

Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”

Perfil metabolômico associado a resistência da soja infestada por *Euschistus heros*: catalogando estruturas químicas em busca de histórias biológicas

Nathália Salgado Silva

Tese apresentada para obtenção do título de Doutora em Ciências. Área de concentração: Genética e Melhoramento de Plantas

Piracicaba
2022

Nathália Salgado Silva
Engenheira Agrônoma

Perfil metabolômico associado a resistência da soja infestada por *Euschistus heros*:
catalogando estruturas químicas em busca de histórias biológicas

Orientador:
Prof. **Dr. JOSÉ BALDIN PINHEIRO**

Tese apresentada para obtenção do título de Doutora em
Ciências. Área: Genética e Melhoramento de Plantas

Piracicaba
2022

RESUMO

Perfil metabolômico associado a resistência da soja infestada por *Euschistus heros*: catalogando estruturas químicas em busca de histórias biológicas

O percevejo marrom *Euschistus heros* é a principal espécie praga da soja. Frequentemente usa-se inseticidas para o seu controle, contudo, a resistência e a diminuição da eficácia química fizeram com que essa medida se tornasse pouco eficiente. Diante da complexidade do controle do percevejo marrom, o uso de materiais resistentes caracteriza-se como sendo uma estratégia de controle múltiplo. A presença de genes associados com a resistência não é garantia de manifestação fenotípica, visto que, a expressão de genes é regulada em diferentes níveis, e alterações da conformação proteica podem ocorrer, acarretando em uma possível função metabólica diferente daquela esperada. A compreensão da lacuna existente na associação entre genótipo e fenótipo pode ser elucidada por meio das ômicas, as quais possibilitam a compreensão de funções celulares, bem como proveem informações de biomoléculas de diferentes camadas, contribuindo para a compreensão da biologia complexa de forma sistemática e holística. A Metabolômica é capaz de proporcionar o acesso aos metabólitos, os quais são as moléculas responsáveis pela expressão fenotípica específica, por meio da modulação indireta da presença ou da quantidade no tecido. Essas moléculas atuam como sinalizadores fisiológicos de um organismo, e podem fornecer informações a serem utilizadas no monitoramento de mudanças específicas advindas da presença da praga. A Metabolômica é uma estratégia capaz de desvendar a bioquímica da interação soja e percevejo e de elucidar as modificações do perfil vegetal decorrentes da infestação. Ela possibilita o entendimento dos mecanismos celulares associados a resistência e a compreensão da interação entre moléculas e fisiologia da planta. Alinhado com o objetivo de contribuir na compreensão dessa engrenagem molecular e de explorar as informações provenientes da Metabolômica, diversos métodos de análise dos dados podem ser empregados. Métodos de análises univariadas e multivariadas são aplicados em combinação objetivando a extração de informações relevantes. Frequentemente as metodologias tradicionais não são capazes de lidarem com a complexidade dos metabólitos. Novas abordagens de análise se mostraram necessárias, como a incorporação de redes de co-abundância e métodos de aprendizado de máquina. Este trabalho está dividido em dois capítulos, os quais tiveram como objetivos: (1) identificar os metabólitos primários e secundários, variáveis ao longo do tempo e associados a resistência e suscetibilidade da soja ao percevejo marrom, por meio da abordagem de Metabolômica, utilizando o GC-MS e LC-MS; (2) analisar por meio de diferentes estratégias analíticas (univariadas, multivariadas e aprendizado de máquina) o perfil dos metabólitos de modo a verificar a capacidade dos compostos em diferenciarem amostras resistentes e suscetíveis; (3) extrair por metodologias de aprendizado de máquinas os metabólitos mais importantes na diferenciação das amostras resistentes e suscetíveis; (4) Integrar os metabólitos primários e secundários com QTLs associados com a resistência da soja ao percevejo marrom; (5) Construir redes de co-abundância entre metabólitos a fim de caracterizar os perfis de interação metabólica dos genótipos resistente e suscetíveis.

Palavras-chave: Metabolômica, Pós-genômica, Resistência genética, Fisiologia Vegetal.

ABSTRACT

**Metabolomic profile associated with soybean resistance infested by *Euschistus heros*:
cataloging chemical structures in search of biological histories**

The brown stink bug *Euschistus heros* is the main pest of soybeans. Insecticides are often used for their control, however, resistance and decreased chemical efficacy have made this measure inefficient. Given the complexity of brown stink bug control, the use of resistant materials is characterized as a multiple control strategy. The presence of genes associated with resistance is not a guarantee of phenotypic manifestation, since gene expression is regulated at different levels, and changes in protein conformation can occur, leading to a possible metabolic function different from that expected. The understanding of the gap in the association between genotype and phenotype can be elucidated by omics, which enable the understanding of cellular functions, as well as provide information from biomolecules of different layers, understanding of complex biological in a systematic and holistic way. Metabolomics is able to provide access to metabolites, which are the molecules responsible for specific phenotypic expression, through indirect modulation of the presence or quantity in the tissue. These molecules act as physiological signals of an organism, and can provide information to be used in monitoring specific changes arising from the presence of the pest. Metabolomics is a strategy capable of unraveling the biochemistry of soybean and stink bug interaction and elucidate the changes in plant profile resulting from infestation. It enables the understanding of the cellular mechanisms associated with resistance and understanding of the interaction between molecules and plant physiology. In line with the objective of contributing to the understanding of this molecular gear and exploring the information from Metabolomics, several methods of data analysis can be employed. Univariate and multivariate analysis methods are applied in combination aiming at the extraction of relevant information. Often traditional methodologies are not able to deal with the complexity of metabolites. New approaches to analysis were necessary, such as the incorporation of abundance networks and machine learning methods. This work is divided into two chapters, which had as objectives: (1) to identify the primary and secondary metabolites in time course experiments, associated with the resistance and susceptibility of soybean to brown stink bug, through the approach of Metabolomics, using the GC-MS and LC-MS; (2) analyze through different analytical strategies (univariate, multivariate and machine learning) the profile of the metabolites in order to verify the ability of the compounds to differentiate resistant and susceptible samples; (3) To extract by machine learning methodologies the most important metabolites in the differentiation of samples; (4) To integrate the primary and secondary metabolites with QTLs associated with soybean resistance to brown stink bug; (5) Build co-abundance metabolites networks in order to characterize the metabolic interaction profiles of resistant and susceptible genotypes over time.

Keywords: Metabolomics, Post-genomics, Genetic resistance, Plant Physiology.

INTRODUÇÃO

A soja [*Glycine max* (L.) Merrill] é uma das espécies vegetais de maior importância no mercado mundial, tendo expressivo destaque na economia brasileira, principalmente no quesito importação e exportação de grãos. Segundo a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB), a safra 2021/2022 foi estimada em 124,268 milhões de toneladas, o que representa 10,1% a menos em relação à última safra (CONAB- COMPANHIA NACIONAL DO ABASTECIMENTO, 2022).

A importância da soja deve-se à sua capacidade de quando triturada produzir farelo e óleo. O grão é composto em média por 17 a 22% de óleo, podendo atingir 28%, e de 37 a 42% de proteína, podendo em alguns casos alcançar até 52%, o que a torna uma das principais fontes de proteínas vegetais (SEDIYAMA; OLIVEIRA; SEDIYAMA, 2016).

Apesar da redução da produção de soja na última safra, a série histórica de produtividade revela o comportamento crescente dessa leguminosa. Nos últimos 35 anos, enquanto a área cresceu 248%, a produção aumentou 506% e o Brasil atingiu marcas de produtividade acima de 3000 kg/ha (CONAB- COMPANHIA NACIONAL DO ABASTECIMENTO, 2022).

As altas estimativas de produtividade da soja advêm principalmente da disponibilidade de variedades adaptadas aos diversos ambientes de produção, as quais são frutos do processo contínuo de melhoramento genético, visto que a soja é uma espécie exótica para o Brasil (ALMEIDA et al., 1999).

Por se tratar de uma planta originária da China, a soja foi exposta a diversos ciclos de seleção em programas de melhoramento genético para torná-la mais adaptada às regiões brasileiras. Esses mecanismos incluíram melhorias em resposta às exigências fotoperiódicas, resistência a pragas e doenças, bem como a fatores abióticos, como temperatura, diversidades pluviométricas e sistemas de manejos variados (BACAXIXI et al., 2011). A expansão da produtividade da soja depara-se ainda com muitos desafios. A incidência de pragas e doenças continua sendo um dos principais fatores que desafiam a consolidação da agricultura e de altas produtividades.

Os insetos sugadores caracterizam-se como um dos principais insetos-pragas que prejudicam a exploração desse potencial. O percevejo marrom *Euschistus heros* é a principal espécie praga desse grupo, pois apresenta ampla distribuição de ocorrência, alta resistência aos inseticidas (KRINSKI et al., 2013), capacidade migratória a curtas distâncias, elevado potencial reprodutivo e de sobrevivência (GRIGOLLI, 2016), ocorrendo desde a fase vegetativa até a maturação do grão (ZAMBIAZZI et al., 2012).

Os insetos adultos e as ninfas são capazes de causarem danos durante o período de enchimento de grãos (R5 e R6) e na maturação (R7), pois inserem o estilete nas sementes, danificam os tecidos e liberando secreções com a presença de enzimas digestivas que irão facilitar sua alimentação (DEPIERI; PANIZZI, 2011). A introdução do estilete nas sementes acarreta a destruição de algumas células e o consumo de fluídos vegetais durante um longo tempo (PANIZZI, 2007).

Os prejuízos causados à soja relacionam-se com danos às sementes, tornando-as chochas, enrugadas e afetando conseqüentemente a produção e a qualidade de grãos. A praga pode ainda favorecer a entrada de patógenos através da lesão causada à vagem e ocasionar distúrbios fisiológicos, como a retenção foliar (CORRÊA-FERREIRA e AZEVEDO, 2002).

O controle e a mitigação dos danos causados pelos percevejos, entre eles o marrom, recorrem, frequentemente ao uso de inseticidas. Contudo, a resistência aos inseticidas e a diminuição de sua eficácia em

populações suscetíveis fez com que o uso dessa medida se tornasse pouco eficiente no controle dos percevejos (CORRÊA-FERREIRA et al., 2009).

As estimativas de danos relatam perdas de 18 a 30% de produtividade (DE FREITAS BUENO et al., 2015), porém, em muitos casos, quando não controlados, os prejuízos podem chegar a até 40% da produção (CUSTÓDIO, 2017). Ademais, podem ocorrer também redução de até 50% na qualidade fisiológica da semente (DEGRANDE; VIVIAN, 2007).

Diante da complexidade entre o controle do percevejo marrom, a redução de custos e a proteção ambiental, o uso de materiais genéticos resistentes caracteriza-se como uma estratégia de controle múltiplo, uma vez que reduz as possibilidades de resistência da praga aos inseticidas, bem como minimiza os efeitos prejudiciais ao ambiente.

A resistência genética da soja ao percevejo é um caráter de natureza quantitativa, isto é, o fenótipo mensurável depende do efeito cumulativo de muitos genes e do ambiente (GODOI; PINHEIRO, 2009). A compreensão do mecanismo da resistência genética pauta-se no uso de marcadores moleculares genômicos e nos estudos de mapeamento de associação genômica, que visam a análise da engrenagem de resistência da soja, por meio da identificação de locos relacionados com a defesa aos herbívoros, bem como selecionar marcadores para o desenvolvimento de cultivares de soja resistentes (GHIONE et al., 2021).

Contudo, a presença de genes associados com a resistência não é garantia de manifestação fenotípica desse mecanismo, visto que a expressão de genes é regulada em diferentes níveis e alterações da conformação proteica podem ocorrer, acarretando uma possível função metabólica diferente daquela esperada (CHEN e HARMON, 2006). Assim, faz-se necessária a compreensão da lacuna existente na associação entre genótipo e fenótipo faz-se necessária (SUBRAMANIAN et al., 2020).

Essa lacuna pode ser elucidada por meio das estratégias das ômicas, as quais possibilitam a compreensão de funções celulares, bem como proveem informações de biomoléculas de diferentes camadas, contribuindo para a compreensão da biologia complexa de forma sistemática e holística (YAN et al., 2017).

