

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA

Interações bioquímicas e metabólica da soja após aplicação de glifosato e extrato de alga

Layane Laura Costa Machado
Magister Scientiae

**RIO PARANAÍBA - MINAS GERAIS
2025**

LAYANE LAURA COSTA MACHADO

Interações bioquímicas e metabolômica da soja após aplicação de glifosato e extrato de alga

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

Orientador: Frederico Garcia Pinto

Coorientador: Evandro Binotto Fagan

**RIO PARANAÍBA - MINAS GERAIS
2025**

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca da Universidade Federal de Viçosa - Campus Rio Paranaíba

T

Machado, Layane Laura Costa, 1998-
M149i Interações bioquímicas e metabólica da soja após
2025 aplicação de glifosato e extrato de alga. / Layane Laura Costa
Machado. – Rio Paranaíba, MG, 2025.
47 f.: il. (algumas color.).

Orientador: Frederico Garcia Pinto.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,
Instituto de Ciências Agrárias, 2025.
Referências bibliográficas: f.43-47.

1. *Ascohyllum nodosum*. 2. Herbicida. 3. Atenuador de estresse. 4. Metabolismo antioxidante. 5. Perfil metabólico. I. Pinto, Frederico Garcia, 1980-. II. Universidade Federal de Viçosa. Instituto de Ciências Agrárias. Mestrado em Agronomia (Produção Vegetal). III. Título.

633.34

LAYANE LAURA COSTA MACHADO

Interações bioquímicas e metabólica da soja após aplicação de glifosato e extrato de alga

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

APROVADA: 17 de janeiro de 2025.

Assentimento:

Layane Laura Costa Machado
Autora

Frederico Garcia Pinto
Orientador

Essa dissertação foi assinada digitalmente pela autora em 15/04/2025 às 11:21:08 e pelo orientador em 16/04/2025 às 06:46:44. As assinaturas têm validade legal, conforme o disposto na Medida Provisória 2.200-2/2001 e na Resolução nº 37/2012 do CONARQ. Para conferir a autenticidade, acesse <https://siadoc.ufv.br/validar-documento>. No campo 'Código de registro', informe o código **E6XZ.SG4Y.1BAX** e clique no botão 'Validar documento'.

Aos meus pais: Maria Aparecida e Belchior

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus e Nossa Senhora Aparecida, pois tudo que sou e quero ser pertence a Eles. Agradeço infinitamente aos meus pais, Maria Aparecida e Belchior, por todo amor e incentivo. Por não me deixarem desistir. Por serem exatamente quem são e me tornarem quem eu sou.

As minhas irmãs, Liliane e Lidiane; por sempre estarem presentes, torcendo e me apoiando em cada conquista. Aos meus sobrinhos, José Henrique, Elena e Eduarda; por me lembrarem que a vida pode ser mais leve, mesmo nos momentos mais tensos e difíceis. A Mateus, pelo carinho e companheirismo.

Aos amigos da pós graduação, por tornarem essa caminhada mais leve e feliz. Em especial, a Júlia Lunara, por aceitar seguir esse caminho comigo, por toda ajuda em cada etapa, por todas as caronas e cafés; enfim, por me mostrar o significado de uma amizade verdadeira. Sem você não teria conseguido!

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade de realizar a pós-graduação. Em especial a Fabrícia e Sinara pela paciência. Aos professores da pós graduação, por todos os ensinamentos compartilhados.

Agradeço imensamente ao meu orientador, Frederico Garcia, pela excelência, disponibilidade, confiança e atenção de sempre. Ao meu co-orientador, Evandro Binotto Fagan, pela parceria de longa data, e por aceitar me acompanhar em mais essa etapa.

Ao Centro Universitário de Patos de Minas (UNIPAM) por disponibilizar a estrutura para conduzir o experimento. Ao laboratório Núcleo de Pesquisa em Fisiologia e Estresse de Plantas por permitir a realização das análises do metabolismo antioxidante.

Agradeço profundamente a Letícia Mariane Pimenta de Lima, pela amizade e por disponibilizar o seu tempo pra nos ajudar na realização das análises. Você teve um papel importante nessa conquista!

Ao Grupo de Pesquisa em Análise Metabolômica, por permitir a realização das análises de metabolômica. Em especial a Brena e Natália, pela paciência e por toda ajuda na condução das análises.

Por fim, meus mais sinceros agradecimentos a todos aqueles que de forma direta ou indireta me ajudaram a alcançar esse sonho. Serei eternamente grata!

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

“Se você ainda não desistiu, é porque sabe que vale a pena.”

RESUMO

MACHADO, Layane Laura Costa, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, janeiro de 2025. **Interações bioquímicas e metabólica da soja após aplicação de glifosato e extrato de alga.** Orientador: Frederico Garcia Pinto. Coorientador: Evandro Binotto Fagan.

A soja é uma cultura de grande importância, cuja produtividade é frequentemente afetada por estresses bióticos e abióticos, como o uso recorrente de herbicidas, especialmente do glifosato. Para atenuar esses estresses, o uso do extrato de algas (EA), tem se mostrado promissor, ativando mecanismos de defesa. Portanto, objetivou-se avaliar a aplicação de EA na mitigação do estresse causado pelo glifosato e identificar qual o melhor posicionamento da aplicação. O experimento foi desenvolvido entre fevereiro e abril de 2024, em casa de vegetação em Patos de Minas, Minas Gerais. Utilizou-se a variedade de soja Brasmax Olimpo IPRO (grupo de maturação 8.0 e hábito de crescimento indeterminado). Cada parcela experimental consistiu em um vaso de 12 dm³ com três plantas. O estresse foi induzido em V₄, com a aplicação de glifosato (Roundup WG[®]) (2,0 Kg ha⁻¹ / 1,512 Kg i.a ha⁻¹), através de pulverização manual. O delineamento utilizado foi de blocos casualizados, com cinco tratamentos e seis repetições, totalizando 30 parcelas experimentais: T₁ – controle absoluto (sem aplicação); T₂ – controle relativo (aplicação apenas do herbicida); T₃ – EA aplicado cinco dias antes do herbicida; T₄ – EA aplicado no mesmo dia do herbicida e T₅ – EA aplicado cinco dias após o herbicida. O EA utilizado foi de *Ascophyllum nodosum* (Acadian[®]). As avaliações ocorreram no Núcleo de Pesquisa em Fisiologia e Estresse de Plantas e no Grupo de Pesquisa em Análise Metabólica. Para as avaliações foram coletadas folhas do terço médio das plantas aos 4, 8 e 12 dias após a última aplicação dos tratamentos (DAA). Analisou-se a atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e peroxidase (POD); teor de peróxido de hidrogênio (H₂O₂), peroxidação lipídica (PL) e o perfil metabólico das plantas. Os dados foram tabulados e analisados estatisticamente. Para os dados de metabolismo antioxidante utilizou-se o Software Speed Stat[®] e teste de Tukey, e para o perfil metabólico utilizou-se o software MetaboAnalyst 5.0[®] e teste-t, ambos a 5% de significância. Observou-se que o T₅ apresentou maior atividade da SOD e da POD aos 8 e 12 DAA. Já o T₃, apresentou maior atividade da POD aos 12 DAA e maior H₂O₂ e menor PL aos 4 DAA. Todos os tratamentos apresentaram redução na PL quanto ao T₁ aos 8 e 12 DAA. Para a atividade da CAT, aos 4 DAA todos os tratamentos apresentaram aumento quanto ao T₁, que se destacou aos 8 DAA enquanto o T₂ aos 12 DAA.

Quanto ao perfil metabólico, o EA independente do posicionamento, induziu a produção de alguns compostos semelhantes (ácidos malônico e glucônico) que diferiram quanto aos controles. Outros compostos, como ácido glioxílico, xilose, d-manopiranosose, manose e ácido cítrico, também foram associados à aplicação do extrato. Esses resultados sugerem que o EA pode estimular mecanismos de defesa e resistência a estresses, possivelmente devido à sua composição. Além disso, a resistência da cultivar ao herbicida pode ter influenciado os resultados. Conclui-se que a aplicação de EA pode mitigar o estresse causado pelo glifosato, com melhores resultados quando realizada antes ou após o estresse.

Palavras-chave: *Ascophyllum nodosum*. Herbicida. Atenuador de estresse. Metabolismo antioxidante. Perfil metabólico.

ABSTRACT

MACHADO, Layane Laura Costa, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, January, 2025.

Biochemical and metabolomic interactions of soybean after application of glyphosate and seaweed extract

. Adviser: Frederico Garcia Pinto. Co-adviser: Evandro Binotto Fagan.

Soybean is a crop of great importance, whose productivity is frequently affected by biotic and abiotic stresses, such as the recurrent use of herbicides, especially glyphosate. To mitigate these stresses, the use of seaweed extract (SE) has shown promise, activating defense mechanisms. Therefore, the objective of this study was to evaluate the application of SE in mitigating the stress caused by glyphosate and to identify the best application positioning. The experiment was developed between February and April 2024, in a greenhouse in Patos de Minas, Minas Gerais. The soybean variety Brasmax Olimpo IPRO (maturity group 8.0 and indeterminate growth habit) was used. Each experimental plot consisted of a 12 dm³ pot with three plants. Stress was induced at V₄, with the application of glyphosate (Roundup WG[®]) (2.0 Kg ha⁻¹ / 1.512 Kg a.i. ha⁻¹), through manual spraying. The experimental design was randomized blocks, with five treatments and six replicates, totaling 30 experimental plots: T₁ – absolute control (no application); T₂ – relative control (application of herbicide only); T₃ – SE applied five days before the herbicide; T₄ – SE applied on the same day as the herbicide and T₅ – SE applied five days after the herbicide. The SE used was *Ascophyllum nodosum* (Acadian[®]). The evaluations took place at the Núcleo de Pesquisa em Fisiologia e Estresse de Plantas and at the Grupo de Pesquisa em Análise Metabolômica. For the evaluations, leaves from the middle third of the plants were collected at 4, 8 and 12 days after the last application of the treatments (DALA). The activity of the enzymes superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and peroxidase (POD) were analyzed; hydrogen peroxide (H₂O₂) content, lipid peroxidation (PL) and the metabolomic profile of the plants. The data were tabulated and statistically analyzed. For the antioxidant metabolism data, the Speed Stat[®] software and Tukey's test were used, and for the metabolomic profile, the MetaboAnalyst 5.0[®] software and t-test were used, both at 5% significance. It was observed that T₅ presented greater SOD and POD activity at 8 and 12 DALA. T₃ presented greater POD activity at 12 DALA and greater H₂O₂ and lower PL at 4 DALA. All treatments showed a reduction in PL compared to T₁ at 8 and 12 DALA. For CAT activity, at 4 DALA all treatments showed an increase compared to T₁, which stood out

at 8 DALA while T₂ at 12 DALA. Regarding the metabolomic profile, the SE, regardless of the positioning, induced the production of some similar compounds (malonic and gluconic acids) that differed from the controls. Other compounds, such as glyoxylic acid, xylose, d-mannopyranose, mannose and citric acid, were also associated with the application of the extract. These results suggest that SE can stimulate defense mechanisms and resistance to stress, possibly due to its composition. In addition, the cultivar's resistance to the herbicide may have influenced the results. It is concluded that the application of SE can mitigate the stress caused by glyphosate, with better results when performed before or after stress.

Keywords: *Ascophyllum nodosum*. Herbicide. Stress attenuator. Antioxidant metabolism. Metabolomic profile.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Esquema de aplicação dos tratamentos realizados em soja na dissertação..	17
Figura 2 - Esquema de coleta dos tratamentos na dissertação.....	17
Figura 3 - Esquema ilustrando as análises enzimáticas realizadas.....	18
Figura 4 - Esquema ilustrando a análise de peróxido de hidrogênio realizada.....	20
Figura 5 - Esquema ilustrando a análise de peroxidação lipídica realizada.....	21
Figura 6 - Esquema ilustrando a análise de metabolômica realizada.....	22
Figura 7: Explicação da leitura dos <i>Heatmaps</i> de metabolômica.....	24
Figura 8: Visualização do estresse nas plantas após a aplicação de Glifosato.....	25
Figura 9: Visualização do estresse nas folhas após a aplicação de Glifosato.....	26
Figura 10 – Comportamento relativo da enzima SOD ao longo dos 4, 8 e 12 dias após a última aplicação.....	28
Figura 11 - Comportamento relativo da enzima CAT ao longo dos 4, 8 e 12 dias após a última aplicação.....	29
Figura 12 - Comportamento relativo da enzima POD ao longo dos 4, 8 e 12 dias após a última aplicação.....	31
Figura 13 - Comportamento relativo do teor de peróxido de hidrogênio ao longo dos 4, 8 e 12 dias após a última aplicação.....	32
Figura 14 - Comportamento relativo da peroxidação lipídica ao longo dos 4, 8 e 12 dias após a última aplicação.....	33
Figura 15 - <i>Heatmap</i> dos compostos com diferença estatística significativa (p -valor $\geq 0,05$) em suas abundâncias nas três datas de coletas nos tratamentos controle absoluto e relativo...	34
Figura 16 - <i>Heatmap</i> dos compostos com diferença estatística significativa (p -valor $\geq 0,05$) em suas abundâncias nas três datas de coletas no tratamento com extrato de algas 5 dias antes da aplicação do glifosato..	35
Figura 17 - <i>Heatmap</i> dos compostos com diferença estatística significativa (p -valor $\geq 0,05$) em suas abundâncias nas três datas de coletas no tratamento com extrato de algas no mesmo dia da aplicação do glifosato..	36
Figura 18 - <i>Heatmap</i> dos compostos com diferença estatística significativa (p -valor $\geq 0,05$) em suas abundâncias nas três datas de coletas no tratamento com extrato de algas 5 dias após a aplicação do glifosato.....	37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Tratamentos realizados em soja como parte da dissertação “Interações bioquímicas e metabolômica da soja após aplicação de glifosato e extrato de algas”.....	16
Tabela 2 - Atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) em soja aos 4, 8 e 12 dias após a última aplicação.....	27
Tabela 3 - Atividade da enzima catalase (CAT) em soja aos 4, 8 e 12 dias após a última aplicação.....	29
Tabela 4 - Atividade da enzima peroxidase (POD) em soja aos 4, 8 e 12 dias após a última aplicação.....	30
Tabela 5 - Teor de peróxido de hidrogênio (H ₂ O ₂) em soja aos 4, 8 e 12 dias após a última aplicação.....	31
Tabela 6 - Peroxidação lipídica (PL) em soja aos 4, 8 e 12 dias após a última aplicação.....	33

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	MATERIAIS E MÉTODOS	15
2.1	Descrição e caracterização do experimento	15
2.2	Avaliações	17
2.2.1	<i>Metabolismo antioxidante</i>	18
2.2.2	<i>Metabolômica</i>	21
2.2.3	<i>Análise estatística</i>	24
3	RESULTADOS	24
3.1	Resultado geral	24
3.2	Metabolismo antioxidante	27
3.2.1	<i>Enzimas antioxidantes</i>	27
3.2.2	<i>Teor de peróxido de hidrogênio (H₂O₂)</i>	31
3.2.3	<i>Peroxidação lipídica</i>	32
3.3	Metabolômica	34
3.3.1	<i>Tratamentos Controle</i>	34
3.3.2	<i>Extrato de algas (5 dias antes da aplicação do glifosato)</i>	34
3.3.3	<i>Extrato de algas (no mesmo dia da aplicação do glifosato)</i>	35
3.3.4	<i>Extrato de algas (5 dias após a aplicação do glifosato)</i>	36
4	DISCUSSÃO	37
4.1	Considerações gerais	41
5	CONCLUSÕES	42
	REFERÊNCIAS	43

1 INTRODUÇÃO

A soja [*Glycine max* (L.) Merrill] é uma cultura de destaque tanto no cenário mundial quanto brasileiro. Pode ser utilizada na indústria alimentícia, na alimentação animal, na indústria química e na produção de biocombustível (SIVASHANKARI *et al.*, 2021). Atualmente, o Brasil se destaca como maior produtor do grão, com expectativa de produtividade de mais de 166 milhões de toneladas na safra 2024/25 – aumento de 12,5% em relação à safra anterior. Apesar desse aumento, a produtividade média brasileira ainda é baixa, em torno de 58 sacas ha⁻¹ (CONAB, 2024).

