

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA

**Análise do perfil lipídico e mapeamento associativo em populações tropical e
temperada de milho-pipoca**

Wagner Emanuel Sar
Magister Scientiae

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2026**

WAGNER EMANUEL SAR

Análise do perfil lipídico e mapeamento associativo em populações tropical e temperada de milho-pipoca

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

Orientador: Jose Marcelo Soriano Viana

Coorientador: Humberto J. de O. Ramos

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

T

S243a
2026

Sar, Wagner Emanuel, 1999-

Análise do perfil lipídico e mapeamento associativo em
populações tropical e temperada de milho-pipoca / Wagner
Emanuel Sar. – Viçosa, MG, 2026.

1 dissertação eletrônica (41 f.): il. (algumas color.).

Inclui anexos.

Orientador: José Marcelo Soriano Viana.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Biologia Geral, 2026.

Referências bibliográficas: f. 33-39.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2026.234>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Milho de pipoca - Melhoramento genético. 2. Ácidos
graxos. 3. Análise cromatográfica. 4. Genoma. I. Viana, José
Marcelo Soriano, 1963-. II. Universidade Federal de Viçosa.
Departamento de Biologia Geral. Programa de Pós-Graduação
em Genética e Melhoramento. III. Título.

CDD 22. ed. 635.6772

WAGNER EMANUEL SAR

Análise do perfil lipídico e mapeamento associativo em populações tropical e temperada de milho-pipoca

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

APROVADA: 27 de fevereiro de 2026.

Assentimento:

Wagner Emanuel Sar
Autor

Jose Marcelo Soriano Viana
Orientador

Essa dissertação foi assinada digitalmente pelo autor em 20/05/2026 às 16:18:14 e pelo orientador em 20/05/2026 às 18:31:37. 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 **B4QU.HAEO.DDKT** e clique no botão 'Validar documento'.

Dedico aos meus pais, Luiz Carlos e Iracema, minha base e pessoas que
possibilitaram chegar onde eu cheguei.
A ELES DEDICO!

AGRADECIMENTOS

Agradeço, inicialmente, a Deus, pela minha vida e pelas virtudes a mim concedidas. Expresso minha gratidão aos meus pais, sem eles nada seria possível, pois fizeram o possível e impossível para que eu chegasse onde cheguei. Agradeço por sempre acreditarem no meu potencial e confiarem nas minhas escolhas. A eles minha infinita e eterna gratidão.

Estendo meu agradecimento aos meus irmãos, que mesmo com rotinas e rumos diferentes, me servem de apoio e me fazem lembrar dos bons momentos vividos juntos e de como a vida é boa.

Minha gratidão se estende a todos os meus familiares que de alguma forma contribuíram e confiaram em mim.

Registro, de maneira especial, minha gratidão a Maria Clara, que chegou de forma repentina em minha vida, mas me apoiou e me deu suporte em todos os momentos. Agradeço de coração.

Também agradeço ao professor José Marcelo Soriano Viana pela orientação durante todo o período do mestrado, pelas trocas de conhecimento e por confiar enormemente no meu trabalho. Deixo meu agradecimento a toda equipe do Programa Milho Pipoca, Matheus, Jean, Antônio Leonardo, Márcio e Geovana. Deixo registrado também meu agradecimento ao professor Humberto Josué de Oliveira Ramos pela receptividade, infraestrutura e orientação durante a condução deste projeto, e a toda a equipe do laboratório de enzimologia e do NUBIOMOL.

Aos amigos que me acompanharam e que criei durante essa caminhada, em particular Eduardo, Lyriel e Juan.

A todas as pessoas que aqui não foram mencionadas, mas que de alguma forma contribuíram para a conclusão desse trabalho.

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade de realizar o curso de pós-graduação.

Este trabalho foi realizado com o apoio das seguintes agências de pesquisa brasileiras: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

MUITO OBRIGADO!

“É justo que muito custe o que muito vale.”
Atribuído a Santa Teresa d’Ávila

RESUMO

SAR, Wagner Emanuel, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2026.
Análise do perfil lipídico e mapeamento associativo em populações tropical e temperada de milho-pipoca. Orientador: Jose Marcelo Soriano Viana.
Coorientador: Humberto Josue de Oliveira Ramos.

O milho-pipoca (*Zea mays* var. *everta*) destaca-se pela capacidade de expansão (CE), característica resultado da composição do endosperma e do pericarpo resistente. Objetivou-se caracterizar duas populações de milho-pipoca, uma de origem temperada (UFV-MP5) e outra de origem tropical (Beija-Flor) quanto ao perfil lipídico, identificando regiões genômicas associadas ao conteúdo de ácidos graxos via estudos de associação genômica ampla (GWAS). A fenotipagem foi conduzida mediante a extração de lipídios diretamente dos embriões, seguida de derivatização e quantificação por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS). A genotipagem utilizou a técnica de sequenciamento por representação reduzida (GBS), adotando o modelo misto $Q + K$ para o mapeamento associativo (GWAS). Os resultados revelaram divergência estatística significativa entre as populações para todos os caracteres. A população Beija-Flor apresentou teores superiores de ácido linoleico (8,69%), palmítico (33,51%) e esteárico (23,05%), enquanto a UFV-MP5 destacou-se pela maior CE (42,43 cm³/g) e teor de ácido oleico (20,18%), além da presença exclusiva de -tocoferol e -sitosterol. O GWAS não identificou associações significativas na população UFV-MP5, possivelmente devido a origem biparental da população. Em contrapartida, na população Beija-Flor, foram identificadas marcas significativas para os ácidos esteárico, linoleico e oleico. A prospecção genômica resultou em nove genes candidatos, com destaque para o Zm00001eb043340 (FAD8), Zm00001eb043440 (Citocromo b5) e Zm00001eb292580 (família SEC14), os quais desempenham papéis cruciais na dessaturação e transporte de lipídios. As análises de expressão gênica (FPKM) no embrião confirmaram a atividade desses genes durante o desenvolvimento da semente, especialmente o gene da família SEC14, cuja expressão aumentou cerca de seis vezes entre as fases iniciais e finais. Conclui-se que existe variabilidade genética explorável para o perfil lipídico em milho-pipoca, e a identificação de genes candidatos fornece subsídios para o melhoramento genético focado na qualidade nutricional e industrial, permitindo a seleção de genótipos que conciliem alta capacidade de expansão com perfis de ácidos graxos específicos.