Dentre os diferentes níveis de ômicas, a Metabolômica é capaz de proporcionar o acesso aos metabólitos, os quais são as moléculas responsáveis pela expressão fenotípica específica, por meio da modulação indireta da presença ou da quantidade de metabólitos no tecido (DIOLA; DALOSO; ANTUNES, 2013). Essas moléculas atuam como sinalizadores do status fisiológico de um organismo, podendo, portanto, gerar informações a serem utilizadas no monitoramento de mudanças específicas advindas da presença do inseto praga (FIEHN, 2002).

A lesão provocada pelo percevejo compreende um mecanismo conjunto de fatores morfológicos, mudanças metabólicas e indução de genes (LÉON et al., 2001). Essas alterações químicas e fisiológicas referem-se a variações no perfil químico da planta, na produção de metabólitos primários e secundários (HEATH, 2000), afetando voláteis orgânicos e não orgânicos e os nutrientes da planta (DICKE e BALDWIN, 2010).

A totalidade dessa engrenagem molecular de resposta vegetal aos danos causados pelos percevejos ainda não é bem definida. A Metabolômica surge como uma nova estratégia capaz de desvendar a bioquímica da interação soja e percevejo e de elucidar as modificações do perfil vegetal decorrentes do ataque do inseto.

Assim, por meio da Metabolômica nasce a possibilidade do entendimento dos mecanismos celulares associados a resistência a pragas, além da compreensão da interação entre moléculas e fisiologia da planta (CHAUDHARY et al., 2015; BERSANELLI et al., 2016; SUBRAMANIAN et al., 2020).

A camada de informação proveniente das análises de Metabolômica representam uma robusta ferramenta favorável ao Melhoramento Genético, por meio de inferências sobre os mecanismos moleculares, estruturas genômicas, interação de moléculas e respostas fisiológicas da planta decorrentes de fatores bióticos, tal como o ataque

de pragas. Essas informações ao serem integradas aos programas melhoramento genético atuarão como direcionadores na obtenção de fenótipos de interesse, ou seja, cultivares de soja resistentes ao percevejo.

Alinhado com o objetivo de contribuir na compreensão dessa engrenagem molecular e de explorar as informações provenientes da Metabolômica, diversos métodos de análise dos dados podem ser empregados. Sabe-se que uma das principais características dos dados advindos desta ômica é a sua natureza complexa, pois além das dificuldades de mensuração, as relações entre os metabólitos acontecem de maneira não linear (LIEBAL et al., 2020).

Tradicionalmente, vários métodos de análises univariadas e multivariadas são aplicados em combinação objetivando a extração de informações relevantes dos estudos de Metabolômica (ROSATI et al.2018; ZHU et al.2018; RANJAN et al.2019). Contudo, frequentemente, as metodologias tradicionais não são capazes de lidar com a complexidade dos metabólitos.

Diante da problemática proveniente da complexidade encontrada em dados advindos de experimentos de Metabolômica, novas abordagens de análise se mostraram necessárias nos últimos anos como a incorporação de redes de co-abundância e métodos de aprendizado de máquina (*Machine Learning - ML*) (LIEBAL et al., 2020; RHA et al., 2021), a fim de complementar as técnicas de estatística tradicionais já incorporadas em tais experimentos.

Haja vista sua capacidade de automaticamente capturar relações não lineares em dados complexos e a sua habilidade de processar rapidamente conjuntos volumosos e heterogêneos (LIEBAL et al., 2020), o aprendizado de máquina vem tornando-se popular em análises de diferentes ômicas e sua integração.

Este estudo ilustra a aplicação da Metabolômica na compreensão do perfil metabólico e dos mecanismos de resistência em duas variedades de soja submetidas a infestação pelo percevejo *Euschistus heros*. Para essa finalidade, foram utilizadas abordagens univariadas, multivariadas e de aprendizado de máquina, a fim de se caracterizar os perfis metabólicos por abordagens diferentes e complementares. Estas informações visam contribuir com os programas de melhoramento genético na caracterização de linhagens de soja resistentes ou suscetíveis ao percevejo marrom.

Este trabalho teve como objetivos: (1) identificar os metabólitos primários e secundários, variáveis ao longo do tempo e associados a resistência e suscetibilidade da soja ao percevejo marrom, por meio da abordagem de Metabolômica, utilizando o GC-MS e LC-MS; (2) analisar, por meio de diferentes estratégias analíticas (univariadas, multivariadas e aprendizado de máquina) o perfil dos metabólitos de modo a verificar a capacidade dos compostos em diferenciarem amostras resistentes e suscetíveis; (3) extrair por metodologias de aprendizado de máquinas os metabólitos mais importantes na diferenciação das amostras resistentes e suscetíveis; (4) Integrar os metabólitos primários e secundários com QTLs associados com a resistência da soja ao percevejo marrom; (5) Construir redes de co-abundância entre metabólitos a fim de caracterizar os perfis de interação metabólica dos genótipos resistente e suscetíveis ao longo do tempo.

REFERÊNCIAS

- ABDELRAHMAN, M.; BURRITT, D. J.; TRAN, L. S. P. The use of metabolomic quantitative trait locus mapping and osmotic adjustment traits for the improvement of crop yields under environmental stresses. **Seminars in Cell and Developmental Biology**, v. 83, p. 86–94, 2018.
- AKBAR, W. et al. Feeding by sugarcane aphid, *Melanaphis sacchari*, on sugarcane cultivars with differential susceptibility and potential mechanism of resistance. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 150, n. 1, p. 32–44, 2014.
- ALIFERIS, K. A.; FAUBERT, D.; JABAJI, S. A Metabolic Profiling Strategy for the Dissection of Plant Defense against Fungal Pathogens. **PLoS ONE**, v. 9, n. 11, 2014.
- ALMEIDA, L. A. DE et al. Melhoramento da soja para regiões de baixas latitudes. **Recursos Genéticos e Melhoramento de Plantas para o Nordeste Brasileiro**, p. 15, 1999.
- ANALYSIS, T. N. Package ‘igraph’ R topics documented : 2022.
- ARRUDA, P.; BARRETO, P. Lysine Catabolism Through the Saccharopine Pathway: Enzymes and Intermediates Involved in Plant Responses to Abiotic and Biotic Stress. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, n. May, p. 1–10, 2020.
- BACAXIXI, P. et al. A soja e seu desenvolvimento no melhoramento genético. **Revista Científica Eletrônica de Agronomia**, v. 10, n. 20, p. 1–6, 2011.
- BACHLAVA, E. et al. Mapping and comparison of quantitative trait loci for oleic acid seed content in two segregating soybean populations. **Crop Science**, v. 49, n. 2, p. 433–442, 2009.
- BARABÁSI, A. L.; OLTVAI, Z. N. Network biology: Understanding the cell’s functional organization. **Nature Reviews Genetics**, v. 5, n. 2, p. 101–113, 2004.
- BIJLSMA, S. et al. Large-scale human metabolomics studies: A strategy for data (pre-) processing and validation. **Analytical Chemistry**, v. 78, n. 2, p. 567–574, 2006.
- BUENO, A. DE F. et al. Effects of integrated pest management, biological control and prophylactic use of insecticides on the management and sustainability of soybean. **Crop Protection**, v. 30, n. 7, p. 937–945, 2011.
- BUNSUPA, S. et al. Lysine decarboxylase catalyzes the first step of quinolizidine alkaloid biosynthesis and coevolved with alkaloid production in leguminosae. **Plant Cell**, v. 24, n. 3, p. 1202–1216, 2012.
- CASTRILLO, G. et al. Root microbiota drive direct integration of phosphate stress and immunity. **Nature**, v. 543, n. 7646, p. 513–518, 2017.
- CHEN, S.; HARMON, A. C. Advances in plant proteomics. **Proteomics**, v. 6, n. 20, p. 5504–5516, 2006.
- CHEN, Y. et al. High-Throughput Screening of a 2-Keto-L-Gulonic Acid-Producing *Gluconobacter oxydans* Strain Based on Related Dehydrogenases. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 7, n. December, p. 1–9, 2019.
- CHENG, L. et al. Genetic analysis and QTL detection of reproductive period and post-flowering photoperiod responses in soybean. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 123, n. 3, p. 421–429, 2011.
- CHONG, J.; WISHART, D. S.; XIA, J. Using MetaboAnalyst 4.0 for Comprehensive and Integrative Metabolomics Data Analysis. **Current Protocols in Bioinformatics**, v. 68, n. 1, p. 1–128, 2019.
- CIVELEK, M.; LUSIS, A. J. Systems genetics approaches to understand complex traits. **Nature Reviews Genetics**, v. 15, n. 1, p. 34–48, 2014.

- CONAB- COMPANHIA NACIONAL DO ABASTECIMENTO. Acompanhamento da Safra Brasileira. **Boletim da Safra 2021**, v. 9, n. Terceiro levantamento, p. 60, 2022.
- CONSTANTINO, N. et al. Soybean Cyst Nematodes Influence Aboveground Plant Volatile Signals Prior to Symptom Development. **Frontiers in Plant Science**, v. 12, n. September, 2021.
- CORPORATION, W. MassLynx 4.1: Getting Started Guide. **ReVision**, p. 94, 2005.
- CORRÊA-FERREIRA, B. S. Suscetibilidade da soja a percevejos na fase anterior ao desenvolvimento das vagens. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 11, p. 1067–1072, 2005.
- COVER, T. M.; HART, P. E. Nearest Neighbor Pattern Classification. **IEEE Transactions on Information Theory**, v. 13, n. 1, p. 21–27, 1967.
- DAS, A.; RUSHTON, P.; ROHILA, J. Metabolomic Profiling of Soybeans (*Glycine max* L.) Reveals the Importance of Sugar and Nitrogen Metabolism under Drought and Heat Stress. **Plants**, v. 6, n. 4, p. 21, 25 maio 2017.
- DE FREITAS BUENO, A. et al. Assessment of a more conservative stink bug economic threshold for managing stink bugs in Brazilian soybean production. **Crop Protection**, v. 71, p. 132–137, 2015.
- DEGENKOLBE, T. et al. Identification of Drought Tolerance Markers in a Diverse Population of Rice Cultivars by Expression and Metabolite Profiling. **PLoS ONE**, v. 8, n. 5, 2013.
- DEMBÉLÉ, D.; KASTNER, P. Fold change rank ordering statistics: A new method for detecting differentially expressed genes. **BMC Bioinformatics**, v. 17, n. 1, 2014.
- DEPIERI, R. A.; PANIZZI, A. R. Duration of feeding and superficial and in-depth damage to soybean seed by selected species of stink bugs (heteroptera: pentatomidae). **Neotropical Entomology**, v. 40, n. 2, p. 197–203, 2011.
- DUDAREVA, N. et al. Biosynthesis, function and metabolic engineering of plant volatile organic compounds. **New Phytologist**, v. 198, n. 1, p. 16–32, 2013.
- ECCO, M. et al. Stink bug control at different stages of soybean development. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 87, p. 1–7, 2020.
- FEHR, W. R.; CAVINESS, C. E. Stages of Soybean Development. **Special report**, v. 80, n. March, p. 11, 1977.
- FERNANDEZ, O. et al. Fortune telling: metabolic markers of plant performance. **Metabolomics**, v. 12, n. 10, 2016.
- FERNIE, A. R.; SCHAUER, N. Metabolomics-assisted breeding: a viable option for crop improvement? **Trends in Genetics**, v. 25, n. 1, p. 39–48, 2009.
- FERNIE, A. R.; STITT, M. On the discordance of metabolomics with proteomics and transcriptomics: Coping with increasing complexity in logic, chemistry, and network interactions. **Plant Physiology**, v. 158, n. 3, p. 1139–1145, 2012.
- FIAZ, S. et al. Applications of the CRISPR/Cas9 system for rice grain quality improvement: Perspectives and opportunities. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 4, p. 1–18, 2019.
- FIEHN, O. **Metabolomics-the link between genotypes and phenotypes** *Plant Molecular Biology*. [s.l.: s.n.].
- FREUND, Y.; SCHAPIRE, R. E. A Decision-Theoretic Generalization of On-Line Learning and an Application to Boosting. **Journal of Computer and System Sciences**, v. 55, n. 1, p. 119–139, 1997.
- GAO, L. et al. **Characterization of a group of pyrroloquinoline quinone-dependent dehydrogenases that are involved in the conversion of L-sorbose to 2-Keto-L-gulonic acid in *Ketogulonigenium vulgare* WSH-001** *Biotechnology Progress*, 2013.
- GHIONE, C. E. et al. Association mapping to identify molecular markers associated with resistance genes to stink bugs in soybean. **Euphytica**, v. 217, n. 3, p. 1–12, 2021.