A baixa produtividade média ocorre, pois, a planta está sujeita a fatores limitantes no campo, e a produtividade real depende da interação entre esses fatores e o potencial genético da cultura. Tais fatores limitantes são chamados de estresses e podem ser bióticos ou abióticos. Os estresses bióticos estão relacionados com o ataque de patógenos, pragas e a competição com outras plantas. Apesar disso, a redução de produtividade oriunda desse tipo de estresse é baixa quando comparada a redução por estresses abióticos. Esses, por sua vez, são aqueles relacionados a fatores ambientais, incluindo intensidade de radiação (alta e baixa), salinidade, déficit ou excesso de água, temperaturas extremas (altas e baixas), contaminação por metais e por agroquímicos (DE OLIVEIRA, 2019).

Entre eles, o uso de herbicidas tem causado grandes problemas nos últimos anos, em especial o uso do glifosato. Atualmente ele é o herbicida mais utilizado em todo o mundo. Trata-se de um produto sistêmico, não seletivo e usado em pós emergência. Ele atua inibindo a enzima 5-enolpruvilshikimato-3-fosfato sintase (EPSPS) e com isso bloqueia a rota do ácido chiquímico. Essa rota produz três aminoácidos aromáticos: fenilalanina, triptofano e tirosina, responsáveis pela produção de proteínas e diversos metabólitos secundários nas plantas (pigmentos, flavonóides, auxinas, fitoalexinas, lignina e taninos) (BORTOLHEIRO, *et al.* 2023). Outro efeito do glifosato é a quelatização de micronutrientes, deixando-os indisponíveis, e com isso paralisando rotas metabólicas importantes (SILVA JUNIOR, 2022). Além disso, ele é rapidamente metabolizado nas plantas (pela enzima glifosato oxidase) e no solo (por microrganismos do solo), produzindo o ácido aminometilfosfônico (AMPA). Esse ácido causa redução da biomassa seca da raiz e da parte aérea, além de redução dos teores de clorofila o que leva ao amarelecimento das folhas superiores, conhecido como efeito “*yellow flashing*”. (ANDRADE *et al.*, 2018; LIU *et al.*, 2023).

O uso de glifosato se intensificou após 1996, quando a empresa Monsanto criou a tecnologia Roundup Ready® (RR), que consiste na introdução do gene CP4 EPSPS, derivado da bactéria de solo *Agrobacterium* sp., em plantas de soja. A soja transgênica com essa tecnologia produz uma proteína EPSPs sem sensibilidade ao glifosato e não interrompe a via do ácido chiquímico. Em virtude disso, tornou-se comum o uso repetitivo desse herbicida e conseqüentemente, o aumento de plantas daninhas resistentes a ele, o que faz com que os produtores utilizem sobredoses, ou seja, doses acima do indicado (BONTEMPO, 2016; ANDRADE *et al.*, 2020; BORTOLHEIRO, *et al.* 2023).

Tal aumento na dosagem pode ser prejudicial, mesmo em plantas RR, gerando estresse oxidativo – caracterizado pelo aumento de espécies reativas de oxigênio – (GOMES; JUNEAU, 2016; PIASECKI *et al.*, 2019; SOARES *et al.*, 2019). As espécies reativas de oxigênio (ERO) são moléculas instáveis e altamente reativas, que incluem peróxido de hidrogênio (H₂O₂), radicais superóxido (O₂⁻), radicais hidroxila (OH[•]) e oxigênio singlete (¹O₂). Sua produção ocorre de maneira natural, durante os processos aeróbicos das plantas, em pequenas quantidades. Apesar disso, em concentrações elevadas podem causar dano oxidativo a proteínas, DNA e lipídios, podendo acarretar a morte celular e até mesmo a morte da planta (HASANUZZAMAN *et al.*, 2020a; SACHDEV *et al.*, 2021).

Para minimizar esses danos, as plantas apresentam um sistema de defesa, responsável pela desintoxicação celular, que consiste na ativação enzimática e na produção de metabólitos específicos. Quanto mais rápido é a ativação desse sistema, menores são os efeitos e as perdas de produtividade na cultura (FERREIRA *et al.*, 2010; WANG *et al.*, 2022). Nessa perspectiva, estudos recentes abordam o uso de bioestimulantes como substâncias atenuantes, pois possuem ação fisiológica e aceleram a reação das plantas a tais estresses. Entre as substâncias utilizadas estão substâncias húmicas, aminoácidos, hormônios, micronutrientes e extrato de algas (PANFILI *et al.*, 2019; KANATAS *et al.*, 2022).

Os extratos de algas são substâncias extraídas principalmente de algas marinhas marrons e seus efeitos variam em virtude do local de origem, espécie de alga e modo de preparo (ALAM *et al.*, 2013; CHEN *et al.*, 2023). A principal espécie utilizada é *Ascophyllum nodosum* (L.), que é obtida em condições de baixa temperatura, nos mares árticos e atlântico norte (ANDRADE *et al.*, 2018). O extrato obtido dessa alga é composto por aminoácidos, fenóis e polifenóis, betaínas, polissacarídeos, ácidos graxos, esteróides, poliaminas, substâncias análogas a hormônios vegetais, macro e micronutrientes (ANDRADE *et al.*, 2020; RINALDI *et al.*, 2023). Devido a sua composição, esse extrato é capaz de potencializar o desenvolvimento

da planta, melhorar a eficiência na absorção de nutrientes e estimular o efeito *priming*, mecanismos de defesa e resistência a estresses (PEREIRA *et al.*, 2020; ROSA *et al.*, 2020).

Esses efeitos foram observados em estudos anteriores, que mostraram resultados promissores tanto em condições normais (ALAM *et al.*, 2013) quanto em situações de estresse, (ROSA *et al.*, 2020; CHEN *et al.*, 2023; RINALDI *et al.*, 2023). Acredita-se que em situações de estresse o extrato de algas induz a resistência das plantas por meio da sinalização de ácido jasmônico, modulação das vias hormonais, alteração no metabolismo antioxidante e regulação positiva de genes e metabólitos relacionados à defesa (ALI *et al.*, 2016b; COOK *et al.*, 2018). Em relação ao metabolismo antioxidante, o extrato de algas potencializa a atividade de enzimas, como a superóxido dismutase (SOD), peroxidases (POD) e catalases (CAT) o que leva a uma redução no acúmulo de ERO e de peroxidação lipídica (HUSSEIN *et al.*, 2021). Além disso, aumenta o acúmulo de compostos como prolina, açúcares e ácidos orgânicos, que servem como osmólitos essenciais para manter o equilíbrio osmótico durante o estresse (SINGH *et al.*, 2015; GOÑI *et al.*, 2018). Quanto as alterações metabólicas, tem-se a produção de compostos primários (como os do ciclo do TCA, lipídios, aminoácidos e carboidratos) e compostos secundários (como glucosinolatos, fenilpropanóides e ácidos orgânicos), podendo variar de acordo com o tipo de estresse, cultura e órgão da planta (TRAN *et al.*, 2023).

Diante do exposto, a hipótese do estudo foi que a aplicação de extrato de algas pode mitigar o estresse causado pelo herbicida glifosato em plantas de soja, ativando o aparato antioxidante dessas. Através desta exploração, pudemos compreender qual o melhor posicionamento para a aplicação de tal substância e entender os mecanismos envolvidos na resistência a estresses.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Descrição e caracterização do experimento

O experimento foi desenvolvido entre os meses de fevereiro e abril de 2024, em casa de vegetação pertencente ao Centro Universitário de Patos de Minas (UNIPAM), no município de Patos de Minas, MG. A cultura utilizada foi a soja, variedade Brasmax Olimpo IPRO. Essa cultivar apresenta grupo de maturação 8.0 e hábito de crescimento indeterminado.

Cada parcela experimental foi composta por um vaso com capacidade de 12 dm³, preenchidos em 9 dm³ de mistura de solo e areia (3:1, v/v). Semeou-se dez sementes por vaso,

e em V₁, realizou-se o desbaste, deixando três plantas por vaso. A irrigação foi diária a fim de manter a capacidade de campo nos vasos, conforme Andrade *et al.* (2011).

Foi utilizado o herbicida glifosato, produto comercial Roundup WG[®], cuja dose recomendada para a cultura é 0,5 a 0,75 kg ha⁻¹. Para induzir o estresse na planta foi utilizada dose maior que a recomendada (2,0 kg ha⁻¹ / 1,512 kg i.a ha⁻¹), com volume de calda de 250 L ha⁻¹. A aplicação do glifosato foi realizada no estágio V₄ (quarto nó, terceiro trifólio aberto) com auxílio de pulverizador manual.

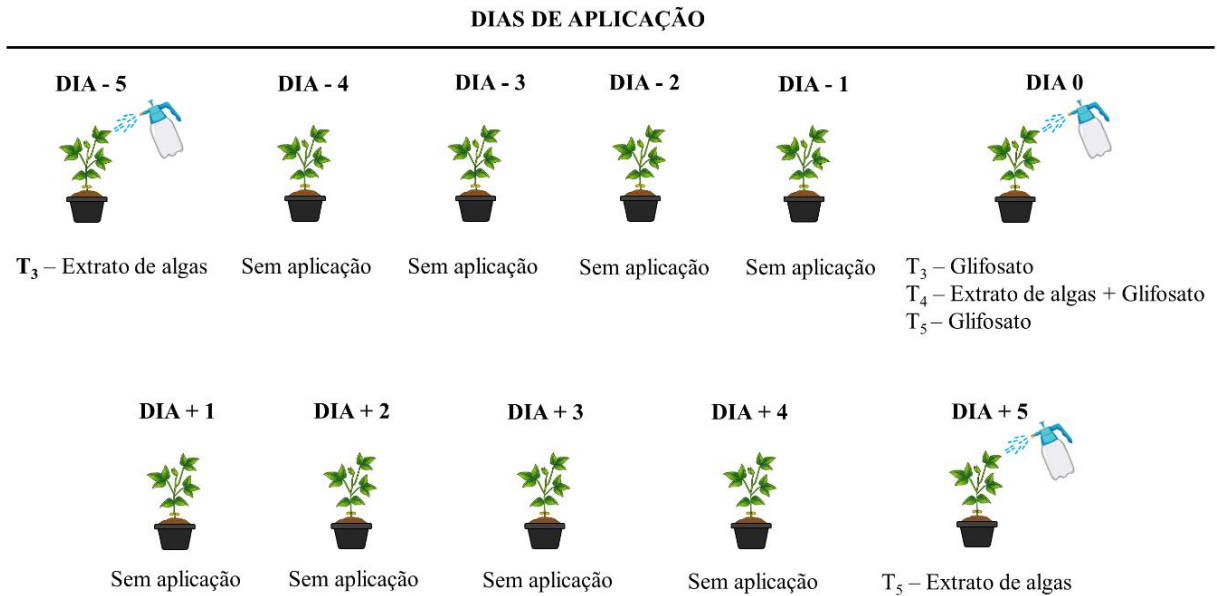
Os tratamentos consistiram na aplicação de extrato de algas em momentos distintos, além de um controle absoluto (sem aplicação foliar) e um controle relativo (com aplicação foliar de glifosato), conforme Tabela 1 e Figura 1. O delineamento adotado foi de blocos casualizados (DBC), constituído por cinco tratamentos e seis repetições, totalizando 30 parcelas experimentais.

O extrato de algas utilizado foi a base de *Ascophyllum nodosum*, sendo o produto comercial Acadian[®]. Tal produto consiste em um concentrado líquido e foi utilizado na dose de 500 mL ha⁻¹, com volume de calda de 200 L ha⁻¹.

Tabela 1 - Tratamentos realizados em soja como parte da dissertação “Interações bioquímicas e metabólica da soja após aplicação de glifosato e extrato de algas”. Universidade Federal de Viçosa – UFV Campus Rio Paranaíba, 2024.

Tratamento	Descrição
T ₁	Controle absoluto (sem aplicação foliar)
T ₂	Controle relativo (aplicação foliar de glifosato)
T ₃	Extrato de algas (5 dias após a aplicação do glifosato)
T ₄	Extrato de algas (no mesmo dia da aplicação do glifosato)
T ₅	Extrato de algas (5 dias após a aplicação do glifosato)

Figura 1 - Esquema de aplicação dos tratamentos realizados em soja na dissertação “Interações bioquímicas e metabolômica da soja após aplicação de glifosato e extrato de algas”. Universidade Federal de Viçosa – UFV Campus Rio Paranaíba, 2024.

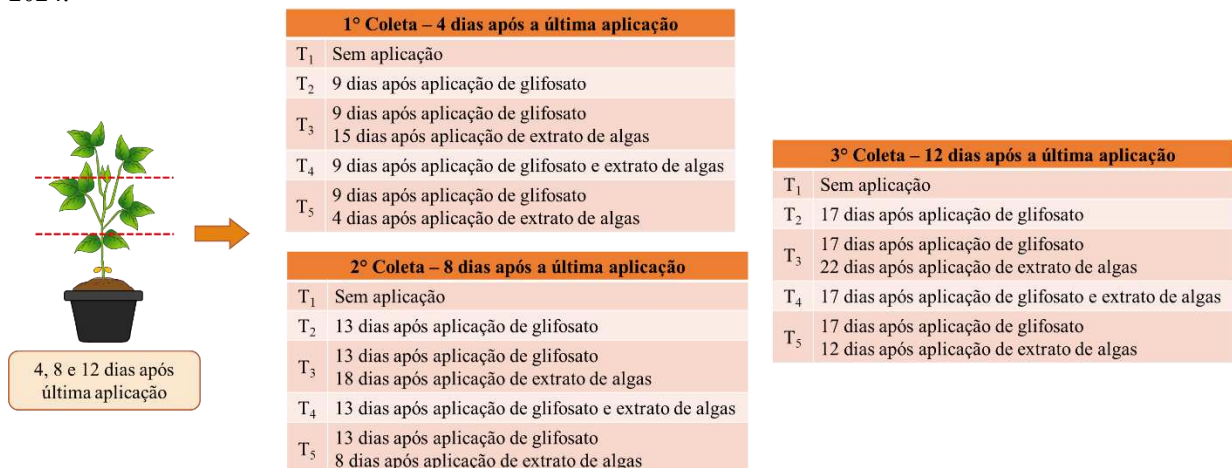


2.2 Avaliações

As avaliações foram realizadas no Núcleo de Pesquisa em Fisiologia e Estresse de Plantas (NUFEP), no UNIPAM, e no Grupo de Pesquisa em Análise Metabolômica (GPAM), da Universidade Federal de Viçosa, *Campus* Rio Paranaíba.

Foram realizadas três coletas de folhas para as análises do metabolismo antioxidante e metabolômica de plantas. As coletas foram realizadas aos quatro, oito e doze dias após a última aplicação, conforme Figura 2.

Figura 2 - Esquema de coleta dos tratamentos na dissertação “Interações bioquímicas e metabolômica da soja após aplicação de glifosato e extrato de algas”. Universidade Federal de Viçosa – UFV Campus Rio Paranaíba, 2024.



Foi coletado um trifólio do terço médio de uma planta por repetição, posteriormente condicionadas em saco plástico identificados pelo tratamento e envoltas em papel alumínio. Em seguida foram congeladas em nitrogênio líquido, com a intenção de paralisar todas as reações. Por fim, foram maceradas em nitrogênio líquido, com o auxílio de pistilo e almofariz, e mantidas em tubo Falcon previamente identificado. Um tubo foi destinado para análise do metabolismo antioxidante e outro para análise de metabolômica.

