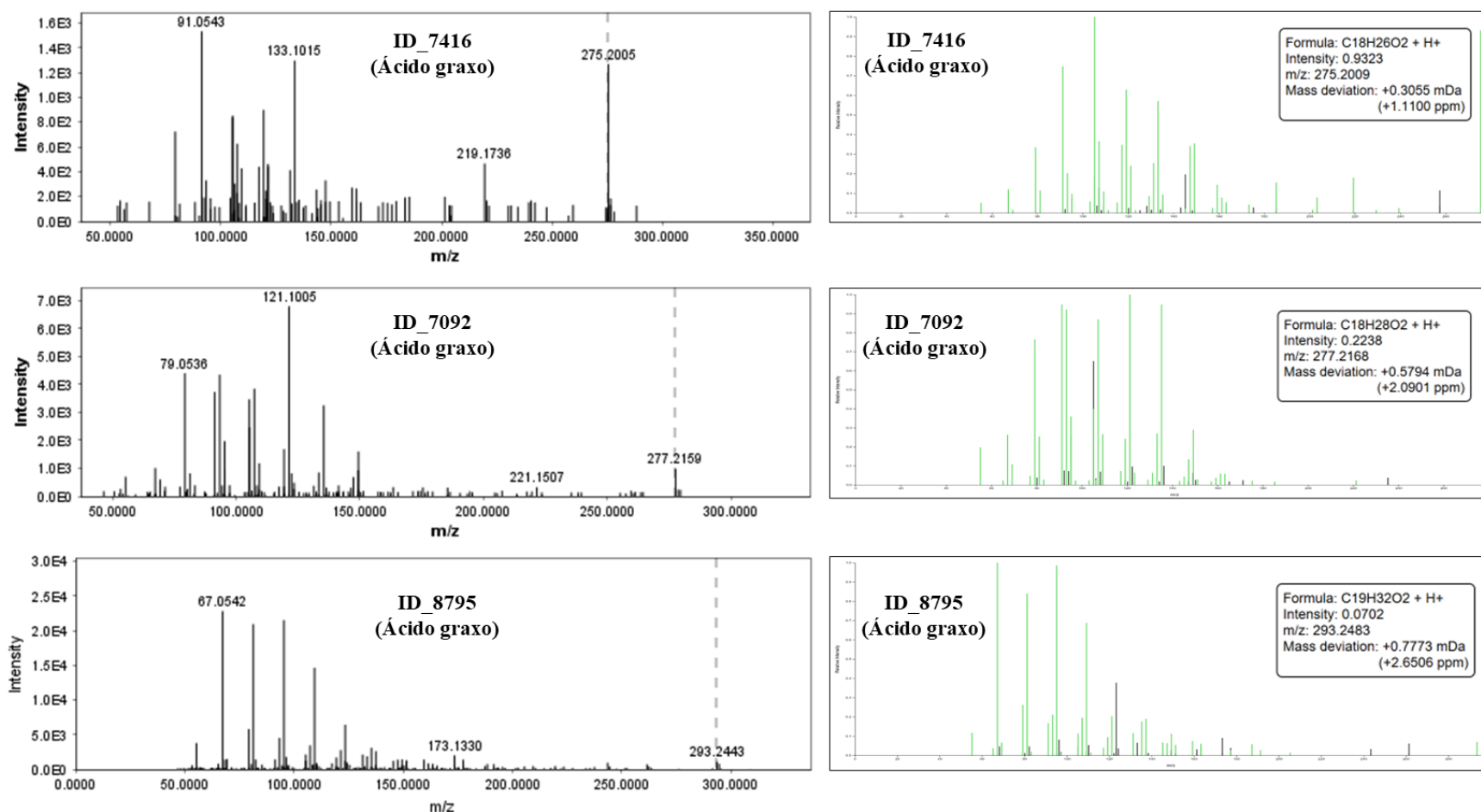


FIGURA A.7 – Espectros de massas dos metabólitos (ID_8697, ID_7625 e ID_6734) selecionados como biomarcadores de resistência contra à *S. frugiperda*, presentes nas folhas de soja. À esquerda, espectros de MS brutos; à direita, espectros experimentais e teóricos de MS² sobrepostos. Os sinais verdes representam fragmentos explicados pelo modelo de fragmentação gerado pelo SIRIUS (considerados confiáveis), enquanto os sinais pretos indicam fragmentos presentes no espectro experimental que não foram associados a nenhum fragmento previsto pelo modelo.

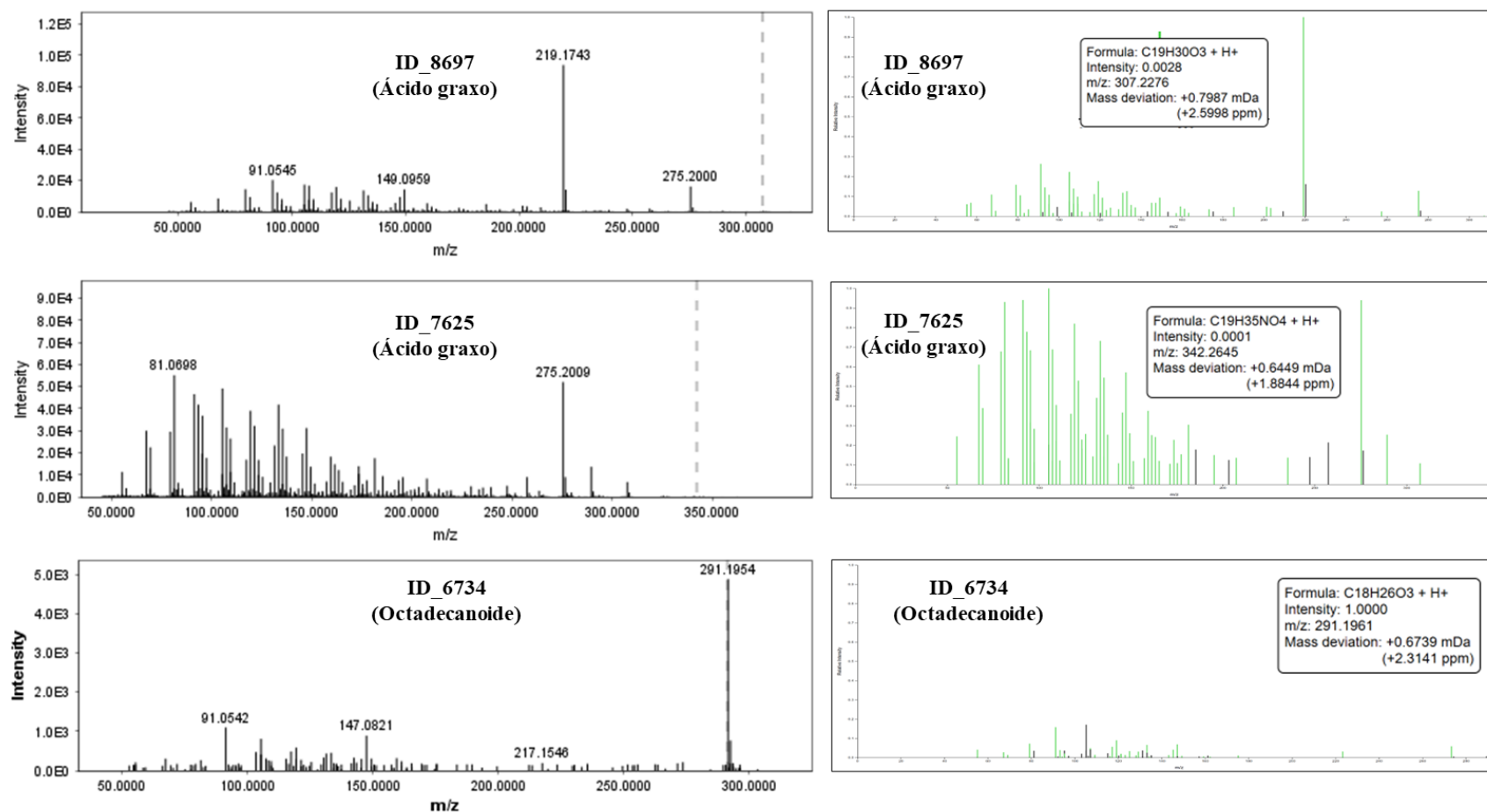


FIGURA A.8 – Espectros de massas dos metabólitos (ID_5065, ID_4344 e ID_2148) selecionados como biomarcadores de resistência contra à *S. frugiperda*, presentes nas folhas de soja. À esquerda, espectros de MS brutos; à direita, espectros experimentais e teóricos de MS² sobrepostos. Os sinais verdes representam fragmentos explicados pelo modelo de fragmentação gerado pelo SIRIUS (considerados confiáveis), enquanto os sinais pretos indicam fragmentos presentes no espectro experimental que não foram associados a nenhum fragmento previsto pelo modelo.

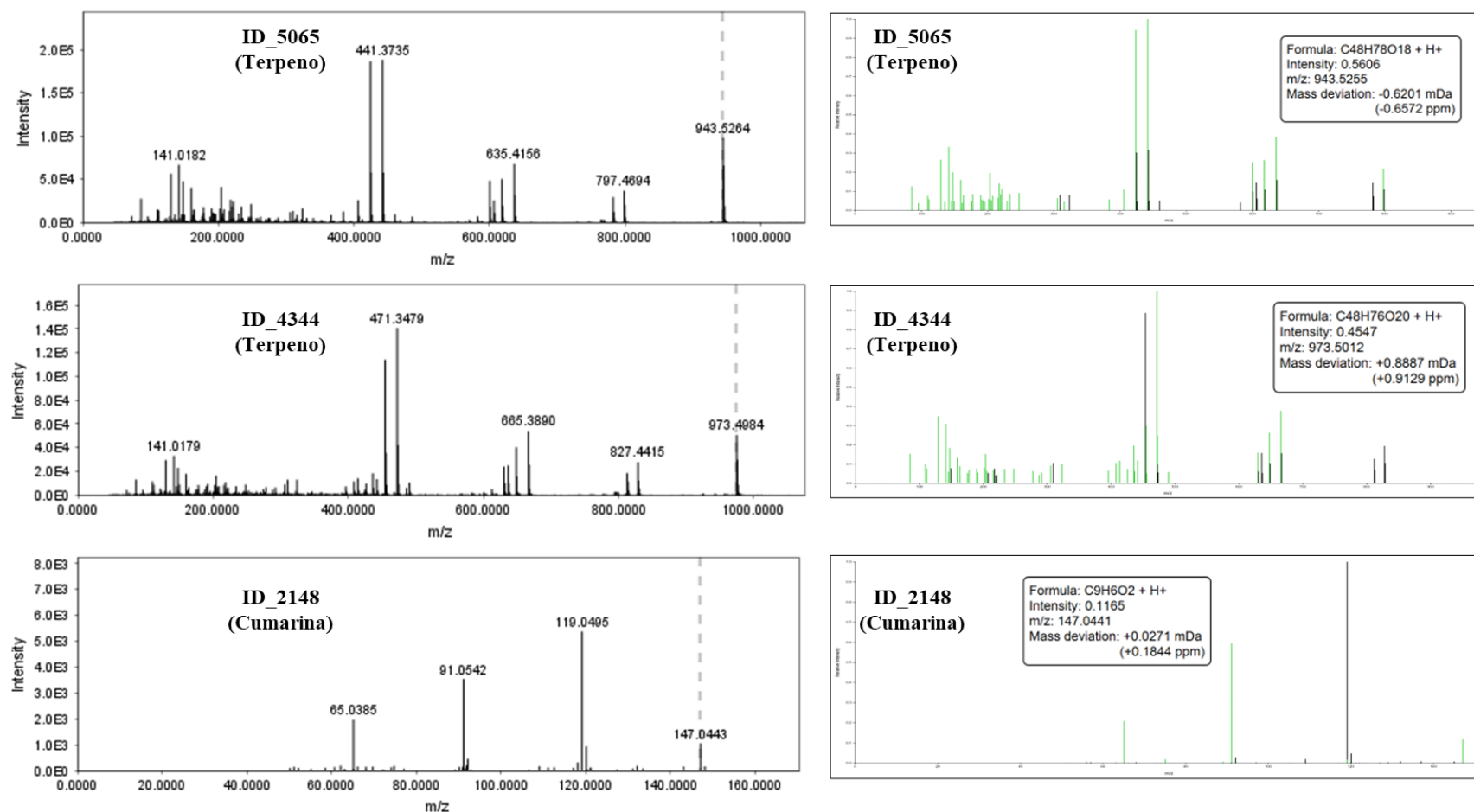


FIGURA A.9 – Espectros de massas dos metabólitos (ID_3620, ID_3190 e ID_2680) selecionados como biomarcadores de resistência contra à *S. frugiperda*, presentes nas folhas de soja. À esquerda, espectros de MS brutos; à direita, espectros experimentais e teóricos de MS² sobrepostos. Os sinais verdes representam fragmentos explicados pelo modelo de fragmentação gerado pelo SIRIUS (considerados confiáveis), enquanto os sinais pretos indicam fragmentos presentes no espectro experimental que não foram associados a nenhum fragmento previsto pelo modelo.