Palavras-chave: milho-pipoca; ácidos graxos; GC-MS; GWAS;

melhoramento vegetal

ABSTRACT

SAR, Wagner Emanuel, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2026. **Lipid profile analysis and association mapping in tropical and temperate popcorn populations.** Adviser: Jose Marcelo Soriano Viana. Co-adviser: Humberto Josue de Oliveira Ramos.

Popcorn (*Zea mays* var. *everta*) stands out for its expansion capacity (EC), characteristic resulting from the composition of the endosperm and the resistant pericarp. The objective was to characterize two popcorn populations, one of temperate origin (UFV-MP5) and another of tropical origin (Beija-Flor), regarding their lipid profile, identifying genomic regions associated with fatty acid content via genome-wide association studies (GWAS). Phenotyping was conducted by extracting lipids directly from the embryos, followed by derivatization and quantification by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Genotyping used the genotyping-by-sequencing (GBS) technique, adopting the Q + K mixed model for associative mapping (GWAS). The results revealed significant statistical divergence between the populations for all traits. The Beija-Flor population showed higher levels of linoleic (8.69%), palmitic (33.51%), and stearic (23.05%) acids, while UFV-MP5 stood out for its higher EC (42.43 cm³/g) and oleic acid content (20.18%), in addition to the exclusive presence of α -tocopherol and β -sitosterol. GWAS did not identify significant associations in the UFV-MP5 population, possibly due to the population's biparental origin. In contrast, in the Beija-Flor population, significant markers were identified for stearic, linoleic, and oleic acids. Genomic prospecting resulted in nine candidate genes, highlighting Zm00001eb043340 (FAD8), Zm00001eb043440 (Cytochrome b5), and Zm00001eb292580 (SEC14 family), which play crucial roles in lipid desaturation and transport. Gene expression analysis (FPKM) in the embryo confirmed the activity of these genes during seed development, especially the SEC14 family gene, whose expression increased approximately sixfold between the early and late stages. It is concluded that there is exploitable genetic variability for the lipid profile in popcorn, and the identification of candidate genes provides support for genetic improvement focused on nutritional and industrial quality, allowing the selection of genotypes that reconcile high expansion capacity with specific fatty acid profiles.

Keywords: popcorn; fatty acids; GC-MS; GWAS; plant breeding

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	10
2.	OBJETIVOS.....	13
2.1.	OBJETIVOS GERAIS.....	13
2.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
3.	METODOLOGIA.....	14
3.1.	MATERIAL VEGETAL	14
3.2.	FENOTIPAGEM.....	14
3.2.1.	Extração e derivatização de ácidos graxos	14
3.2.2.	Análise e quantificação de ácidos graxos	14
3.2.3.	Quantificação da capacidade de expansão (CE)	15
3.3.	GENOTIPAGEM.....	16
3.4.	MAPEAMENTO ASSOCIATIVO	16
4.	RESULTADOS.....	19
5.	DISCUSSÃO.....	28
6.	CONCLUSÃO.....	32
	REFERÊNCIAS.....	33
	ANEXOS.....	40

1. INTRODUÇÃO

O milho-pipoca (*Zea mays* var. *evarta*) possui um tipo especial de grão, caracterizado pelo tamanho reduzido e endosperma composto por amido duro ou cristalino, que, quando submetido a alta temperatura, tem a capacidade de expandir e gerar a pipoca. O ato do estouro do grão e a formação da pipoca é o diferencial desse tipo de milho em relação aos outros (Hoseney; Zeleznak; Abdelrahman, 1983).

A capacidade de expansão (CE) do milho-pipoca é resultado da junção de algumas características desse grão, como o endosperma duro, pericarpo resistente e a presença de água e óleo no seu interior, sendo que, quando sob aquecimento, o óleo e a água exercem pressão no pericarpo causando seu rompimento e expondo o endosperma gelatinoso que se expande no formato de pipoca (Hoseney; Zeleznak; Abdelrahman, 1983). O endosperma duro desse tipo de grão, confere maior capacidade de expansão durante o processo de pipocamento do que comparado a grãos farináceos (Hoseney; Zeleznak; Abdelrahman, 1983; Serna-Saldivar; Perez Carrillo, 2019). Visando o aumento da CE, híbridos e linhagens tendem a ser desenvolvidos com a composição do endosperma mais duro, e para isso, programas de melhoramento de milho-pipoca propendem a diminuir o tamanho do embrião, alterando a composição final do grão para aumentar sua capacidade de expansão, embora não haja estudos suficientes que comprovem que o tamanho do embrião interfira na CE (Sweley; Rose; Jackson, 2013). A redução do tamanho do embrião no grão do milho-pipoca pode impactar negativamente no aroma e sabor desse petisco.

O grão de milho é composto basicamente de amido, que representa 72% do grão, e o restante é composto por 10% de proteínas e 4% de lipídios, no entanto, a maior parte dos lipídios encontrados no grão estão presentes no embrião, que possui a composição entre 18% e 41%, dado que essa variação pode ser explicada tanto por fatores genéticos quanto a condições ambientais de manejo e clima (Johnston et al., 2005). Os lipídios estão entre as três principais classes de moléculas que compõem os alimentos, juntamente com carboidratos e proteínas, e podem ser caracterizados como moléculas orgânicas que são solúveis em solventes orgânicos (Gioielli, 1996; Lawson, 1995; Shahidi, 2005). Os lipídios podem ser classificados como óleos ou gorduras, se diferenciando com relação a textura, já que os óleos são líquidos a 20 °C e as gorduras não (Lawson, 1995).