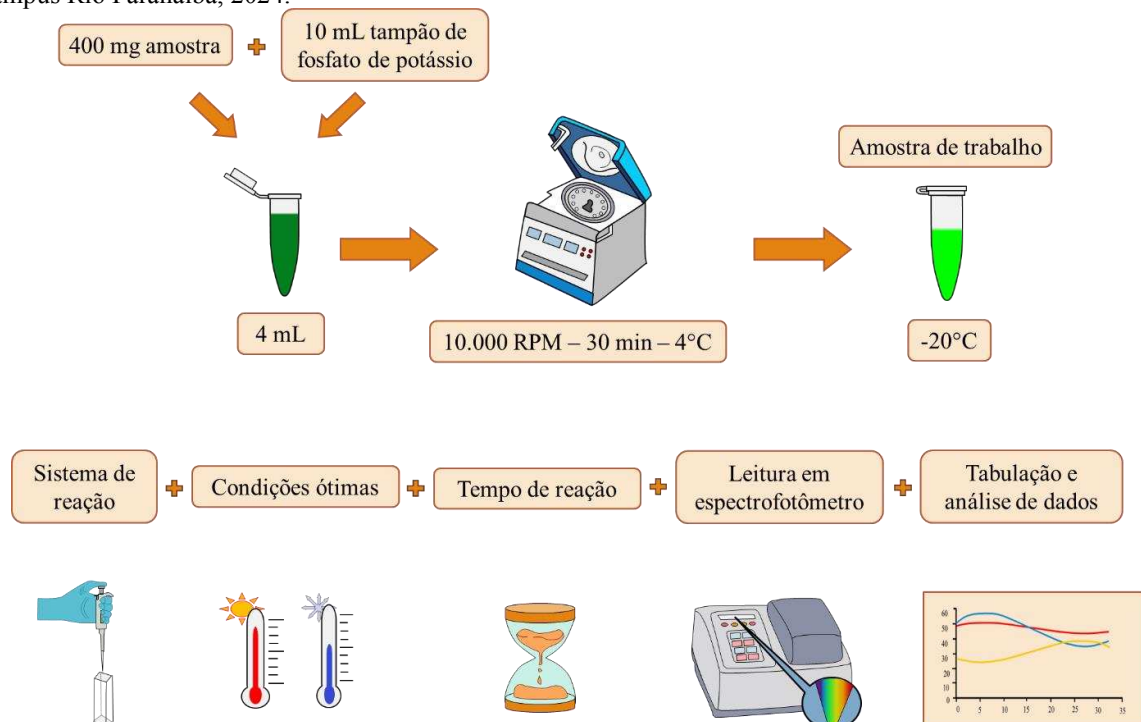
2.2.1 *Metabolismo antioxidante*

O metabolismo antioxidante foi avaliado em três etapas: i) enzimas antioxidantes; ii) teor de peróxido de hidrogênio; iii) peroxidação lipídica.

i) Enzimas antioxidantes:

Na primeira etapa, avaliou-se as enzimas antioxidantes: superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e peroxidase (POD); conforme Figura 3.

Figura 3 - Esquema ilustrando as análises enzimáticas realizadas na dissertação “Interações bioquímicas e metabolômica da soja após aplicação de glifosato e extrato de algas”. Universidade Federal de Viçosa – UFV Campus Rio Paranaíba, 2024.



Para obtenção do extrato enzimático, foi feita a pesagem de 400 mg de folha, seguida da diluição em 10 mL de tampão de fosfato de potássio ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,8). Em seguida, as amostras foram transferidas para tubos do tipo eppendorf e centrifugadas a 10.000 rpm (6.000 g) por 30 min a $4 \text{ }^\circ\text{C}$. Ao final, elas ficaram armazenadas a $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ até o uso. Após a obtenção do extrato enzimático, foram realizadas as análises enzimáticas.

A atividade da SOD foi determinada segundo a metodologia adaptada por Bor *et al.* (2003). Durante a preparação dos reagentes, todos os recipientes ficaram envolvidos com papel alumínio para evitar reação com a luz. Em um tubo de ensaio foi adicionado 2000 μL de tampão de fosfato de sódio (50 mmol L^{-1} pH 7,8), 30 μL de extrato enzimático, 450 μL de solução de Nitroblue Tetrazolium (NBT) + EDTA (5:4) e 500 μL de solução de Metionina + Riboflavina (1:1). Todas as amostras foram preparadas em duplicata. Após o preparo do sistema de reação, uma das amostras foi exposta a luz e a outra permaneceu no escuro, durante 10 min. Após esse período foram realizadas leituras de absorbância a 560 nm em espectrofotômetro. O resultado foi expresso em U mg proteína μg^{-1} de amostra.

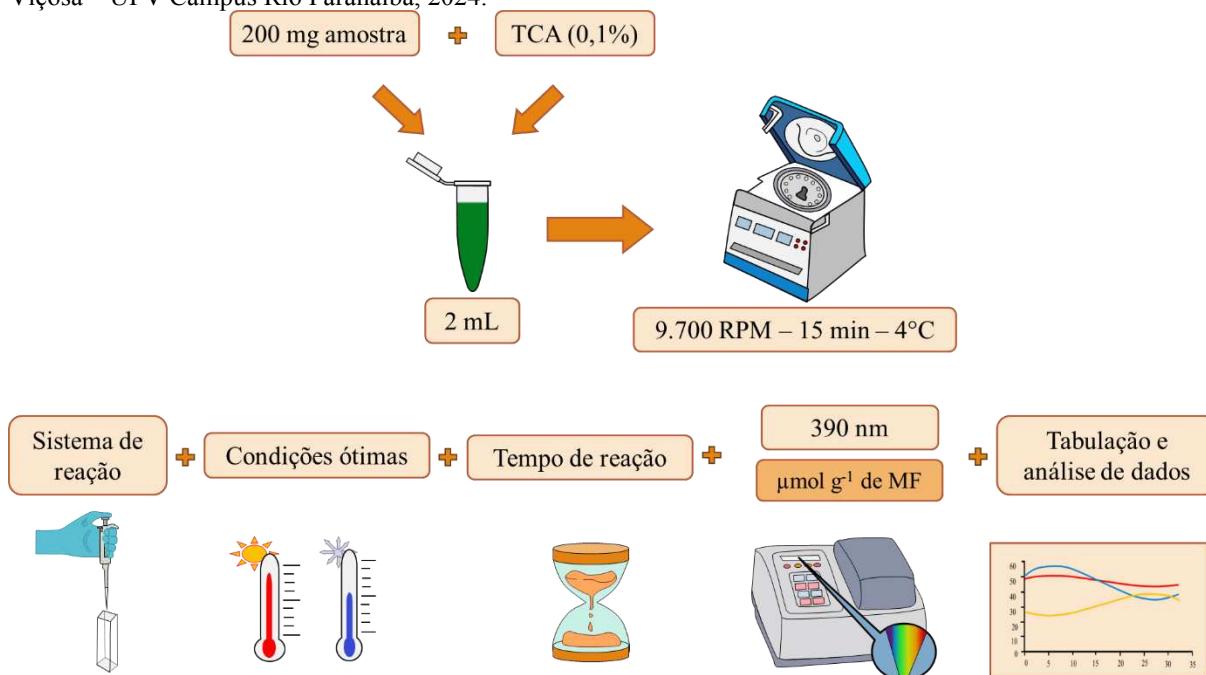
Para a determinação da atividade da CAT, 1900 μL de tampão fosfato de sódio e peróxido de hidrogênio (50 mmol L^{-1} pH 7,0 + H_2O_2 $12,5 \text{ mmol L}^{-1}$) e 100 μL de extrato enzimático foram colocados em cubeta de quartzo. Em seguida, foram feitas duas leituras em espectrofotômetro de luz ultravioleta em absorbância de 240 nm. A primeira foi realizada após 10 segundos e a última aos 50 segundos, permitindo a estabilização das leituras. Para os cálculos da atividade da enzima foi utilizado o coeficiente de extinção molar do H_2O_2 de $39,4 \text{ mmol L}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. A atividade da catalase foi expressa em nmol de H_2O_2 consumido $\text{min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ proteína (PEIXOTO *et al.*, 1999).

Determinou-se a atividade da POD de acordo com Teisseire e Guy (2000). Para isto, 500 μL de tampão fosfato de potássio (50 mmol L^{-1} pH 6,5), 30 μL de extrato enzimático, 250 μL de pirogalol (1,2,3-benzenotriol) (20 mmol L^{-1}) e 220 μL de peróxido de hidrogênio (5 mmol L^{-1}) foram adicionados em tubo de ensaio. Posteriormente, os tubos de ensaio foram deixados em repouso por 5 min à temperatura ambiente. Após esse período, a formação de purpurogalina foi determinada em espectrofotômetro UV-visível, a 430 nm. Por fim, fez-se o cálculo da atividade da enzima, utilizando coeficiente de extinção molar de $2,5 \text{ mmol L}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. A atividade da POD foi dada por μmol de purpurogalina $\text{min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ de proteína.

ii) Teor de peróxido de hidrogênio (H₂O₂)

O teor de peróxido de hidrogênio foi determinado por meio da reação com iodeto de potássio. Em meio ácido, o iodeto de potássio reage com o peróxido de hidrogênio, liberando iodo e água, formando um composto de coloração laranja-avermelhada (ALEXIEVA *et al.*, 2001). Na Figura 4 é possível observar de maneira geral como foi realizada a análise.

Figura 4 - Esquema ilustrando a análise de peróxido de hidrogênio realizada na dissertação “Interações bioquímicas e metabolômica da soja após aplicação de glifosato e extrato de algas”. Universidade Federal de Viçosa – UFV Campus Rio Paranaíba, 2024.

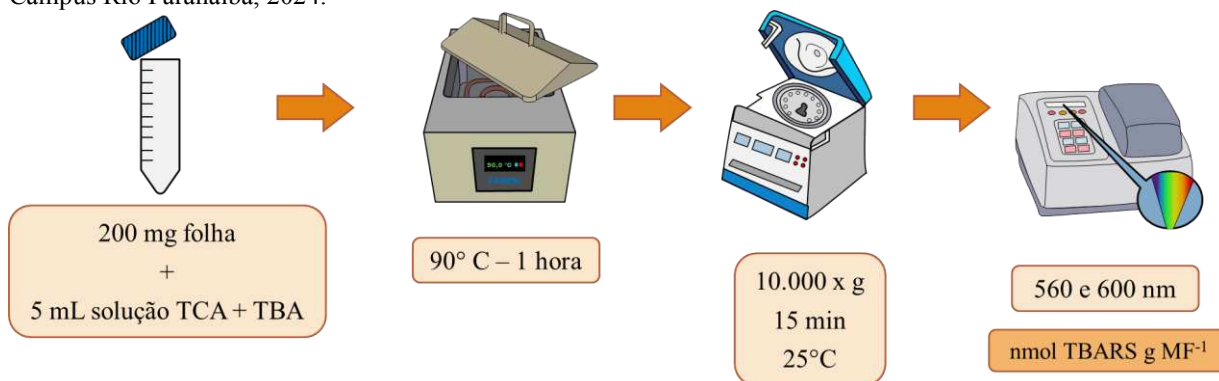


Inicialmente foi feita a extração do material vegetal, em que 200 mg de folhas foram maceradas com 1 mL de TCA (0,1%). Após homogeneização, transferiu-se as amostras para tubos e centrifugou-as a 9.700 rpm por 15 min a 4 °C. Posteriormente, foram retirados 200 μL do sobrenadante, aos quais se adicionou 200 μL de tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,5) e 800 μL de solução 1 M de KI. Também foi preparada uma amostra controle, que consistiu na mesma mistura, substituindo o extrato vegetal pelo reagente de TCA (0,1%). Os tubos com a reação permaneceram em baixa temperatura e no escuro durante uma hora. Após esse período, foi realizada a leitura das amostras em espectrofotômetro a 390 nm. A quantidade de H₂O₂ foi expressa em $\mu\text{mol g}^{-1}$ de matéria fresca.

iii) Peroxidação lipídica

Para determinação da peroxidação lipídica adotou-se a técnica de Heath e Packer (1968), conforme ilustra a Figura 5.

Figura 5 - Esquema ilustrando a análise de peroxidação lipídica realizada na dissertação “Interações bioquímicas e metabolômica da soja após aplicação de glifosato e extrato de algas”. Universidade Federal de Viçosa – UFV Campus Rio Paranaíba, 2024.

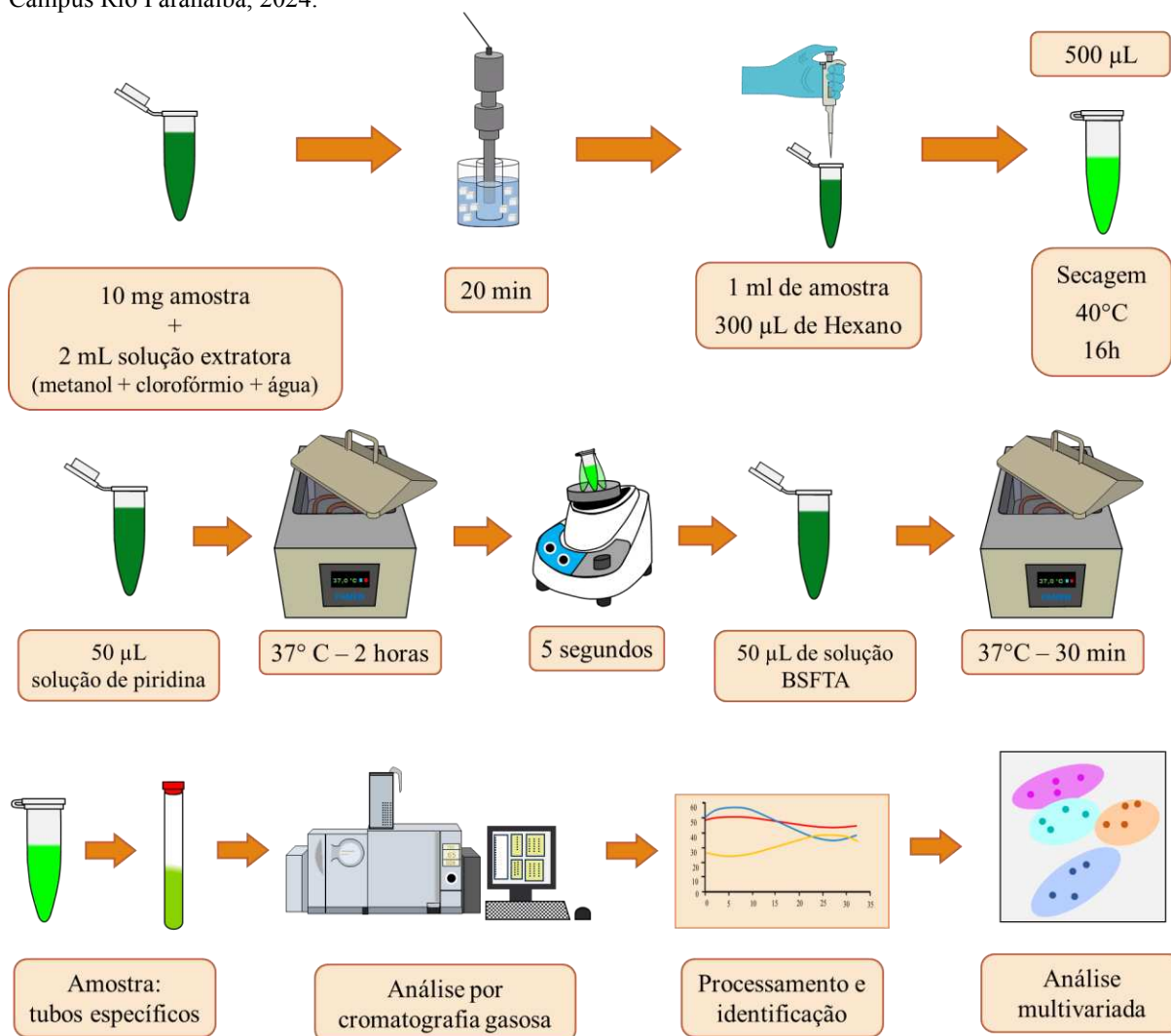


Para isto, 200 mg do material vegetal foi homogeneizado em 5 mL de solução contendo ácido tiobarbitúrico (0,25%) e ácido tricloroacético (10%). Os tubos de ensaio foram incubados em banho maria a 90 °C por uma hora. Em seguida foram mantidos em temperatura ambiente até o resfriamento. Posteriormente, o homogeneizado foi centrifugado a 10.000 x g por 15 minutos. O sobrenadante de cada amostra foi coletado e submetido a leituras de absorbância em espectrofotômetro UV-visível a 560 e 600 nm. A determinação foi feita em nmol [TBARS] g⁻¹ [MF].