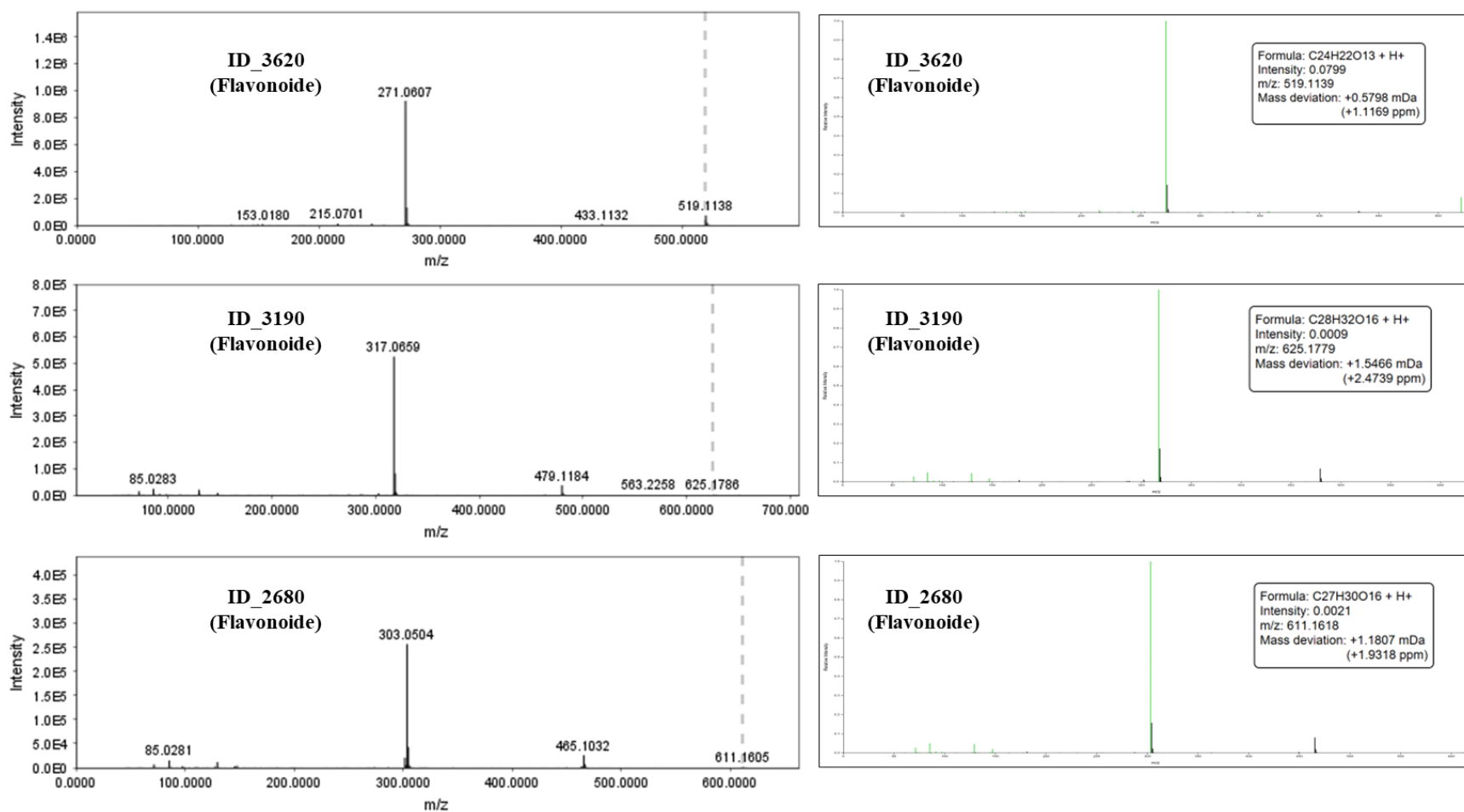


FIGURA A.10 – Espectros de massas dos metabólitos (ID_2750, ID_2059 e ID_1768) selecionados como biomarcadores de resistência contra à *S. frugiperda*, presentes nas folhas de soja. À esquerda, espectros de MS brutos; à direita, espectros experimentais e teóricos de MS² sobrepostos. Os sinais verdes representam fragmentos explicados pelo modelo de fragmentação gerado pelo SIRIUS (considerados confiáveis), enquanto os sinais pretos indicam fragmentos presentes no espectro experimental que não foram associados a nenhum fragmento previsto pelo modelo.

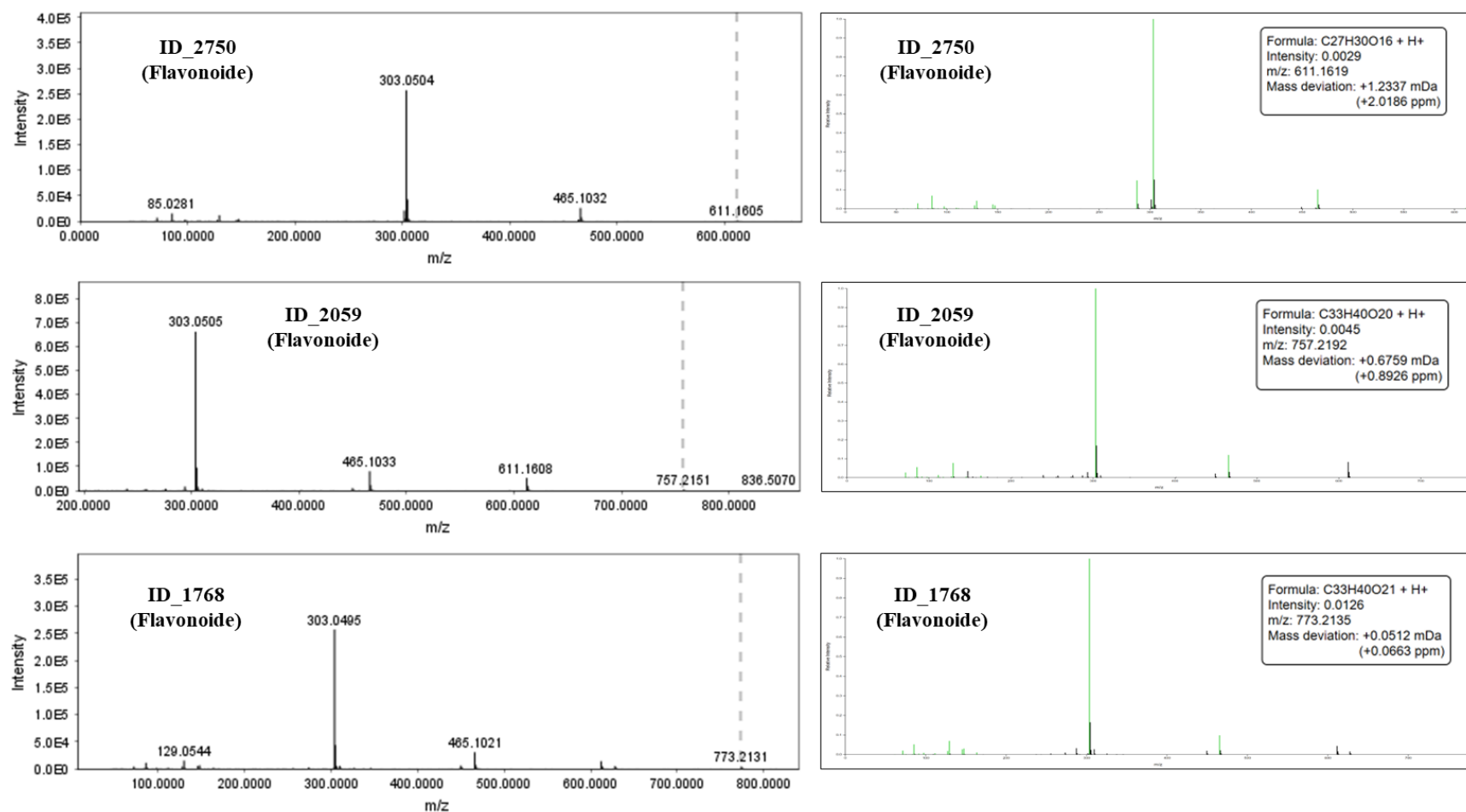


FIGURA A.11 – Abundâncias relativas (média $\pm$ desvio padrão) de metabólitos selecionados como biomarcadores de resistência contra *S. frugiperda* em diferentes genótipos de soja. As colunas verdes e azuis indicam, respectivamente, amostras de controle e amostras injuriadas por *S. frugiperda*. Barras verdes com letras distintas indicam diferenças significativas (ANOVA, um fator, $p < 0,05$; procedimento de diferença honestamente significativa (HSD) de Tukey, $p < 0,05$ ou teste de Kruskal-Wallis, $p < 0,05$). Barras azuis com "*" e "ns" indicam, respectivamente, diferenças significativas (Teste t, $p < 0,05$) e ausência de diferenças significativas entre o grupo controle e o grupo induzido para o mesmo genótipo

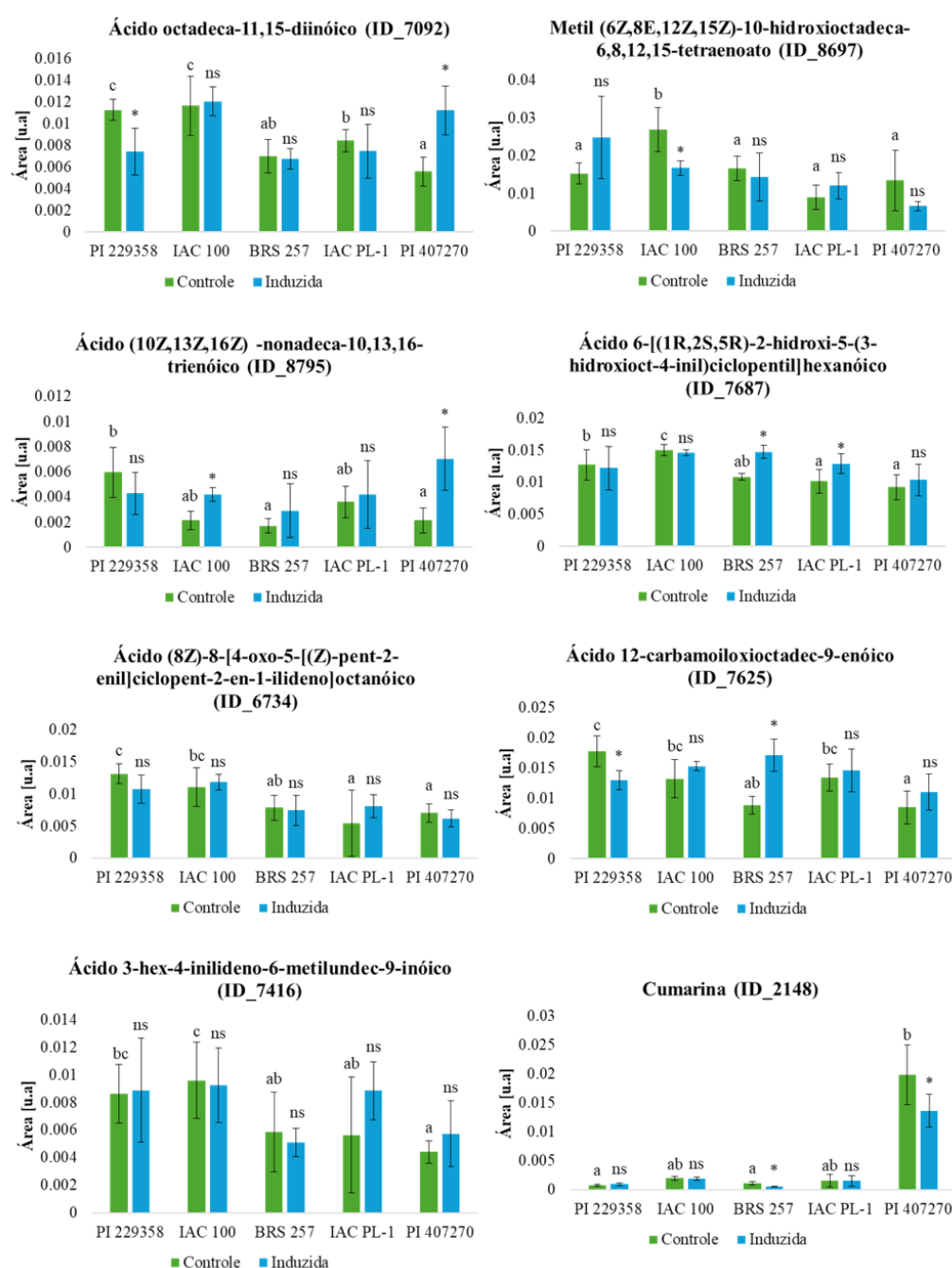


FIGURA A.12 – Abundâncias relativas (média $\pm$ desvio padrão) de metabólitos selecionados como biomarcadores de resistência contra *S. frugiperda* em diferentes genótipos de soja. As colunas verdes e azuis indicam, respectivamente, amostras de controle e amostras injuriadas por *S. frugiperda*. Barras verdes com letras distintas indicam diferenças significativas (teste de Kruskal-Wallis, $p < 0,05$). Barras azuis com "*" e "ns" indicam, respectivamente, diferenças significativas (Teste t, $p < 0,05$) e ausência de diferenças significativas entre o grupo controle e o grupo induzido para o mesmo genótipo