- GODOI, C. R. C. DE; PINHEIRO, J. B. Genetic parameters and selection strategies for soybean genotypes resistant to the stink bug-complex. **Genetics and Molecular Biology**, v. 32, n. 2, p. 328–336, 2009.
- GOMEZ, J. D. et al. Broad range flavonoid profiling by LC/MS of soybean genotypes contrasting for resistance to *Anticarsia gemmatilis* (Lepidoptera: Noctuidae). **PLoS ONE**, v. 13, n. 10, 2018.
- GONZALES, G. B.; DE SAEGER, S. Elastic net regularized regression for time-series analysis of plasma metabolome stability under sub-optimal freezing condition. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1–11, 2018.
- HAMMERBACHER, A.; COUTINHO, T. A.; GERSHENZON, J. Roles of plant volatiles in defence against microbial pathogens and microbial exploitation of volatiles. **Plant, Cell & Environment**, v. 42, n. 10, p. 2827–2843, 26 out. 2019.
- HAN, Y. et al. Unconditional and conditional QTL underlying the genetic interrelationships between soybean seed isoflavone, and protein or oil contents. **Plant Breeding**, v. 134, n. 3, p. 300–309, 2015.
- HE, Y.; LI, Z. Epigenetic Environmental Memories in Plants: Establishment, Maintenance, and Reprogramming. **Trends in Genetics**, v. 34, n. 11, p. 856–866, 2018.
- HEUBERGER, A. L. et al. Application of nontargeted metabolite profiling to discover novel markers of quality traits in an advanced population of malting barley. **Plant Biotechnology Journal**, v. 12, n. 2, p. 147–160, fev. 2014.
- HOFFMAN, D. E. et al. Changes in diurnal patterns within the *Populus* transcriptome and metabolome in response to photoperiod variation. **Plant, Cell and Environment**, v. 33, n. 8, p. 1298–1313, 2010.
- HONG, J. et al. Plant metabolomics: An indispensable system biology tool for plant science. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, n. 6, 2016.
- HRYZDIUSZKO, O.; VIANI, M. R. Missing values in mass spectrometry based metabolomics: An undervalued step in the data processing pipeline. **Metabolomics**, v. 8, p. 161–174, 2012.
- JEANDET, P. et al. The Role of Sugars in Plant Responses to Stress and Their Regulatory Function during Development. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 9, 2022.
- JON M. KLEINBERG. Authoritative Sources in a Hyperlinked Environmet. **Gene**, v. 386, n. 1–2, p. 1–10, 9 ago. 1998.
- KOPRIVA, S.; MALAGOLI, M.; TAKAHASHI, H. Sulfur nutrition: Impacts on plant development, metabolism, and stress responses. **Journal of Experimental Botany**, v. 70, n. 16, p. 4069–4073, 2019.
- KUMAR, R. et al. Metabolomics for plant improvement: Status and prospects. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, n. August, p. 1–27, 2017.
- LIEBAL, U. W. et al. Machine learning applications for mass spectrometry-based metabolomics. **Metabolites**, v. 10, n. 6, p. 1–23, 2020.
- MA, C. et al. Overexpression of S-adenosyl-L-methionine synthetase 2 from sugar beet M14 increased arabidopsis tolerance to salt and oxidative stress. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 4, p. 1–16, 2017.
- MARIUS-CONSTANTIN, P. et al. Multilayer perceptron and neural networks. **WSEAS Transactions on Circuits and Systems**, v. 8, n. 7, p. 579–588, 2009.
- MEYER, A. P. E. et al. Package ‘minet’. 2022.
- MORKUNAS, I.; RATAJCZAK, L. The role of sugar signaling in plant defense responses against fungal pathogens. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 36, n. 7, p. 1607–1619, 2014.
- MURAKAMI, S. et al. Insect-Induced Daidzein, Formononetin and Their Conjugates in Soybean Leaves. **Metabolites**, v. 4, n. 3, p. 532–546, 2014.

- NUNES-NESE, A. et al. Identification and characterization of metabolite quantitative trait loci in tomato leaves and comparison with those reported for fruits and seeds. **Metabolomics**, v. 15, n. 4, p. 1–13, 2019.
- OKAZAKI, Y. et al. A chloroplastic UDP-Glucose pyrophosphorylase from Arabidopsis is the committed enzyme for the first step of sulfolipid biosynthesis. **Plant Cell**, v. 21, n. 3, p. 892–909, 2009.
- OKI, N. et al. Genetic analysis of antixenosis resistance to the common cutworm (*Spodoptera litura* Fabricius) and its relationship with pubescence characteristics in soybean (*Glycine max* (L.) Merr.). **Breeding Science**, v. 61, n. 5, p. 608–617, 2012.
- ORAZALY, M. et al. Identification and confirmation of quantitative trait loci associated with soybean seed hardness. **Crop Science**, v. 55, n. 2, p. 688–694, 2015.
- PACIOLLA, C. et al. **Vitamin C in plants: From functions to biofortification** **Antioxidants**, 2019.
- PANG, Z. et al. MetaboAnalyst 5.0: Narrowing the gap between raw spectra and functional insights. **Nucleic Acids Research**, v. 49, n. W1, p. W388–W396, 2021.
- PANIZZI, R.; BUENO, A. D. F.; LUCINI, T. Evaluating resistance of the soybean block technology cultivars to the Neotropical brown stink bug, *Euschistus heros* (F.). v. 131, n. November 2020, 2021.
- PATTI, G. J.; YANES, O.; SIUZDAK, G. **Innovation: Metabolomics: the apogee of the omics trilogy** **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, 2012.
- PAVET, V. et al. Ascorbic Acid Deficiency Activates Cell Death and Disease Resistance Responses in Arabidopsis. **Plant Physiology**, v. 139, n. 3, p. 1291–1303, 1 nov. 2005.
- PICARD, M. et al. Integration strategies of multi-omics data for machine learning analysis. **Computational and Structural Biotechnology Journal**, v. 19, p. 3735–3746, 2021.
- PIETERSE, C. M. J. et al. Hormonal modulation of plant immunity. **Annual Review of Cell and Developmental Biology**, v. 28, p. 489–521, 2012.
- PRATELLI, R.; PILOT, G. Regulation of amino acid metabolic enzymes and transporters in plants. **Journal of Experimental Botany**, v. 65, n. 19, p. 5535–5556, 2014.
- QUINLAN, J. R. Induction of decision trees. **Machine Learning**, v. 1, n. 1, p. 81–106, 1986.
- RAZA, A. et al. Impact of climate change on crops adaptation and strategies to tackle its outcome: A review. **Plants**, v. 8, n. 2, 2019.
- RAZA, A. Eco-physiological and Biochemical Responses of Rapeseed (*Brassica napus* L.) to Abiotic Stresses: Consequences and Mitigation Strategies. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 40, n. 4, p. 1368–1388, 2021.
- RHA, C.-S. et al. Supervised Statistical Learning Prediction of Soybean Varieties and Cultivation Sites Using Rapid UPLC-MS Separation, Method Validation, and Targeted Metabolomic Analysis of 31 Phenolic Compounds in the Leaves. **Metabolites**, v. 11, n. 12, p. 884, 17 dez. 2021.
- ROLIM, L. A. et al. **Enhanced Reader.pdf** **Nature**, 2020.
- ROLLAND, F.; BAENA-GONZALEZ, E.; SHEEN, J. **Sugar sensing and signaling in plants: Conserved and novel mechanisms** **Annual Review of Plant Biology**, 2006.
- ROSATI, R. G. et al. Primary metabolism changes triggered in soybean leaves by *Fusarium tucumaniae* infection. **Plant Science**, v. 274, n. May, p. 91–100, 2018.
- SAEED, F. et al. Moving Beyond DNA Sequence to Improve Plant Stress Responses. **Frontiers in Genetics**, v. 13, n. April, p. 1–15, 2022.
- SAUTER, M. et al. Methionine salvage and S-adenosylmethionine: essential links between sulfur, ethylene and polyamine biosynthesis. **Biochemical Journal**, v. 451, n. 2, p. 145–154, 15 abr. 2013.

- SAUVAGE, C. et al. Genome-wide association in tomato reveals 44 candidate loci for fruit metabolic traits. **Plant Physiology**, v. 165, n. 3, p. 1120–1132, 2014.
- SCHIEZARO, M.; PEDRINI, H. Data feature selection based on Artificial Bee Colony algorithm. **EURASIP Journal on Image and Video Processing**, v. 2013, n. 1, p. 1–8, 2013.
- SCHLUETER, J. A. et al. The FAD2 gene family of soybean: Insights into the structural and functional divergence of a paleopolyploid genome. **Crop Science**, v. 47, n. SUPPL. 1, 2007.
- SILVA, E. et al. Soybean Metabolomics Based in Mass Spectrometry: Decoding the Plant's Signaling and Defense Responses under Biotic Stress. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 69, n. 26, p. 7257–7267, 2021.
- SMILDE, A. K. et al. ANOVA-simultaneous component analysis (ASCA): a new tool for analyzing designed metabolomics data. **Bioinformatics**, v. 21, n. 13, p. 3043–3048, 1 jul. 2005.
- SMITH, C. M.; CLEMENT, S. L. Molecular bases of plant resistance to arthropods. **Annual Review of Entomology**, v. 57, n. December, p. 309–328, 2012.
- SONG, S. et al. Soybean seeds expressing feedback-insensitive cystathionine γ -synthase exhibit a higher content of methionine. **Journal of Experimental Botany**, v. 64, n. 7, p. 1917–1926, 2013.
- STASOLLA, C. et al. Purine and pyrimidine nucleotide metabolism in higher plants. **Journal of Plant Physiology**, v. 160, n. 11, p. 1271–1295, 2003.
- STEKHOVEN, D. J.; BÜHLMANN, P. Missforest-Non-parametric missing value imputation for mixed-type data. **Bioinformatics**, v. 28, n. 1, p. 112–118, 2012.
- SUBRAMANIAN, I. et al. Multi-omics Data Integration, Interpretation, and Its Application. **Bioinformatics and Biology Insights**, v. 14, p. 117793221989905, 31 jan. 2020.
- SUNDARAMOORTHY, J. et al. Molecular elucidation of a new allelic variation at the Sg-5 gene associated with the absence of group A saponins in wild soybean. **PLoS ONE**, v. 13, n. 1, p. 1–17, 2018.
- TAI, Y. C.; SPEED, T. P. A multivariate empirical Bayes statistic for replicated microarray time course data. **Annals of Statistics**, v. 34, n. 5, p. 2387–2412, 2006.
- TAKADA, Y. et al. Genetic and chemical analysis of a key biosynthetic step for soyasapogenol A, an aglycone of group A saponins that influence soymilk flavor. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 126, n. 3, p. 721–731, 2013.
- TROUVELOT, S. et al. Carbohydrates in plant immunity and plant protection: Roles and potential application as foliar sprays. **Frontiers in Plant Science**, v. 5, n. November, p. 1–14, 2014.
- TROYANSKAYA, O. et al. Missing value estimation methods for DNA microarrays. **Bioinformatics**, v. 17, n. 6, p. 520–525, 2001.
- UCHIDA, T.; KUDOU, S. Components Responsible for the Undesirable Taste of Soybean Seeds. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 56, n. 1, p. 99–103, 1992.
- VAN LOON, L. C.; GERAATS, B. P. J.; LINTHORST, H. J. M. Ethylene as a modulator of disease resistance in plants. **Trends in Plant Science**, v. 11, n. 4, p. 184–191, 2006.
- VANWALLENDael, A. et al. A Molecular View of Plant Local Adaptation: Incorporating Stress-Response Networks. **Annual Review of Plant Biology**, v. 70, p. 559–583, 2019.
- VILLATE, A. et al. Review: Metabolomics as a prediction tool for plants performance under environmental stress. **Plant Science**, v. 303, n. December 2020, p. 110789, 2021.
- VIS, D. J. et al. Statistical validation of megavariate effects in ASCA. **BMC Bioinformatics**, v. 8, n. 1, p. 322, 30 ago. 2007.