2.2.2 Metabolômica

Para a análise metabolômica foi adotada metodologia adaptada por Eides *et al.* (2024), conforme Figura 6.

Figura 6 - Esquema ilustrando a análise de metabolômica realizada na dissertação “Interações bioquímicas e metabolômica da soja após aplicação de glifosato e extrato de algas”. Universidade Federal de Viçosa – UFV Campus Rio Paranaíba, 2024.



Inicialmente, foi feita a extração utilizando 10 mg de folha e 2 mL de solução extratora a base de metanol (MeOH), clorofórmio (CHCl₃) e água ultra-pura (3:1:1), com 25 µL/mL de Adonitol Purex como padrão interno. As amostras, juntamente com a solução extratora, foram submetidas a agitação em disruptor de células (L-Beader 6 Loccus[®]), operando a 3500 rpm em ciclos de 60 segundos de agitação intercalados com 30 segundos de repouso. Esse processo foi auxiliado por esferas de aço inoxidável de 2,8 mm de diâmetro, após a agitação, 1 mL do sobrenadante foi transferido para novos microtubos e acrescentou-se 300 µL de Hexano (P.A). Em seguida, as amostras foram mantidas em repouso por 3 minutos e 500 µL do meio foram retirados e colocados em microtubos para secagem em concentrador de amostras a 40 °C ao longo de 16 horas.

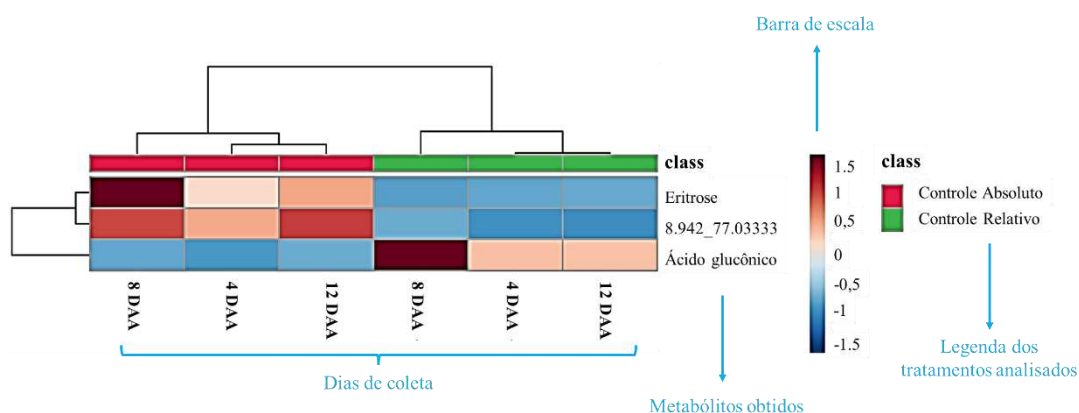
Após a secagem das amostras, fez-se a derivatização, capaz de modificar o caráter hidrofóbico/hidrofílico ou ainda, melhorar a relação massa carga das moléculas alvo. Essa etapa nem sempre é necessária, mas geralmente é utilizada para transformar os compostos não voláteis em compostos voláteis, facilitando a análise e melhorando a identificação dos compostos. Para isso, foram adicionados 50 μL de solução de piridina (a base de hidrocloreto de metoxiamina e piridina – 20 mg/mL) e em seguida as amostras foram mantidas em bloco concentrador a 37°C por 2 horas. Posteriormente, as amostras foram agitadas em vórtex por 5 segundos, seguido da adição de 50 μL de solução BSFTA [Bis (trimethylsilyl) trifluoroacetamide]. As amostras foram mantidas em repouso a 37 °C por 30 minutos para garantir a completa derivatização. Em seguida, as alíquotas derivatizadas foram transferidas para frascos de 2 mL contendo inserções redutoras de volume de 200 μL , preparadas para análise por GC-MS.

A análise foi realizada por cromatografia gasosa, utilizando espectrômetro de massas acoplado (GCMS-QP2010, Shimadzu, Kyoto, Japão), equipado com coluna capilar DB-5MS (30 m \times 250 μm diâmetro interno). A temperatura de injeção de amostras utilizada foi de 300 °C, com fluxo constante de gás hélio de 1,0 mL/min durante todo o processo. A temperatura inicial para separação cromatográfica foi de 80°C, sendo mantida por 2 minutos. Posteriormente, realizou-se o aumento da temperatura em 5°C a cada minuto, até a temperatura máxima de 315°C. Essa temperatura foi mantida por 5 minutos.

Os cromatogramas obtidos foram processados por meio do software MS-DIAL. Em seguida, os metabólitos foram anotados baseando-se na biblioteca NIST de acordo com a razão massa/carga dos fragmentos obtidos (TSUGAWA *et al.*, 2015). Alguns metabólitos encontrados ainda não fazem parte do banco de dados da biblioteca, porém foram identificados no trabalho por: “tempo de retenção_espectro de massa”, para que possam ser usados em trabalhos futuros, caso já constem na biblioteca de metabólitos.

Nos *Heatmaps* de metabolômica, a barra de escala indica a variação dos valores obtidos, em que azul representa valores menores, branco representa valores próximos de zero e vermelho valores mais altos. A escala apresentada vai de -1,5 a 1,5 indicando o quanto o valor é maior ou menor em relação ao grupo comparado. Essa escala é proporcional ao *fold change* (FC). Na Figura 7 é possível observar a leitura completa dos *Heatmaps*.

Figura 7: Explicação da leitura dos *Heatmaps* de metabolômica utilizados na dissertação “Interações bioquímicas e metabolômica da soja após aplicação de glifosato e extrato de algas”. Universidade Federal de Viçosa – UFV Campus Rio Paranaíba, 2024.



2.2.3 Análise estatística

Após a realização das análises foi feita a tabulação dos dados. As análises estatísticas dos dados de análises metabolômicas foram realizadas pelo software MetaboAnalyst 5.0 com uso do teste-t com p -valor $< 0,05$ sendo tomado como significativo e uso do *fold change* (FC) para avaliação da magnitude dos dados (XIA; WISHART, 2016). Nas demais análises, os dados foram submetidos a análise de homoscedasticidade e normalidade. Posteriormente, realizou-se análise de variância e, quando significativa, as médias foram comparadas entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância, com o auxílio do Software Speed Stat® (CARVALHO *et al.*, 2020). Para as avaliações do metabolismo antioxidante realizou-se também a tabulação dos dados relativos, comparando os tratamentos com o controle absoluto.

3 RESULTADOS

3.1 Resultado geral

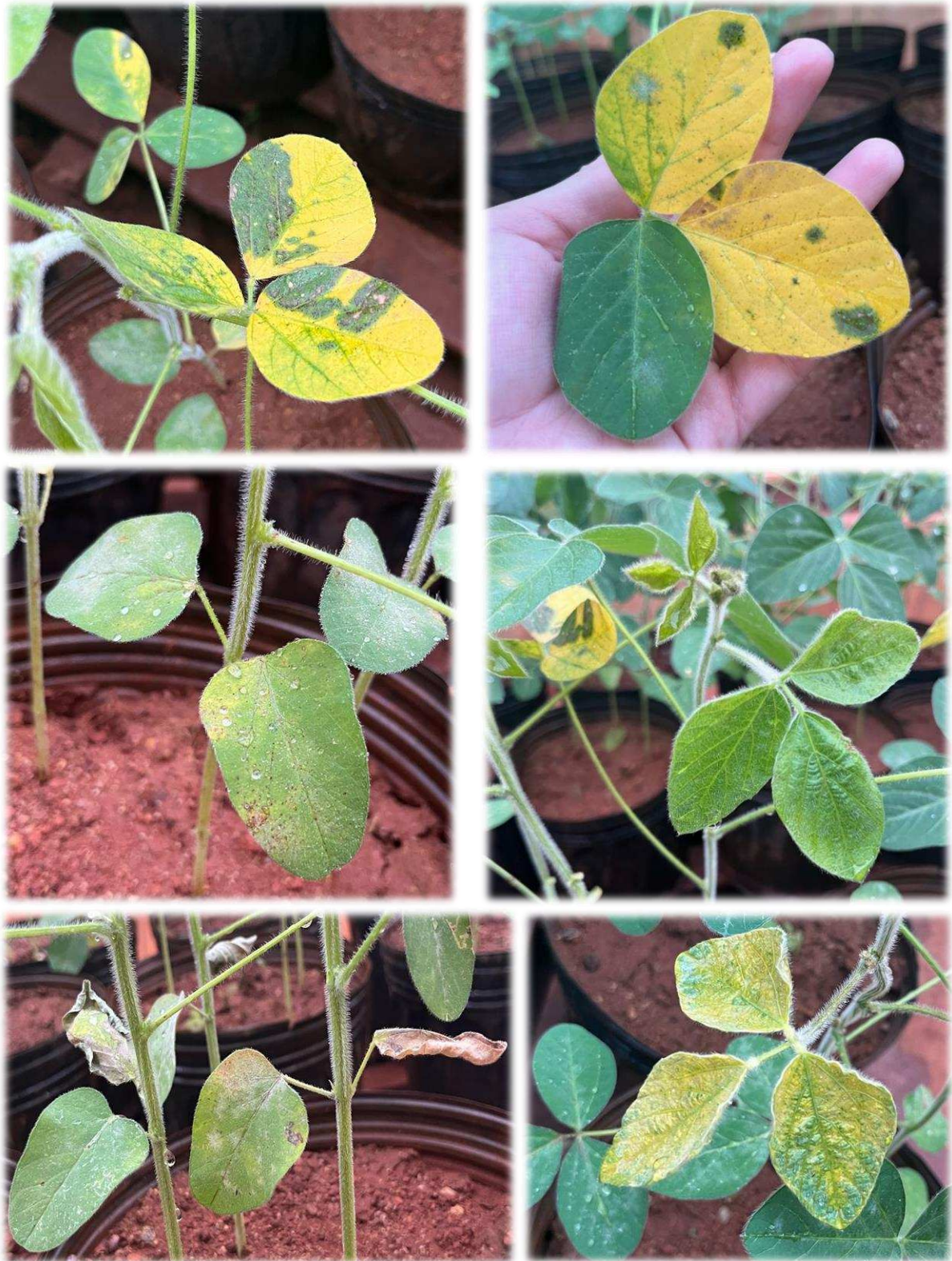
De maneira geral, o uso do glifosato causou estresse oxidativo nas plantas, conforme verifica-se nas Figuras 8 e 9. Visualmente, foi possível notar redução na altura de plantas, bem como desenvolvimento da parte aérea, com área foliar pouco desenvolvida (Figura 8).

Figura 8: Visualização do estresse nas plantas após a aplicação de Glifosato na dissertação “Interações bioquímicas e metabolômica da soja após aplicação de glifosato e extrato de algas”. Universidade Federal de Viçosa – UFV Campus Rio Paranaíba, 2024.



Além disso, foi observado clorose, encarquilhamento, necrose e pontos de fitotoxidez, quando aplicado o herbicida (Figura 9). Esses efeitos foram observados principalmente nas plantas sem aplicação do extrato de algas e nas plantas em que o extrato de algas foi aplicado 5 dias após o herbicida.

Figura 9: Visualização do estresse nas folhas após a aplicação de Glifosato na dissertação “Interações bioquímicas e metabolômica da soja após aplicação de glifosato e extrato de algas”. Universidade Federal de Viçosa – UFV Campus Rio Paranaíba, 2024.



3.2 Metabolismo antioxidante

3.2.1 Enzimas antioxidantes

i) Superóxido dismutase (SOD)

Para a enzima superóxido dismutase foram observados resultados distintos ao longo dos dias (Tabela 2). Aos quatro dias, não houve diferença significativa entre os tratamentos. Já aos oito e doze dias, destacou-se a aplicação do extrato de algas cinco dias após a aplicação de glifosato. Aos oito dias, esse tratamento apresentou aumento médio de 22,92% na atividade da enzima quando comparado aos demais tratamentos. Já aos doze dias, ele proporcionou aumento de 10,65%; quanto ao controle absoluto, enquanto os demais tratamentos apresentaram redução.

Tabela 2 - Atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) em soja aos 4, 8 e 12 dias após a última aplicação. “Interações bioquímicas e metabólica da soja após aplicação de glifosato e extrato de algas”. Universidade Federal de Viçosa – UFV Campus Rio Paranaíba, 2024.

Trat	Descrição	Atividade da SOD (U mg proteína μg^{-1})		
		4 DAA	8 DAA	12 DAA
T ₁	Controle absoluto**	20,78 ns*	16,16 b*	21,66 b*
T ₂	Controle relativo***	19,72	17,02 b	19,00 c
T ₃	Extrato de algas (5 dias antes da aplicação do glifosato)	18,97	15,34 b	16,82 d
T ₄	Extrato de algas (no mesmo dia da aplicação do glifosato)	17,29	16,87 b	17,23 cd
T ₅	Extrato de algas (5 dias após a aplicação do glifosato)	17,12	21,20 a	23,97 a
	CV (%)	12,39	6,92	6,04
	DMS (U mg proteína μg^{-1})	4,02	2,07	2,06

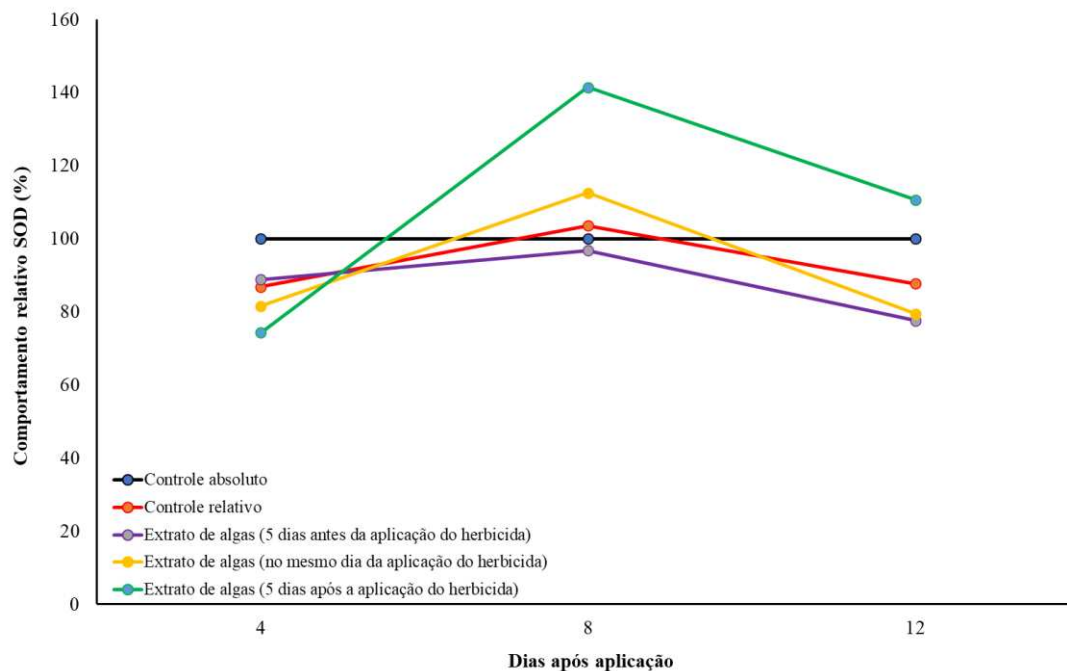
*Médias seguidas de mesma letra na vertical, não diferem entre si pelo teste de Tukey a nível de 5% de significância.