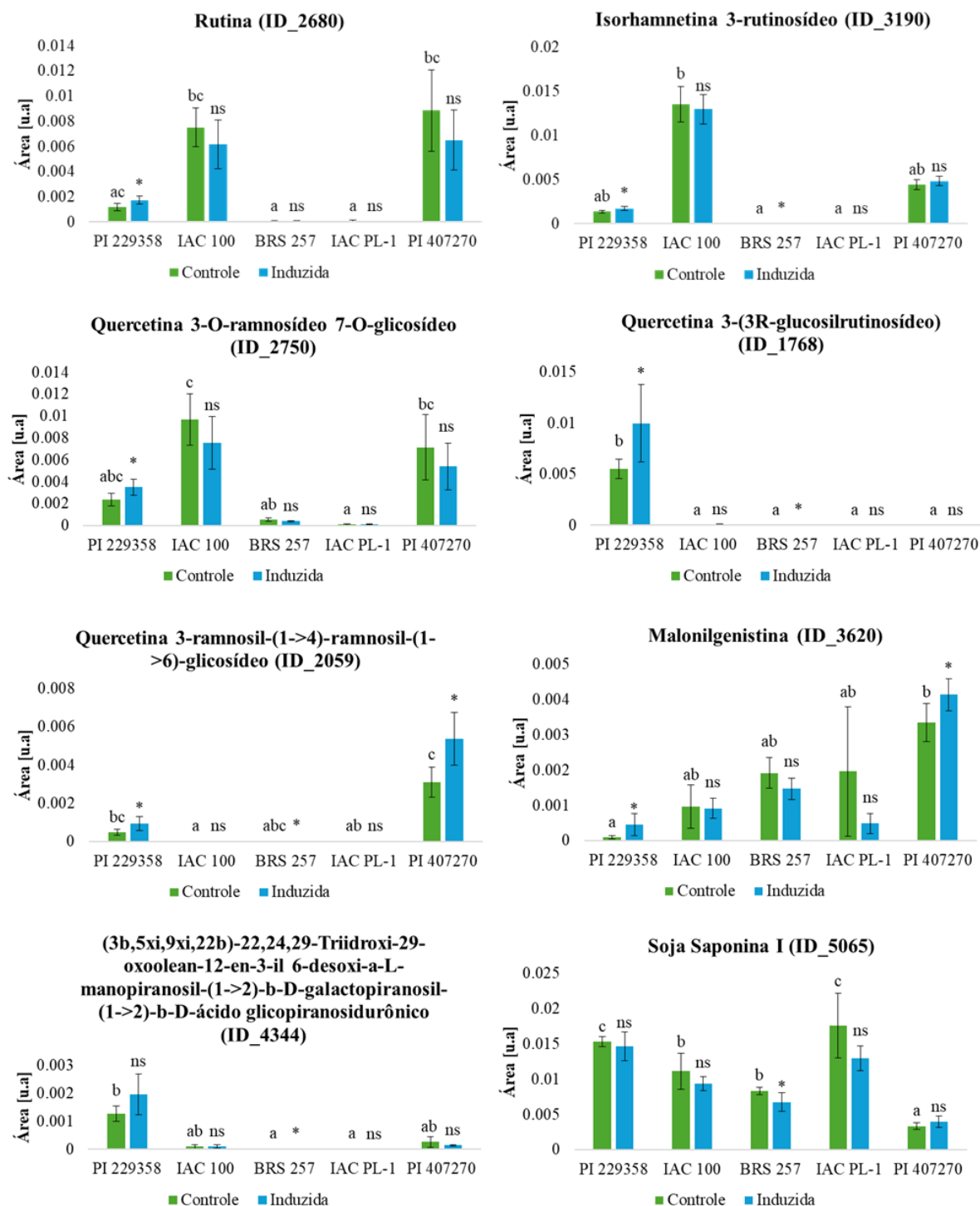


FIGURA A.13 – Quantidade relativa (média $\pm$ desvio padrão) de fósforo (P I), potássio (K I), ferro (Fe I), manganês (Mn II), e magnésio (Mg II) em diferentes genótipos de soja. As colunas azuis e cinza representam, respectivamente, amostras controle e amostras injuriadas por *S. frugiperda*. As barras azuis com letras distintas indicam diferenças significativas (ANOVA de um fator, $p < 0,05$; procedimento de diferença honestamente significativa (HSD) de Tukey, $p < 0,05$). As barras cinzas com "*" e "ns" indicam, respectivamente, diferenças significativas (Teste t, $p < 0,05$) e ausência de diferenças significativas entre o grupo controle e o grupo induzido para o mesmo genótipo

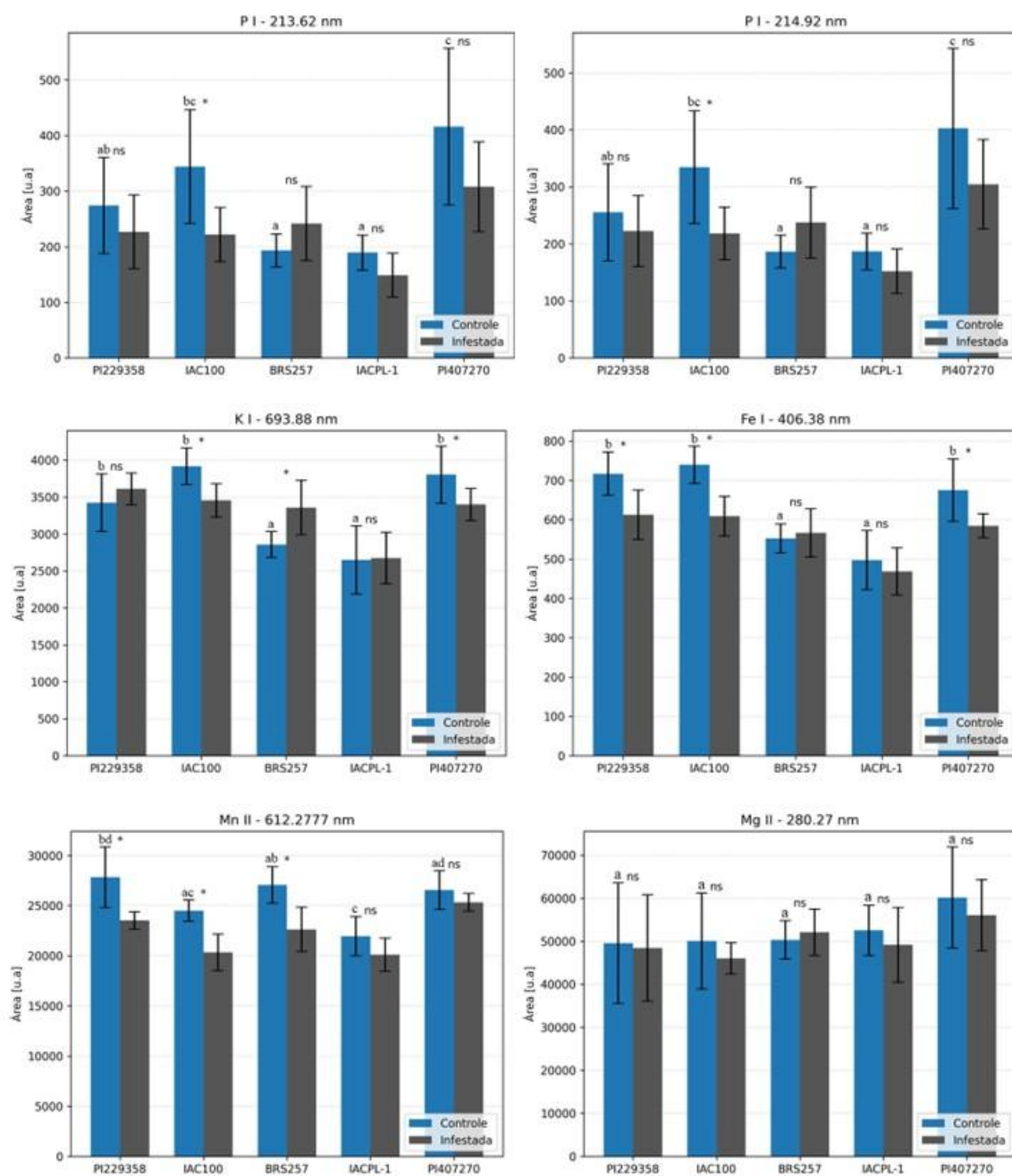


TABELA A.1 – Parâmetros usados em cada etapa de pré-processamento de arquivos mzXML no software MZmine 3.9.0.

Crop filter	Tr: 1-16,5 min m/z: 50-1300 Polarity: + (RPLC-ESI(+)-MS)
Mass Detection (MS1)	Mass detector: centroid MS level: 1 Noise level: 8E2
Mass Detection (MS2)	Mass detector: centroid MS level: 2 Noise level: 3E2
ADAP Chromatogram Builder	Min group size in # of scans: 4 Group intensity threshold: 8E2 Min highest intensity: 24E2 Scan to scan accuracy (m/z): 0,005-10 ppm
Local minimum feature resolver	Chromatographic threshold: 80 Minimum relative height: 0 Minimum search range RT: 0,1 Minimum absolute height: 8E2 Min ratio peak top: 2 Peak duration range: 0-2 Min of data point: 4
¹³ C isotope filter	m/z tolerance: 0,0010 - 5.0 ppm RT tolerance: 0.030 Maximum charge: 2 Representative isotope: most intense.
Join aligner	m/z tolerance: 0,0010 - 5.0 ppm Weith for m/z: 3 Tr tolerance: 0,100 (absolute) Weith RT: 1 Mobility weight: 1.000
Filtering	Minimum features in a row (abs or %): 2 Never remove feature with MS2 scan: checked.
Gap-Filling	Intensity tolerance: 20.0% m/z tolerance: 0,0010 - 5.0 ppm RT tolerance: 0.100 min (absolute) Minimum data points: 2

TABELA A.2 – Metabólitos diferencialmente acumulados em folhas de genótipos de soja em condições constitutivas, obtidos a partir da PCA e do mapa de calor.

Continua

Classe Química	ID	tr (min)	Fórmula Molecular	[M+H] ⁺ Experimental	Erro (ppm)	Presumível metabólito de soja
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 6722	14.70	C ₁₈ H ₃₀ O ₅	291.1955 ^e	-0.03	Ácido (Z)-3-oxooctadec-9-enedióico
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 8795	16.04	C ₁₉ H ₃₂ O ₂	293.2475	-0.07	Ácido (10Z,13Z,16Z) -nonadeca-10,13,16-trienóico
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 7268	14.96	C ₁₃ H ₁₈ O ₂	207.1381	-0.44	Ácido 7-metil-4-metilideno-1,2,3,4,4a,5,6,8a-octa-hidronaftaleno-1-carboxílico
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 8375	15.73	C ₁₉ H ₃₀ O ₂	291.2325	-2.03	Metil (9Z,11E,13E,15Z)-octadeca-9,11,13,15-tetraenoato
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 7393	15.06	C ₁₉ H ₂₈ O ₂	289.2162	0.05	Metil (9Z,12Z,15Z)-octadeca-9,12,15-trien-6-inoato
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 8697	15.96	C ₁₉ H ₃₀ O ₃	307.2271	-0.99	Metil (6Z,8E,12Z,15Z)-10-hidroxiocetadeca-6,8,12,15-tetraenoato
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 7625	15.20	C ₁₉ H ₃₅ NO ₄	342.2642	-0.83	Ácido 12-carbamoiioxiocetadec-9-enóico
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 6550	14.57	C ₂₀ H ₃₉ NO ₅	374.2903	-0.51	Ácido 16-[2-(2-hidroxietoxi)etilamino]-16-oxohexadecanóico
Octadecanoides	ID_ 7267	14.96	C ₁₄ H ₂₂ O ₃	239.1644	-1.00	Metil 2-[(1S,2S)-2-[(2-etilciclopropil)metil]-3-oxociclopentil]acetato
Octadecanoides	ID_ 6734	14.70	C ₁₈ H ₂₆ O ₃	291.1956	-0.25	Ácido (8Z)-8-[4-oxo-5-[(Z)-pent-2-enil]ciclopent-2-en-1-ilideno]octanóico
Octadecanoides	ID_ 8381	15.72	C ₁₉ H ₃₂ O ₃	331.2245 ^a	-0.29	Ácido (10Z,12E)-14-oxononadeca-10,12-dienóico
Octadecanoides	ID_ 7370	15.06	C ₁₉ H ₃₂ O ₄	307.2270 ^d	-0.84	Metil (9S,10S,11E,13E,15Z)-9,10-di-hidroxiocetadeca-11,13,15-trienoato
Octadecanoides	ID_ 4807	13.32	C ₁₃ H ₂₀ O ₃	225.1484	0.55	Metil jasmonato/Metil 2-[(1R,2R)-3-oxo-2-[(Z)-pent-2-enil]ciclopentil]acetato