- WALLER, T. C. et al. Compartment and hub definitions tune metabolic networks for metabolomic interpretations. **GigaScience**, v. 9, n. 1, p. 1–18, 2020.
- WANG, W. et al. New insights into the metabolism of aspartate-family amino acids in plant seeds. **Plant Reproduction**, v. 31, n. 3, p. 203–211, 2018.
- WAR, A. R. et al. Mechanisms of plant defense against insect herbivores. **Plant Signaling & Behavior**, v. 7, n. 10, p. 1306–1320, 31 out. 2012.
- WEN, W. et al. Genetic determinants of the network of primary metabolism and their relationships to plant performance in a maize recombinant inbred line population. **Plant Cell**, v. 27, n. 7, p. 1839–1856, 2015.
- WESTHUES, M. et al. Omics-based hybrid prediction in maize. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 130, n. 9, p. 1927–1939, 2017.
- WITTE, C. P.; HERDE, M. Nucleotide metabolism in plants. **Plant Physiology**, v. 182, n. 1, p. 63–78, 2020.
- YAN, J. et al. Network approaches to systems biology analysis of complex disease: Integrative methods for multi-omics data. **Briefings in Bioinformatics**, v. 19, n. 6, p. 1370–1381, 2017.
- YANG, Q. Q. et al. A connection between lysine and serotonin metabolism in rice endosperm. **Plant Physiology**, v. 176, n. 3, p. 1965–1980, 2018.
- YANG, Q.; ZHAO, D.; LIU, Q. Connections Between Amino Acid Metabolisms in Plants: Lysine as an Example. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, n. June, p. 1–8, 2020.
- ZEIER, J. New insights into the regulation of plant immunity by amino acid metabolic pathways. **Plant, Cell and Environment**, v. 36, n. 12, p. 2085–2103, 2013.
- ZHAO, J. et al. Complex networks theory for analyzing metabolic networks. **Chinese Science Bulletin**, v. 51, n. 13, p. 1529–1537, 2006.
- ZIVY, M. et al. The quest for tolerant varieties: The importance of integrating “omics” techniques to phenotyping. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, n. JULY, p. 1–11, 2015.

1. INTRODUÇÃO

O percevejo marrom *Euschistus heros* é a espécie de inseto sugador mais abundante nas lavouras de soja no Brasil (PANIZZI; BUENO; LUCINI, 2021). Tradicionalmente, o seu controle é realizado por inseticidas (MARQUES et al., 2019). Contudo, o uso indiscriminado deste defensivo acarretou a redução de agentes de controle biológico, aumento do custo de produção da soja, bem como na seleção de populações de percevejos resistentes aos principais ingredientes ativos utilizados e na contaminação ambiental (BUENO et al., 2011).

A utilização de medidas de controle que sejam sustentáveis e que integrem diferentes mecanismos de ação são necessárias. A exploração da resistência genética é um dos pilares do manejo integrado de pragas (MIP), que consiste no planejamento e união de diversos métodos preventivos e de controle, como cultural, biológico, genético, químico, mecânico e legislativo a fim de reduzir tanto os prejuízos econômicos quanto os ambientais, e manterem os níveis populacionais da praga abaixo dos níveis de danos econômicos (BUSOLI et al., 2012). Ao ser utilizada em conjunto com os inseticidas, mostra-se de grande valia (VENDRAMIM; LOURENÇÃO, 2019), pois é uma ferramenta de baixo custo, reduz os riscos de desenvolvimento de resistência aos defensivos, não contamina o meio ambiente e é compatível com qualquer outro método de controle (SMITH; CLEMENT, 2012).

A resistência genética pode ser caracterizada como: antixenose, antibiose e tolerância (PAINTER, 1951). Enquanto a antixenose fundamenta-se na não atratividade da planta ao inseto devido a fatores morfológicos ou químicos, a antibiose qualifica-se na planta que atua como hospedeira ou alimento. No entanto, afetará negativamente a biologia dos insetos, por meio da produção de toxinas e inibidores de crescimento (BALDIN; VENDRAMIM; LOURENÇÃO, 2019). Por sua vez, a tolerância configura-se como a capacidade que a planta possui em sofrer menor índice de danos, suportar ou recuperar-se de injúrias, em comparação com outras plantas em mesmo nível de infestação, sem afetar a biologia do inseto (SILVA et al., 2013).

Os diferentes tipos de resistência genética que estão associadas com os mecanismos de defesa vegetal podem ser elucidados pela compreensão da bioquímica da interação planta e praga. No entanto, a totalidade desses sistemas moleculares ainda não é definido e novas estratégias se mostram necessárias.

A compreensão do sistema de defesa das plantas é uma das ferramentas que podem auxiliar os programas de melhoramento genético, visto que o diagnóstico da performance dos genótipos baseia-se principalmente nas avaliações de campo e no uso de ferramentas de fenotipagem, como drones, sensores e marcadores moleculares. Porém, a compreensão da expressão do fenótipo ao nível molecular é crescente, uma vez que a presença do gene não garante a expressão fenotípica, pois ela é regulada em diferentes níveis e uma possível função metabólica diferente da esperada pode ocorrer (CHEN; HARMON, 2006).

Contemporaneamente, a Metabolômica vem se mostrando um importante recurso de diagnose de performance. Ela compreende o estudo dos metabólitos, sendo capaz de prover informações sobre fenótipos químicos em um dado ambiente (VILLATE et al., 2021), preencher a lacuna entre genótipo e fenótipo (HONG et al., 2016), além da capacidade de identificar marcadores metabólitos, os quais são complementares e podem ainda substituir os marcadores moleculares tradicionais (FERNANDEZ et al., 2016).

O metaboloma, conjunto de todos os metabólitos em um dado sistema biológico, não é somente o último produto do genoma, mas também o fingerprint de diversos fatores de estresse que ocorrem tanto internamente quanto externamente a planta. Ele é capaz de explicar a interação entre o sistema biológico e o ambiente, bem como as perturbações ocorridas (KUMAR et al., 2017).

A caracterização dos metabólitos é especialmente importante nos cenários onde diversos fatores de estresse ambiental incidem (VILLATE et al., 2021). A Metabolômica tem um potencial promissor para identificar características que estão associadas com fenótipos de interesse, facilitar a seleção de materiais superiores (ZIVY et al., 2015), bem como identificar marcadores que possam ser usados em condições de estresse ambiental a fim de se prever a adaptabilidade de genótipos (VILLATE et al., 2021). A disponibilidade de sequenciamento genômico, identificação de variações genéticas e a redução dos custos associados possibilitam a integração da Metabolômica nos programas de melhoramento genético (FERNIE; SCHAUER, 2009).

Os ensaios de Metabolômica geram um volume grande de dados. Por meio da espectrometria de massas (MS), extensas quantidades de dados são obtidas, os quais são comumente organizados em matrizes de abundância de metabólitos, por meio da relação massa e carga e tempo de retenção (HEUBERGER et al., 2014). Esses metabólitos apresentam relações complexas, pois além da dificuldade de mensuração, as associações entre eles acontecem de maneira não linear (LIEBAL et al., 2020). Dessa forma, métodos robustos de análises se fazem necessários para a extração de informações relevantes, incluindo metodologias univariadas e multivariadas (ROSATI et al., 2018).

Entretanto, muitas vezes as metodologias tradicionais não são suficientes para lidarem com a complexidade dos dados provenientes da espectrometria de massas. Assim, novas abordagens de análise se mostraram necessárias nos últimos anos, a exemplo da incorporação de redes de co-abundância e métodos de aprendizado de máquinas em pesquisas de Metabolômica, objetivando principalmente completar as técnicas de estatísticas tradicionais já incorporadas em tais experimentos, e consolidá-los da melhor forma possível (KUMAR et al., 2017).

O conjunto de dados de metabólitos apresenta alta dimensionalidade, ou seja, grande quantidade de atributos identificados. Assim, para tornar compreensível a informação proveniente de tantos compostos, a seleção de atributos é frequentemente utilizada. Ela consiste na determinação de um pequeno conjunto de atributos, os quais mantêm as informações mais relevantes, enquanto reduz a dimensionalidade do conjunto de dados (PICARD et al., 2021).

Este capítulo delinea o ensaio realizado em casa de vegetação objetivando a caracterização do perfil metabólico primário e secundário de duas variedades de soja contrastantes em relação a resposta ao percevejo. As variedades foram submetidas a infestações temporais pelo percevejo marrom. As amostras coletadas foram analisadas por GC-MS e LC-MS e os dados explorados por meio de abordagens univariadas, multivariadas e de aprendizado de máquina.

2. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A Metabolômica é uma ômica que oferece um universo de oportunidades e a sua aplicação para a compreensão dos mecanismos de sobrevivência e adaptação vegetal é crescente. A emergência de novas pragas, patógenos e estresses abióticos são combustíveis para a intensificação do seu uso. A compreensão das vias de sinalizações entre planta e fatores de estresse e como essas vias são moduladas, fornecem informações sobre mecanismos ainda não elucidados.

O sistema biológico é complexo. As poucas informações disponíveis acerca do assunto, e a falta de bancos de metabólitos específicos para organismos vegetais, são um dos principais gargalos da aplicação da Metabolômica. A identificação de analitos pelos diferentes métodos de cromatografia possibilita o reconhecimento de moléculas que estão agindo e interagindo no sistema em estudo. Contudo, a falta de catalogação e literatura destes metabólitos dificulta a aplicação da Metabolômica em questões práticas.

Com a implementação de ferramentas analíticas, surgimento de bancos de metabólitos específicos para a soja e a integração da Metabolômica com outras ômicas, a compreensão do metabolismo vegetal não somente favorecerá o entendimento das relações entre organismos, mas também será um aliado no desenvolvimento de genótipos de soja resistentes.

REFERÊNCIAS

- ABDELRAHMAN, M.; BURRITT, D. J.; TRAN, L. S. P. The use of metabolomic quantitative trait locus mapping and osmotic adjustment traits for the improvement of crop yields under environmental stresses. **Seminars in Cell and Developmental Biology**, v. 83, p. 86–94, 2018.
- AKBAR, W. et al. Feeding by sugarcane aphid, *Melanaphis sacchari*, on sugarcane cultivars with differential susceptibility and potential mechanism of resistance. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 150, n. 1, p. 32–44, 2014.
- ALIFERIS, K. A.; FAUBERT, D.; JABAJI, S. A Metabolic Profiling Strategy for the Dissection of Plant Defense against Fungal Pathogens. **PLoS ONE**, v. 9, n. 11, 2014.
- ALMEIDA, L. A. DE et al. Melhoramento da soja para regiões de baixas latitudes. **Recursos Genéticos e Melhoramento de Plantas para o Nordeste Brasileiro**, p. 15, 1999.
- ANALYSIS, T. N. Package ‘igraph’ R topics documented : 2022.
- ARRUDA, P.; BARRETO, P. Lysine Catabolism Through the Saccharopine Pathway: Enzymes and Intermediates Involved in Plant Responses to Abiotic and Biotic Stress. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, n. May, p. 1–10, 2020.
- BACAXIXI, P. et al. A soja e seu desenvolvimento no melhoramento genético. **Revista Científica Eletrônica de Agronomia**, v. 10, n. 20, p. 1–6, 2011.
- BACHLAVA, E. et al. Mapping and comparison of quantitative trait loci for oleic acid seed content in two segregating soybean populations. **Crop Science**, v. 49, n. 2, p. 433–442, 2009.
- BARABÁSI, A. L.; OLTVAI, Z. N. Network biology: Understanding the cell's functional organization. **Nature Reviews Genetics**, v. 5, n. 2, p. 101–113, 2004.
- BIJLSMA, S. et al. Large-scale human metabolomics studies: A strategy for data (pre-) processing and validation. **Analytical Chemistry**, v. 78, n. 2, p. 567–574, 2006.
- BUENO, A. DE F. et al. Effects of integrated pest management, biological control and prophylactic use of insecticides on the management and sustainability of soybean. **Crop Protection**, v. 30, n. 7, p. 937–945, 2011.
- BUNSUPA, S. et al. Lysine decarboxylase catalyzes the first step of quinolizidine alkaloid biosynthesis and coevolved with alkaloid production in leguminosae. **Plant Cell**, v. 24, n. 3, p. 1202–1216, 2012.
- CASTRILLO, G. et al. Root microbiota drive direct integration of phosphate stress and immunity. **Nature**, v. 543, n. 7646, p. 513–518, 2017.
- CHEN, S.; HARMON, A. C. Advances in plant proteomics. **Proteomics**, v. 6, n. 20, p. 5504–5516, 2006.
- CHEN, Y. et al. High-Throughput Screening of a 2-Keto-L-Gulonic Acid-Producing *Gluconobacter oxydans* Strain Based on Related Dehydrogenases. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 7, n. December, p. 1–9, 2019.
- CHENG, L. et al. Genetic analysis and QTL detection of reproductive period and post-flowering photoperiod responses in soybean. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 123, n. 3, p. 421–429, 2011.
- CHONG, J.; WISHART, D. S.; XIA, J. Using MetaboAnalyst 4.0 for Comprehensive and Integrative Metabolomics Data Analysis. **Current Protocols in Bioinformatics**, v. 68, n. 1, p. 1–128, 2019.
- CIVELEK, M.; LUSIS, A. J. Systems genetics approaches to understand complex traits. **Nature Reviews Genetics**, v. 15, n. 1, p. 34–48, 2014.