O óleo do milho é formado basicamente por triacilgliceróis (TAGs) que são lipídios de alta energia, formada pela associação entre ácidos graxos e álcool. O milho é composto basicamente por quatro diferentes tipos de ácidos graxos, ácido linoleico, ácido oleico, ácido palmítico e ácido esteárico, além de outros em menor composição, ácido palmitoleico e ácido

mirístico (Barrera-Arellano; Badan-Ribeiro; Serna-Saldivar, 2019; Li et al., 2019a). Os ácidos graxos são componentes essenciais dos lipídios e tem um papel crucial no metabolismo celular e regulação de processos fisiológicos, bem como possuindo funções estruturais e serem uma essencial fonte de energia para os organismos (Lawson, 1995; Shahidi, 2005; Strocchi, 1982). O grau de saturação segrega os ácidos graxos em duas categorias principais, saturados e insaturados. Os saturados são aqueles que apresentam todos os átomos de carbono ligados apenas com ligações simples, já os insaturados apresentam ligações duplas entre os átomos de carbono, e estes, ainda podem ser divididos em mono insaturados (uma ligação dupla) e poli insaturados (duas ou mais ligações duplas) (Belitz; Grosch; Schieberle, 2004; Lawson, 1995).

A biossíntese de ácidos graxos, ocorre em grande parte nos plastídios, e inicia com a enzima ácidos graxos sintase (FAS), utilizando Acetil-coenzima A (Acetil-CoA) e moléculas de ATP como substrato para produzir ácido palmítico (16:0, saturado), e por meio de enzimas que realizam o alongamento das moléculas, mais dois átomos de carbono são adicionados, convertendo essa molécula em ácido esteárico (18:0, saturado). Por ação de enzimas dessaturase de ácidos graxos (FAD), os ácidos graxos saturados são convertidos primeiramente em ácido oleico (18:1, insaturado) e então em ácido linoleico (18:2, insaturado) (He et al., 2020; Roughan; Holland; Slack, 1979; Stumpf, 1980; Weaire; Kekwick, 1975).

A quantificação de ácidos graxos em milho-pipoca pode ser realizada de diferentes formas, como cromatografia gasosa (CG) (Li et al., 2013; Saini et al., 2020; Sanjeev et al., 2014) e espectroscopia no infravermelho próximo com transformação de Fourier (FT-NIR) (Azizian; Kramer, 2005; Mossoba et al., 2013). A cromatografia gasosa é usualmente utilizada por conta de sua alta sensibilidade e capacidade de separação e identificação de diferentes componentes, e, para isso é necessário realizar procedimentos de extração dos lipídios do grão de milho por meio de solventes orgânicos e posterior derivação dos ácidos graxos para, por fim, realizar a identificação e quantificação via CG (Latimer, 2012). Por possuir alta sensibilidade, a CG permite a identificação dos ácidos graxos em partes por milhão, sendo essa característica essencial para análises precisas, uma vez que ácidos graxos podem estar presentes nas amostras em concentrações baixas, permitindo, dessa forma, a quantificação precisa e confiável dos componentes e as informações detalhadas sobre a composição e distribuição. A CG se baseia na partição dos componentes da amostra em uma fase estacionária (coluna cromatográfica) e uma fase móvel (gás transportador) em que os ácidos graxos são separados de acordo com suas propriedades de volatilidade e afinidade pela fase estacionária (Christie, 1998; Latimer, 2012).

Os estudos de associação genômica ampla (GWAS) são uma importante ferramenta para entender e apurar a relação existente entre genótipo e fenótipo, pois possibilita identificar SNPs

(Single Nucleotide Polymorphism) associado, além de QTLs/genes candidatos para características complexas (Ibrahim et al., 2020; Xu et al., 2017). Utilizando GWAS é possível realizar um mapeamento detalhado de QTLs em populações, superando o desafio do rápido decaimento do desequilíbrio de ligação (LD) devido a eventos históricos de recombinação (Flint-Garcia; Thornsberry; Buckler, 2003). No milho, a utilização do GWAS tem impulsionado avanços expressivos em estudos de qualidade do grãos, além de diversos autores analisarem a arquitetura genética da biossíntese de lipídios em grãos (Beló et al., 2008; Katral et al., 2022; Li et al., 2013, 2019a; Saini et al., 2020; Shikha et al., 2021; Zheng et al., 2021). A concentração de óleo e a composição de ácidos graxos no grão de milho são características altamente herdáveis, no entanto são controladas por múltiplos genes. A literatura apresenta QTLs de pequeno e grandes efeitos para essas características (Beló et al., 2008; Clark et al., 2006; Li et al., 2013, 2019a, 2011).

A caracterização de genes que codificam vias metabólicas relacionadas à biossíntese de ácidos graxos proporciona maior entendimento dessas moléculas e esclarecimento de relações das mesmas a nível celular, possibilitando agregar informações aos programas de melhoramentos de milho-pipoca, elevando o patamar da pesquisa para essa cultura. Identificar o perfil lipídico dos indivíduos, associando informações de genótipos com alta CE, pode contribuir para o desenvolvimento de híbridos para o mercado que atendam às exigências do consumidor final e que resultem em melhor qualidade da pipoca.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVOS GERAIS

Caracterizar duas populações de milho-pipoca, de origem tropical e temperada, quanto ao perfil lipídico, identificando regiões do genoma do milho-pipoca associadas ao conteúdo de ácidos graxos.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Desenvolver e ajustar o protocolo de extração de ácidos graxos para milho-pipoca, estabelecendo procedimentos para quantificação de suas unidades.

Identificar marcadores SNP (*Single Nucleotide Polimorphism*) associados aos teores de ácidos graxos.

Realizar a anotação funcional dos SNPs significativos e identificar fatores moleculares candidatos relacionados ao controle destas características.

3. METODOLOGIA

3.1. MATERIAL VEGETAL

Neste trabalho, foram genotipadas e fenotipadas 286 plantas pertencentes a duas populações, divergentes quanto a origem. A primeira população, chamada de UFV-MP5, tem origem temperada e é uma população biparental obtida por acasalamento ao acaso do híbrido simples comercial americano AP4502 (desenvolvido pela *Agricultural Alumni Seed Improvement Association*, Romney, IN, EUA), desta população foram utilizados 183 acessos. A segunda população é denominada Beija-Flor e foi desenvolvida na Universidade Federal de Viçosa (UFV), após quatro ciclos de seleção de meios-irmãos para capacidade de expansão (CE) e desta população foram utilizados 103 acessos.