** Sem aplicação foliar

*** Aplicação foliar de glifosato

Na Figura 10 é possível observar melhor o comportamento relativo da atividade da SOD entre os tratamentos. Nota-se que inicialmente todos os tratamentos apresentavam atividade menor que o controle absoluto. Posteriormente, o controle relativo e o uso de extrato de algas no mesmo dia e cinco dias após o glifosato apresentaram aumento, sendo que o uso de extrato de algas cinco dias após o glifosato manteve-se relativamente maior aos 12 dias após a aplicação.

Figura 10 – Comportamento relativo da enzima SOD ao longo dos 4, 8 e 12 dias após a última aplicação.



ii) Catalase (CAT)

Para a atividade da catalase (Tabela 3), inicialmente (4 dias após aplicação) houve aumento significativo em todos os tratamentos, em média de 190% quanto ao controle absoluto, que manteve a atividade enzimática baixa. Posteriormente, aos oito dias, os tratamentos conservaram a atividade da enzima, enquanto houve um aumento para o controle absoluto. Assim, os tratamentos foram semelhantes entre si, com decréscimo médio de 25,58% em relação a ele. Por fim, aos doze dias, o controle relativo aumentou a atividade enzimática (média de 38,74%) enquanto o controle absoluto apresentou redução e se igualou aos demais tratamentos.

Tabela 3 - Atividade da enzima catalase (CAT) em soja aos 4, 8 e 12 dias após a última aplicação. “Interações bioquímicas e metabólica da soja após aplicação de glifosato e extrato de algas”. Universidade Federal de Viçosa – UFV Campus Rio Paranaíba, 2024.

Trat	Descrição	Atividade da CAT (nmol de H ₂ O ₂ consumido min ⁻¹ mg ⁻¹ proteína)		
		4 DAA	8 DAA	12 DAA
T ₁	Controle absoluto**	13,03 b*	41,02 a*	34,83 b*
T ₂	Controle relativo***	36,71 a	31,33 b	54,21 a
T ₃	Extrato de algas (5 dias antes da aplicação do glifosato)	38,29 a	31,99 b	31,30 b
T ₄	Extrato de algas (no mesmo dia da aplicação do glifosato)	41,18 a	30,86 b	29,44 b
T ₅	Extrato de algas (5 dias após a aplicação do glifosato)	35,15 a	27,93 b	37,27 b
	CV (%)	13,81	14,74	14,63
	DMS (nmol de H ₂ O ₂ consumido min ⁻¹ mg ⁻¹ proteína)	7,84	8,31	9,46

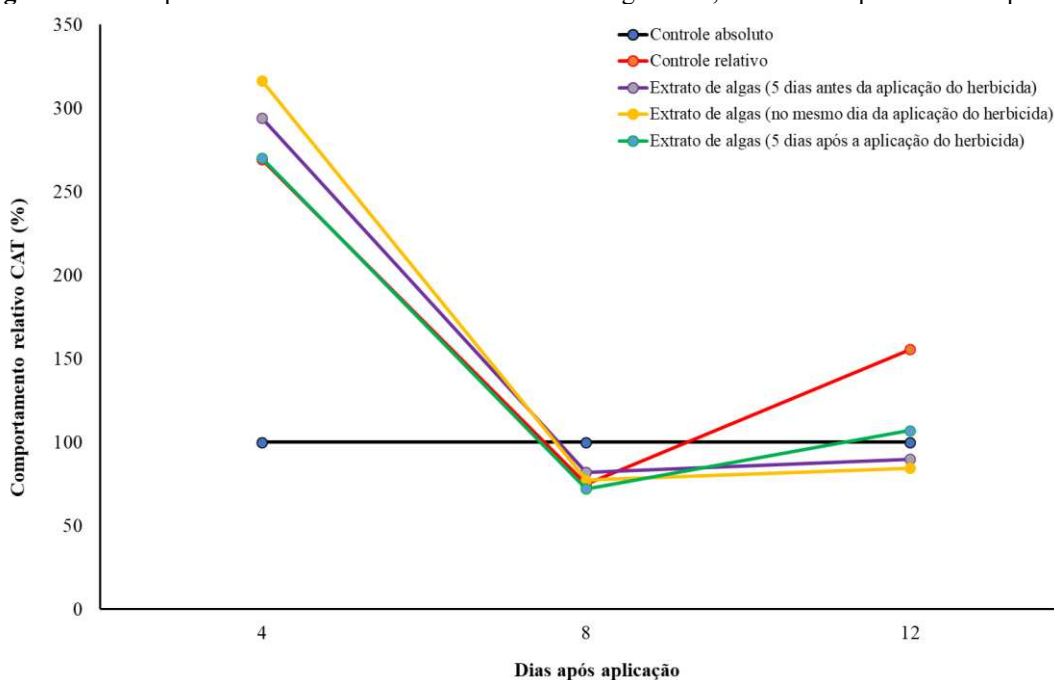
*Médias seguidas de mesma letra na vertical, não diferem entre si pelo teste de Tukey a nível de 5% de significância.

** Sem aplicação foliar

*** Aplicação foliar de glifosato

Na Figura 11 observa-se que inicialmente, aos 4 dias, todos os tratamentos apresentaram atividade relativamente maior que o controle absoluto. Já aos 8 dias, houve o inverso. Enquanto que aos 12 dias, o controle relativo e o uso de extrato de algas 5 dias após o glifosato apresentaram aumento relativo.

Figura 11 - Comportamento relativo da enzima CAT ao longo dos 4, 8 e 12 dias após a última aplicação.



iii) Peroxidase (POD)

Quanto a atividade da peroxidase (Tabela 4), não foi observada diferença significativa entre os tratamentos aos quatro dias após aplicação. Aos oito dias destacou-se a aplicação de extrato de algas cinco dias após o estresse, com aumento de 73,40% quando comparado ao controle absoluto. Por fim, aos doze dias, a aplicação de extrato de algas aos cinco dias antes e aos cinco dias após o estresse, potencializaram a atividade enzimática em 36,10% e 30,77% quanto ao controle absoluto.

Tabela 4 - Atividade da enzima peroxidase (POD) em soja aos 4, 8 e 12 dias após a última aplicação. “Interações bioquímicas e metabólica da soja após aplicação de glifosato e extrato de algas”. Universidade Federal de Viçosa – UFV Campus Rio Paranaíba, 2024.

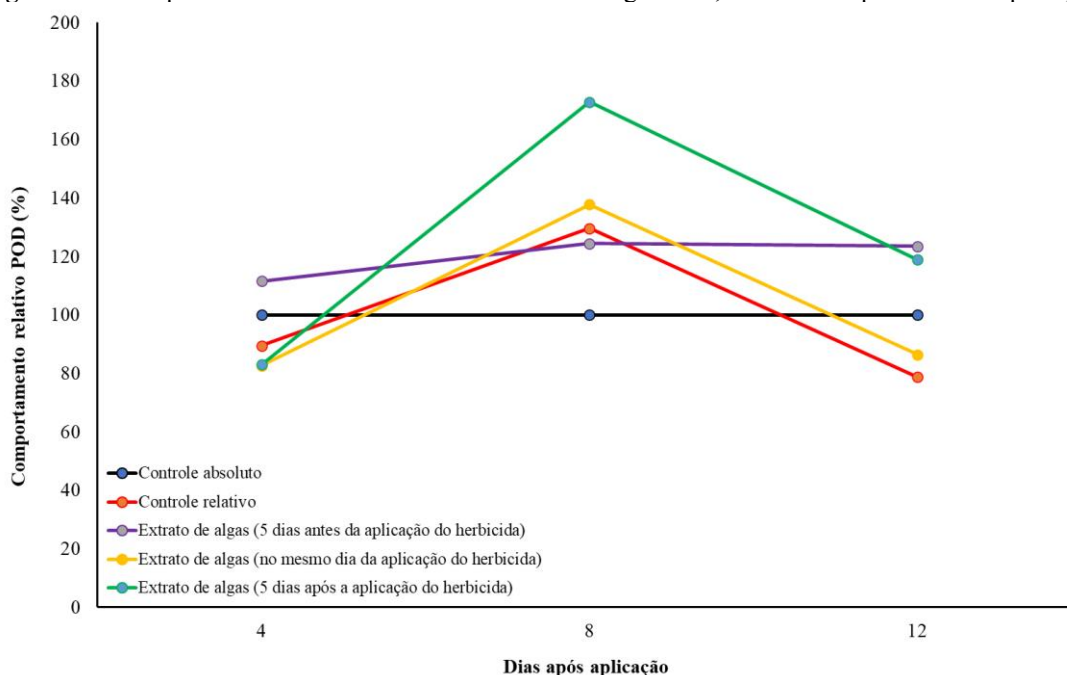
Trat	Descrição	Atividade da POD ($\mu\text{mol de purpurogalina min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{ de proteína}$)		
		4 DAA	8 DAA	12 DAA
T ₁	Controle absoluto**	1,54 ns*	0,94 c*	1,69 b*
T ₂	Controle relativo***	1,38	1,22 bc	1,46 b
T ₃	Extrato de algas (5 dias antes da aplicação do glifosato)	1,72	1,19 bc	2,30 a
T ₄	Extrato de algas (no mesmo dia da aplicação do glifosato)	1,27	1,31 ab	1,61 b
T ₅	Extrato de algas (5 dias após a aplicação do glifosato)	1,28	1,63 a	2,21 a
	CV (%)	25,73	15,24	9,86
	DMS ($\mu\text{mol de purpurogalina min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{ de proteína}$)	0,64	0,33	0,32

*Médias seguidas de mesma letra na vertical, não diferem entre si pelo teste de Tukey a nível de 5% de significância.

** Sem aplicação foliar

*** Aplicação foliar de glifosato

Na Figura 12 é possível observar que o uso de extrato de algas cinco dias antes do glifosato apresentou aumento relativo em todos os dias, quanto ao controle absoluto. Além disso, houve um pico na atividade enzimática aos 8 dias, em que todos os tratamentos foram relativamente maiores que o controle absoluto e por fim (aos 12 dias) apresentaram nova redução. Aos 12 dias o uso de extrato de algas cinco dias após o glifosato também se manteve relativamente maior que o controle absoluto.

Figura 12 - Comportamento relativo da enzima POD ao longo dos 4, 8 e 12 dias após a última aplicação.

3.2.2 Teor de peróxido de hidrogênio (H_2O_2)

Para o teor de peróxido de hidrogênio (Tabela 5), notou-se diferença entre os tratamentos apenas aos quatro dias após a aplicação, em que o uso de extrato de algas cinco dias antes do estresse apresentou 19,84% a mais de H_2O_2 que o controle absoluto.

Tabela 5 - Teor de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em soja aos 4, 8 e 12 dias após a última aplicação. “Interações bioquímicas e metabólica da soja após aplicação de glifosato e extrato de algas”. Universidade Federal de Viçosa – UFV Campus Rio Paranaíba, 2024.

Trat	Descrição	Teor de peróxido de hidrogênio ($\mu\text{mol g}^{-1}$ de matéria fresca)		
		4 DAA	8 DAA	12 DAA
T ₁	Controle absoluto**	24,24 b*	26,06 ns*	26,01 ns*
T ₂	Controle relativo***	26,36 ab	29,06	28,69
T ₃	Extrato de algas (5 dias antes da aplicação do glifosato)	29,05 a	28,42	30,04
T ₄	Extrato de algas (no mesmo dia da aplicação do glifosato)	26,20 ab	28,13	28,61
T ₅	Extrato de algas (5 dias após a aplicação do glifosato)	26,95 ab	30,21	26,72
	CV (%)	8,50	12,18	10,45
	DMS ($\mu\text{mol g}^{-1}$ de matéria fresca)	3,90	5,97	5,06

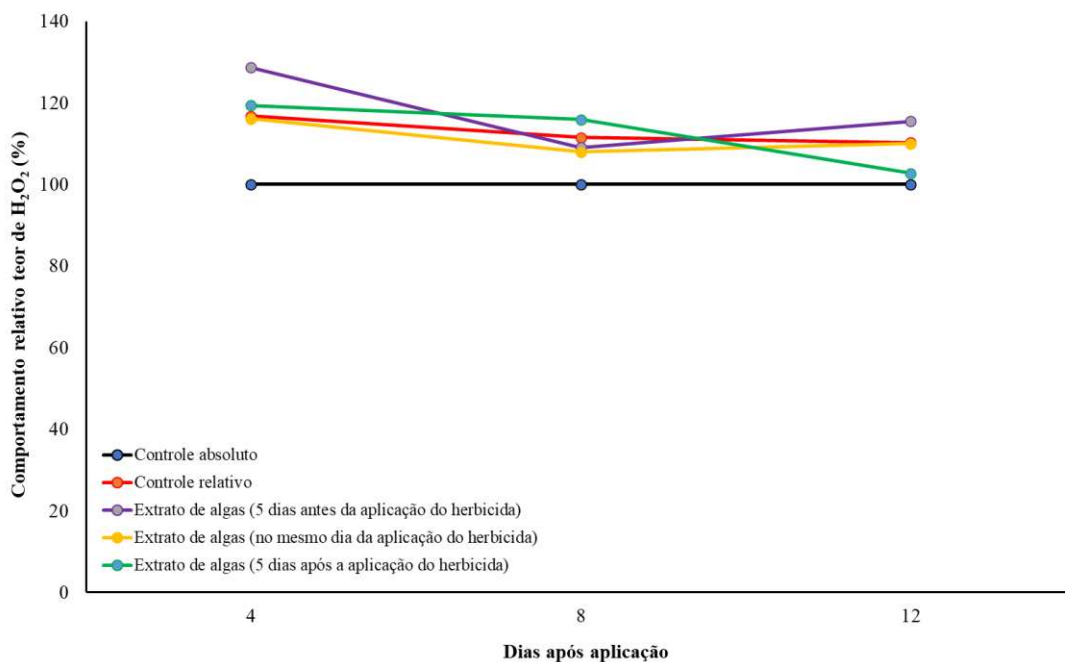
*Médias seguidas de mesma letra na vertical, não diferem entre si pelo teste de Tukey a nível de 5% de significância.

** Sem aplicação foliar

*** Aplicação foliar de glifosato

Na Figura 13, é possível observar que todos os tratamentos foram relativamente maiores que o controle absoluto. Apesar disso, a diferença entre eles reduziu ao longo dos dias, pois houve pouca alteração na concentração de H_2O_2 nos tratamentos, mas houve aumento para o controle absoluto.

Figura 13 - Comportamento relativo do teor de peróxido de hidrogênio ao longo dos 4, 8 e 12 dias após a última aplicação.



3.2.3 Peroxidação lipídica

Para a peroxidação lipídica (Tabela 6) aos quatro dias, a aplicação de extrato de algas cinco dias antes do estresse mostrou aumento (7%) em relação ao controle relativo e a aplicação de extrato de algas no mesmo dia do estresse. Já aos oito e doze dias após a aplicação, foram obtidos resultados semelhantes entre os todos os tratamentos com aplicação, com redução média de 10,71% e 11,83% respectivamente para os dois dias, comparado ao controle absoluto.

Tabela 6 - Peroxidação lipídica (PL) em soja aos 4, 8 e 12 dias após a última aplicação. “Interações bioquímicas e metabólica da soja após aplicação de glifosato e extrato de algas”. Universidade Federal de Viçosa – UFV Campus Rio Paranaíba, 2024.