Classe Química	ID	tr (min)	Fórmula Molecular	[M+H] ⁺ Experimental	Erro (ppm)	Presumível metabólito de soja
Octadecanoides	ID_ 7666	15.22	C ₁₉ H ₃₄ O ₅	307.2270 ^e	-0.60	Metil (9S,10E,12S,13S,15Z)-9,12,13-tri-hidroxiocadeca-10,15-dienoato
Poliquetídeos cíclicos	ID_ 7066	14.88	C ₁₉ H ₃₀ O ₄	323.2220	-0.95	NA
Poliquetídeos cíclicos	ID_ 7027	14.88	C ₁₉ H ₃₀ O ₄	323.2220	-0.86	NA
Cumarinas	ID_ 4106	11.85	C ₉ H ₆ O ₂	147.0438	1.79	3-(4-hidroxifenil)propa-1,2-dien-1-ona
Cumarinas	ID_ 4198	11.96	C ₉ H ₆ O ₂	147.0439	1.48	3-(3-hidroxifenil)propa-1,2-dien-1-ona
NA	ID_ 538	2.04	C ₉ H ₆ O ₂	147.0438	1.81	NA
NA	ID_ 372	1.74	C ₉ H ₆ O ₂	147.0438	1.85	NA
Cumarinas	ID_ 2148	6.18	C ₉ H ₆ O ₂	147.0438	2.13	Cumarina/Cromeno-2-ona
Cumarinas	ID_ 312	1.62	C ₉ H ₆ O ₃	0.0000	2.23	5-hidroxi-1-benzofurano-2-carbaldeído
Cumarinas	ID_ 73	1.15	C ₉ H ₆ O ₃	163.0387	1.58	6-hidroxicromen-2-ona
Fenilpropanoides (C6-C3)	ID_ 1106	3.48	C ₁₀ H ₈ O ₃	177.0544	1.23	3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)prop-2-inal
Flavonoides	ID_ 3680	10.77	C ₂₄ H ₂₄ O ₁₃	521.1289	0.12	Ácido 3-oxo-3-((3,4,5-tri-hidroxi-6-((5-hidroxi-2-(4-hidroxifenil)-4-oxocroman-7-il)oxi)tetra-hidro-2H-piran-2-il)metoxi)propanóico
Flavonoides	ID_ 4008	11.65	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	287.0549	0.34	Kaempferol
Flavonoides	ID_ 2059	5.96	C ₃₃ H ₄₀ O ₂₀	757.2183	0.43	Quercetina 3-ramnosil-(1->4)-ramnosil-(1->6)-glicosídeo
Flavonoides	ID_ 2538	7.02	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	611.1610	-0.54	Panasenosídeo/ Kaempferol 3-O-Beta-D-Glucosilgalactosídeo
Flavonoides	ID_ 1768	5.26	C ₃₃ H ₄₀ O ₂₁	773.2131	0.56	Quercetina 3-(3R-glucosilrutinosídeo)
Flavonoides	ID_ 1924	5.71	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₇	627.1555	0.12	Quercetina 3,4'-O-diglicosídeo
Flavonoides	ID_ 2539	7.02	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	449.1077	0.09	Astragalina/Kaempferol 3-O-glicosídeo

Classe Química	ID	tr (min)	Fórmula Molecular	[M+H] ⁺ Experimental	Erro (ppm)	Presumível metabólito de soja
Flavonoides	ID_ 2018	5.87	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	303.0496	0.87	Quercetina/2-(3,4-di-hidroxifenil)-3,5,7-tri-hidroxicromen-4-ona
Flavonoides	ID_ 2004	5.85	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₇	627.1557	-0.12	Quercetina 3-glucosil-(1->3)-galactosídeo
Flavonoides	ID_ 2994	8.36	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	595.1664	-1.23	Kaempferol 7-O-rutinosídeo
Flavonoides	ID_ 3151	9.01	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	595.1664	-1.10	Kaempferol-3-O-glicosídeo-7-O-ramnosídeo
Flavonoides	ID_ 2604	7.18	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₇	641.1710	0.31	Isorhamnetina 3-glucosil-(1->2)-galactosídeo
Flavonoides	ID_ 2294	6.47	C ₃₄ H ₄₂ O ₂₁	787.2288	0.34	Isorhamnetina 3-glucosil-(1->2)-[ramnosil-(1->6)-galactosídeo]
Flavonoides	ID_ 3127	8.98	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	449.1077	0.15	Trifolina/Kaempferol-3-O-galactosídeo
Flavonoides	ID_ 2416	6.85	C ₃₆ H ₃₇ N ₃ O ₁₃	742.2269 ^a	-6.67	3-(((4,5-di-hidroxi-6-metil-3-((3,4,5-tri-hidroxi-6-metiltetra-hidro-2H-piran-2-il)oxi)tetra-hidro-2H-piran-2-il)oxi)-5,7-di-hidroxi-2-(4-(5-(p-tolil)-4H-1,2,4-triazol-3-il)fenil)-4H-cromeno-4-ona
Flavonoides	ID_ 2485	6.87	C ₂₁ H ₂₅ N ₉ O ₁₃	612.1639	0.90	7-(((6-((1H-tetrazol-1-il)metil)-3,4,5-tri-hidroxitetra-hidro-2H-piran-2-il)oxi)-2-amino-6-azido-3-((3,4,5-tri-hidroxi-6-(hidroximetil)tetra-hidro-2H-piran-2-il)oxi)-4H-pirano[3,2-b]piridin-4-ona
Flavonoides	ID_ 3134	9.00	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	287.0548	0.77	Luteolina
Flavonoides	ID_ 2367	6.63	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	611.1605	0.26	Quercetina 7-O-rutinosídeo
Flavonoides	ID_ 2785	7.65	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	595.1658	-0.10	Nicotiflorina/ Kaempferol-3-O-rutinosídeo
Flavonoides	ID_ 2457	6.87	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	611.1608	-0.20	Kaempferol 3-b-laminaribiosídeo
Flavonoides	ID_ 2433	6.85	C ₃₃ H ₄₀ O ₁₉	741.2239	-0.30	Kaempferol 3-O-(2'',6''-di-O-ramnopiranosil)glucopiranosídeo
Flavonoides	ID_ 3141	9.00	C ₅₄ H ₆₀ O ₃₀	1189.3228	1.21	[(3S,4S,5R,6S)-4-acetiloxi-6-[5-acetiloxi-2-(3,4-diacetiloxifenil)-4-oxo-7-[(2S,3R,4R,5S,6S)-3,4,5-triacetiloxi-6-metiloxan-2-il]oxicromeno-3-il]oxi-5-[(2S,3R,4R,5S,6S)-3,4,5-triacetiloxi-6-metiloxan-2-il]oxioxan-3-il] acetato

Conclusão

Classe Química	ID	tr (min)	Fórmula Molecular	[M+H] ⁺ Experimental	Erro (ppm)	Presumível metabólito de soja
Flavonoides	ID_ 2557	7.07	C ₃₃ H ₄₀ O ₁₉	741.2233	0.58	Robininho/Kaempferol 3-rutinosídeo-7-ramnosídeo
Flavonoides	ID_ 2991	8.36	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	287.0548	0.77	Datiscetina
Flavonoides	ID_ 2446	6.87	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	287.0548	0.74	NA
Flavonoides	ID_ 2540	7.02	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	287.0549	0.47	NA
Isoflavonoides	ID_ 4484	12.62	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	271.0600	0.39	Genisteína
Esteroides	ID_ 7644	15.22	C ₁₉ H ₂₈ O ₂	289.2162	0.05	NA
Diterpenoides	ID_ 7386	15.06	C ₁₉ H ₃₂ O ₄	347.2194 ^a	-0.31	2-metil-3-[1,1,1-tris(2-metilprop-2-enoxi)propan-2-ilo]prop-1-eno
Triterpenoides	ID_ 4344	12.27	C ₄₈ H ₇₆ O ₂₀	973.4995	0.85	(3β,5xi,9xi,22β)-22,24,29-Triidroxi-29-oxoolean-12-en-3-il 6-desoxi-α-L-manopiranosil-(1->2)-β-D-galactopiranosil-(1->2)-β-D-ácido glicopiranosidurônico
Triterpenoides	ID_ 5065	13.61	C ₄₈ H ₇₈ O ₁₈	943.5263	-0.20	Soja Saponina I/ Soja Saponina Bb
Triterpenoides	ID_ 5030	13.58	C ₄₇ H ₇₆ O ₁₇	913.5148	0.73	Soja Saponina II
Triterpenoides	ID_ 5022	13.58	C ₄₇ H ₇₆ O ₁₇	930.5412 ^c	0.90	NOB-H-8 (Variante estereoquímica de Soja Saponina II)

a, b, c, d, e valor correspondente ao aduto [M+Na]⁺, [M+K]⁺, [M+H₃N+H]⁺, [M-H₂O+H]⁺ e [M-H₄O₂+H]⁺, respectivamente.

TABELA A.3 – Parâmetros de validação cruzada e do teste de permutação do modelo gerado por PLS-DA para os genótipos PI 229358, IAC 100, BRS 257, IAC PL-1e PI 407270.

Genótipo	Validação Cruzada			Permutação (números de permutação 2000)	
	Medir	1 componente	2 componente	Distância de separação (P/B)	Precisão da previsão durante o treinamento
PI 229358	Precisão	0,33333	0,53333	$p < 5e-04$	$p = 0,0065$
	R^2	0,90279	0,95833		
	Q^2	0,88777	0,93852		
IAC 100	Precisão	0,33333	0,56667	$p < 5e-04$	$p < 5e-04$
	R^2	0,86861	0,90789		
	Q^2	0,84758	0,86436		
BRS 257	Precisão	0,33333	0,7	$p < 5e-04$	$p < 5e-04$
	R^2	0,43198	0,89158		
	Q^2	0,37584	0,83574		
IAC PL-1	Precisão	0,3	0,6	$p = 0,003$	$p < 5e-04$
	R^2	0,63067	0,90209		
	Q^2	0,56958	0,82217		
PI 407270	Precisão	0,33333	0,56667	$p < 5e-04$	$p < 5e-04$
	R^2	0,80276	0,90205		
	Q^2	0,75279	0,85839		

TABELA A.4 – Metabólitos diferenciais induzidos após ataque de *S. frugiperda*, obtidos a partir dos gráficos de *volcano*, nas folhas dos genótipos PI 229358, IAC 100, BRS 257, IAC PL-1 e PI 407270. A cor de fundo da tabela indica: laranja para folha velha, verde para folha local e azul para folha jovem. Valores de $\log_2(\text{FC})$ positivos indicam regulação positiva, enquanto valores negativos indicam regulação negativa. O erro de massa de cada composto é menor que 5 ppm. Continua

Classe Química	ID	tr (min)	Fórmula Molecular	$[\text{M}+\text{H}]^+$ Experimental	Presumível metabólito de soja	$\log_2(\text{FC})$
Genótipo PI 229358						
Ácidos carboxílicos e derivados	ID_ 6417	14.54	$\text{C}_{20}\text{H}_{41}\text{NO}_6$	374.2903 ^d	(2R,3S,4R,5R)-5-amino-1,2,3,4,20-penta-hidroxiicosan-6-ona	-7.73
Ácidos fenólicos (C6-C1)	ID_ 189	1.31	$\text{C}_8\text{H}_{12}\text{O}_5$	189.0755	Ácido 2-[(1S,2R)-2-hidroxíciclopentil]propanodióico	1.30
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 7122	14.89	$\text{C}_{18}\text{H}_{33}\text{NO}_3$	312.2532	Ácido 18-amino-18-oxooctadec-9-enóico	-1.94
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 1578	4.73	$\text{C}_8\text{H}_{12}\text{O}_4$	155.067 ^d	Ácido ciclohexano-1,3-dicarboxílico	2.40
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 1759	5.24	$\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{O}_6$	241.1068 ^d	Ácido 2-(2-oxo-2-propoxietil)-3-propilbut-2-enedióico	1.04
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 193	1.33	$\text{C}_8\text{H}_{12}\text{O}_5$	171.0649 ^d	Ácido 2-(2-hidroxíciclopentil)propanodióico	1.63
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 7030	14.86	$\text{C}_{20}\text{H}_{36}\text{O}_6$	355.2476 ^d	Ácido heptadecano-1,8,11-tricarboxílico	2.04
Acilos Graxos	ID_ 7104	14.89	$\text{C}_{20}\text{H}_{34}\text{O}_5$	377.2297 ^a	Ácido (8S,9E,11Z,13E,15S)-8-hidroperoxi-15-hidroxiicosa-9,11,13-trienóico	1.30
Diterpenoides	ID_ 8561	15.84	$\text{C}_{21}\text{H}_{34}\text{O}_4$	368.2794 ^c	Ácido (1R,4aR,5R)-5-(6-hidroxi-4-metil-6-oxo-hexil)-1,4a-dimetil-6-metileno-decalina-1-carboxílico	-1.19
Feniletanoides (C6-C2)	ID_ 186	1.31	$\text{C}_7\text{H}_8\text{O}_2$	107.0490 ^d	3-(hidroximetil)fenol	1.43
Glicerolipídeos	ID_ 7136	14.89	$\text{C}_{36}\text{H}_{60}\text{O}_6$	611.4275 ^a	NA	-1.97
Glicerolipídeos	ID_ 6349	14.47	$\text{C}_{27}\text{H}_{46}\text{O}_{11}\text{S}$	596.3096 ^c	NA	3.03