3.2. FENOTIPAGEM

3.2.1. Extração e derivatização de ácidos graxos

Devido à maior concentração de lipídios ser localizada no embrião das sementes, o protocolo de extração se inicia pela remoção do pericarpo dos grãos de milho-pipoca. Para isso, foram pesados aproximadamente 7 g de grãos e estes foram submersos por 30 min em água destilada para facilitar a remoção do pericarpo. O pericarpo foi removido com o auxílio de uma pinça e posteriormente a isso, o embrião foi extraído com o auxílio de um bisturi. Com os embriões removidos, estes foram congelados em nitrogênio líquido para realizar a maceração com almofariz e pistilo de cerâmica. As amostras maceradas foram armazenadas em microtubos de 2 ml em ultrafreezer a -80° C.

A extração dos ácidos graxos foi seguindo o protocolo de (Lisec et al., 2006), com adaptações. Foram pesados 300 mg macerado do embrião em microtubos de 2 ml, e então 1 ml de clorofórmio e 60 µl de colesterol foram adicionados com posterior agitação em termomixer (15 min; 70° C; 1000 rpm), centrifugação (10 min; 25° C; 14000 rpm) e remoção do sobrenadante, o qual contem a fração lipídica, acondicionado em outro microtubo de 2 ml. Ao sobrenadante foram adicionados 375 µl de metanol e 300 µl de água pura e posterior de centrifugação (15 min, 25° C, 4000 rpm) e coletado da fase inferior (apolar). Uma alíquota de 350 µl da fase apolar foi seca, overnight, em secador de centrifugação a vácuo. A derivatização foi realizada ao ressuspender as amostras com 40 µl de cloridato de metoxiamina dissolvido em piridina e agitação em termomixer (2 h; 37° C; 1000 rpm). Posteriormente foram adicionados 70 µl de trimetilsilil (MSTFA) com retorno ao termomixer (30 min; 37° C; 1000 rpm).

3.2.2. Análise e quantificação de ácidos graxos

Para a quantificação dos ácidos graxos, as amostras ressuspensas foram acondicionadas em vials. Para a quantificação, 1 µl da amostra foi injetado em cromatógrafo

gasoso acoplado aos espectrômetro de massas (Shimadzu Europe - GCMS-QP5050A), com temperatura inicial do “sample inlet” de 300° C. A amostra foi arrastada por um gás inerte (Hélio) para dentro da coluna capilar SPB-5 (30 m; 0,25 mm; 0,25 µm) com uma pressão de 1.8 kPa, vazão de 1.6 mL/min e velocidade linear de 46.6 cm/segundo. A coluna manteve estável sua temperatura inicial de 80° C por 5 min, elevando-a 4° C/min até atingir a temperatura máxima de 300° C, totalizando 55 min de elevação da temperatura. Ao atingir a máxima temperatura, o equipamento manteve a temperatura inalterada por 45 min até que a corrida fosse encerrada automaticamente. Foram injetados 1 µl de amostras de controle em branco e uma série de alcanos (C10 – C40), que possibilitam calcular os índices de retenção (Schauer et al., 2005).

Os espectros brutos de GC–MS foram inicialmente convertidos para o formato netCDF antes do processamento dos dados. O alinhamento cromatográfico e a detecção de picos foram realizados utilizando o algoritmo XCMS implementado na plataforma web XCMS, empregando parâmetros padrão otimizados para dados de GC–MS adquiridos em analisador do tipo quadrupolo.

Após a detecção dos picos, sinais contaminantes foram inspecionados manualmente e removidos. As áreas dos picos do cromatograma de íons totais (TIC) detectados com maior frequência em todas as amostras foram exportadas para análises multivariadas subsequentes. A normalização dos dados e as análises de agrupamento foram conduzidas na plataforma MetaboAnalyst, aplicando-se normalização pela mediana para corrigir variações sistemáticas entre as amostras. A identificação dos compostos foi realizada por meio de pareamento espectral contra a biblioteca de espectros de massas NIST. Os metabólitos foram atribuídos com base nos maiores escores de similaridade espectral combinados com a concordância dos índices de retenção (IR). Os índices de retenção foram calculados experimentalmente utilizando uma série externa de padrões de n-alcanos e comparados com os valores de IR de referência reportados na biblioteca NIST. Apenas os compostos que apresentaram simultaneamente altos escores de similaridade espectral e índices de retenção consistentes foram considerados identificados com confiança.

3.2.3. Quantificação da capacidade de expansão (CE)

Para a caracterização das populações quanto a CE, foram utilizados os dados de Viana; Dias; Silva, 2022 e Paes et al., 2016. A CE foi mensurada utilizando amostras de 10 g de grãos em um forno de micro-ondas de 27 L (900 W).

3.3. GENOTIPAGEM

A coleta do material vegetal utilizado para a extração do DNA genômico foi realizada em estágio fenológico com três folhas totalmente expandidas (V3). O DNA genômico foi extraído utilizando o protocolo CTAB (brometo de cetiltrimetilamônio) com modificações (Doyle, J. J; Doyle, J. L., 1990; Jiao et al., 2017). Foi utilizado 150 mg de tecido foliar sem utilizar 2-mercapto-etanol e com precipitação overnight do DNA a 4° C em NaCl 5 M + isopropanol gelado, na sequência lavagens com etanol 70% e 95%. As amostras de DNA foram diluídas para 80-100 µl de 0,1 x TE buffer (100 mM Tris-HCl, 0,1 mM EDTA, pH 8). Para realizar a determinação do grau de pureza foi utilizado um espectrofotômetro *NanoDrop* (Thermo Scientific, USA) e a quantificação do DNA foi realizada no *Qubit® 2.0 Fluorometer* (LifeTechnologies). As amostras foram genotipadas por sequenciamento (GBS), sendo que a população temperada foi realizada pelo *Institute of Biotechnology at Cornell University*, por meio de um sequenciado *Hi-Seq 2500* (leituras em pares de 125 bp). O GBS da população tropical foi realizado pelo *Institute for Research in Immunology and Cancer (IRIC), University of Montreal*, utilizando um sequenciador *Nextseq500* (leituras de extremidade única de 85 bp).