Trat	Descrição	Peroxidação lipídica (nmol [TBARS] g ⁻¹ [MF])		
		4 DAA	8 DAA	12 DAA
T ₁	Controle absoluto**	112,55 ab*	141,68 a*	153,53 a*
T ₂	Controle relativo***	109,96 b	128,99 b	135,40 b
T ₃	Extrato de algas (5 dias antes da aplicação do glifosato)	118,40 a	130,38 b	136,28 b
T ₄	Extrato de algas (no mesmo dia da aplicação do glifosato)	109,99 b	123,04 b	133,49 b
T ₅	Extrato de algas (5 dias após a aplicação do glifosato)	113,88 ab	123,63 b	136,32 b
	CV (%)	3,61	3,72	3,77
	DMS (nmol [TBARS] g ⁻¹ [MF])	7,04	8,32	9,06

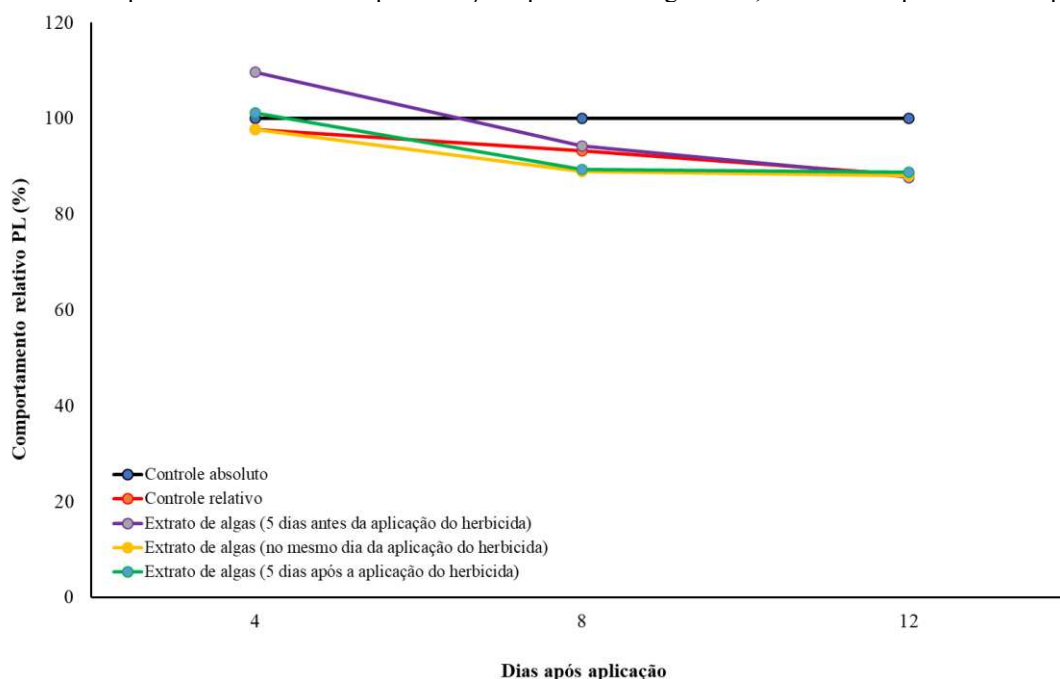
*Médias seguidas de mesma letra na vertical, não diferem entre si pelo teste de Tukey a nível de 5% de significância.

** Sem aplicação foliar

*** Aplicação foliar de glifosato

Analisando a Figura 14, observa-se que inicialmente (aos quatro dias), com uso de extrato de algas cinco dias antes e após o glifosato houve relativamente maior peroxidação lipídica. Apesar disso, nos demais dias, o controle absoluto apresentou maior peroxidação.

Figura 14 - Comportamento relativo da peroxidação lipídica ao longo dos 4, 8 e 12 dias após a última aplicação



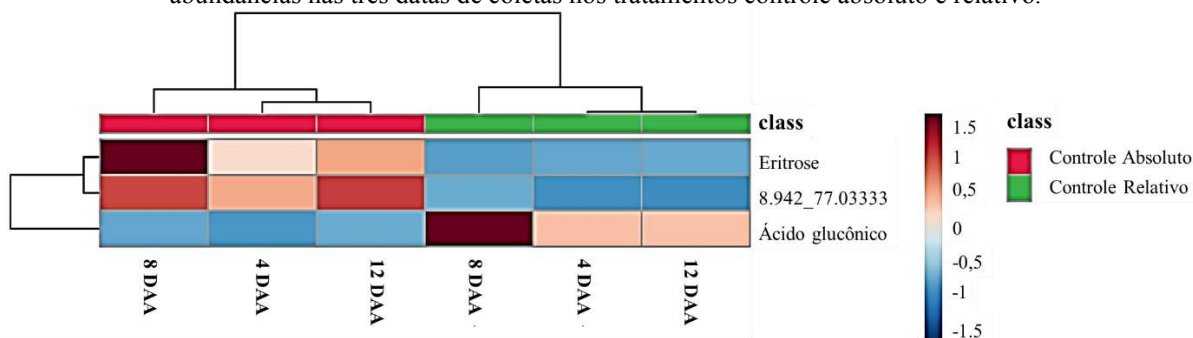
3.3 Metabolômica

Para a metabolômica de plantas os tratamentos foram analisados de maneira isolada, visando demonstrar melhor os resultados obtidos. Assim, fez-se a comparação entre os controles (absoluto x relativo) e de cada tratamento (o uso de extrato de algas 5 dias antes, no mesmo dia e 5 dias após da aplicação do glifosato) com ambos os controles.

3.3.1 Tratamentos Controle

Na comparação entre os tratamentos de controle absoluto e relativo nas três datas de coleta, foram detectados 308 compostos, sendo que apenas três deles apresentaram diferença estatisticamente significativa. Dois desses compostos foram identificados como ácido glucônico ($p = 0,021223$; $FC = 0,07742$), com maior abundância no controle absoluto, e Eritrose ($p = 0,025831$; $FC = 24,099$), com maior abundância no controle relativo. Ambos os compostos apresentaram maior abundância na coleta aos oito dias (Figura 15).

Figura 15 - Heatmap dos compostos com diferença estatística significativa (p -valor $\geq 0,05$) em suas abundâncias nas três datas de coletas nos tratamentos controle absoluto e relativo.



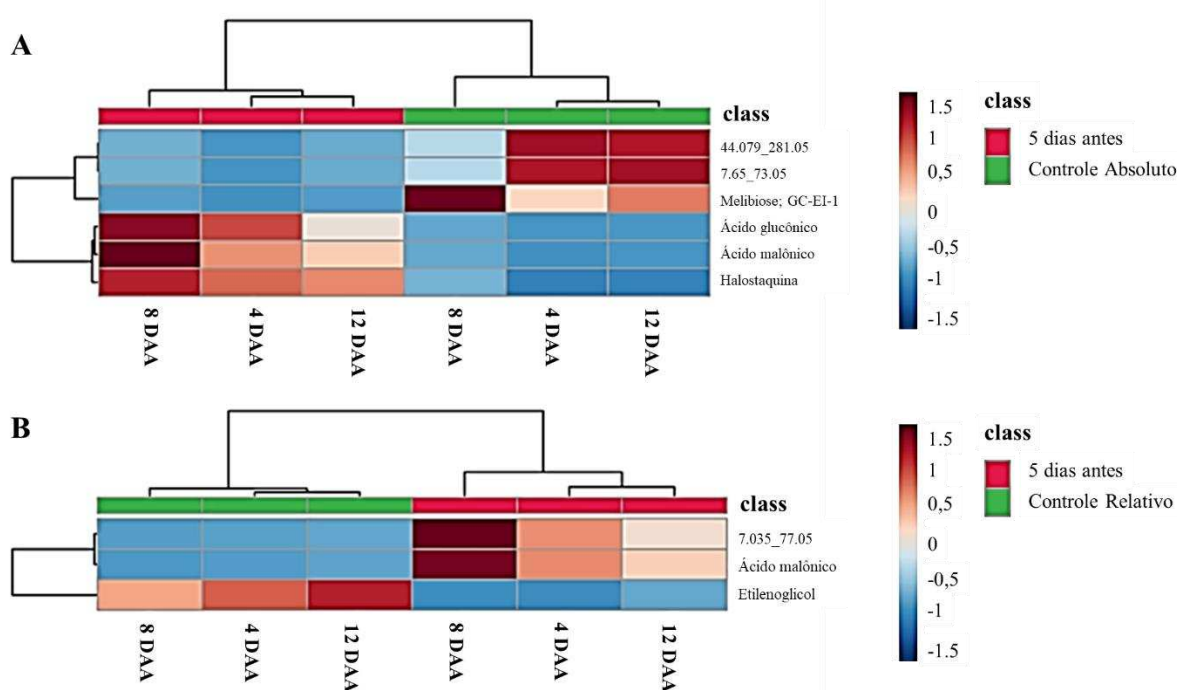
3.3.2 Extrato de algas (5 dias antes da aplicação do glifosato)

Na análise do tratamento com a aplicação do extrato de algas cinco dias antes da aplicação do glifosato, comparado ao controle absoluto nas três datas de coleta, foram encontrados 303 compostos, seis dos quais apresentaram diferença significativa. Entre os compostos identificados estão Halostaquina ($p = 0,000799$; $FC = 6622,2$), Ácido malônico ($p = 0,014406$; $FC = 10,709$) e Ácido glucônico ($p = 0,016839$; $FC = 20,993$), todos com maior abundância nas plantas que receberam o extrato cinco dias antes da aplicação do glifosato. Já a Melibiose ($p = 0,01311$; $FC = 0,037343$) apresentou maior abundância no controle. Essas

diferenças de abundância foram encontradas na comparação dos grupos na segunda coleta (Figura 16a).

Quando comparado o tratamento ao controle relativo, foram encontrados 309 compostos, mas apenas três apresentaram diferença significativa. Dentre esses, foram identificados Etilenoglicol ($p = 0,00106$; $FC = 0,0000004$), com maior abundância no controle relativo com coleta aos 12 dias, e ácido malônico ($p = 0,012139$; $FC = 11,776$), mais abundante no tratamento com coleta aos oito dias (Figura 16b).

Figura 16 - Heatmap dos compostos com diferença estatística significativa (p -valor $\geq 0,05$) em suas abundâncias nas três datas de coletas no tratamento com extrato de algas 5 dias antes da aplicação do glifosato. a) Comparação entre extrato de algas 5 dias antes da aplicação de glifosato e o controle absoluto b) Comparação entre extrato de algas 5 dias antes da aplicação de glifosato e o controle relativo.

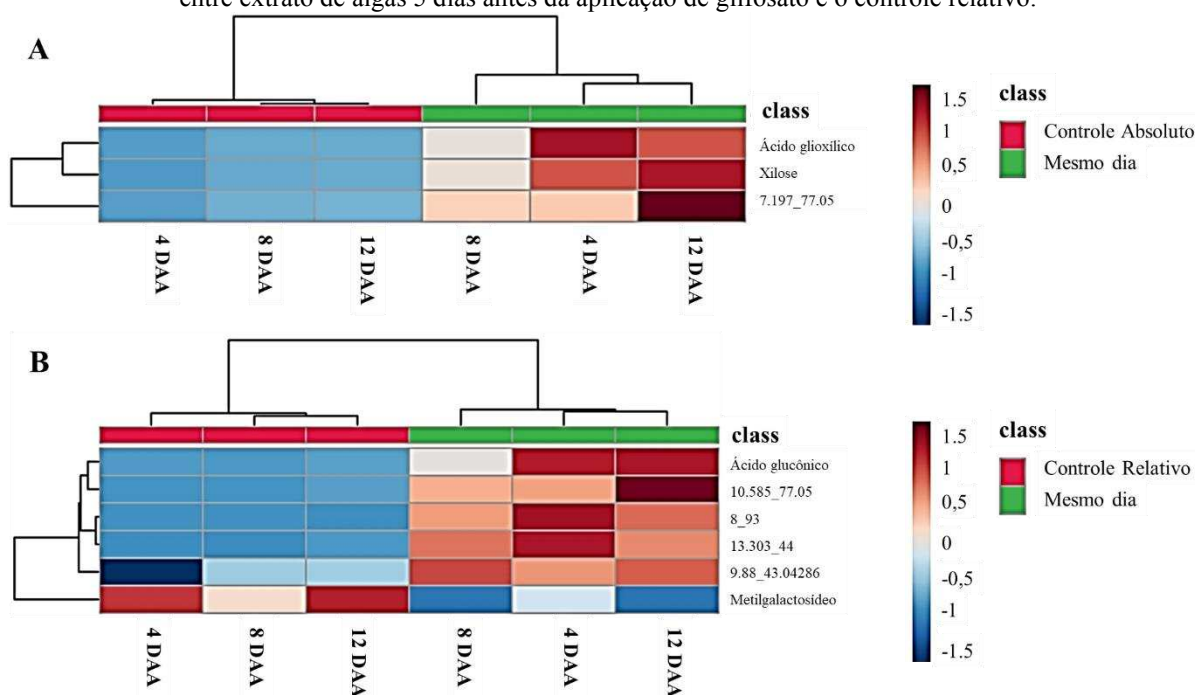


3.3.3 Extrato de algas (no mesmo dia da aplicação do glifosato)

Na análise do tratamento que recebeu a aplicação do extrato no mesmo dia do herbicida, comparado ao controle absoluto nas três datas de coleta, foram encontrados 294 compostos, dos quais três apresentaram diferença significativa. Foram identificados dois desses compostos: Ácido glioxílico ($p = 0,019216$; $FC = 0,057869$), que apresentou maior abundância nas plantas que receberam a aplicação do extrato no mesmo dia do glifosato na coleta de quatro dias, e Xilose ($p = 0,015969$; $FC = 0,034998$), que apresentou maior abundância na coleta de doze dias (Figura 17a).

Na comparação com o controle relativo, foram encontrados 303 compostos, dos quais seis apresentaram diferença significativa. Entre os compostos identificados estão o Ácido glucônico ($p = 0,018481$; $FC = 0,018362$), com maior abundância no grupo que recebeu a aplicação do extrato no mesmo dia do glifosato, e Metil galactosídeo ($p = 0,026457$; $FC = 14,386$), com maior abundância no controle relativo (Figura 17b).

Figura 17 - Heatmap dos compostos com diferença estatística significativa (p -valor $\geq 0,05$) em suas abundâncias nas três datas de coletas no tratamento com extrato de algas no mesmo dia da aplicação do glifosato. a) Comparação entre extrato de algas 5 dias antes da aplicação de glifosato e o controle absoluto b) Comparação entre extrato de algas 5 dias antes da aplicação de glifosato e o controle relativo.



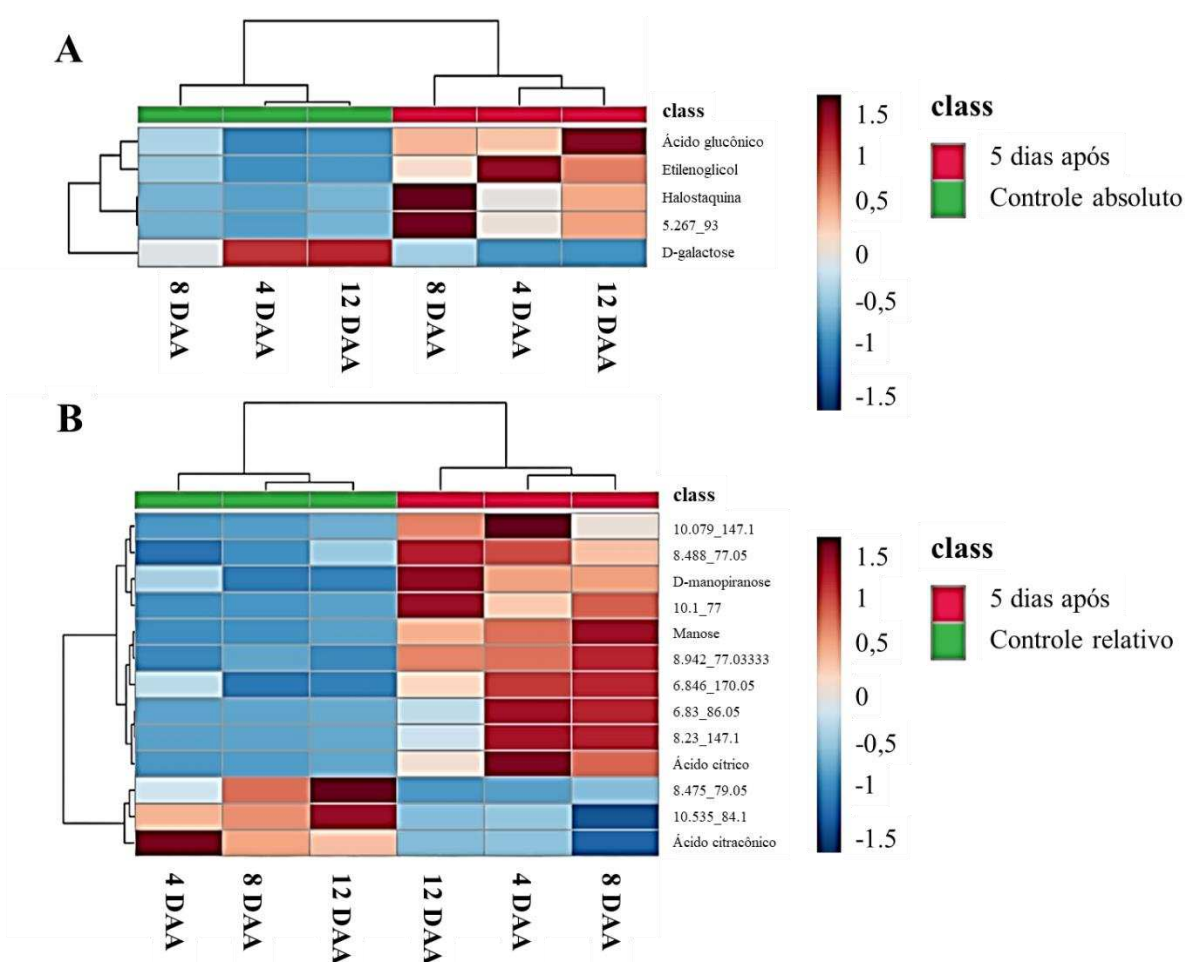
3.3.4 Extrato de algas (5 dias após a aplicação do glifosato)

Quando comparado o tratamento que recebeu o extrato de algas 5 dias após a aplicação do glifosato, foram encontrados 372 compostos, dos quais cinco apresentaram diferença significativa. Entre os compostos identificados estão: Ácido glucônico ($p = 0,022017$; $FC = 299,15$) na coleta de doze dias, Etilenoglicol ($p = 0,023017$; $FC = 5047,4$) na coleta de quatro dias, e Halostaquina ($p = 0,04477$; $FC = 45,624$) na coleta de oito dias, todos com maior abundância no tratamento. A D-galactose ($p = 0,02623$; $FC = 0,020158$) apresentou maior abundância no controle nas coletas de quatro e doze dias (Figura 18a).