Classe Química	ID	tr (min)	Fórmula Molecular	[M+H] ⁺ Experimental	Presumível metabólito de soja	log2(FC)
Triterpenoides	ID_ 7120	14.89	C ₃₆ H ₆₀ O ₆	553.4251 ^e	[(1S,2S,4aR,6R)-6-[(2S,4R, 4aS,5R,6R)-4a-etil-4,5,6-tri-hidroxi-2,7,7-trimetil-3,4,5,6,8,8a -hexa-hidro-1H-naftalen-2-il]-2-hidroxi-1,4a,6-trimetil-5-prop-2-enil-3,4,5,7,8,8a-hexa-hidro-2H-naftalen-1-il]metil(E)-but-2-enoato	-2.11
NA	ID_ 8559	15.85	C ₂₂ H ₃₀ N ₄	373.2349 ^a	NA	-1.62
Genótipo IAC 100						
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 4823	13.34	C ₁₈ H ₃₂ O ₆	309.2057 ^e	Ácido (Z)-7,12-di-hidroxi-octadec-9-enedióico	1.20
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 4305	12.21	C ₁₉ H ₃₄ O ₆	323.2214 ^e	Ácido hexadecano-1,8,16-tricarboxílico	1.47
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 5123	13.65	C ₁₉ H ₃₄ O ₆	341.232 ^d	Ácido hexadecano-1,1,2-tricarboxílico	2.24
Acilós Graxos	ID_ 6070	14.32	C ₁₉ H ₃₀ O ₅	356.2431 ^c	Metil 11-[3-(hidroximetil)-4-oxooxetan-2-il]-3,5,7-trimetilundeca-2,4-dienoato	1.74
Alcaloides de ácido nicotínico	ID_ 7843	15.32	C ₆ H ₁₉ N ₄ P	179.1428	Amino-tris(dimetilamino)fosfânio	1.44
Diterpenoides	ID_ 4948	13.50	C ₁₉ H ₃₂ O ₄	325.2371	Ácido 3-(2,7-di-hidroxi-2,4b-dimetil-1,3,4,4a,5,6,7,8,8 a ,9,10,10a-dodeca-hidrofenantren-1-il)propanóico	2.37
Eicosanoides	ID_ 5387	13.85	C ₂₀ H ₃₆ O ₆	337.2372 ^e	Ácido 7-[2-(3,7-di-hidroxi-oct-1-en-1-il)-3,5-di-hidroxiciclopentil]heptanoico	1.83
Eicosanoides	ID_ 4524	12.72	C ₁₉ H ₃₄ O ₆	381.2247 ^a	2,2-dimetil-6-[(1S,2S,12R)-1,2,12-tri-hidroxitridecil]-1,3-dioxina-4-ona	2.41
Octadecanoides	ID_ 5072	13.62	C ₁₉ H ₃₄ O ₅	307.2265 ^e	Dimetil 9-oxoheptadecanodioato	1.65
Oligopeptídeos	ID_ 3448	9.91	C ₁₈ H ₂₆ N ₈ O ₂	425.1815	N,N '-bis[2-[(5-aminopiridin-2-il)-metilamino]etil]oxamida	-2.15
Poliquetídios lineares	ID_ 5891	14.18	C ₁₉ H ₃₂ O ₅	341.2316	Ácido 1-(12-carboxi-12-metil-6-oxotridecil)ciclopropano-1-carboxílico	1.81
Sacarídeos	ID_ 2660	7.37	C ₁₆ H ₂₆ O ₁₃	465.1027 ^b	Acetil 6-O-acetil-hexopiranosil-(1->6)-hexopiranosídeo	-3.15

Classe Química	ID	tr (min)	Fórmula Molecular	[M+H] ⁺ Experimental	Presumível metabólito de soja	log2(FC)
Sesquiterpenoides	ID_ 6633	14.61	C ₁₂ H ₁₆ O ₂	193.1221	Ácido 2-(4-butilfenil)acético	2.69
NA	ID_ 6833	14.76	C ₁₀ H ₁₈ O ₄	203.1277	NA	1.62
Diterpenoides	ID_ 5556	13.97	C ₁₉ H ₃₂ O ₅	305.2119 ^e	Ácido 2-(di-hidroximetil)-13-hidroxi-octadeca-9,11,15-trienóico	2.21
Diterpenoides	ID_ 8288	15.64	C ₂₁ H ₃₄ O ₄	368.2795 ^e	Ácido 5-[5-(metoxycarbonil)-5,8a-dimetil-2-metilideno-decahidronaftalen-1-il]-3-metilpentanóico	-1.41
Octadecanoides	ID_ 6452	14.53	C ₁₆ H ₂₈ O ₄	249.1847 ^e	Ácido (Z)-hexadec-7-enedióico	1.28
Triterpenoides	ID_ 6307	14.45	C ₃₄ H ₄₄ O ₁₆	691.2605 ^d	Dimetil (1S,4S,6S,7S,8R,11S,12R,14S,15R)-12-acetiloxi-4,7-di-hidroxi-6-[(1R,3S,5R,8R)-1-hidroxi-3-metil-4,7,9-trioxatriciclo[6.3.0.0 3,5]undec-10-en-5-il]-6-metil-14-[(E)-2-metilbut-2-enoil]oxi-3,9-dioxatetraciclo[6.6.1.0 1,5 .0 11,15]pentadecano-4,11-dicarboxilato	-1.41

Genótipo BRS 257

Ácidos graxos e conjugados	ID_ 6550	14.57	C ₂₀ H ₃₉ NO ₅	374.2903	Ácido 16-[2-(2-hidroxi-etoxi)etilamino]-16-oxohexadecanóico	1.17
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 5348	13.83	C ₉ H ₁₈ O ₄	155.1063 ^e	Ácido 9,9-di-hidroxi-nonanóico	1.25
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 6500	14.55	C ₁₀ H ₁₈ O ₃	187.1327	Ácido 6-oxodecanóico	1.33
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 7486	15.10	C ₁₀ H ₁₈ O ₄	203.1281	Ácido sebácico/Ácido decanodióico	1.02
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 8757	16.02	C ₂₀ H ₃₇ NO ₄	356.2795	Ácido 2-(18-oxooctadecanoilamino)acético	1.25
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 7062	14.87	C ₁₉ H ₃₅ NO ₄	342.2642	Metil (E)-9-nitrooctadec-9-enoato	1.09
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 4766	13.26	C ₁₃ H ₂₄ O ₅	243.1589 ^d	Ácido 3-hidroxitridecanodióico	-1.72
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 5123	13.65	C ₁₉ H ₃₄ O ₆	341.2320 ^d	Ácido hexadecano-1,1,2-tricarboxílico	2.35
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 8407	15.73	C ₃₆ H ₆₂ O ₄	581.4561 ^a	[(2Z, 5E)-2-[(E)-6-hexanoiloxi-4-metilhex-4-enilideno]-6,10-dimetilundeca-5,9-dienil] decanoato	1.84

Classe Química	ID	tr (min)	Fórmula Molecular	[M+H] ⁺ Experimental	Presumível metabólito de soja	log2(FC)
Amidas graxas	ID_ 8995	16.22	C ₁₈ H ₃₃ NO ₂	296.2582	(E)-9-oxooctadec-7-enamida	-1.16
Diterpenoides	ID_ 6078	14.32	C ₁₉ H ₂₈ O ₄	321.2059	1,5-di(ciclohex-2-en-1-il)-3,3-bis(hidroximetil)penta-1,4-dieno-2,4-diol	1.11
Diterpenoides	ID_ 6504	14.54	C ₂₀ H ₃₂ O ₃	321.2420	Ácido 13-hidroxilabda-8(17),14-dien-18-óico	1.10
Eicosanoides	ID_ 5387	13.85	C ₂₀ H ₃₆ O ₆	337.2372 ^e	Ácido 7-[2-(3,7-di-hidroxioc-1-en-1-il)-3,5-di-hidroxiciclopentil]heptanoico	1.49
Eicosanoides	ID_ 6557	14.58	C ₂₀ H ₃₄ O ₄	339.2529	(8S,9E,11Z,13E,15S)-8,15-di-hidroxiicosa-9,11,13-ácido trienóico	1.05
Eicosanoides	ID_ 8267	15.63	C ₁₉ H ₂₈ O ₄	321.2059101	Metil 5-[2-oxo-5-[(E)-3-oxooct-1-enil]ciclopent-3-en-1-il]pentanoato	1.64
Ésteres graxos	ID_ 5751	14.07	C ₁₄ H ₂₂ O ₄	255.1590	Dimetil dodec-6-inodioato	1.18
Ésteres graxos	ID_ 7431	15.07	C ₁₂ H ₂₂ O ₄	213.1484 ^d	Dimetil decanodioato	1.34
Esteroides	ID_ 6479	14.55	C ₁₉ H ₂₈ O ₂	289.2160	NA	1.29
Esteroides	ID_ 7056	14.87	C ₁₉ H ₂₈ O ₂	289.2160	NA	1.01
Macrolídeos	ID_ 5856	14.16	C ₁₅ H ₂₆ O ₅	309.1671 ^a	Ácido 2-etil-6-(4-metil-5-oxopentil)heptanodióico	1.97
Monoterpenoides	ID_ 749	2.53	C ₁₆ H ₂₂ O ₉	359.1332	4-etenil-3-[3,4,5-tri-hidroxi-6-(hidroximetil)oxan-2-il]oxi-4,4 a ,5,6-tetra-hidro-3 H -pirano[3,4-c]piran-8-ona	-1.71

Classe Química	ID	tr (min)	Fórmula Molecular	[M+H] ⁺ Experimental	Presumível metabólito de soja	log2(FC)
Octadecanoides	ID_ 4759	13.26	C ₁₂ H ₁₈ O ₃	211.1327448	Ácido jasmônico/Ácido 2-[(1R,2R)-3-oxo-2-[(Z)-pent-2-enil]ciclopentil]acético	-1.34
Octadecanoides	ID_ 6593	14.58	C ₁₇ H ₂₈ O ₃	281.2109	Ácido 12-hidroxi-heptadeca-8,10,14-trienóico	1.06
Octadecanoides	ID_ 7053	14.87	C ₁₉ H ₃₀ O ₃	307.2267	Metil 9-oxooctadeca-10,12,15-trienoato	1.02
Octadecanoides	ID_ 7407	15.06	C ₁₆ H ₂₈ O ₄	249.1847 ^e	Ácido hexadec-7-enedióico	1.36
Oligopeptídeos	ID_ 1637	4.94	C ₂₄ H ₄₁ N ₅ O ₉	544.2992	Ácido L-valil-L-prolil-L-treonil-L-leucil-L-aspartico	-1.52
Pequenos Peptídeos	ID_ 6698	14.68	C ₁₂ H ₂₉ N ₅ O ₅	324.2249	ND	1.46
Pequenos Peptídeos	ID_ 7692	15.21	C ₁₄ H ₂₉ N ₅ O ₅	348.2226	6-aminoxil-N-[2-[2-(2-azidoetoxi)etoxi]etil]hexanamida	1.05
Policetídeos cíclicos	ID_ 7312	14.99	C ₁₉ H ₂₈ O ₄	321.2059	Diciclohexil (2Z,4E)-3-metilhexa-2,4-dienedioato	1.07
Policetídeos lineares	ID_ 5662	14.03	C ₅₉ H ₇₃ N ₃ O ₈	952.5449	(2S,3S,4R)-2-azido-3-fenilmetoxi-1-[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-tris(fenilmetoxi)-6-(fenilmetoximetil)oxan-2-il]oxioctadec-5-in-4-ol	-1.12
Policetídeos lineares	ID_ 7067	14.88	C ₂₀ H ₃₇ NO ₆	388.2693	Ácido 10-acetiloxi-9-nitrooctadecanóico	1.94
Policetídeos lineares	ID_ 7188	14.95	C ₁₉ H ₃₃ NO ₅	356.2433	1-(1λ ² -propan-2-il) 7-propil 4-carbamoil-2-etil-2,6,6-trimetilheptanodioato	1.55
Poliéteres	ID_ 7709	15.22	C ₃₅ H ₆₂ N ₂ O ₁₀	671.4490033	(3R,4S,5S,6R,7R,9R,10E,11S,12R,13S,14R)-6-[(2S,3R,4S,6R)-4-(dimetilamino)-3-hidroxi-6-metiloxan-2-il]oxi-14-etil-4,12-di-hidroxi-10-hidroxiimino-3,5,7,9,11,13-hexametil-7,13-bis(prop-2-enoxi)-oxaciclotetradecan-2-ona	1.45

Classe Química	ID	tr (min)	Fórmula Molecular	[M+H] ⁺ Experimental	Presumível metabólito de soja	log2(FC)
Pseudoalcaloides (transamidação)	ID_ 8760	16.02	C ₁₈ H ₂₈ N ₆ O ₂	361.2347949	N'-[[4-[[[amino(morfolin-4-il)metilideno]amino]metil]fenil]metil]morfolin-4-carboximidamida	1.53
Sesquiterpenoides	ID_ 6874	14.77	C ₁₅ H ₂₂ O ₃	251.1640	(4S)-7-(4-metoxifenoxi)-4-metilheptan-3-ona	1.05
Sesquiterpenoides	ID_ 6505	14.55	C ₁₂ H ₂₀ O ₃	177.1271 ^e	Ácido 12-hidroxi-dodec-9-inóico	1.93
Sesquiterpenoides	ID_ 7317	14.98	C ₁₄ H ₂₀ O ₂	221.1534	Ácido tetradeca-5,7,9,11-tetraenóico	1.10
Sesquiterpenoides	ID_ 7399	15.05	C ₁₅ H ₂₂ O ₂	235.1691	Hidroxiisopatchoulenona/(4R,5S,8S,8aR)-4-hidroxi-3,8-dimetil-5-prop-1-en-2-il-4,5,6,7,8,8a-hexahidro-1H-azulen-2-ona	1.33
NA	ID_ 8377	15.73	C ₁₁ H ₁₆	149.1321	NA	1.02
NA	ID_ 6833	14.76	C ₁₀ H ₁₈ O ₄	203.127669	NA	2.31
NA	ID_ 479	1.87	C ₆ H ₆ O ₃	127.0387	NA	-1.84
NA	ID_ 4765	13.26	C ₁₃ H ₂₂ O ₄	265.1409 ^a	NA	-1.50
NA	ID_ 8991	16.22	C ₁₆ H ₂₈ N ₃ O	296.2583 ^c	NA	-1.33
NA	ID_ 1664	5.09	C ₁₃ H ₁₈ O ₂	207.1377	NA	-1.57
Ácidos fenólicos (C6-C1)	ID_ 584	2.09	C ₇ H ₆ O ₃	139.0386	Ácido salicílico/Ácido 2-hidroxibenzóico	-1.89
Ácidos fenólicos (C6-C1)	ID_ 300	1.62	C ₁₃ H ₁₄ O ₉	297.0594 ^d	Ácido (2R,3S,4S,5S)-2-benzoiloxi-3,4,5-tri-hidroxi-hexanodióico	-1.89
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 6550	14.57	C ₂₀ H ₃₉ NO ₅	374.2903	Ácido 16-[2-(2-hidroxi-etoxi)etilamino]-16-oxohexadecanóico	1.00
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 5358	13.83	C ₉ H ₁₈ O ₄	173.1171 ^d	Ácido (3R,8R)-3,8-di-hidroxinonanóico	1.49
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 8757	16.02	C ₂₀ H ₃₇ NO ₄	356.2795	Ácido 2-(18-oxooctadecanoilamino)acético	1.03