Foram realizadas duas chamadas de SNP, uma para cada população. Para a população temperada, foi feito pelo *Institute of Biotechnology* e para a população tropical, foi realizado por *Omega Bioservices*, utilizando o genoma de referência B73 versão 4 (Jiao et al., 2017). O conjunto de marcadores obtido, após a chamada de SNP, foi lido pelo pacote *vcfR* do software *R* (Knaus; Grünwald, 2017), seguindo de filtragem de alelo perdido e cromossomo. Em seguida foi calculado de *Call rate* (CR), *Genotype Call rate* e *Minor Allele Frequency* (MAF), utilizando o pacote *R HapEstXXR* (Browning; Browning, 2009; Knüppel et al., 2012). Os dados foram filtrados para MAF > 0,01, CR < 0,90 e *Genotype Call rate* > 0,90, e posterior imputação em *Beagle* (Browning; Browning, 2009), por meio do pacote *R Synbreed* (Wimmer et al., 2012).

3.4. MAPEAMENTO ASSOCIATIVO

Para a realização das análises de associação genômica (GWAS) foi utilizado o modelo Q + K, proposto por Yu et al., 2006, que considera a relação de parentesco genômico entre os genótipos (matriz de parentesco genômico, K) e estrutura populacional (matriz Q), tendo como objetivo reduzir associações espúrias. O modelo é dado por:

$$y = X\beta + S\alpha + Qv + Zu + \varepsilon$$

Em que:

y: vetor de valores fenotípicos;

β : vetor de efeitos fixos que não sejam SNP ou efeitos de grupo populacional;

α : vetor de efeito fixo de SNP;

v : vetor de efeito fixo associado a estrutura populacional;

u : vetor de efeito aleatório dos efeitos genéticos aditivos com matriz de covariância $K\sigma_g^2$, sendo K a matriz de parentesco aditivo genômica e σ_g^2 o componente de variância genético aditivo;

ϵ : vetor de resíduos de efeito aleatório com matriz de covariância $I\sigma_e^2$, sendo I a matriz identidade e σ_e^2 o componente de variância residual;

X , S e Z : matrizes de incidência contendo 1 e 0 dos vetores β , α e u , respectivamente.

Em decorrência da população UFV-MP5 ser originário de um híbrido simples, e frequência predominante de MAF de 0.5 (Andrade et al., 2019), foi aplicado a ela, somado a matriz K , a estrutura populacional (matriz Q) ao modelo, de acordo com os dados de Gotardi et al., (2024). A matriz Q foi gerada por meio do *software Structure* (Pritchard; Stephens; Donnelly, 2000), tomando 1000 SNPs ao acaso (100 por cromossomo). Os parâmetros adotados foram os seguintes: número de repetições de cadeia de Markov Monte Carlo (MCMC) após *burn-in*: 9000, modelo de ancestralidade = modelo de não mistura, modelos de frequência alélica = frequência alélica não correlacionada, número de populações (K) = 1 a 4, e número de interações consecutivas e independentes = 5. A definição de K subgrupos foi realizada tendo como referência a metodologia proposta por EVANNO, et al. (2005), levando em consideração o valor de delta K (ΔK).

As análises de associação genômica foram conduzidas empregando os pacotes *GWASpoly* (Rosyara et al., 2016), e *rrBlup* do software *R* (Endelman, 2011). Para o controle do erro tipo I entre as associações marcados-característica foi utilizado a taxa de falsa descoberta de Benjamini & Hochberg (FDR), levando em conta 5% de nível de significância (Benjamini; Hochberg, 1995). Para estabelecer o q-valor de cada SNP e de sua significância, foi admitido como *threshold* $FDR \leq 0.05$. As estimativas de q-valor foram obtidas utilizando o pacote *q-value* do software *R* (Dabney, A; Storey, J, [S.d.])

Andrade (2019), constatou, por meio de estudos de desequilíbrio de ligação (LD) e blocos de haplótipos, que em um intervalo de 80 a 120 kb é esperado que se tenha maior quantidade de SNPs com LD com valores de r^2 superiores de 0.75, dessa forma, foi estabelecido que o intervalo para prospecção de genes candidatos à esquerda e direita dos SNPs significativos foram de 120 kb. A anotação funcional dos genes candidatos foi conduzida empregando os bancos de dados *MaizeGDB* (<https://www.maizegdb.org/>), *NCBI* (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) e *UniProt* (<https://www.uniprot.org/>), com o uso do genoma B73 versão 5 como referência. A análise GO dos genes candidatos foi realizada por meio de ferramentas do site *Gene Ontology* (<http://geneontology.org/>). A taxa de expressão dos genes

candidatos foi conduzida por meio da plataforma *qTeller* (<https://qteller.maizgdb.org>), analisando os níveis de abundância dos transcritos estimados em FPKM.

4. RESULTADOS

A quantificação via GC-MS permitiu identificar 4 ácidos graxos (ácido oleico, ácido linoleico, ácido palmítico e ácido esteárico) nas duas populações, além de γ -tocoferol e β -sitosterol encontrados somente na população UFV-MP5 (Tabela 1). Somado a isso, outras três moléculas foram identificadas na população temperada, e mais uma molécula foi identificada na população tropical, no entanto essas quatro moléculas não ocorrem de forma natural no milho-pipoca e são possíveis contaminantes ou moléculas sintetizadas no momento da derivatização dos ácidos graxos (Tabela 2). Por meio do teste F a 5% de significância, foi possível observar que as duas populações são divergentes estatisticamente para todos os ácidos graxos. A população Beija-Flor possui teores estatisticamente superiores de ácido linoleico, ácido palmítico e ácido esteárico, já para ácido oleico, a população que apresenta os teores mais elevados é a população UFV-MP5. A capacidade de expansão também diferiu estatisticamente entre as duas populações pelo teste F a 5% de significância, sendo que a população UFV-MP5 é a que apresenta os valores mais elevados (Tabela 1).