Na análise do tratamento comparado ao controle relativo, foram identificados 383 compostos, dos quais treze apresentaram diferença significativa. Entre os compostos

identificados com maior abundância na coleta de quatro dias do grupo controle estão o Ácido citracônico ($p = 0,019426$; $FC = 0,036896$). Com maior abundância no tratamento, foram identificados a D-manopiranoose ($p = 0,0089543$; $FC = 69,355$), Manose ($p = 0,0026775$; $FC = 8,0648$) e o Ácido cítrico ($p = 0,016913$; $FC = 25,145$) (Figura 18b).

Figura 18 - Heatmap dos compostos com diferença estatística significativa (p -valor $\geq 0,05$) em suas abundâncias nas três datas de coletas no tratamento com extrato de algas 5 dias após a aplicação do glifosato. a) Comparação entre extrato de algas 5 dias antes da aplicação de glifosato e o controle absoluto b) Comparação entre extrato de algas 5 dias antes da aplicação de glifosato e o controle relativo.



4 DISCUSSÃO

Ao analisar os resultados obtidos, foi observado que ocorreu o estresse da planta de soja pela aplicação do glifosato. Esse estresse foi observado visualmente nas plantas, e apesar dos resultados obtidos para peroxidação lipídica não evidenciarem o estresse notou-se alteração no metabolismo antioxidante e na metabolômica das plantas, em que os tratamentos com uso de extrato de algas 5 dias antes e 5 dias após a aplicação do glifosato apresentaram maiores diferenças. De maneira geral, ocorreu aumento na atividade enzimática e alteração na produção

de metabólitos na planta com a aplicação do glifosato. Além disso, observa-se um aumento no teor de peróxido de hidrogênio inicialmente, que reduz ao longo dos dias e se assemelha ao controle sem aplicação. Esse aumento possivelmente desencadeou alterações fisiológicas, potencializando o sistema de defesa das plantas e impedindo o aumento da peroxidação lipídica.

Além disso, Gill e Tuteja (2010), afirmam que entre as espécies reativas de oxigênio, o uso do glifosato aumenta principalmente a produção do radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$). Esse radical é quebrado pela enzima superóxido dismutase, sendo essa a primeira linha de defesa da planta, que o transforma em oxigênio (O_2) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Em seguida, enzimas como a catalase e a peroxidase atuam sobre o H_2O_2 , transformando-o em água e oxigênio. Isso pode ilustrado pelo resultado obtido por Rosa *et al.* (2020), em que o uso de extrato de algas potencializou a atividade da SOD em condições de estresse hídrico.

Apesar disso, no presente estudo, a aplicação do herbicida, não proporcionou aumento significativo na atividade da SOD, o que pode estar relacionado ao efeito quelatizante do glifosato, que deixa alguns micronutrientes ativadores da enzima indisponíveis (SILVA JUNIOR, 2022). Também pode ser explicado pela eficiência de outras formas de defesa, como a enzima catalase e peroxidase, que apresentaram aumento na atividade, mas de maneira alternada. Notou-se que a atividade da catalase apresentou aumento inicial (aos 4 dias) e nos demais dias houve redução na atividade dessa enzima, enquanto a atividade da peroxidase apresentou menor atividade inicial e posteriormente esse comportamento foi invertido, fazendo com que a atividade da peroxidase sofresse um aumento.

Essas alterações no metabolismo antioxidante foram abordadas em diversas pesquisas, demonstrando maior tolerância de plantas em estado de estresse após o uso de extrato de algas, em especial quando submetidas ao estresse hídrico. Rosa *et al.* (2020) verificaram que após serem submetidas a estresse hídrico, plantas de soja tratadas com extrato de algas apresentaram maior taxa fotossintética, mais mecanismos para dissipar energia e maior atividade enzimática. Santaniello *et al.* (2017) também verificaram melhor desempenho em plantas tratadas com extrato de algas quando submetidas ao estresse hídrico. Esses autores realizaram a aplicação do extrato de algas antes de submeter as plantas ao estresse, e perceberam maior controle estomático e valores relativamente mais altos de eficiência no uso da água além de ativar o sistema de defesa antioxidante mais rápido que as plantas não tratadas. Chen *et al.* (2023), em estudo com cana de açúcar perceberam que a aplicação de extrato de algas marinhas melhorou as atividades de enzimas antioxidantes, incluindo SOD, CAT e POD, nas raízes e aliviou o dano oxidativo das raízes causado pelo estresse hídrico. Ainda, Rinaldi *et al.* (2023), observaram que

o uso de extrato de algas, com aplicação em cova e foliar, pode reduzir a penetração e o desenvolvimento de *Meloidogyne javanica* na soja.

Em relação as alterações metabólicas ocorridas na planta após a aplicação do herbicida, foram encontradas alterações na abundância de compostos que podem estar associados à ação do glifosato de inibir a síntese de tirosina, triptofano e fenilalanina. Esses aminoácidos participam de vias metabólicas responsáveis pela produção de diversos fitohormônios e de metabólitos específicos para respostas de defesa de plantas (BORTOLHEIRO *et al.*, 2023).

Entre os resultados obtidos, nota-se alguns compostos intermediários, demonstrando que ainda não haviam terminado o ciclo, como o ácido glucônico e malônico. Quando aplicado o extrato de algas, independente da época de aplicação, esses compostos apresentaram diferença estatística significativa. Eles estão relacionados a produção de ácidos graxos e metabólitos secundários, além de rotas alternativas de fotossíntese e respiração.

O ácido malônico participa da biossíntese e metabolismo de ácidos graxos, metabolismo de piridina e de beta-alanina e também em rotas metabólicas diversas. Ele é um inibidor competitivo da enzima succinato desidrogenase, que atua convertendo o succinato em fumarato, no ciclo de Krebs (LEHNINGER, 1986). Em estudos com *Digitalis lanata*, Igamberdiev e Eprintsev (2016) demonstraram que esse ácido, metabolizado a partir do malonil-CoA, serve como precursor de lipídios neutros, ácidos graxos, hormônios e metabólitos cardenolídeos relacionados à defesa. Além disso, Li e Copeland (2000) propuseram, em estudo com estresse hídrico, que o ácido malônico atua como um composto defensivo, aumentando a tolerância das plantas.

Já o ácido glucônico, participa da via das pentoses fosfato, metabolismo de carbono, metabolismo microbiano em diversos ambientes, rotas metabólicas e biossíntese de metabólitos secundários. Além de atuar na regulação osmótica e melhorar a absorção de nutrientes, esse ácido participa da neoglicogênese, rota que transforma lipídios em açúcares. A relação desse ácido com a resistência a estresse em plantas é pouco estudada, porém diversas pesquisas apontam seu aumento em situações de estresse ou após o uso de indutores de resistência. Em estudo realizado por Wang *et al.* (2021), foram observadas altas concentrações de ácido glucônico em *Poa crymophila*, espécie que se adapta bem a temperaturas altas/baixas e ao déficit hídrico. Em outro estudo, Mishra *et al.* (2025), notaram aumento no ácido glucônico em situação de déficit hídrico após o uso de bioestimulantes derivados de plantas, tanto de forma isolada quanto em associação. Ainda, Oubaha *et al.* (2024) observaram que após a inoculação da cepa de *Bacillus siamensis*, em condições de estresse salino houve exudação de ácido

glucônico. Esse resultado também corrobora com Gupta e De (2024), que analisaram diferentes variedades de arroz tolerantes ao estresse salino e observaram alterações em diversos compostos, sendo um deles o ácido glucônico.

Além desses compostos mais frequentes, foram observados outros compostos quando se utilizou o extrato de algas, sendo: ácido glioxílico, xilose, d-manopirranose, manose e ácido cítrico. O ácido glioxílico, por sua vez, é um intermediário metabólico no ciclo do glioxilato, que é um processo capaz de converter ácidos graxos em carboidratos. Esse ciclo é também um atalho no ciclo do ácido tricarboxílico, que segundo Tran *et al.* (2023), é a principal via regulada positivamente pelo uso do extrato de algas. Isso leva ao acúmulo dos principais metabólitos do ciclo, que inclui o ácido cítrico, que também pode desencadear respostas de defesa em plantas sob estresse (CHELE *et al.*, 2021).

Já os açúcares xilose e manose também podem ter associação com a defesa contra estresse. Estudos anteriores observaram mudanças na concentração de xilose em plantas submetidas a diferentes estresses abióticos (LE GALL *et al.*, 2015; VIANA *et al.*, 2022). No trabalho realizado por Viana *et al.* (2022), foi notado um aumento em 190% no teor de xilose em canola sob estresse salino. Já a manose, é utilizada como substrato para a obtenção de manitol, que é um osmoprotetor produzido em situações de estresse, principalmente sob estresse hídrico e salino (MANIMARAN *et al.*, 2011; FREIRE *et al.*, 2013).

Ao analisar os tratamentos controle (absoluto e relativo), também notou-se diferença, em que o controle com aplicação de glifosato apresentou maiores níveis de eritrose. Esse aumento pode ser explicado pela ação do glifosato na planta. Isso ocorre, pois, trata-se de um composto intermediário do metabolismo de carbono, que reage com o Fosfoenol-piruvato e é utilizado na regeneração da ribulose-1,5-bifosfato (RUBISCO) no ciclo de Calvin. Quando o glifosato é aplicado, um efeito secundário é o aumento da atividade da enzima 3-deoxi-D-arabino-heptulose-7-fosfato sintase (DAHPS), que cataliza a condensação de eritrose-4-fosfato e fosfoenol-piruvato. Isso corrobora com o acúmulo do chiquimato e desregula a rota, levando a um dreno de carbono no ciclo de Calvin. Com a rota desregulada, ocorre a redução na produção de sacarose e de proteínas essenciais pro centro de reações do fotossistema II (KRUSE, TREZZI, VIDAL, 2000; MESCHÉDE *et al.*, 2011; YANNICCARI *et al.*, 2012).

Em estudo realizado por Omidbakhshfard (2020), foram obtidos resultados semelhantes em plantas de *Arabidopsis thaliana*. Os autores verificaram que o uso de extrato de algas antes de estresse oxidativo pelo herbicida paraquat pode corroborar com a regulação positiva de vários genes de defesa das plantas. Além disso, as análises metabolômicas

demonstraram acúmulo de maltose (metabólito protetor contra estresses) e alguns intermediários do ciclo do ácido tricarbóxico (fumarato e malato).

Outro composto encontrado em alguns tratamentos foi o etilenoglicol. Provavelmente essa é uma molécula residual do glifosato, por se tratar de um composto anticongelante, comum na indústria (MILLER, 1969). Os efeitos dessa molécula nas plantas ainda são desconhecidos, mas baseando-se nos resultados obtidos no trabalho, é possível que seja uma molécula geradora de estresse.

De maneira geral, os efeitos observados podem estar relacionados a composição do extrato de *Ascophyllum nodosum* (L.), que é rico em aminoácidos, fenóis e polifenóis, betainas, polissacarídeos, ácidos graxos, esteróides, poliaminas, substâncias análogas a hormônios vegetais, macro e micronutrientes (ANDRADE *et al.*, 2020; RINALDI *et al.*, 2023). Essa composição pode, entre outras coisas, estimular mecanismos de defesa e resistência a estresses (PEREIRA *et al.*, 2020; ROSA *et al.*, 2020). Os resultados obtidos evidenciam que tanto o metabolismo antioxidante quanto a metabólômica podem ser influenciados positivamente pelo uso do extrato de algas, sendo a resposta variável conforme o posicionamento da aplicação.

Para finalizar, é importante ressaltar que a cultivar utilizada no estudo apresenta resistência ao glifosato, o que minimiza a degradação das membranas, mesmo em sobredoses, como adotado no estudo (BORTOLHEIRO *et al.*, 2023). Assim, parte dos resultados obtidos pode ser em virtude dessa característica da cultivar.

4.1 Considerações gerais

Os resultados obtidos no trabalho apresentam grande importância não só científica, mas também prática, pois podem auxiliar na tomada de decisão de produtores no campo. Baseando-se nos resultados obtidos, tem-se que a melhor forma de manejo é a aplicação do extrato antes ou após o estresse. Contudo, é comum o uso de caldas de aplicação com vários produtos, e o produtor realiza a aplicação do extrato de algas, geralmente nesses momentos, quando há compatibilidade de produtos. Em casos em que não há compatibilidade, o produtor raramente utilizará o extrato de algas, apenas em situações de alto nível de estresse, em torno de 3 a 4 dias após essa situação. O uso de extrato de algas antes da aplicação de produtos fitossanitários é pouco utilizado, principalmente em virtude dos custos de aplicação. Isso torna-se interessante pois após o estresse a planta inicia os mecanismos de compensação, e a aplicação posteriormente possibilita um pico de desenvolvimento.

Além disso, é importante ressaltar que o extrato de algas é uma molécula sinalizadora, em que ocorre a ativação e repressão de diversos genes a partir da situação em que a planta estiver. Isso ocorre devido ao extrato de algas ativar rotas metabólicas distintas em cada situação e com isso alterar o perfil metabolômico das plantas. Ou seja, em plantas estressadas há a ativação de alguns genes que não são ativados em plantas não estressadas; da mesma forma, em situações distintas de estresse outros metabólitos são produzidos

Apesar das inferências do trabalho, ainda é necessário a realização de mais estudos nesse sentido, com outras culturas e em outras situações. Em estudos futuros, seria interessante a realização de trabalhos em campo, com maiores parcelas. Isso possibilitaria maior quantidade de coletas e dias de aplicação, visando criar uma linha do tempo maior e analisar o comportamento das plantas de maneira mais detalhada. Além disso, seria importante analisar o desenvolvimento fenológico das plantas (como massa seca, número de nós e vagens) bem como a produtividade. Pensando em resultados práticos para os produtores, também poderia ser feita a análise dos custos operacionais e o lucro gerado em cada uma das formas de manejo.