Classe Química	ID	tr (min)	Fórmula Molecular	[M+H] ⁺ Experimental	Presumível metabólito de soja	log2(FC)
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 7030	14.86	C ₂₀ H ₃₆ O ₆	355.2476 ^d	Ácido heptadecano-1,8,11-tricarboxílico	1.71
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 5813	14.12	C ₁₅ H ₂₆ O ₅	304.2117 ^c	Dipentil 3-oxopentanodioato	1.38
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 8407	15.73	C ₃₆ H ₆₂ O ₄	581.4561 ^a	[(2Z,5E)-2-[(E)-6-hexanoiloxi-4-metilhex-4-enilideno]-6,10-dimetilundeca-5,9-dienil] decanoato	1.48
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 5774	14.08	C ₁₉ H ₃₆ O ₅	309.2419 ^c	Ácido 9-hidroxinonadecanodióico	1.39
Acilos graxos	ID_ 7865	15.35	C ₁₉ H ₂₈ O ₄	343.1875 ^a	Ácido 2,3-dioxononadeca-10,13,16-trienóico	1.65
Acilos graxos	ID_ 7104	14.89	C ₂₀ H ₃₄ O ₅	377.2297 ^a	Ácido (8S,9E,11Z,13E,15S)-8-hidroperoxi-15-hidroxiicosa-9,11,13-trienóico	1.63
Alcaloides de tirosina	ID_ 3336	9.46	C ₄₇ H ₆₇ N ₃ O ₂₄	1058.4210	NA	-1.66
Alcaloides do ácido nicotínico	ID_ 962	3.10	C ₂₅ H ₃₅ N ₁₁ O ₉ S ₃	730.1818	Ácido (6R)-7-[[[(2E)-2-(5-amino-1,2,4-tiadiazol-3-il)-2-(2-carboxipropan-2-iloxiimino)acetil]amino]-3-[[1-[3-[(2-metilpropan-2-il)oxicarbonilamino]propil]tetrazol-5-il]sulfanilmetil]-8-oxo-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]octano-3-carboxílico	-1.06
Cumarinas	ID_ 1549	4.63	C ₉ H ₆ O ₂	147.0437	1-benzofurano-2-carbaldeído	-1.07
Diterpenoides	ID_ 8528	15.81	C ₂₀ H ₃₂ O ₅	353.2320	Ácido 7-[(1R, 2S)-3-hidroxi-2-(3-hidroxiocet-1-inil)-5-oxociclopentil]heptanóico	1.28
Diterpenoides	ID_ 7424	15.07	C ₁₈ H ₂₈ O ₃	315.1931 ^a	Ácido 2-(3,7,11-trimetildodeca-2,6,10-trienoxi)prop-2-enóico	-1.07

Classe Química	ID	tr (min)	Fórmula Molecular	[M+H] ⁺ Experimental	Presumível metabólito de soja	log2(FC)
Diterpenoides	ID_ 8561	15.84	C ₂₁ H ₃₄ O ₄	368.2794 ^c	Ácido (1R,4aR,5R)-5-(6-hidroxi-4-metil-6-oxo-hexil)-1,4a-dimetil-6-metileno-decalina-1-carboxílico	1.54
Diterpenoides	ID_ 7731	15.21	C ₁₉ H ₃₀ O ₃	324.2531 ^c	Ácido havardico F/Ácido (R)-3-metil-5-((4aS,8aS)-5,5,8a-trimetil-3-oxo-3,4,4a,5,6,7,8,8a-octa-hidronaftaleno-1-il)pentanóico	1.16
Diterpenoides	ID_ 7076	14.88	C ₁₈ H ₂₆ O ₃	291.1954	Ácido 4-etenil-4-[3-(2-metil-3-oxociclopenten-1-il)propil]ciclohexano-1-carboxílico	1.16
Diterpenoides	ID_ 4934	13.45	C ₃₃ H ₅₄ O ₁₅	708.3793 ^c	7,9,13-trimetil-6-[3-[[3,4,5-tri-hidroxi-6-(hidroximetil)oxan-2-il]oximetil]but-3-enil]-5-oxapentaciclo[10.8.0.0 2,9 .0 4,8 .0 13,18]icosano-6,14,15,16,17,18,19,20-octol	-1.57
Eicosanoides	ID_ 8267	15.63	C ₁₉ H ₂₈ O ₄	321.2059101	Metil 5-[2-oxo-5-[(E)-3-oxooct-1-enil]ciclopent-3-en-1-il]pentanoato	2.50
Eicosanoides	ID_ 7765	15.24	C ₂₀ H ₃₂ O ₅	353.2322	Metil 7-[(1R,2R,3R)-3-hidroxi-2-[(E)-2-(2-hidroxiciclopentil)etenil]-5-oxociclopentil]heptanoato	2.65
Esteroides	ID_ 7070	14.89	C ₁₉ H ₂₈ O ₃	305.2111	(10S,13S)-17-hidroxi-10-(hidroximetil)-13-metil-1,2,6,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodecahidrociclopenta[a]fenantren-3-ona	1.29
Esteroides	ID_ 7639	15.20	C ₁₈ H ₂₆ O ₂	275.2005	Ácido octadeca-8,10,12,14,16-pentaenóico	1.00
Fenilpropanoides (C6-C3)	ID_ 960	3.10	C ₁₅ H ₁₆ O ₁₀	357.0813	Cafeoil C1-glucuronídeo	-1.19
Fenilpropanoides (C6-C3)	ID_ 74	1.15	C ₁₅ H ₁₆ O ₁₁	373.0763	Ácido 2-O-cafeoilglucárico	-1.05
Fenilpropanoides (C6-C3)	ID_ 70	1.15	C ₂₀ H ₁₇ NO ₄	374.0796 ^b	(E)-3-(1,3-benzodioxol-5-il)- N -[3-(4-metoxifenil)prop-2-inil]prop-2-enamida	-1.08

Classe Química	ID	tr (min)	Fórmula Molecular	[M+H] ⁺ Experimental	Presumível metabólito de soja	log2(FC)
Flavonoides	ID_ 1495	4.50	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₁	468.1498 ^c	Sinensina/Aromadendrina 7-O-glicosídeo	-1.32
Glicosídeos de aminoácidos	ID_ 211	1.37	C ₁₅ H ₂₁ NO ₁₀	376.1231	(5-acetamido-3,4-diacetiloxi-6-formiloxioxan-2-il)acetato de metila	-1.14
Lignanas	ID_ 3313	9.43	C ₂₀ H ₂₀ O ₄	325.1425	4-[(1E,3E,5E)-6-(4-hidroxi-3-metoxifenil)hexa-1,3,5-trienil]-2-metoxifenol	-1.49
Macrolídeos	ID_ 5856	14.16	C ₁₅ H ₂₆ O ₅	309.1671 ^a	Ácido 2-etil-6-(4-metil-5-oxopentil)heptanodióico	1.14
Macrolídeos	ID_ 7118	14.88	C ₃₈ H ₆₀ O ₈	667.4177 ^a	12-O-Hexadecanoilforbol-13-acetato	2.14
Cumarinas	ID_ 759	2.55	C ₉ H ₆ O ₃	163.0386	Umbeliferona/7-hidroxycumarina	-1.61
Cumarinas	ID_ 908	2.96	C ₉ H ₆ O ₃	163.0386	6-Hidroxycumarina	-1.80
Octadecanoides	ID_ 3666	10.72	C ₁₂ H ₁₈ O ₃	211.1327243	Ácido (+)-7-iso-jasmônico	-1.28
Octadecanoides	ID_ 7666	15.22	C ₁₉ H ₃₄ O ₅	307.2270 ^e	Metil (9S,10E,12S,13S,15Z)-9,12,13-tri-hidroxi octadeca-10,15-dienoato	1.25
Octadecanoides	ID_ 1741	5.21	C ₁₂ H ₁₈ O ₄	227.1276	Ácido tuberônico/(-)-ácido 12-hidroxijasmônico	1.76
Octadecanoides	ID_ 7370	15.06	C ₁₉ H ₃₂ O ₄	307.2270 ^d	Metil (9S,10S,11E,13E,15Z)-9,10-di-hidroxi octadeca-11,13,15-trienoato	2.01
Octadecanoides	ID_ 5929	14.22	C ₁₈ H ₃₀ O ₄	275.2004 ^d	Ácido (E)-12,13-dioxooctadec-10-enóico	2.55
Oligopeptídeos	ID_ 3446	9.91	C ₅₁ H ₈₀ N ₁₀ O ₁₅	1111.5442 ^b	L-valil-L-leucil-L-tirosil-glicil-L-prolil-L-alfa-aspartil-L-treonil-L-prolil-L-isoleucil-L-valina	-1.76
Oligopeptídeos	ID_ 7999	15.45	C ₃₂ H ₅₂ N ₆ O ₈	687.3494 ^b	L-tirosil-L-leucil-L-alanil-L-alanil-L-valil-L-leucina	-1.41

Classe Química	ID	tr (min)	Fórmula Molecular	[M+H] ⁺ Experimental	Presumível metabólito de soja	log2(FC)
Oligopeptídeos	ID_ 5407	13.85	C ₄₁ H ₇₀ N ₁₀ O ₁₁ S	928.5259 ^c	L-fenilalanil-L-lisil-glicil-L-treonil-L-metionil-L-seril-L-lisil-L-isoleucina	-1.29
Pequenos Peptídeos	ID_ 3895	11.38	C ₁₇ H ₂₄ N ₂ O ₄	321.1800	N-acetil-L-leucil-L-fenilalanina	-1.46
Poliquetídeos cíclicos	ID_ 7874	15.36	C ₁₉ H ₂₈ O ₄	321.2059124	1,1-di(ciclopenten-1-iloxi)hexil prop-2-enoato	2.15
Poliquetídeos cíclicos	ID_ 7066	14.88	C ₁₉ H ₃₀ O ₄	323.2220	2,5-dimetoxi-3-undecilciclohexa-2,5-dieno-1,4-diona	1.54
Poliquetídeos cíclicos	ID_ 7153	14.92	C ₂₀ H ₃₂ O ₄	337.2370	Ácido 12-hidroxi-10-(hidroximetil)-6-metil-2-(4-metilpent-3-enil)dodeca-2,6,10-trienoico	1.80
Poliquetídeos lineares	ID_ 9012	16.25	C ₂₃ H ₄₀ O ₅	379.2842 ^d	Metil 8-[(3R)-3-hidroxi-2-[(E)-4-hidroxi-4-metiloct-1-enil]-5-oxociclopentil]octanoato	1.11
Poliéteres	ID_ 7709	15.22	C ₃₅ H ₆₂ N ₂ O ₁₀	671.4490033	(3R,4S,5S,6R,7R,9R,10E,11S,12R,13S,14R)-6-[(2S,3R,4S,6R)-4-(dimetilamino)-3-hidroxi-6-metiloxan-2-il]oxi-14-etil-4,12-di-hidroxi-10-hidroxiimino-3,5,7,9,11,13-hexametil-7,13-bis(prop-2-enoxi)-oxacicotetradecan-2-ona	1.04
Poliéteres	ID_ 5457	13.88	C ₃₈ H ₆₈ O ₁₀	707.4696 ^a	[1-[(Z)-tridec-9-enoil]oxi-3-[3,4,5-tri-hidroxi-6-(hidroximetil)oxan-2-il]oxipropan-2-il] (Z)-hexadec-9-enoato	1.50
Pseudoalcaloides (transamidação)	ID_ 8760	16.02	C ₁₈ H ₂₈ N ₆ O ₂	361.2347949	N'-[[4-[[[amino(morfolin-4-il)metilideno]amino]metil]fenil]metil]morfolin-4-carboximidamida	1.60
Sesquiterpenoides	ID_ 8243	15.63	C ₁₈ H ₂₈ O ₄	309.205965	(12-acetiloxi-6,10-dimetildodeca-2,6,10-trienil) acetato	1.29
Sesquiterpenoides	ID_ 2163	6.19	C ₁₃ H ₂₀ O ₃	225.1479	4-(2,4-dimetoxifenil)-3-metilbutan-2-ol	-1.33
Sesquiterpenoides	ID_ 7673	15.21	C ₁₅ H ₂₂ O ₂	235.1691	(4aS,8aS)-2,5,5,8 a -tetrametil-3-oxo-4 a ,6,7,8-tetra-hidro-4H -naftaleno-1-carbaldeído	5.18
Sesquiterpenoides	ID_ 7604	15.18	C ₁₆ H ₂₄ O ₂	249.1847	Ácido hexadeca-2,5-diinoico	5.20
Sesquiterpenoides	ID_ 5487	13.91	C ₁₅ H ₂₂ O ₂	235.1690	1-hidroxieremófilo-7(11),9(10)-dien-8-ona	1.04