- CONAB- COMPANHIA NACIONAL DO ABASTECIMENTO. Acompanhamento da Safra Brasileira. **Boletim da Safra 2021**, v. 9, n. Terceiro levantamento, p. 60, 2022.
- CONSTANTINO, N. et al. Soybean Cyst Nematodes Influence Aboveground Plant Volatile Signals Prior to Symptom Development. **Frontiers in Plant Science**, v. 12, n. September, 2021.
- CORPORATION, W. MassLynx 4.1: Getting Started Guide. **ReVision**, p. 94, 2005.
- CORRÊA-FERREIRA, B. S. Suscetibilidade da soja a percevejos na fase anterior ao desenvolvimento das vagens. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 11, p. 1067–1072, 2005.
- COVER, T. M.; HART, P. E. Nearest Neighbor Pattern Classification. **IEEE Transactions on Information Theory**, v. 13, n. 1, p. 21–27, 1967.
- DAS, A.; RUSHTON, P.; ROHILA, J. Metabolomic Profiling of Soybeans (*Glycine max* L.) Reveals the Importance of Sugar and Nitrogen Metabolism under Drought and Heat Stress. **Plants**, v. 6, n. 4, p. 21, 25 maio 2017.
- DE FREITAS BUENO, A. et al. Assessment of a more conservative stink bug economic threshold for managing stink bugs in Brazilian soybean production. **Crop Protection**, v. 71, p. 132–137, 2015.
- DEGENKOLBE, T. et al. Identification of Drought Tolerance Markers in a Diverse Population of Rice Cultivars by Expression and Metabolite Profiling. **PLoS ONE**, v. 8, n. 5, 2013.
- DEMBÉLÉ, D.; KASTNER, P. Fold change rank ordering statistics: A new method for detecting differentially expressed genes. **BMC Bioinformatics**, v. 17, n. 1, 2014.
- DEPIERI, R. A.; PANIZZI, A. R. Duration of feeding and superficial and in-depth damage to soybean seed by selected species of stink bugs (heteroptera: pentatomidae). **Neotropical Entomology**, v. 40, n. 2, p. 197–203, 2011.
- DUDAREVA, N. et al. Biosynthesis, function and metabolic engineering of plant volatile organic compounds. **New Phytologist**, v. 198, n. 1, p. 16–32, 2013.
- ECCO, M. et al. Stink bug control at different stages of soybean development. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 87, p. 1–7, 2020.
- FEHR, W. R.; CAVINESS, C. E. Stages of Soybean Development. **Special report**, v. 80, n. March, p. 11, 1977.
- FERNANDEZ, O. et al. Fortune telling: metabolic markers of plant performance. **Metabolomics**, v. 12, n. 10, 2016.
- FERNIE, A. R.; SCHAUER, N. Metabolomics-assisted breeding: a viable option for crop improvement? **Trends in Genetics**, v. 25, n. 1, p. 39–48, 2009.
- FERNIE, A. R.; STITT, M. On the discordance of metabolomics with proteomics and transcriptomics: Coping with increasing complexity in logic, chemistry, and network interactions. **Plant Physiology**, v. 158, n. 3, p. 1139–1145, 2012.
- FIAZ, S. et al. Applications of the CRISPR/Cas9 system for rice grain quality improvement: Perspectives and opportunities. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 4, p. 1–18, 2019.
- FIEHN, O. **Metabolomics-the link between genotypes and phenotypes** *Plant Molecular Biology*. [s.l: s.n.].
- FREUND, Y.; SCHAPIRE, R. E. A Decision-Theoretic Generalization of On-Line Learning and an Application to Boosting. **Journal of Computer and System Sciences**, v. 55, n. 1, p. 119–139, 1997.
- GAO, L. et al. **Characterization of a group of pyrroloquinoline quinone-dependent dehydrogenases that are involved in the conversion of L-sorbose to 2-Keto-L-gulonic acid in *Ketogulonigenium vulgare* WSH-001** *Biotechnology Progress*, 2013.
- GHIONE, C. E. et al. Association mapping to identify molecular markers associated with resistance genes to stink bugs in soybean. **Euphytica**, v. 217, n. 3, p. 1–12, 2021.

- GODOI, C. R. C. DE; PINHEIRO, J. B. Genetic parameters and selection strategies for soybean genotypes resistant to the stink bug-complex. **Genetics and Molecular Biology**, v. 32, n. 2, p. 328–336, 2009.
- GOMEZ, J. D. et al. Broad range flavonoid profiling by LC/MS of soybean genotypes contrasting for resistance to *Anticarsia gemmatilis* (Lepidoptera: Noctuidae). **PLoS ONE**, v. 13, n. 10, 2018.
- GONZALES, G. B.; DE SAEGER, S. Elastic net regularized regression for time-series analysis of plasma metabolome stability under sub-optimal freezing condition. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1–11, 2018.
- HAMMERBACHER, A.; COUTINHO, T. A.; GERSHENZON, J. Roles of plant volatiles in defence against microbial pathogens and microbial exploitation of volatiles. **Plant, Cell & Environment**, v. 42, n. 10, p. 2827–2843, 26 out. 2019.
- HAN, Y. et al. Unconditional and conditional QTL underlying the genetic interrelationships between soybean seed isoflavone, and protein or oil contents. **Plant Breeding**, v. 134, n. 3, p. 300–309, 2015.
- HE, Y.; LI, Z. Epigenetic Environmental Memories in Plants: Establishment, Maintenance, and Reprogramming. **Trends in Genetics**, v. 34, n. 11, p. 856–866, 2018.
- HEUBERGER, A. L. et al. Application of nontargeted metabolite profiling to discover novel markers of quality traits in an advanced population of malting barley. **Plant Biotechnology Journal**, v. 12, n. 2, p. 147–160, fev. 2014.
- HOFFMAN, D. E. et al. Changes in diurnal patterns within the *Populus* transcriptome and metabolome in response to photoperiod variation. **Plant, Cell and Environment**, v. 33, n. 8, p. 1298–1313, 2010.
- HONG, J. et al. Plant metabolomics: An indispensable system biology tool for plant science. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, n. 6, 2016.
- HRYDZIUSZKO, O.; VIANT, M. R. Missing values in mass spectrometry based metabolomics: An undervalued step in the data processing pipeline. **Metabolomics**, v. 8, p. 161–174, 2012.
- JEANDET, P. et al. The Role of Sugars in Plant Responses to Stress and Their Regulatory Function during Development. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 9, 2022.
- JON M. KLEINBERG. Authoritative Sources in a Hyperlinked Environmet. **Gene**, v. 386, n. 1–2, p. 1–10, 9 ago. 1998.
- KOPRIVA, S.; MALAGOLI, M.; TAKAHASHI, H. Sulfur nutrition: Impacts on plant development, metabolism, and stress responses. **Journal of Experimental Botany**, v. 70, n. 16, p. 4069–4073, 2019.
- KUMAR, R. et al. Metabolomics for plant improvement: Status and prospects. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, n. August, p. 1–27, 2017.
- LIEBAL, U. W. et al. Machine learning applications for mass spectrometry-based metabolomics. **Metabolites**, v. 10, n. 6, p. 1–23, 2020.
- MA, C. et al. Overexpression of S-adenosyl-L-methionine synthetase 2 from sugar beet M14 increased arabidopsis tolerance to salt and oxidative stress. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 4, p. 1–16, 2017.
- MARIUS-CONSTANTIN, P. et al. Multilayer perceptron and neural networks. **WSEAS Transactions on Circuits and Systems**, v. 8, n. 7, p. 579–588, 2009.
- MEYER, A. P. E. et al. Package ‘minet’. 2022.
- MORKUNAS, I.; RATAJCZAK, L. The role of sugar signaling in plant defense responses against fungal pathogens. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 36, n. 7, p. 1607–1619, 2014.
- MURAKAMI, S. et al. Insect-Induced Daidzein, Formononetin and Their Conjugates in Soybean Leaves. **Metabolites**, v. 4, n. 3, p. 532–546, 2014.

- NUNES-NESE, A. et al. Identification and characterization of metabolite quantitative trait loci in tomato leaves and comparison with those reported for fruits and seeds. **Metabolomics**, v. 15, n. 4, p. 1–13, 2019.
- OKAZAKI, Y. et al. A chloroplastic UDP-Glucose pyrophosphorylase from Arabidopsis is the committed enzyme for the first step of sulfolipid biosynthesis. **Plant Cell**, v. 21, n. 3, p. 892–909, 2009.
- OKI, N. et al. Genetic analysis of antixenosis resistance to the common cutworm (*Spodoptera litura* Fabricius) and its relationship with pubescence characteristics in soybean (*Glycine max* (L.) Merr.). **Breeding Science**, v. 61, n. 5, p. 608–617, 2012.
- ORAZALY, M. et al. Identification and confirmation of quantitative trait loci associated with soybean seed hardness. **Crop Science**, v. 55, n. 2, p. 688–694, 2015.
- PACIOLLA, C. et al. **Vitamin C in plants: From functions to biofortification** **Antioxidants**, 2019.
- PANG, Z. et al. MetaboAnalyst 5.0: Narrowing the gap between raw spectra and functional insights. **Nucleic Acids Research**, v. 49, n. W1, p. W388–W396, 2021.
- PANIZZI, R.; BUENO, A. D. F.; LUCINI, T. Evaluating resistance of the soybean block technology cultivars to the Neotropical brown stink bug, *Euschistus heros* (F.). v. 131, n. November 2020, 2021.
- PATTI, G. J.; YANES, O.; SIUZDAK, G. **Innovation: Metabolomics: the apogee of the omics trilogy** **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, 2012.
- PAVET, V. et al. Ascorbic Acid Deficiency Activates Cell Death and Disease Resistance Responses in Arabidopsis. **Plant Physiology**, v. 139, n. 3, p. 1291–1303, 1 nov. 2005.
- PICARD, M. et al. Integration strategies of multi-omics data for machine learning analysis. **Computational and Structural Biotechnology Journal**, v. 19, p. 3735–3746, 2021.
- PIETERSE, C. M. J. et al. Hormonal modulation of plant immunity. **Annual Review of Cell and Developmental Biology**, v. 28, p. 489–521, 2012.
- PRATELLI, R.; PILOT, G. Regulation of amino acid metabolic enzymes and transporters in plants. **Journal of Experimental Botany**, v. 65, n. 19, p. 5535–5556, 2014.
- QUINLAN, J. R. Induction of decision trees. **Machine Learning**, v. 1, n. 1, p. 81–106, 1986.
- RAZA, A. et al. Impact of climate change on crops adaptation and strategies to tackle its outcome: A review. **Plants**, v. 8, n. 2, 2019.
- RAZA, A. Eco-physiological and Biochemical Responses of Rapeseed (*Brassica napus* L.) to Abiotic Stresses: Consequences and Mitigation Strategies. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 40, n. 4, p. 1368–1388, 2021.
- RHA, C.-S. et al. Supervised Statistical Learning Prediction of Soybean Varieties and Cultivation Sites Using Rapid UPLC-MS Separation, Method Validation, and Targeted Metabolomic Analysis of 31 Phenolic Compounds in the Leaves. **Metabolites**, v. 11, n. 12, p. 884, 17 dez. 2021.
- ROLIM, L. A. et al. **Enhanced Reader**.pdf **Nature**, 2020.
- ROLLAND, F.; BAENA-GONZALEZ, E.; SHEEN, J. **Sugar sensing and signaling in plants: Conserved and novel mechanisms** **Annual Review of Plant Biology**, 2006.
- ROSATI, R. G. et al. Primary metabolism changes triggered in soybean leaves by *Fusarium tucumaniae* infection. **Plant Science**, v. 274, n. May, p. 91–100, 2018.
- SAEED, F. et al. Moving Beyond DNA Sequence to Improve Plant Stress Responses. **Frontiers in Genetics**, v. 13, n. April, p. 1–15, 2022.
- SAUTER, M. et al. Methionine salvage and S-adenosylmethionine: essential links between sulfur, ethylene and polyamine biosynthesis. **Biochemical Journal**, v. 451, n. 2, p. 145–154, 15 abr. 2013.