O ácido palmítico (AP) foi o ácido graxo que apresentou os maiores teores médios, sendo 33,51% e 19,57% na população Beija-Flor e UFV-MP5, respectivamente. Na população Beija-Flor, os teores encontrados de AP variaram de 0,55% a 80,45% ($\Delta=79,9\%$), já para a população UFV-MP5, foram identificados acessos com teores nulos (0%) e o maior teor foi de 73,46 ($\Delta=73,46\%$) (Tabela 1). Na população temperada, 8 acessos não apresentaram teor de AP em sua composição, sendo eles 427, 431, 433, 446, 467, 511, 540, 550, além de que 16,39% dos acessos tem teores menores do que 1%, com apenas 2 acessos com teores superiores a 50%, representando 1,09%. Cabe destacar que o acesso 94 é o que apresentou o teor mais alto de AP na população tropical e 8,73% dos acessos dessa população apresentaram teores acima de 50%, além do mais, apenas 1 acesso apresenta teor inferior a 1% em sua composição, representando 0,97% do total de acessos. A Figura 1 mostra ainda que a população Beija-Flor possui maior dispersão dos teores de AP entre os acessos, ao contrário da população UFV-MP5 que, apesar de também apresentar dispersão, mostra que grande parte dos teores foi encontrado dentro dos 50% mais comuns e com boa parte dos acessos apresentando teores baixos.

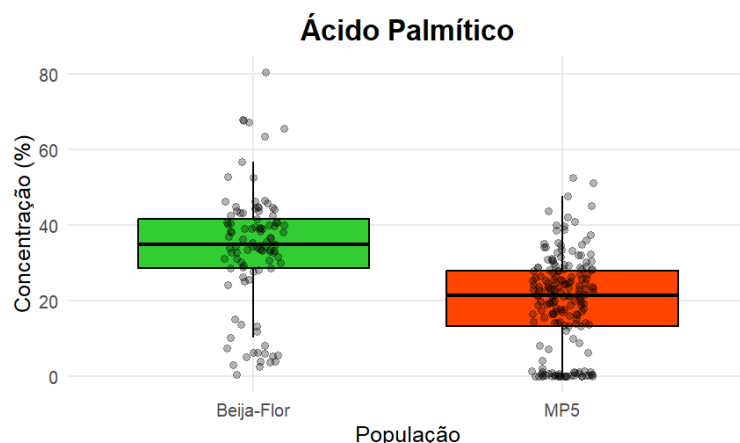


Figura 1: Dispersão dos teores dos acessos nas populações Beija-Flor e UFV-MP5 para ácido palmítico, obtido pelo software R.

O ácido esteárico (AE) é o segundo mais abundante considerando as duas populações, no entanto são encontrados os maiores teores dentro da população Beija-Flor que possui média de 23,05% de sua composição desse ácido graxo, com variação de 1,57% a 84,61% ($\Delta=83,04$), ao contrário da população UFV-MP5, que possui média de 8,11% de sua composição de AE, variando de 0% a 29,24% ($\Delta=29,24\%$) (Tabela 1). A população temperada não apresenta nenhum acesso com composição de AE superior a 50% e 7,10% dos acessos possuem teores inferiores a 1% de composição. No caso da população tropical, 11 acessos que representam 10,67% da população, possuem teores superiores a 50%, sendo que desses, 6 possuem teores superiores a 75%, e não há nenhum acesso que possua menos do que 1% de AE em sua composição. Na figura 2, é possível notar que os teores de AE na população UFV-MP5 são bastante semelhantes e se concentram próximos dos 50% mais comuns, indicando menor variabilidade na população, ao contrário da população Beija-Flor, que apresenta alguns acessos com teores elevados.

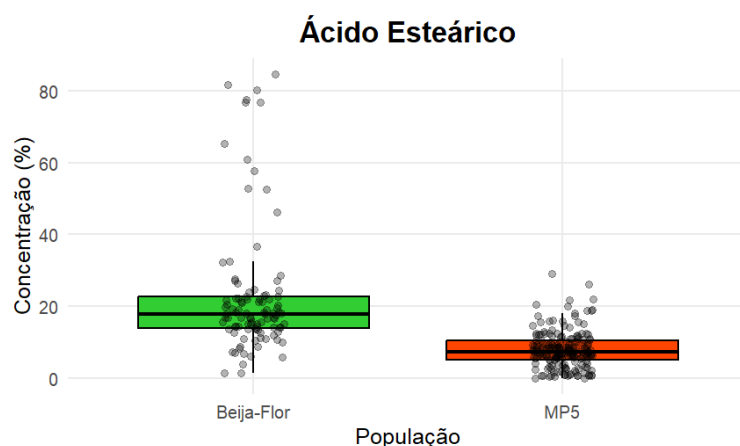


Figura 2: Dispersão dos teores dos acessos nas populações Beija-Flor e UFV-MP5 para ácido esteárico, obtido pelo software R.

O terceiro ácido graxo mais abundante considerando os teores médios das duas populações foi o ácido oleico (AO), no entanto, na população UFV-MP5 o teor médio foi de 20,18%, variando de 0,24% a 54,92% ($\Delta=54,68\%$), e na população Beija-Flor o teor médio foi de 7,79%, com variação de 0% a 19,18% ($\Delta=19,18\%$) (Tabela 1). A população temperada apresentou 3 acessos com teores superiores a 50% de AO, sendo eles 410, 411 e 524, e 6,55% dos acessos com teores inferiores a 1%, representando 12 acessos. Para a população tropical, 3 acessos possuem teores inferiores a 1%, representando 2,91% da população e nenhum acesso com teor de AO superior a 20%. A população Beija-Flor apresenta uma dispersão dos teores de AO menor do que a população UFV-MP5, que apesar de possuir teores mais elevados, também apresenta maior dispersão e maior variabilidade entre os acessos dentro dessa população (Figura 3).

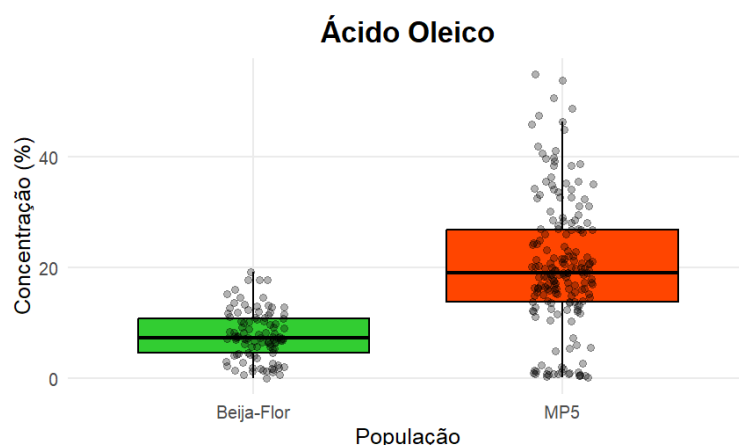


Figura 3: Dispersão dos teores dos acessos nas populações Beija-Flor e UFV-MP5 para ácido oleico, obtido pelo software R.