Classe Química	ID	tr (min)	Fórmula Molecular	[M+H] ⁺ Experimental	Presumível metabólito de soja	log2(FC)
Sesquiterpenoides	ID_ 7399	15.05	C ₁₅ H ₂₂ O ₂	235.1691	Hidroxiisopatchoulenona/(4R,5S,8S,8aR)-4-hidroxi-3,8-dimetil-5-prop-1-en-2-il-4,5,6,7,8,8a-hexahidro-1H-azulen-2-ona	1.21
Triterpenoides	ID_ 6033	14.30	C ₄₉ H ₇₈ O ₁₉	971.5196	Éster metílico de Chikusetsusaponina V	-1.06
Triterpenoides	ID_ 5403	13.85	C ₄₇ H ₇₄ O ₁₇	911.4989	Periandradulcina B	-1.22
Triterpenoides	ID_ 5450	13.88	C ₄₈ H ₇₆ O ₁₈	941.5091	Pisumsaponina II	-1.36
NA	ID_ 8406	15.74	C ₈ H ₁₂	109.1011	NA	1.51
NA	ID_ 3250	9.30	C ₉ H ₁₆ O ₄	189.1121	NA	1.17
NA	ID_ 7105	14.88	C ₆ H ₈ O ₂	113.0596	NA	1.41
NA	ID_ 248	1.49	NA	229.5992	NA	-1.41
NA	ID_ 376	1.74	C ₈ H ₆ O	119.0488	NA	-1.11
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 6550	14.57	C ₂₀ H ₃₉ NO ₅	374.2903	Ácido 16-[2-(2-hidroxi-etoxi)etilamino]-16-oxohexadecanóico	1.14
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 8145	15.53	C ₁₁ H ₂₀ O ₃	201.1484	Ácido 6-oxoundecanóico	1.29
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 5018	13.58	C ₁₁ H ₂₀ O ₄	199.1329 ^d	Ácido 2,6-dietilheptanodioico	1.08
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 8139	15.53	C ₁₃ H ₂₂ O ₄	243.1590	Ácido 2-prop-2-enildecadodioico	1.70
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 3702	10.82	C ₁₃ H ₂₄ O ₅	225.1480 ^e	Ácido 3-hidroxi-2-octilpentanodioico	-1.49
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 4813	13.33	C ₁₄ H ₂₄ O ₄	274.2010 ^c	Dimetil dodec-3-enedioato	-1.40
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 4833	13.34	C ₁₄ H ₂₆ O ₅	292.2113 ^c	Ácido 4-hidroxi-3-metoxycarbonildodecanóico	-1.46
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 4830	13.34	C ₁₄ H ₂₆ O ₅	297.1672 ^a	Dimetil 3-hidroxi-dodecanodioato	-1.41
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 4766	13.26	C ₁₃ H ₂₄ O ₅	243.1589 ^d	Ácido 3-hidroxitridecanodioico	-1.58
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 8216	15.62	C ₁₂ H ₂₀ O ₄	211.1328 ^d	Ácido 6,11-dioxododecanóico	1.68

Classe Química	ID	tr (min)	Fórmula Molecular	[M+H] ⁺ Experimental	Presumível metabólito de soja	log2(FC)
Acilglicosídeos graxos	ID_ 4339	12.27	C ₃₃ H ₅₆ O ₁₆	726.3900 ^c	2-(((3,4-di-hidroxi-4-(hidroximetil)tetra-hidrofuran-2-il)oxi)metil)-6-((4-etilideno-8a-metil-6-(2-((3,4,5-tri-hidroxi-6-(hidroximetil)tetra-hidro-2H-piran-2-il)oxi)propan-2-il)deca-hidronaftalen-2-il)oxi)tetra-hidro-2H-piran-3,4,5-triol	-1.89
Acilos Graxos	ID_ 7865	15.35	C ₁₉ H ₂₈ O ₄	343.1875 ^a	Ácido 2,3-dioxononadeca-10,13,16-trienóico	1.38
Acilos graxos	ID_ 5976	14.25	C ₁₈ H ₃₂ O ₄	335.2187 ^a	9-HpODE/Ácido (10E,12E)-9-hidroperoxioctadeca-10,12-dienóico	-1.73
Alcaloides ornitina	ID_ 8508	15.79	C ₈ H ₂₂ N ₄ O	229.1433 ^b	2-[2-[2-(2-aminoetilamino)etilamino]etilamino]etanol	1.44
Amidas graxas	ID_ 8509	15.79	C ₁₉ H ₃₃ NO ₄	340.2482	Ácido 8-[[[(6S)-6-hidroxiundeca-2,4-dienil]amino]-8-oxooctanóico	1.10
Aminoácidos glicosídeos	ID_ 4238	12.07	C ₁₃ H ₃₂ N ₄ O ₈	395.2105 ^a	O -[2-[3-(2-aminooxietoxi)-2,2-bis(2-aminooxietoximetil)propoxi]etil]hidroxilamina	1.47
Apocarotenoides	ID_ 3943	11.46	C ₂₈ H ₄₆ O ₁₅	640.3172 ^c	[(2R,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-triacetiloxi-6-[[[(2R,3S,4S,5R,6R)-3,4,5-tri-hidroxi-6-octoxioxan-2-il]metoxi]oxan-2-il]acetato de metila	-1.43
Apocarotenoides	ID_ 3950	11.46	C ₂₈ H ₄₈ O ₁₆	623.2903 ^d	[(2R,3R,4S,5S,6S)-3,4,5-tri(butanoiloxi)-6-[(2S,3S,4R,5R)-1,2,3,4,5,6-hexahidroxihexoxi]oxan-2-il]metil butanoato	-1.26
Compostos organonitrogênicos	ID_ 7098	14.89	C ₉ H ₂₄ N ₄	227.1641 ^b	3-N-(3-aminopropil)hexano-1,3,6-triamina	-1.37
Cumarinas	ID_ 2159	6.18	C ₁₅ H ₁₄ O ₄	259.0962	4- O -[(E)-2-feniletetil] 1- O -prop-2-enil (Z)-but-2-enedioato	-1.93

Classe Química	ID	tr (min)	Fórmula Molecular	[M+H] ⁺ Experimental	Presumível metabólito de soja	log2(FC)
Diterpenoides	ID_ 7860	15.36	C ₁₉ H ₃₀ O ₄	345.2035 ^a	Ácido 5-[(E)-4-carboxi-3-metilbut-3-enil]-1,4 a -dimetil-2,3,4,5,6,7,8,8 a -octa-hidronaftaleno-1-carboxílico	1.36
Diterpenoides	ID_ 8033	15.47	C ₁₉ H ₂₈ O ₃	305.2110	6-hidroxi-10,13-dimetil-2,4,5,6,7,8,9,11,12,14,15,16-dodecahidro-1 H -ciclopenta[a]fenantreno-3,17-diona	1.79
Diterpenoides	ID_ 8561	15.84	C ₂₁ H ₃₄ O ₄	368.2794 ^c	Ácido (1R,4aR,5R)-5-(6-hidroxi-4-metil-6-oxo-hexil)-1,4a-dimetil-6-metileno-decalina-1-carboxílico	1.30
Diterpenoides	ID_ 8980	16.22	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	301.2138 ^a	(3-etil-7,11-dimetildodeca-2,6,10-trienil) acetato	-1.45
Eicosanoides	ID_ 7867	15.36	C ₁₉ H ₃₀ O ₄	305.211 ^d	Ácido (3S,6R)-3-hidroxi-10-metil-6-fenilmetoxiundecanóico	1.35
Eicosanoides	ID_ 8229	15.62	C ₁₉ H ₃₀ O ₄	345.2036 ^a	Ácido nonadeca-2,8,17-trienedióico	1.05
Eicosanoides	ID_ 8228	15.62	C ₁₉ H ₃₃ NO ₄	340.2481	Ácido 8-(6-hidroxiundeca-2,4-dienilamino)-8-oxooctanóico	1.24
Eicosanoides	ID_ 8267	15.63	C ₁₉ H ₂₈ O ₄	321.2059	Metil 5-[2-oxo-5-[(E)-3-oxooct-1-enil]ciclopent-3-en-1-il]pentanoato	1.79
Fenilpropanoides (C6-C3)	ID_ 641	2.21	C ₁₆ H ₂₀ O ₁₂	369.0821 ^e	Ácido (1S,7R)-7-hidroxi-1-[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-tri-hidroxi-6-(hidroximetil)oxan-2-il]oxi-4 a ,7 a -di-hidro-1 H -ciclopenta[c]piran-4,7-dicarboxílico	-1.24
Glicerolipídeos	ID_ 3493	10.09	C ₁₅ H ₂₆ O ₆	285.1694 ^d	NA	-2.02
Glicerolipídeos	ID_ 7404	15.06	C ₃₈ H ₆₄ O ₈	671.4486 ^a	NA	2.47

Classe Química	ID	tr (min)	Fórmula Molecular	[M+H] ⁺ Experimental	Presumível metabólito de soja	log2(FC)
Isoflavonoides	ID_ 3888	11.35	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	285.0757	Gliciteína/7-hidroxi-3-(4-hidroxifenil)-6-metoxicromeno-4-ona	1.10
Macrolídeos	ID_ 6959	14.81	C ₄₀ H ₆₇ NO ₁₃	770.4679	2-[(11E,13E)-6-[4-(dimetilamino)-3-hidroxi-5,6-dimetiloxan-2-il]oxi-16-etil-4-hidroxi-15-[(5-hidroxi-3,4-dimetoxi-6-metiloxan-2-il)oximetil]-5,9,13-trimetil-2,10-dioxo-1-oxaciclohexadeca-11,13-dien-7-il]acetaldeído	1.31
Macrolídeos	ID_ 6870	14.77	C ₄₅ H ₇₅ NO ₁₄	854.5243	[(4R,5S,6S,7R,9R,11E,13E,16R)-6-[(2S,3R,4R,5S,6R)-4-(dimetilamino)-3-hidroxi-5-[(2S,4R,5S,6S)-4-metoxi-4,6-dimetil-5-(4-metilpentoxi)oxan-2-il]oxi-6-metiloxan-2-il]oxi-5-metoxi-9,16-dimetil-2,10-dioxo-7-(2-oxoetil)-1-oxaciclohexadeca-11,13-dien-4-il]propanoato	1.57
Macrolídeos	ID_ 7118	14.88	C ₃₈ H ₆₀ O ₈	667.4177 ^a	12-O-Hexadecanoilforbol-13-acetato	1.01
Monoterpenoides	ID_ 8255	15.62	C ₁₁ H ₁₈ O ₂	183.1378	5-metiloct-6-inoato de etila	1.43
Monoterpenoides	ID_ 3494	10.09	C ₁₅ H ₂₆ O ₆	285.1699 ^d	1,2,3-tris(2-etenoxietoxi)propano	-1.57
Monoterpenoides	ID_ 8215	15.62	C ₁₀ H ₁₆ O ₂	151.1114 ^d	Oxipinona/2-hidroxi-2,6,6-trimetilbiciclo[3.1.1]heptan-3-ona	1.38
NA	ID_ 6695	14.67	C ₃₄ H ₄₂ O ₁₄	675.2657	NA	1.15
Octadecanoides	ID_ 3759	10.98	C ₁₂ H ₁₈ O ₃	211.1327	Ácido 2-hidroxi-4-metil-3-(pent-2-en-1-il)ciclopent-3-eno-1-carboxílico	-1.05
Octadecanoides	ID_ 4759	13.26	C ₁₂ H ₁₈ O ₃	211.1327448	Ácido jasmônico/Ácido 2-[(1R, 2R)-3-oxo-2-[(Z)-pent-2-enil]ciclopentil]acético	-1.57