- SAUVAGE, C. et al. Genome-wide association in tomato reveals 44 candidate loci for fruit metabolic traits. **Plant Physiology**, v. 165, n. 3, p. 1120–1132, 2014.
- SCHIEZARO, M.; PEDRINI, H. Data feature selection based on Artificial Bee Colony algorithm. **EURASIP Journal on Image and Video Processing**, v. 2013, n. 1, p. 1–8, 2013.
- SCHLUETER, J. A. et al. The FAD2 gene family of soybean: Insights into the structural and functional divergence of a paleopolyploid genome. **Crop Science**, v. 47, n. SUPPL. 1, 2007.
- SILVA, E. et al. Soybean Metabolomics Based in Mass Spectrometry: Decoding the Plant's Signaling and Defense Responses under Biotic Stress. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 69, n. 26, p. 7257–7267, 2021.
- SMILDE, A. K. et al. ANOVA-simultaneous component analysis (ASCA): a new tool for analyzing designed metabolomics data. **Bioinformatics**, v. 21, n. 13, p. 3043–3048, 1 jul. 2005.
- SMITH, C. M.; CLEMENT, S. L. Molecular bases of plant resistance to arthropods. **Annual Review of Entomology**, v. 57, n. December, p. 309–328, 2012.
- SONG, S. et al. Soybean seeds expressing feedback-insensitive cystathionine γ -synthase exhibit a higher content of methionine. **Journal of Experimental Botany**, v. 64, n. 7, p. 1917–1926, 2013.
- STASOLLA, C. et al. Purine and pyrimidine nucleotide metabolism in higher plants. **Journal of Plant Physiology**, v. 160, n. 11, p. 1271–1295, 2003.
- STEKHOVEN, D. J.; BÜHLMANN, P. Missforest-Non-parametric missing value imputation for mixed-type data. **Bioinformatics**, v. 28, n. 1, p. 112–118, 2012.
- SUBRAMANIAN, I. et al. Multi-omics Data Integration, Interpretation, and Its Application. **Bioinformatics and Biology Insights**, v. 14, p. 117793221989905, 31 jan. 2020.
- SUNDARAMOORTHY, J. et al. Molecular elucidation of a new allelic variation at the Sg-5 gene associated with the absence of group A saponins in wild soybean. **PLoS ONE**, v. 13, n. 1, p. 1–17, 2018.
- TAI, Y. C.; SPEED, T. P. A multivariate empirical Bayes statistic for replicated microarray time course data. **Annals of Statistics**, v. 34, n. 5, p. 2387–2412, 2006.
- TAKADA, Y. et al. Genetic and chemical analysis of a key biosynthetic step for soyasapogenol A, an aglycone of group A saponins that influence soymilk flavor. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 126, n. 3, p. 721–731, 2013.
- TROUVELOT, S. et al. Carbohydrates in plant immunity and plant protection: Roles and potential application as foliar sprays. **Frontiers in Plant Science**, v. 5, n. November, p. 1–14, 2014.
- TROYANSKAYA, O. et al. Missing value estimation methods for DNA microarrays. **Bioinformatics**, v. 17, n. 6, p. 520–525, 2001.
- UCHIDA, T.; KUDOU, S. Components Responsible for the Undesirable Taste of Soybean Seeds. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 56, n. 1, p. 99–103, 1992.
- VAN LOON, L. C.; GERAATS, B. P. J.; LINTHORST, H. J. M. Ethylene as a modulator of disease resistance in plants. **Trends in Plant Science**, v. 11, n. 4, p. 184–191, 2006.
- VANWALLEDAEL, A. et al. A Molecular View of Plant Local Adaptation: Incorporating Stress-Response Networks. **Annual Review of Plant Biology**, v. 70, p. 559–583, 2019.
- VILLATE, A. et al. Review: Metabolomics as a prediction tool for plants performance under environmental stress. **Plant Science**, v. 303, n. December 2020, p. 110789, 2021.
- VIS, D. J. et al. Statistical validation of megavariable effects in ASCA. **BMC Bioinformatics**, v. 8, n. 1, p. 322, 30 ago. 2007.

- WALLER, T. C. et al. Compartment and hub definitions tune metabolic networks for metabolomic interpretations. **GigaScience**, v. 9, n. 1, p. 1–18, 2020.
- WANG, W. et al. New insights into the metabolism of aspartate-family amino acids in plant seeds. **Plant Reproduction**, v. 31, n. 3, p. 203–211, 2018.
- WAR, A. R. et al. Mechanisms of plant defense against insect herbivores. **Plant Signaling & Behavior**, v. 7, n. 10, p. 1306–1320, 31 out. 2012.
- WEN, W. et al. Genetic determinants of the network of primary metabolism and their relationships to plant performance in a maize recombinant inbred line population. **Plant Cell**, v. 27, n. 7, p. 1839–1856, 2015.
- WESTHUES, M. et al. Omics-based hybrid prediction in maize. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 130, n. 9, p. 1927–1939, 2017.
- WITTE, C. P.; HERDE, M. Nucleotide metabolism in plants. **Plant Physiology**, v. 182, n. 1, p. 63–78, 2020.
- YAN, J. et al. Network approaches to systems biology analysis of complex disease: Integrative methods for multi-omics data. **Briefings in Bioinformatics**, v. 19, n. 6, p. 1370–1381, 2017.
- YANG, Q. Q. et al. A connection between lysine and serotonin metabolism in rice endosperm. **Plant Physiology**, v. 176, n. 3, p. 1965–1980, 2018.
- YANG, Q.; ZHAO, D.; LIU, Q. Connections Between Amino Acid Metabolisms in Plants: Lysine as an Example. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, n. June, p. 1–8, 2020.
- ZEIER, J. New insights into the regulation of plant immunity by amino acid metabolic pathways. **Plant, Cell and Environment**, v. 36, n. 12, p. 2085–2103, 2013.
- ZHAO, J. et al. Complex networks theory for analyzing metabolic networks. **Chinese Science Bulletin**, v. 51, n. 13, p. 1529–1537, 2006.
- ZIVY, M. et al. The quest for tolerant varieties: The importance of integrating “omics” techniques to phenotyping. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, n. JULY, p. 1–11, 2015.

1. INTRODUÇÃO

A soja é a principal cultura de produção agrícola no Brasil. No entanto, a sua produtividade é significativamente afetada por problemas fitossanitários (ECCO et al., 2020). Dentre os insetos que causam prejuízos nesta cultura, o percevejo marrom *Euschistus heros* é identificado com a principal praga da soja (KRINSKI et al., 2013).

O estresse causado por fatores bióticos, como a ocorrência de pragas, incidentes na produção agrícola é um fenômeno que está correlacionado com o genótipo, o ambiente e o manejo (ZIVY et al., 2015). Assim, visando uma produção sustentável, as iniciativas para o uso de germoplasma que sejam menos afetados por fatores ambientais bem como a compreensão dos mecanismos de resistência são crescentes (ALIFERIS; FAUBERT; JABAJI, 2014).

Os mecanismos associados à resistência da soja ao percevejo marrom não estão totalmente elucidados. A falta de conhecimento é um forte propulsor para a geração de conhecimento biológico fundamental e aplicado. Fator este que prove a oportunidade de se estabelecer diversos modelos experimentais, tais como genômicos, transcriptômicos, proteômicos e metabolômicos, além da integração destas diversas camadas de informações moleculares por meio de redes de co-abundância e co-expressão (ZIVY et al., 2015).

A Metabolômica, definida como o estudo em larga escala do conjunto de metabólitos, tem revelado o seu grande potencial como ferramenta de diagnose para a performance de plantas e a compreensão dos mecanismos de resistência. Em condições de campo, as plantas estão expostas a diferentes fatores bióticos e abióticos, e esses fatores afetam diretamente a performance. O melhoramento genético vem focando na utilização de abordagens como a Metabolômica, que auxiliem na compreensão e obtenção de culturas mais adaptadas (ABDELRAHMAN; BURRITT; TRAN, 2018; RAZA et al., 2019).

Os metabólitos são pequenas moléculas quimicamente transformadas durante o metabolismo e permitem o acesso a informações funcionais do estado celular. Por não estarem sujeitos aos efeitos da regulação epigenética e modificações de pós tradução, assim como os genes e proteínas, os metabólitos são a assinatura da atividade bioquímica do organismo. A correlação dos perfis metabolômicos com os fenótipos é mais simples, quando comparada aos perfis genômicos, transcriptômicos e proteômicos (PATTI; YANES; SIUZDAK, 2012).

Apesar de a abordagem da Metabolômica ser complexa, ela provê informações explícitas sobre o fenótipo químico de um genótipo sujeito a determinada condição ambiental. O metaboloma, conjunto de todo os metabólitos, é o *fingerprint* de muitos sensores internos e externos, podendo explicar a interação entre o sistema biológico, ambiente e todas as perturbações relacionadas (KUMAR et al., 2017).

Esta ômica tem o potencial de identificar marcadores para características de interesse do melhoramento de plantas (ZIVY et al., 2015). Estes marcadores biológicos, definidos como a característica que é objetivamente medida ou avaliada como preditor da performance da planta, estão, de fato, complementando e em alguns casos até substituindo os marcadores moleculares tradicionais (FERNANDEZ et al., 2016).

Dentre os marcadores biológicos, os metabólicos, proveem informações biológicas que podem estreitar a lacuna existente entre genótipo e fenótipo, podendo ser obtidos pela identificação de polimorfismos de um único nucleotídeo (SNP) ou pela identificação de genes candidatos via estratégias de mapeamento de QTL (múltiplos loci de características quantitativas) (FERNANDEZ et al., 2016).

O entendimento da resistência genética da soja ao percevejo marrom é a primeira etapa na busca por variedades resistentes. A compreensão da função de um gene pode ser abordada pela Metabolômica, por meio dos metabólitos primários e secundários, e pela Genômica. A Genômica fornece dados que permitem a avaliação da

estrutura genética de um caractere de interesse em conjunto com a predição e anotação de genes. Contudo, somente essa camada ômica não tem sido suficiente para a caracterização fenotípica completa (ZIVY et al., 2015).

A resistência genética da soja aos percevejos é uma característica poligênica de natureza quantitativa (GODOI; PINHEIRO, 2009). A identificação destes loci de características quantitativas (QTL) é uma ferramenta de grande importância para a obtenção de genótipos resistentes. Após identificados, esses QTLs podem ser caracterizados por diferentes ômicas (ZIVY et al., 2015).

Alguns estudos já identificaram QTLs associados com a resistência genética da soja aos insetos desfolhadores (OKI et al., 2012). Contudo, para os percevejos, há uma ausência significativa de informações. Dessa forma, uma estratégia para associação genética da resistência ao percevejo é utilizar a extrapolação das informações de QTLs indiretamente associados, como aqueles relacionados com o comprimento de pubescência (OKI et al., 2012), duração do período reprodutivo (CHENG et al., 2011), dureza da cobertura e da semente (ORAZALY et al., 2015) e produção de metabólitos associados com a resistência, tal como a produção de flavonóides (BACHLAVA et al., 2009; HAN et al., 2015).

A extração de informação relevantes dos estudos de Metabolômica pode ser beneficiado pelo uso de redes metabólicas de co-abundância, as quais possibilitarão a integração de metabólitos primários e secundários, favorecendo a compreensão de mecanismos complexos.

Este capítulo teve como objetivo: (i) Integrar os metabólitos primários e secundários com QTLs associados com a resistência da soja ao percevejo marrom; (ii) Construir redes de co-abundância entre metabólitos a fim de caracterizar os perfis de interação metabólica dos genótipos resistente e suscetíveis.

2. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A integração dos metabólitos primários e secundários com os QTLs selecionados da soja permitiu a adição de uma camada informativa na resposta da soja ao percevejo. Os metabólitos, vistos como mecanismos de defesa pós genômico muitas vezes não possibilitam a compreensão e a aplicação prática da engrenagem de resposta vegetal. A associação com os QTLs permitiu inferências a respeito de informações no nível genômico, traduzidos em uma expressão fenotípica específica.