5 CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos no estudo, é possível concluir que a aplicação de extrato de algas pode ajudar na mitigação do estresse causado pelo herbicida glifosato em plantas de soja, ativando o aparato antioxidante dessas e alterando seu perfil metabolômico. Além disso, a aplicação prévia ou posterior ao estresse pode apresentar resultados positivos em comparação a aplicação no momento do estresse.

REFERÊNCIAS

- ALAM, M. Z., BRAUN, G., NORRIE, J., HODGES, D. M. Effect of *Ascophyllum* extract application on plant growth, fruit yield and soil microbial communities of strawberry. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 93, n. 1, p. 23-36, 2013.
- ALEXIEVA, V.; SERGIEV, I.; MAPELLI, S.; KARANOV, E. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. **Plant, Cell & Environment**, v. 24, n. 12, p. 1337-1344, 2001.
- ANDRADE, C. L. L., DA SILVA, A. G., MELO, G. B., FERREIRA, R. V., MOURA, I. C. S., SIQUEIRA, G. G. Bioestimulantes derivados de *Ascophyllum nodosum* associados ao glyphosate nas características agrônômicas da soja RR[®]. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 17, n. 3, p. 592-1-10, 2018.
- ANDRADE, C. L. L. D., SILVA, A. G. D., Braz, G. B. P., OLIVEIRA JÚNIOR, R. S. D., Simon, G. A. Performance of soybeans with the application of glyphosate formulations in biostimulant association. **Revista Caatinga**, v. 33, p. 371-383, 2020.
- ANDRADE, R. D. S.; STONE, L. F. Estimativa da umidade na capacidade de campo em solos sob Cerrado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 15, p. 111-116, 2011.
- BONTEMPO, A. F., ALVES, F. M., CARNEIRO, G. D. O. P., MACHADO, L. G., SILVA, L. O. D.; AQUINO, L. A. Influência de bioestimulantes e nutrientes na emergência e no crescimento inicial de feijão, soja e milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 15, n. 1, p. 86-93, 2016.
- BOR M.; OZDEMIR F.; TURKAN I. The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in leaves of sugar beet *Beta vulgaris* L. and wild beet *Beta maritima* L. **Plant Science**, v.164, n. 1, p. 77-84, 2003.
- BORTOLHEIRO, F. P. A. P.; BRUNELLI-NASCENTES, M. C.; SANTOS, H. L.; SILVA, M. A. Increased hormetic dose of glyphosate causes oxidative stress and reduces yield in common bean. **Plant Stress**, v. 10, p. 100231, 2023.
- CARVALHO, A. M. X. D.; MENDES, F. Q.; MENDES, F. Q.; TAVARES, L. D. F. SPEED Stat: a free, intuitive, and minimalist spreadsheet program for statistical analyses of experiments. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 20, n. 3, p. e327420312, 2020.
- CHELE, K. H.; STEENKAMP, P.; PIATER, L. A.; DUBERY, I. A.; HUYSER, J.; TUGIZIMANA, F. A global metabolic map defines the effects of a Si-based biostimulant on tomato plants under normal and saline conditions. **Metabolites**, v. 11, n. 12, p. 820, 2021.
- CHEN, D., LI, Z., YANG, J., ZHOU, W., WU, Q., SHEN, H., AO, J. Seaweed extract enhances drought resistance in sugarcane via modulating root configuration and soil physicochemical properties. **Industrial Crops and Products**, v. 194, p. 116321, 2023.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO- CONAB, 2023. **Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos**. v. 12 - SAFRA 2024/25- n.2 – Segundo levantamento. Novembro, 2024.

DE OLIVEIRA, A. B. (Ed.). **Abiotic and Biotic Stress in Plants**. IntechOpen. BoD–Books on Demand. Londres, Reino Unido, 2019.

EIDES, J. R. Metabolomics as a Tool for Analysis of Wheat Leaves from Different Cultivars Infected with *Pyricularia oryzae*. **ACS Agricultural Science & Technology**, v. 4, n. 5, p. 535-543, 2024.

FERREIRA, L. C.; CATANEO, A. C.; REMAHE, L. M. R.; CORNIANI, B.; FUMIS, T. F.; SOUZA, Y. A.; SCAVRONI, J.; SOARES, B. J. A. Nitric oxide reduces oxidative stress generated by lactofen in soybean plants. **Pesticide Biochemistry and Physiology**. v. 97, n.1, p. 47–54, 2010.

FREIRE, L. P.; MARRACCINI, P.; RODRIGUES, G. C.; ANDRADE, A. C. Análise da expressão do gene manose-6-fosfato redutase em cafeeiros submetidos ao déficit hídrico. **Coffee Science**, Lavras, v. 8, n. 1, p. 17-23, jan./mar. 2013.

GALL, H. L.; PHILIPPE, F.; DOMON, J. M.; GILLET, F.; PELLOUX, J.; RAYON, C. Cell wall metabolism in response to abiotic stress. **Plants**, v. 4, n. 1, p. 112-166, 2015.

GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant physiology and biochemistry**, v. 48, n. 12, p. 909-930, 2010.

GOMES, M. P.; JUNEAU, P. Oxidative stress in duckweed (*Lemna minor* L.) induced by glyphosate: Is the mitochondrial electron transport chain a target of this herbicide?. **Environmental Pollution**, v. 218, p. 402-409, 2016.

GOÑI, O.; QUILLE, P.; O'CONNELL, S. *Ascophyllum nodosum* extract biostimulants and their role in enhancing tolerance to drought stress in tomato plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 126, p. 63-73, 2018.

GUPTA, P.; DE, B. Identification of a constitutive metabolite marker for distinguishing tolerant and sensitive varieties of rice through GC-MS based metabolomics approach. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 13, n. 4, p. 498-504, 2024.

HASANUZZAMAN, M.; BHUYAN, M. B.; ZULFIQAR, F.; RAZA, A.; MOHSIN, S. M.; MAHMUD, J. A.; FUJITA, M.; FOTOPOULOS, V. Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: Revisiting the crucial role of a universal defense regulator. **Antioxidants**, v. 9, n. 8, p. 681, 2020.

HEATH, R. L.; PACKER, L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Archives in Biochemistry and Biophysics**, v. 125, n. 1, p. 189-198, 1968.

HUSSEIN, M. H., ELTANAHY, E., AL BAKRY, A. F., ELSAFTY, N., ELSHAMY, M. M. Seaweed extracts as prospective plant growth bio-stimulant and salinity stress alleviator for *Vigna sinensis* and *Zea mays*. **Journal of Applied Phycology**, v. 33, p. 1273-1291, 2021.

- IGAMBERDIEV, A. U.; EPRINTSEV, A. T. Organic acids: the pools of fixed carbon involved in redox regulation and energy balance in higher plants. **Frontiers in plant science**, v. 7, p. 1042, 2016.
- KANATAS, P., TRAVLOS, I., GAZOULIS, I., ANTONOPOULOS, N., TATARIDAS, A., MPECHLIOULI, N., PETRAKI, D. Biostimulants and herbicides: A promising approach towards green deal implementation. **Agronomy**, v. 12, n. 12, p. 3205, 2022.
- KRUSE, N. D.; TREZZI, M. M.; VIDAL, R. A. Herbicidas inibidores da EPSPs: revisão de literatura. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 1, n. 2, p. 139-146, 2000.
- LEHNINGER, A. **Princípios de Bioquímica**. São Paulo, Sarvier, 1986.
- LI, J.; COPELAND, L. Role of malonate in chickpeas. **Phytochemistry**, v. 54, n. 6, p. 585-589, 2000.
- LIU, S.; RAO, J.; ZHU, J.; LI, G.; LI, F.; ZHANG, H.; TAO, L.; ZHOU, Q.; TAO, Y.; ZHANG, Y.; HUANG, K. WEI, C. Integrated physiological, metabolite and proteomic analysis reveal the glyphosate stress response mechanism in tea plant (*Camellia sinensis*). **Journal of Hazardous Materials**, v. 454, p. 131419, 2023.
- MANIMARAN, P.; RAMKUMAR, G.; SAKTHIVEL, K.; SUNDARAM, R. M.; MADHAV, M. S.; BALACHANDRAN, S. M. Suitability of non-lethal marker and marker-free systems for development of transgenic crop plants: present status and future prospects. **Biotechnology advances**, v. 29, n. 6, p. 703-714, 2011.
- MESCHEDE, D. K.; VELINI, E. D.; CARBONARI, C. A.; SILVA, J. R. M. Alteração fisiológica da canade-açúcar pela aplicação de Glyphosate e Sulfometuron-Methyl. **Planta Daninha**, v. 29, p. 413-419, 2011.
- MILLER, S. A.; **Ethylene and its Industrial Derivatives**, Ernest Benn Limited: London, 1969, cap. 7.
- MISHRA, A.; KAR, S.; BISHT, N.; MISHRA, S. K.; CHAUHAN, P. S. Synergistic effect of *Adathoda vasica* plant-derived biostimulant and PGPR on *Zea mays* L. for drought stress management. **Microbiological Research**, v. 290, p. 127968, 2025.
- OMIDBAKHSHFARD, M. A.; SUJEETH, N.; GUPTA, S.; OMRANIAN, N.; GUINAN, K. J.; BROTMAN, Y.; NIKOLOSKI, Z.; FERNIE, A. R.; MUELLER-ROEBER, B.; GECHEV, T. S. A biostimulant obtained from the seaweed *Ascophyllum nodosum* protects *Arabidopsis thaliana* from severe oxidative stress. **International journal of molecular sciences**, v. 21, n. 2, p. 474, 2020.
- OUBAHA, B.; RATHORE, R. S.; BAGRI, J.; SINGHAL, N. K.; MAZUMDAR, K.; RISHI, V.; PAREEK, A.; SINGLA-PAREEK, S. L. *Bacillus siamensis* strain BW enhances rice growth and salinity tolerance through redox equilibrium and hormone modulation. **Current Plant Biology**, v. 37, p. 100321, 2024.

- PANFILI, I., BARTUCCA, M. L., MARROLLO, G., POVERO, G., DEL BUONO, D. Application of a plant biostimulant to improve maize (*Zea mays*) tolerance to metolachlor. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 67, n. 44, p. 12164-12171, 2019.
- PEIXOTO, H. P. P.; CAMBRAIB, J.; SANT'ANA, R.; MOSQUIM, P. R.; MOREIRA, A. M.; Aluminum effects on lipid peroxidation and the activities of enzymes of oxidative metabolism in sorghum. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 11, n. 3, p. 137-143, 1999.
- PEREIRA, L., MORRISON, L., SHUKLA, P.S, CRITCHLEY, A. T. A concise review of the brown macroalga *Ascophyllum nodosum* (Linnaeus) Le Jolis. **Journal of Applied Phycology**, v. 32, p. 3561-3584, 2020.
- PIASECKI, C.; CARVALHO, I. R.; CECHINI, J.; GOULART, F. A. P.; MAIA, L. C.; AGOSTINNETO, D.; CAVERZAN, A.; STEWART JUNIOR, C. N.; VARGAS, L. Oxidative stress and differential antioxidant enzyme activity in glyphosate-resistant and-sensitive hairy fleabane in response to glyphosate treatment. **Bragantia**, v. 78, p. 379-396, 2019.
- RINALDI, L. K., CALANDRELLI, A., MIAMOTO, A., DIAS-ARIEIRA, C. R. Application of *Ascophyllum nodosum* extract and its nutrient components for the management of *Meloidogyne javanica* in soybean. **Chilean journal of agricultural research**, v. 83, n. 2, p. 127-136, 2023.
- ROSA, V. R; DOS SANTOS, A. L. F.; DA SILVA, A. A.; SAB, M. P. V.; GERMINO, G. H.; CARDOSO, F. B.; DE ALMEIDA SILVA, M. Increased soybean tolerance to water deficiency through biostimulant based on fulvic acids and *Ascophyllum nodosum* (L.) seaweed extract. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 158, p. 228-243, 2021.
- SACHDEV, S.; ANSARI, S.A.; ANSARI, M.I.; FUJITA, M.; HASANUZZAMAN, M. Abiotic Stress and Reactive Oxygen Species: Generation, Signaling, and Defense Mechanisms. **Antioxidants**. v.10, n.2, p.277, 2021.
- SANTANIELLO, A.; SCARTAZZA, A.; GRESTA, F., LORETI, E.; BIASONE, A.; DI TOMMASO, D.; PIAGGESI, A.; PERATA, P. *Ascophyllum nodosum* seaweed extract alleviates drought stress in *Arabidopsis* by affecting photosynthetic performance and related gene expression. **Frontiers in plant science**, v. 8, p. 1362, 2017.
- SILVA JUNIOR, G. T. Efeitos da deriva simulada do glifosato sobre a fotossíntese de genótipos de *Coffea canephora*. Tese (Mestrado em Genética e Melhoramento) - Universidade Federal do Espírito Santo. Alegre, ES. p.50. 2022.
- SINGH, M.; KUMAR, J.; SINGH, S.; SINGH, V. P.; PRASAD, S. M. Roles of osmoprotectants in improving salinity and drought tolerance in plants: a review. **Reviews in environmental science and bio/technology**, v. 14, p. 407-426, 2015.
- SIVASHANKARI, M.; AKASH, P.; VIJAYAKUMAR, S.; SADVATHA, R. H.; BORKAR, N. Value addition of Soybean. **Food and Scientific Reports**. v. 2, p. 60-65, 2021.

- SOARES, C., PEREIRA, R., SPORMANN, S., FIDALGO, F. Is soil contamination by a glyphosate commercial formulation truly harmless to non-target plants? – Evaluation of oxidative damage and antioxidant responses in tomato. **Environmental Pollution**, v. 247, p. 256-265, 2019.
- TEISSEIRE, H.; GUY, V. Copper-induced changes in antioxidant enzymes activities in fronds of duckweed (*Lemna minor*). **Plant Science**, v. 153, n. 1, p. 65-72, 2000.
- TRAN, T. L. C.; CALLAHAN, D. L.; ISLAM, M. T.; WANG, Y.; ARIOLI, T.; CAHILL, D. Comparative metabolomic profiling of *Arabidopsis thaliana* roots and leaves reveals complex response mechanisms induced by a seaweed extract. **Frontiers in Plant Science**, v. 14, p. 1114172, 2023.
- TSUGAWA, H.; CAJKA, T.; KIND, T.; MA, Y.; HIGGINS, B.; IKEDA, K.; KANAZAWA, M.; VANDERGHEYNST, J.; FIEHN, O.; ARITA, M. MS-DIAL: data-independent MS/MS deconvolution for comprehensive metabolome analysis. **Nature methods**, v. 12, n. 6, p. 523-526, 2015.
- VIANA, V. E.; ARANHA, B. C.; LATOIA, C. B.; MALTZAHN, L. E.; PANOZZO L. E., DE OLIVEIRA, A. C.; ROMBALDI, C. V.; PEGORARO, C. Metabolic profile of canola (*Brassica napus* L.) seedlings under hydric, osmotic and temperature stresses. **Plant Stress**, v. 3, p. 100059, 2022.
- WANG, Y.; LI, X. Y.; LI, C. X.; HE, Y.; HOU, X. Y.; MA, X. R. The regulation of adaptation to cold and drought stresses in poa crymophila keng revealed by integrative transcriptomics and metabolomics analysis. **Frontiers in Plant Science**, v. 12, p. 631117, 2021.
- WANG, W.; XIE, Y.; LIU, C.; JIANG, H. The Exogenous Application of Brassinosteroids Confers Tolerance to Heat Stress by Increasing Antioxidant Capacity in Soybeans. **Agriculture**. v. 12, n. 8, p. 1095. 2022.
- XIA, J.; WISHART, D. S. Using MetaboAnalyst 3.0 for comprehensive metabolomics data analysis. **Current protocols in bioinformatics**, v. 55, n. 1, 2016.
- YANNICCARI, M.; TAMBUSI, E.; ISTILART, C.; CASTRO, A. M. Glyphosate effects on gas exchange and chlorophyll fluorescence responses of two *Lolium perenne* L. biotypes with differential herbicide sensitivity. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 57, p. 210-217, 2012.