Classe Química	ID	tr (min)	Fórmula Molecular	[M+H] ⁺ Experimental	Presumível metabólito de soja	log2(FC)
Octadecanoides	ID_ 7879	15.36	C ₁₉ H ₃₀ O ₄	323.2216	Metil 13-(oxan-2-il)-12-oxotridec-2-inoato	1.68
Octadecanoides	ID_ 3666	10.72	C ₁₂ H ₁₈ O ₃	211.1327	Ácido (+)-7-iso-jasmônico	-1.79
Octadecanoides	ID_ 4807	13.32	C ₁₃ H ₂₀ O ₃	225.1484	Metil jasmonato/Metil 2-[(1R, 2R)-3-oxo-2-[(Z)-pent-2-enil]ciclopentil]acetato	-1.47
Octadecanoides	ID_ 7878	15.36	C ₁₉ H ₃₀ O ₄	340.2481 ^c	Metil (E,9S)-11-[(1S,2S)-2-etil-5-oxociclopent-3-en-1-il]-9-hidroxiundec-10-enoato	2.26
Octadecanoides	ID_ 8225	15.62	C ₁₉ H ₃₀ O ₄	323.2217	Ácido smaditerpênico C/Ácido (2Z,6Z,10Z)-12-hidroxi-6-(hidroximetil)-10-metil-2-(3-metilbut-3-en-1-il)dodeca-2,6,10-trienoico	1.26
Octadecanoides	ID_ 4841	13.35	C ₁₄ H ₂₄ O ₄	257.1743	Dimetil dodec-2-enedioato	-1.34
Oligopeptídeos	ID_ 5407	13.85	C ₄₁ H ₇₀ N ₁₀ O ₁₁ S	928.5259 ^c	L-fenilalanil-L-lisil-glicil-L-treonil-L-metionil-L-seril-L-lisil-L-isoleucina	-1.58
Oligopeptídeos	ID_ 7232	14.96	C ₃₆ H ₆₇ N ₁₁ O ₁₃	862.4990	(3R)-3-hidroxi-L-leucil-L-leucil-D-arginil-L-leucil-L-alotreonil-glicil-L-seril-L-serina	1.22
Oligopeptídeos	ID_ 6595	14.59	C ₄₂ H ₇₇ N ₇ O ₁₃	888.5658	Etil (2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-[3-[1-[2-[2-[2-[2-[2-(2-metoxietoxi)etoxi]etoxi]etoxi]etoxi]etil]triazol-4-il]propanoilamino]-3-metilbutanoil]amino]-3-metilbutanoil]amino]-3-metilbutanoil]amino]-3-metilbutanoato	1.60
Oligopeptídeos	ID_ 8429	15.74	C ₃₅ H ₆₂ N ₂ O ₉	655.4528	(5S,6S,7R,9R,11E,13E,15S,16R)-7-[2-[bis(2-hidroxietyl)amino]etil]-6-[(2S,3R,4S,6R)-4-(dimetilamino)-3-hidroxi-6-metiloxan-2-il]oxi-16-etil-4-hidroxi-5,9,13,15-tetrametil-1-oxaciclohexadeca-11,13-dieno-2,10-diona	1.26

Classe Química	ID	tr (min)	Fórmula Molecular	[M+H] ⁺ Experimental	Presumível metabólito de soja	log2(FC)
Pequenos Peptídeos	ID_ 7876	15.36	C ₁₅ H ₂₉ N ₃ O ₃	322.2095 ^a	4-(1-amino-1-oxobutan-2-il)-2,6-dietilheptanodiamida	1.91
Pequenos Peptídeos	ID_ 8755	16.02	C ₁₅ H ₃₁ N ₅ O ₅	362.2384	Lisilserillisina/Ácido 6-amino-2-[[2-(2,6-diaminohexanoilamino)-3-hidroxiopropanoil]amino]hexanóico	1.13
Pequenos Peptídeos	ID_ 1879	5.59	C ₁₂ H ₁₃ NO ₅	234.0758 ^d	Ácido N-(benzilcarbonil)-D-aspartico	-1.01
Pequenos Peptídeos	ID_ 8233	15.62	C ₁₄ H ₂₇ N ₅ O ₅	346.2069	L-alanil-L-glutaminil-L-lisina	1.05
Pequenos Peptídeos	ID_ 8522	15.79	C ₁₄ H ₂₇ N ₅ O ₅	346.2069	DL-alanil-DL-alanil-glicil-DL-lisina	1.12
Policetídeos cíclicos	ID_ 7874	15.36	C ₁₉ H ₂₈ O ₄	321.2059124	1,1-di(ciclopenten-1-iloxi)hexil prop-2-enoato	1.53
Policetídeos lineares	ID_ 8149	15.54	C ₂₀ H ₃₆ O ₆	355.2477 ^d	Ácido 8-(3-metoxioctanoiloxi)-10-oxoundecanóico	1.26
Policetídeos lineares	ID_ 8142	15.53	C ₂₀ H ₃₄ O ₅	372.2745 ^c	Ácido (8S,15S)-15-hidroperoxi-8-hidroxiicosa-9,11,13-trienóico	1.18
Poliéteres	ID_ 5851	14.15	C ₁₉ H ₃₂ O ₆	379.2082 ^a	1-[1,3-bis[(E)-prop-1-enoxi]propoximetoxi]-1,3-bis[(E)-prop-1-enoxi]propano	1.66
Poliéteres	ID_ 5457	13.88	C ₃₈ H ₆₈ O ₁₀	707.4696 ^a	[1-[(Z)-tridec-9-enoil]oxi-3-[3,4,5-tri-hidroxi-6-(hidroximetil)oxan-2-il]oxipropan-2-il] (Z)-hexadec-9-enoato	1.75
Sesquiterpenoides	ID_ 8243	15.63	C ₁₈ H ₂₈ O ₄	309.2060	(12-acetiloxi-6,10-dimetildodeca-2,6,10-trienil) acetato	1.19
Sesquiterpenoides	ID_ 4814	13.33	C ₁₂ H ₁₆ O ₂	193.1221	1-[4-hidroxi-3-(2-metilpropil)fenil]etanona	-1.44
Sesquiterpenoides	ID_ 1424	4.28	C ₁₅ H ₂₂ O ₅	265.1431 ^d	Ácido 2-(1,3,6-tri-hidroxi-3,8-dimetil-1,2,3,3a,4,5,6,8a-octa-hidroazulen-5-il)acrílico	-1.18

Classe Química	ID	tr (min)	Fórmula Molecular	[M+H] ⁺ Experimental	Presumível metabólito de soja	log2(FC)
Triterpenoides	ID_ 5107	13.64	C ₄₉ H ₇₆ N ₁₂ O ₁₂	1047.5617 ^a	Ácido (6S)-6-[[2-[[[(2S)-2-[[4-[[[(2S)-2-[(2-acetamidociclopentanocarbonil)amino]-6-amino]hexanoil]amino]pirrolidina-3-carbonil]amino]-3-(4-hidroxifenil)propanoil]amino]ciclopentanocarbonil]amino]-7-[[4-[[[(2 S)-1-amino-1-oxopropan-2-il]carbamoil]pirrolidin-3-il]amino]-7-oxoheptanóico	-1.29
Triterpenoides	ID_ 4722	13.20	C ₄₇ H ₇₄ O ₁₉	960.5155 ^c	(2S,3S,4S,5R,6R)-6-[[[(3S,4R,4aR,6aR,6bS,8aS,12aS,14aR,14bR)-4-(hidroximetil)-4,6a,6b,11,11,14b-hexametil-8a-[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-tri-hidroxi-6-(hidroximetil)oxan-2-il]oxicarbonil-1,2,3,4a,5,6,7,8,9,10,12,12a,14,14a -tetradecahidropicen-3-il]oxi]-3,5-di-hidroxi-4-[(2S,3R,4S,5R)-3,4,5-tri-hidroxi-oxan-2-il]oxioxano-2-ácido carboxílico	-1.02
Triterpenoides	ID_ 4912	13.42	C ₅₃ H ₈₆ O ₂₂	1057.5555 ^d	Base Soyasapogenol B + O-HexA-Hex-Pen, O-dHex	-1.24
Triterpenoides	ID_ 5450	13.88	C ₄₈ H ₇₆ O ₁₈	941.5091	Pisumsaponina II	-1.77
Triterpenoides	ID_ 5403	13.85	C ₄₇ H ₇₄ O ₁₇	911.4989	Periandradulcina B	-1.28
Triterpenoides	ID_ 6307	14.45	C ₃₄ H ₄₄ O ₁₆	691.2605 ^d	Dimetil (1S,4S,6S,7S,8R,11S,12R,14S,15R)-12-acetiloxi-4,7-di-hidroxi-6-[(1R,3S,5R,8R)-1-hidroxi-3-metil-4,7,9-trioxatriciclo[6.3.0.0 3,5]undec-10-en-5-il]-6-metil-14-[(E)-2-metilbut-2-enoil]oxi-3,9-dioxatetraciclo[6.6.1.0 1,5 .0 11,15]pentadecano-4,11-dicarboxilato	1.70

Classe Química	ID	tr (min)	Fórmula Molecular	[M+H] ⁺ Experimental	Presumível metabólito de soja	log2(FC)
Triterpenoides	ID_ 6031	14.28	C ₅₆ H ₉₀ O ₂₃	1131.5930	[(1S,2S,4S,5R,9R,10S,13S,14R,17S,18R)-10-[(2R,3R,4S,5S,6R)-4-[(2S,3R,4R,5S,6R)-3,4-di-hidroxi-6-(hidroximetil)-5-[(2S,3R,4R,5R,6S)-3,4,5-tri-hidroxi-6-metiloxan-2-il]oxioxan-2-il]oxi-5-hidroxi-6-metil-3-[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-tri-hidroxi-6-(hidroximetil)oxan-2-il]oxioxan-2-il]oxi-9-(hidroximetil)-4,5,9,13,20,20-hexametil-24-oxahexaciclo[15.5.2.0 ^{1,18} .0 ^{4,17} .0 ^{5,14} .0 ^{8,13}]tetracos-15-en-2-il] acetato	-1.35
NA	ID_ 8138	15.53	C ₁₅ H ₃₁ N ₅ O ₆	378.2331	NA	1.39
NA	ID_ 8487	15.78	C ₁₈ H ₂₄ O ₂	273.184656	NA	1.19
NA	ID_ 4765	13.26	C ₁₃ H ₂₂ O ₄	265.1409 ^a	NA	-1.59
NA	ID_ 574	2.07	C ₆ H ₁₀ O ₂	115.0752	NA	-1.86
Genótipo IAC PL-1						
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 6627	14.61	C ₁₂ H ₂₂ O ₄	195.1373 ^e	Ácido dodecanodióico	2.03
Oligopeptídeos	ID_ 8573	15.86	C ₃₉ H ₇₅ N ₇ O ₁₀	824.5508 ^a	Ácido (2S)-5-[2-[2-[5-[2-[2-(butilamino)-2-oxoetoxi]etoxi]-2-oxopentoxi]etoxi]etilamino]-2-[[[(17Z)-17-hidrazinil-17-hidrazinilidenoheptadecanoil]amino]-5-oxopentanóico	-1.60
Genótipo PI 407270						
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 4413	12.47	C ₉ H ₁₈ O ₄	173.117 ^d	Ácido 3,9-di-hidroxinonanóico	2.10
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 5604	13.98	C ₁₃ H ₂₂ O ₄	207.1379 ^e	Ácido tridec-3-enedióico	1.66
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 7030	14.86	C ₂₀ H ₃₆ O ₆	355.2476 ^d	Ácido heptadecano-1,8,11-tricarboxílico	2.23
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 4630	13.00	C ₁₂ H ₂₀ O ₄	229.1432	Ácido traumático/ Ácido (E)-dodec-2-enedióico	1.92
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 5764	14.08	C ₁₉ H ₃₉ NO ₅	362.2898	(11-amino-9,10,12-tri-hidroxidodecil) heptanoato	1.72

Classe Química	ID	tr (min)	Fórmula Molecular	[M+H] ⁺ Experimental	Presumível metabólito de soja	log2(FC)
Ácidos graxos e conjugados	ID_ 5576	13.98	C ₁₃ H ₂₂ O ₄	225.1482 ^d	Ácido 2-hexil-3-propilbut-2-enedióico	1.44
Ácidos graxos e conjugados-	ID_ 5966	14.24	C ₁₃ H ₂₂ O ₄	243.1589	Metil 8-(5-oxooxolan-2-il)octanoato	3.27
Esteroides	ID_ 7070	14.89	C ₁₉ H ₂₈ O ₃	305.2111	NA	1.21
Glicerolipídeos	ID_ 6968	14.82	C ₂₇ H ₄₉ NO ₉	532.3479	NA	1.12
Lignanas	ID_ 4645	13.03	C ₂₉ H ₃₀ O ₁₃	587.1754	Filanthostatina A/[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-tri-hidroxi-6-(hidroximetil)oxan-2-il] 3-(acetiloximetil)-1-(1,3-benzodioxol-5-il)-6,7-dimetoxinaftaleno-2-carboxilato	1.38
Octadecanoides	ID_ 6940	14.80	C ₁₈ H ₂₈ O ₃	293.2108	Tetrahidrodicranenona B/Ácido 8-[3-oxo-2-[(Z)-pent-2-enil]ciclopenten-1-il]octanóico	2.16
Octadecanoides	ID_ 4411	12.46	C ₁₈ H ₃₂ O ₅	293.2109 ^e	Ácido coriônico F/Ácido 9,12,13-tri-hidroxiocadeca-10,15-dienoico	1.75
Octadecanoides	ID_ 4426	12.48	C ₁₈ H ₃₀ O ₄	275.2003 ^e	Ácido 8,11-di-hidroxiocadeca-9,12,15-trienóico	1.87
Sesquiterpenoides	ID_ 7084	14.88	C ₁₈ H ₂₄ O ₂	273.1847	12-hidroxi-1-fenildodec-1-in-3-ona	1.85
Sesquiterpenoides	ID_ 6877	14.77	C ₁₅ H ₂₄ O ₄	251.1636 ^d	6-hidroxi-9-(hidroximetil)-3,5a-dimetil-3,3a,4,5,6,7,8,9,9a,9b-decahidrobenzo[g][1]benzofuran-2-ona	1.44
NA	ID_ 8487	15.78	C ₁₈ H ₂₄ O ₂	273.1847	NA	2.14
NA	ID_ 7105	14.88	C ₆ H ₈ O ₂	113.0596	NA	1.22
NA	ID_ 6909	14.79	C ₂₁ H ₃₈ O ₅	393.2609 ^a	NA	1.72

a, b, c, d, e valor correspondente ao aduto [M+Na]⁺, [M+K]⁺, [M+H₃N+H]⁺, [M-H₂O+H]⁺ e [M-H₄O₂+H]⁺, respectivamente