O ácido graxo menos abundante nas populações é o ácido linoleico (AL), em que a população Beija-Flor possui média de 8,69% em sua composição, com variação de 0% a 24,7% ($\Delta=24,7\%$) e a população UFV-MP5 apresenta média de 5,76% de AL em sua composição, com variação de 0% a 21,23% ($\Delta=21,23\%$) (Tabela 1). A população tropical teve 29,12% dos seus acessos com teores inferior a 1%, sendo que 6 acessos possuem valores nulos, além de que apenas 4 acessos possuem teores superiores a 20%. No caso da população temperada, nenhum acesso possui teor superior a 50% e 41 acessos, que representam 22,40% da população, apresentam teores inferiores a 1%, com 3 acessos sem AL em sua composição. A população Beija-Flor apresenta grande variabilidade entre seus acesso, com a faixa de 50% mais comuns abrangendo teores próximo a 0% até 15%, ao contrário da população UFV-MP5, na qual os

teores se apresentaram mais próximos à média, embora ainda pode ser possível notar variabilidade entre os dados (Figura 4).

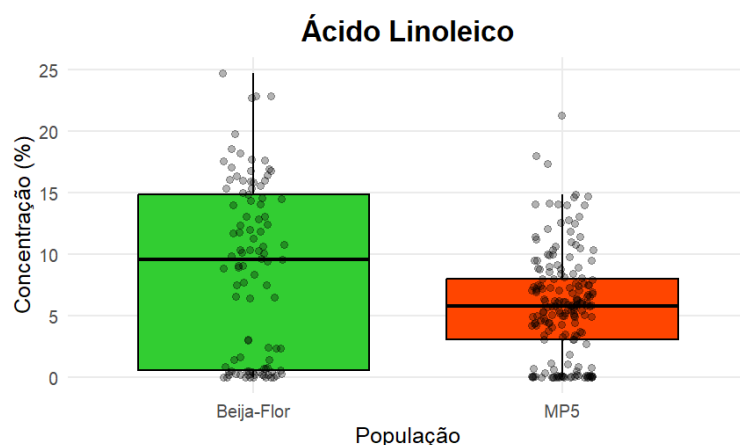


Figura 4: Dispersão dos teores dos acessos nas populações Beija-Flor e UFV-MP5 para ácido linoleico, obtido pelo software R.

Ainda podem ser retratadas as duas moléculas que estão presentes somente na população UFV-MP5, γ -tocoferol e β -sitosterol. O teor médio de γ -tocoferol foi de 8,88%, com uma variação de 0% a 24,28% ($\Delta=24,28\%$) (Tabela 1). no entanto, 6 acessos não apresentaram essa molécula em sua composição, e o acesso com maior teor foi o 438 com 24,28%. Já para β -sitosterol, os teores variaram de 0% a 31,97% ($\Delta=31,97\%$), com média de 9,02 % (Tabela 1), sendo que, o acesso com maior composição foi o 431 com 31,97% e 49 acessos não apresentaram β -sitosterol em sua composição, o que representa 10,14% das amostras.

Tabela 1: Medidas de dispersão estimadas na população UFV-MP5 e Beija-Flor para ácido oleico (%), ácido linoleico (%), ácido palmítico (%), ácido esteárico (%), γ -tocoferol (%), β -sitosterol (%) e CE (cm³/g)

Molécula	População			
	UFV-MP5		Beija-Flor	
	Média	Variância	Média	Variância
Ácido Oleico	20,18*	140,92	7,79	18,86
Ácido Linoleico	5,76	18,18	8,69*	49,91
Ácido Palmítico	19,57	153,87	33,51*	254,13
Ácido Esteárico	8,11	26,23	23,05*	326,05
γ -tocoferol	8,88	15,89	-	-
β -sitosterol	9,02	51,53	-	-
CE	42,43 ^{1*}	52,05	31,49 ²	57,71

* - significativo a 5% pelo teste F; ¹ – média com base em 716 indivíduos; ² – média com base em 100 indivíduos.

Tabela 2: Moléculas encontradas na população UFV-MP5 e Beija-Flor, porém sem sentido biológico, originárias do processo de derivatização dos ácidos graxos ou contaminantes plásticos.

Molécula	População	
	UFV-MP5	Beija-Flor
α -D-Glucopyranoside, methyl 2,3,4-tris-O-(trimethylsilyl)-6-octadecanoate	-	x
2,6-Bis(tert-butyl)phenol	x	-
1,5-Heptadiene, 2,6-dimethyl	x	-
1,1,1,3,5,5,5-Heptamethyltrisiloxane	x	-

A marcação em x é referente a qual população cada molécula está associada.

Com relação aos estudos de associação genômica para a população UFV-MP, não foi possível identificar nenhuma associação significativa para todas as moléculas estudadas (ácido palmítico, ácido esteárico, ácido oleico, ácido linoleico, γ -tocoferol e β -sitosterol) (Anexo B). Por outro lado, na população Beija-Flor, foram identificadas associações para três das quatro moléculas encontradas. A única molécula a qual não foi observada nenhuma associação significativa foi o ácido palmítico (Anexo A). Para ácido esteárico foi observada uma marca

significativa no cromossomo 2 (Figura 5). Para ácido linoleico foram constatadas duas marcas significativas, sendo uma delas no cromossomo 1 e a outra no cromossomo 6 (Figura 6). Também foram verificadas vinte e duas marcas significativas para a molécula de ácido oleico, distribuídas em praticamente todos os cromossomos, com exceção do cromossomo 10, sendo elas quatro marcas tanto no cromossomo 1 como no cromossomo 5, três marcas nos cromossomos 3 e 6, nos cromossomos 2, 7 e 9, foram vistas duas marcas em cada e nos cromossomos 4 e 8 apenas uma marca (Figura 7). Vale destacar que uma marca identificada como significativa para ácido linoleico também foi encontrada para ácido oleico, no cromossomo 6.