A finalização do estudo pelas redes de co-abundância trouxe a ilustração e elucidação do metabolismo envolvido na resposta da soja. As redes foram indispensáveis para se responder às questões biológicas propostas neste estudo. Foi possível agregar os metabólitos primários e secundários, identificar as associações entre eles e indicar metabólitos hubs, representando assim, os compostos mais importantes para o mapeamento das redes do genótipo resistente e do genótipo suscetível, ao longo do tempo e sob a infestação do percevejo marrom.

O padrão da rede do genótipo resistente mudou essencialmente as 24 horas de infestação pelo percevejo marrom. Constatou-se uma mudança na comunicação dos metabólitos e o surgimento de pequenos grupos de metabólitos altamente correlacionados, os quais estão atuando em conjunto e indicando uma resposta a infestação pelo percevejo marrom. Essa organização indica que a resposta de resistência no genótipo resistente está mais associada com grupos pequenos e específicos de metabólitos do que com a abundância, indicando um efeito mais qualitativo do que quantitativo. Por outro lado, esta alteração expressiva não foi constatada no genótipo suscetível.

As redes do genótipo resistente R8 e R24 foram compostas por hubs de metabólitos secundários, sugerindo que em até 24 horas de infestação com o percevejo marrom, o genótipo resistente enfatiza a produção de metabólitos de defesa. Após as 24 horas, os hubs são o metabólito primário ácido glucônico, seguido de metabólitos secundários. Indicando que, após as 24 horas, o genótipo resistente continua produzindo metabólitos de defesa, porém em menores quantidades e o seu metabolismo direciona-se para a produção dos metabólitos de manutenção das condições básicas da soja.

No genótipo suscetível em 8 horas, os metabólitos mais importantes foram os secundários. Entretanto, em 24 horas, apenas metabólitos primários tiveram importância no metabolismo. Indicando que o genótipo suscetível é capaz de reconhecer os elicitores do percevejo marrom, e empenha-se em produzir metabólitos de defesa nas oito primeiras horas de infestação. Contudo, após estas primeiras horas, a soja não consegue manter a sua produção de compostos de defesa e redireciona o seu metabolismo para a sua sobrevivência a partir da produção de açúcares, lipídios e ácidos orgânicos.

As comparações entre R8 e R24 e S8 e S24 sugerem que, a partir de 8 horas de infestação da soja pelo percevejo marrom, a rede metabólica do genótipo resistente é capaz de alterar o seu padrão de abundância, devido a sua capacidade de identificar e ativar mecanismos de defesa. Já no genótipo suscetível, não ocorre essa mudança de comunicação. Em 48 horas, o genótipo resistente mostra uma rede metabólica tentando se reconstruir e retornar para o seu estado inicial. A rede do genótipo suscetível em 48 horas expressa um padrão que sugere o rompimento da rede.

Foi possível inferir que, de modo geral, o metabolismo da soja resistente e suscetível são semelhantes. A diferenciação da resposta de defesa contra o percevejo marrom foi extremamente dependente do tempo, da organização do metabolismo e dos metabólitos envolvidos em cada uma das conformações da rede de cada tipo de genótipo. A integração destas abordagens demonstra que, para capturar as mudanças biológicas, uma visão holística é necessária.

REFERÊNCIAS

- ABDELRAHMAN, M.; BURRITT, D. J.; TRAN, L. S. P. The use of metabolomic quantitative trait locus mapping and osmotic adjustment traits for the improvement of crop yields under environmental stresses. **Seminars in Cell and Developmental Biology**, v. 83, p. 86–94, 2018.
- AKBAR, W. et al. Feeding by sugarcane aphid, *Melanaphis sacchari*, on sugarcane cultivars with differential susceptibility and potential mechanism of resistance. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 150, n. 1, p. 32–44, 2014.
- ALIFERIS, K. A.; FAUBERT, D.; JABAJI, S. A Metabolic Profiling Strategy for the Dissection of Plant Defense against Fungal Pathogens. **PLoS ONE**, v. 9, n. 11, 2014.
- ALMEIDA, L. A. DE et al. Melhoramento da soja para regiões de baixas latitudes. **Recursos Genéticos e Melhoramento de Plantas para o Nordeste Brasileiro**, p. 15, 1999.
- ANALYSIS, T. N. Package ‘igraph’ R topics documented : 2022.
- ARRUDA, P.; BARRETO, P. Lysine Catabolism Through the Saccharopine Pathway: Enzymes and Intermediates Involved in Plant Responses to Abiotic and Biotic Stress. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, n. May, p. 1–10, 2020.
- BACAXIXI, P. et al. A soja e seu desenvolvimento no melhoramento genético. **Revista Científica Eletrônica de Agronomia**, v. 10, n. 20, p. 1–6, 2011.
- BACHLAVA, E. et al. Mapping and comparison of quantitative trait loci for oleic acid seed content in two segregating soybean populations. **Crop Science**, v. 49, n. 2, p. 433–442, 2009.
- BARABÁSI, A. L.; OLTVAI, Z. N. Network biology: Understanding the cell’s functional organization. **Nature Reviews Genetics**, v. 5, n. 2, p. 101–113, 2004.
- BIJLSMA, S. et al. Large-scale human metabolomics studies: A strategy for data (pre-) processing and validation. **Analytical Chemistry**, v. 78, n. 2, p. 567–574, 2006.
- BUENO, A. DE F. et al. Effects of integrated pest management, biological control and prophylactic use of insecticides on the management and sustainability of soybean. **Crop Protection**, v. 30, n. 7, p. 937–945, 2011.
- BUNSUPA, S. et al. Lysine decarboxylase catalyzes the first step of quinolizidine alkaloid biosynthesis and coevolved with alkaloid production in leguminosae. **Plant Cell**, v. 24, n. 3, p. 1202–1216, 2012.
- CASTRILLO, G. et al. Root microbiota drive direct integration of phosphate stress and immunity. **Nature**, v. 543, n. 7646, p. 513–518, 2017.
- CHEN, S.; HARMON, A. C. Advances in plant proteomics. **Proteomics**, v. 6, n. 20, p. 5504–5516, 2006.
- CHEN, Y. et al. High-Throughput Screening of a 2-Keto-L-Gulonic Acid-Producing *Gluconobacter oxydans* Strain Based on Related Dehydrogenases. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 7, n. December, p. 1–9, 2019.
- CHENG, L. et al. Genetic analysis and QTL detection of reproductive period and post-flowering photoperiod responses in soybean. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 123, n. 3, p. 421–429, 2011.
- CHONG, J.; WISHART, D. S.; XIA, J. Using MetaboAnalyst 4.0 for Comprehensive and Integrative Metabolomics Data Analysis. **Current Protocols in Bioinformatics**, v. 68, n. 1, p. 1–128, 2019.
- CIVELEK, M.; LUSIS, A. J. Systems genetics approaches to understand complex traits. **Nature Reviews Genetics**, v. 15, n. 1, p. 34–48, 2014.

- CONAB- COMPANHIA NACIONAL DO ABASTECIMENTO. Acompanhamento da Safra Brasileira. **Boletim da Safra 2021**, v. 9, n. Terceiro levantamento, p. 60, 2022.
- CONSTANTINO, N. et al. Soybean Cyst Nematodes Influence Aboveground Plant Volatile Signals Prior to Symptom Development. **Frontiers in Plant Science**, v. 12, n. September, 2021.
- CORPORATION, W. MassLynx 4.1: Getting Started Guide. **ReVision**, p. 94, 2005.
- CORRÊA-FERREIRA, B. S. Suscetibilidade da soja a percevejos na fase anterior ao desenvolvimento das vagens. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 11, p. 1067–1072, 2005.
- COVER, T. M.; HART, P. E. Nearest Neighbor Pattern Classification. **IEEE Transactions on Information Theory**, v. 13, n. 1, p. 21–27, 1967.
- DAS, A.; RUSHTON, P.; ROHILA, J. Metabolomic Profiling of Soybeans (*Glycine max* L.) Reveals the Importance of Sugar and Nitrogen Metabolism under Drought and Heat Stress. **Plants**, v. 6, n. 4, p. 21, 25 maio 2017.
- DE FREITAS BUENO, A. et al. Assessment of a more conservative stink bug economic threshold for managing stink bugs in Brazilian soybean production. **Crop Protection**, v. 71, p. 132–137, 2015.
- DEGENKOLBE, T. et al. Identification of Drought Tolerance Markers in a Diverse Population of Rice Cultivars by Expression and Metabolite Profiling. **PLoS ONE**, v. 8, n. 5, 2013.
- DEMBÉLÉ, D.; KASTNER, P. Fold change rank ordering statistics: A new method for detecting differentially expressed genes. **BMC Bioinformatics**, v. 17, n. 1, 2014.
- DEPIERI, R. A.; PANIZZI, A. R. Duration of feeding and superficial and in-depth damage to soybean seed by selected species of stink bugs (heteroptera: pentatomidae). **Neotropical Entomology**, v. 40, n. 2, p. 197–203, 2011.
- DUDAREVA, N. et al. Biosynthesis, function and metabolic engineering of plant volatile organic compounds. **New Phytologist**, v. 198, n. 1, p. 16–32, 2013.
- ECCO, M. et al. Stink bug control at different stages of soybean development. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 87, p. 1–7, 2020.
- FEHR, W. R.; CAVINESS, C. E. Stages of Soybean Development. **Special report**, v. 80, n. March, p. 11, 1977.
- FERNANDEZ, O. et al. Fortune telling: metabolic markers of plant performance. **Metabolomics**, v. 12, n. 10, 2016.
- FERNIE, A. R.; SCHAUER, N. Metabolomics-assisted breeding: a viable option for crop improvement? **Trends in Genetics**, v. 25, n. 1, p. 39–48, 2009.
- FERNIE, A. R.; STITT, M. On the discordance of metabolomics with proteomics and transcriptomics: Coping with increasing complexity in logic, chemistry, and network interactions. **Plant Physiology**, v. 158, n. 3, p. 1139–1145, 2012.
- FIAZ, S. et al. Applications of the CRISPR/Cas9 system for rice grain quality improvement: Perspectives and opportunities. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 4, p. 1–18, 2019.
- FIEHN, O. **Metabolomics-the link between genotypes and phenotypes** *Plant Molecular Biology*. [s.l.: s.n.].
- FREUND, Y.; SCHAPIRE, R. E. A Decision-Theoretic Generalization of On-Line Learning and an Application to Boosting. **Journal of Computer and System Sciences**, v. 55, n. 1, p. 119–139, 1997.
- GAO, L. et al. **Characterization of a group of pyrroloquinoline quinone-dependent dehydrogenases that are involved in the conversion of L-sorbose to 2-Keto-L-gulonic acid in *Ketogulonigenium vulgare* WSH-001** *Biotechnology Progress*, 2013.
- GHIONE, C. E. et al. Association mapping to identify molecular markers associated with resistance genes to stink bugs in soybean. **Euphytica**, v. 217, n. 3, p. 1–12, 2021.

- GODOI, C. R. C. DE; PINHEIRO, J. B. Genetic parameters and selection strategies for soybean genotypes resistant to the stink bug-complex. **Genetics and Molecular Biology**, v. 32, n. 2, p. 328–336, 2009.
- GOMEZ, J. D. et al. Broad range flavonoid profiling by LC/MS of soybean genotypes contrasting for resistance to *Anticarsia gemmatilis* (Lepidoptera: Noctuidae). **PLoS ONE**, v. 13, n. 10, 2018.
- GONZALES, G. B.; DE SAEGER, S. Elastic net regularized regression for time-series analysis of plasma metabolome stability under sub-optimal freezing condition. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1–11, 2018.
- HAMMERBACHER, A.; COUTINHO, T. A.; GERSHENZON, J. Roles of plant volatiles in defence against microbial pathogens and microbial exploitation of volatiles. **Plant, Cell & Environment**, v. 42, n. 10, p. 2827–2843, 26 out. 2019.
- HAN, Y. et al. Unconditional and conditional QTL underlying the genetic interrelationships between soybean seed isoflavone, and protein or oil contents. **Plant Breeding**, v. 134, n. 3, p. 300–309, 2015.
- HE, Y.; LI, Z. Epigenetic Environmental Memories in Plants: Establishment, Maintenance, and Reprogramming. **Trends in Genetics**, v. 34, n. 11, p. 856–866, 2018.
- HEUBERGER, A. L. et al. Application of nontargeted metabolite profiling to discover novel markers of quality traits in an advanced population of malting barley. **Plant Biotechnology Journal**, v. 12, n. 2, p. 147–160, fev. 2014.
- HOFFMAN, D. E. et al. Changes in diurnal patterns within the *Populus* transcriptome and metabolome in response to photoperiod variation. **Plant, Cell and Environment**, v. 33, n. 8, p. 1298–1313, 2010.
- HONG, J. et al. Plant metabolomics: An indispensable system biology tool for plant science. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, n. 6, 2016.
- HRYZDIUSZKO, O.; VIANI, M. R. Missing values in mass spectrometry based metabolomics: An undervalued step in the data processing pipeline. **Metabolomics**, v. 8, p. 161–174, 2012.
- JEANDET, P. et al. The Role of Sugars in Plant Responses to Stress and Their Regulatory Function during Development. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 9, 2022.
- JON M. KLEINBERG. Authoritative Sources in a Hyperlinked Environmet. **Gene**, v. 386, n. 1–2, p. 1–10, 9 ago. 1998.
- KOPRIVA, S.; MALAGOLI, M.; TAKAHASHI, H. Sulfur nutrition: Impacts on plant development, metabolism, and stress responses. **Journal of Experimental Botany**, v. 70, n. 16, p. 4069–4073, 2019.
- KUMAR, R. et al. Metabolomics for plant improvement: Status and prospects. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, n. August, p. 1–27, 2017.
- LIEBAL, U. W. et al. Machine learning applications for mass spectrometry-based metabolomics. **Metabolites**, v. 10, n. 6, p. 1–23, 2020.
- MA, C. et al. Overexpression of S-adenosyl-L-methionine synthetase 2 from sugar beet M14 increased arabidopsis tolerance to salt and oxidative stress. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 4, p. 1–16, 2017.
- MARIUS-CONSTANTIN, P. et al. Multilayer perceptron and neural networks. **WSEAS Transactions on Circuits and Systems**, v. 8, n. 7, p. 579–588, 2009.
- MEYER, A. P. E. et al. Package ‘minet’. 2022.
- MORKUNAS, I.; RATAJCZAK, L. The role of sugar signaling in plant defense responses against fungal pathogens. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 36, n. 7, p. 1607–1619, 2014.
- MURAKAMI, S. et al. Insect-Induced Daidzein, Formononetin and Their Conjugates in Soybean Leaves. **Metabolites**, v. 4, n. 3, p. 532–546, 2014.

- NUNES-NESE, A. et al. Identification and characterization of metabolite quantitative trait loci in tomato leaves and comparison with those reported for fruits and seeds. **Metabolomics**, v. 15, n. 4, p. 1–13, 2019.
- OKAZAKI, Y. et al. A chloroplastic UDP-Glucose pyrophosphorylase from Arabidopsis is the committed enzyme for the first step of sulfolipid biosynthesis. **Plant Cell**, v. 21, n. 3, p. 892–909, 2009.
- OKI, N. et al. Genetic analysis of antixenosis resistance to the common cutworm (*Spodoptera litura* Fabricius) and its relationship with pubescence characteristics in soybean (*Glycine max* (L.) Merr.). **Breeding Science**, v. 61, n. 5, p. 608–617, 2012.
- ORAZALY, M. et al. Identification and confirmation of quantitative trait loci associated with soybean seed hardness. **Crop Science**, v. 55, n. 2, p. 688–694, 2015.
- PACIOLLA, C. et al. **Vitamin C in plants: From functions to biofortification** **Antioxidants**, 2019.
- PANG, Z. et al. MetaboAnalyst 5.0: Narrowing the gap between raw spectra and functional insights. **Nucleic Acids Research**, v. 49, n. W1, p. W388–W396, 2021.
- PANIZZI, R.; BUENO, A. D. F.; LUCINI, T. Evaluating resistance of the soybean block technology cultivars to the Neotropical brown stink bug, *Euschistus heros* (F.). v. 131, n. November 2020, 2021.
- PATTI, G. J.; YANES, O.; SIUZDAK, G. **Innovation: Metabolomics: the apogee of the omics trilogy** **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, 2012.
- PAVET, V. et al. Ascorbic Acid Deficiency Activates Cell Death and Disease Resistance Responses in Arabidopsis. **Plant Physiology**, v. 139, n. 3, p. 1291–1303, 1 nov. 2005.
- PICARD, M. et al. Integration strategies of multi-omics data for machine learning analysis. **Computational and Structural Biotechnology Journal**, v. 19, p. 3735–3746, 2021.
- PIETERSE, C. M. J. et al. Hormonal modulation of plant immunity. **Annual Review of Cell and Developmental Biology**, v. 28, p. 489–521, 2012.
- PRATELLI, R.; PILOT, G. Regulation of amino acid metabolic enzymes and transporters in plants. **Journal of Experimental Botany**, v. 65, n. 19, p. 5535–5556, 2014.
- QUINLAN, J. R. Induction of decision trees. **Machine Learning**, v. 1, n. 1, p. 81–106, 1986.
- RAZA, A. et al. Impact of climate change on crops adaptation and strategies to tackle its outcome: A review. **Plants**, v. 8, n. 2, 2019.
- RAZA, A. Eco-physiological and Biochemical Responses of Rapeseed (*Brassica napus* L.) to Abiotic Stresses: Consequences and Mitigation Strategies. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 40, n. 4, p. 1368–1388, 2021.
- RHA, C.-S. et al. Supervised Statistical Learning Prediction of Soybean Varieties and Cultivation Sites Using Rapid UPLC-MS Separation, Method Validation, and Targeted Metabolomic Analysis of 31 Phenolic Compounds in the Leaves. **Metabolites**, v. 11, n. 12, p. 884, 17 dez. 2021.
- ROLIM, L. A. et al. **Enhanced Reader.pdf** **Nature**, 2020.
- ROLLAND, F.; BAENA-GONZALEZ, E.; SHEEN, J. **Sugar sensing and signaling in plants: Conserved and novel mechanisms** **Annual Review of Plant Biology**, 2006.
- ROSATI, R. G. et al. Primary metabolism changes triggered in soybean leaves by *Fusarium tucumaniae* infection. **Plant Science**, v. 274, n. May, p. 91–100, 2018.
- SAEED, F. et al. Moving Beyond DNA Sequence to Improve Plant Stress Responses. **Frontiers in Genetics**, v. 13, n. April, p. 1–15, 2022.
- SAUTER, M. et al. Methionine salvage and S-adenosylmethionine: essential links between sulfur, ethylene and polyamine biosynthesis. **Biochemical Journal**, v. 451, n. 2, p. 145–154, 15 abr. 2013.

- SAUVAGE, C. et al. Genome-wide association in tomato reveals 44 candidate loci for fruit metabolic traits. **Plant Physiology**, v. 165, n. 3, p. 1120–1132, 2014.
- SCHIEZARO, M.; PEDRINI, H. Data feature selection based on Artificial Bee Colony algorithm. **EURASIP Journal on Image and Video Processing**, v. 2013, n. 1, p. 1–8, 2013.
- SCHLUETER, J. A. et al. The FAD2 gene family of soybean: Insights into the structural and functional divergence of a paleopolyploid genome. **Crop Science**, v. 47, n. SUPPL. 1, 2007.
- SILVA, E. et al. Soybean Metabolomics Based in Mass Spectrometry: Decoding the Plant's Signaling and Defense Responses under Biotic Stress. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 69, n. 26, p. 7257–7267, 2021.
- SMILDE, A. K. et al. ANOVA-simultaneous component analysis (ASCA): a new tool for analyzing designed metabolomics data. **Bioinformatics**, v. 21, n. 13, p. 3043–3048, 1 jul. 2005.
- SMITH, C. M.; CLEMENT, S. L. Molecular bases of plant resistance to arthropods. **Annual Review of Entomology**, v. 57, n. December, p. 309–328, 2012.
- SONG, S. et al. Soybean seeds expressing feedback-insensitive cystathionine γ -synthase exhibit a higher content of methionine. **Journal of Experimental Botany**, v. 64, n. 7, p. 1917–1926, 2013.
- STASOLLA, C. et al. Purine and pyrimidine nucleotide metabolism in higher plants. **Journal of Plant Physiology**, v. 160, n. 11, p. 1271–1295, 2003.
- STEKHOVEN, D. J.; BÜHLMANN, P. Missforest-Non-parametric missing value imputation for mixed-type data. **Bioinformatics**, v. 28, n. 1, p. 112–118, 2012.
- SUBRAMANIAN, I. et al. Multi-omics Data Integration, Interpretation, and Its Application. **Bioinformatics and Biology Insights**, v. 14, p. 117793221989905, 31 jan. 2020.
- SUNDARAMOORTHY, J. et al. Molecular elucidation of a new allelic variation at the Sg-5 gene associated with the absence of group A saponins in wild soybean. **PLoS ONE**, v. 13, n. 1, p. 1–17, 2018.
- TAI, Y. C.; SPEED, T. P. A multivariate empirical Bayes statistic for replicated microarray time course data. **Annals of Statistics**, v. 34, n. 5, p. 2387–2412, 2006.
- TAKADA, Y. et al. Genetic and chemical analysis of a key biosynthetic step for soyasapogenol A, an aglycone of group A saponins that influence soymilk flavor. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 126, n. 3, p. 721–731, 2013.
- TROUVELOT, S. et al. Carbohydrates in plant immunity and plant protection: Roles and potential application as foliar sprays. **Frontiers in Plant Science**, v. 5, n. November, p. 1–14, 2014.
- TROYANSKAYA, O. et al. Missing value estimation methods for DNA microarrays. **Bioinformatics**, v. 17, n. 6, p. 520–525, 2001.
- UCHIDA, T.; KUDOU, S. Components Responsible for the Undesirable Taste of Soybean Seeds. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 56, n. 1, p. 99–103, 1992.
- VAN LOON, L. C.; GERAATS, B. P. J.; LINTHORST, H. J. M. Ethylene as a modulator of disease resistance in plants. **Trends in Plant Science**, v. 11, n. 4, p. 184–191, 2006.
- VANWALLENDael, A. et al. A Molecular View of Plant Local Adaptation: Incorporating Stress-Response Networks. **Annual Review of Plant Biology**, v. 70, p. 559–583, 2019.
- VILLATE, A. et al. Review: Metabolomics as a prediction tool for plants performance under environmental stress. **Plant Science**, v. 303, n. December 2020, p. 110789, 2021.
- VIS, D. J. et al. Statistical validation of megavariate effects in ASCA. **BMC Bioinformatics**, v. 8, n. 1, p. 322, 30 ago. 2007.

- WALLER, T. C. et al. Compartment and hub definitions tune metabolic networks for metabolomic interpretations. **GigaScience**, v. 9, n. 1, p. 1–18, 2020.
- WANG, W. et al. New insights into the metabolism of aspartate-family amino acids in plant seeds. **Plant Reproduction**, v. 31, n. 3, p. 203–211, 2018.
- WAR, A. R. et al. Mechanisms of plant defense against insect herbivores. **Plant Signaling & Behavior**, v. 7, n. 10, p. 1306–1320, 31 out. 2012.
- WEN, W. et al. Genetic determinants of the network of primary metabolism and their relationships to plant performance in a maize recombinant inbred line population. **Plant Cell**, v. 27, n. 7, p. 1839–1856, 2015.
- WESTHUES, M. et al. Omics-based hybrid prediction in maize. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 130, n. 9, p. 1927–1939, 2017.
- WITTE, C. P.; HERDE, M. Nucleotide metabolism in plants. **Plant Physiology**, v. 182, n. 1, p. 63–78, 2020.
- YAN, J. et al. Network approaches to systems biology analysis of complex disease: Integrative methods for multi-omics data. **Briefings in Bioinformatics**, v. 19, n. 6, p. 1370–1381, 2017.
- YANG, Q. Q. et al. A connection between lysine and serotonin metabolism in rice endosperm. **Plant Physiology**, v. 176, n. 3, p. 1965–1980, 2018.
- YANG, Q.; ZHAO, D.; LIU, Q. Connections Between Amino Acid Metabolisms in Plants: Lysine as an Example. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, n. June, p. 1–8, 2020.
- ZEIER, J. New insights into the regulation of plant immunity by amino acid metabolic pathways. **Plant, Cell and Environment**, v. 36, n. 12, p. 2085–2103, 2013.
- ZHAO, J. et al. Complex networks theory for analyzing metabolic networks. **Chinese Science Bulletin**, v. 51, n. 13, p. 1529–1537, 2006.
- ZIVY, M. et al. The quest for tolerant varieties: The importance of integrating “omics” techniques to phenotyping. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, n. JULY, p. 1–11, 2015.