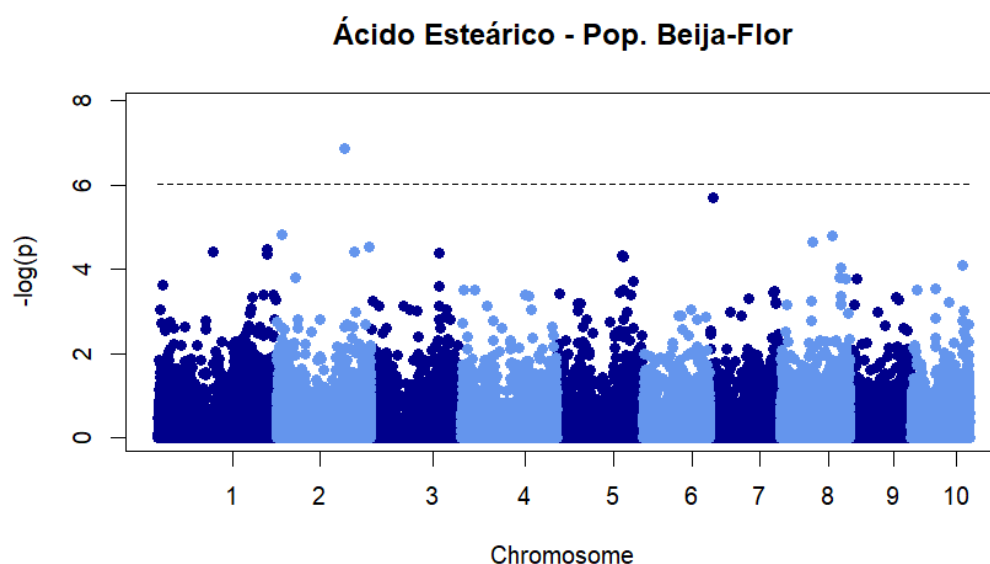


Figura 5: *Manhattan Plot* da análise GWAS para teor percentual de ácido esteárico na população Beija-Flor.

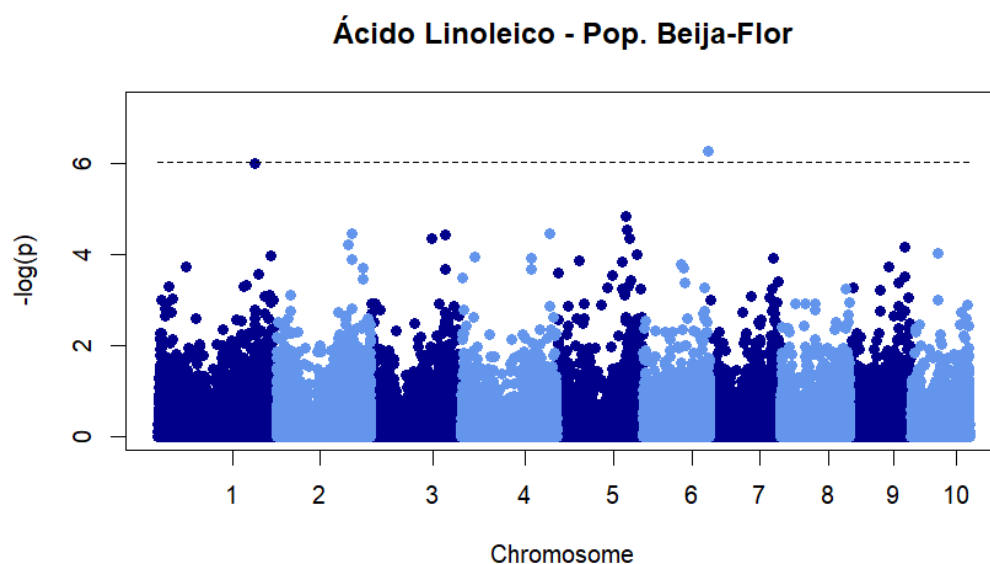


Figura 6: *Manhattan Plot* da análise GWAS para teor percentual de ácido linoleico na população Beija-Flor.

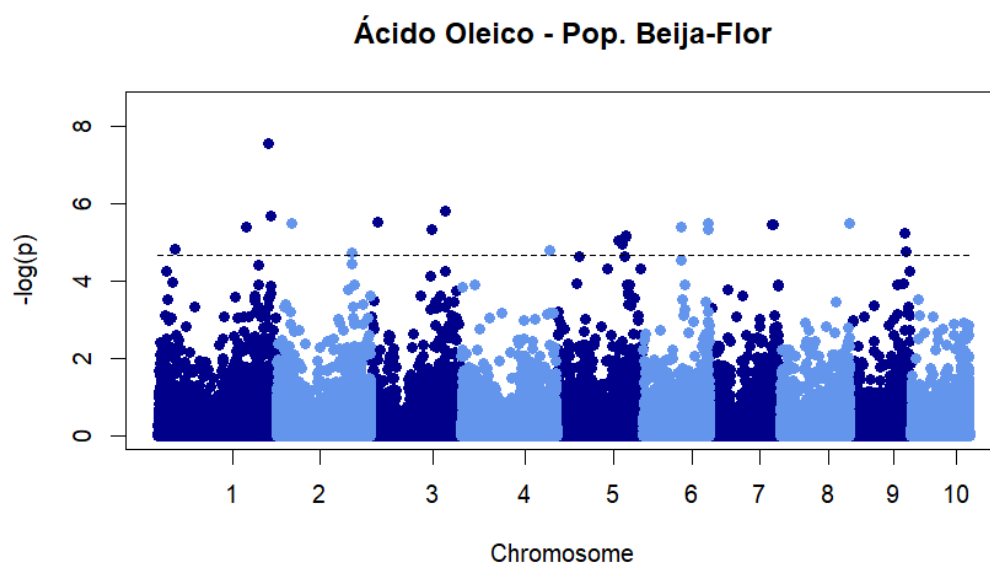


Figura 5: *Manhattan Plot* da análise GWAS para teor percentual de ácido oleico na população Beija-Flor.

A prospecção resultou na identificação de nove genes candidatos, levando em consideração as associações significativas encontradas nas moléculas. Foi identificado um gene candidato para ácido esteárico, um gene candidato para ácido linoleico e sete genes candidatos relacionados a ácido oleico (Tabela 3).

Tabela 3: Genes candidatos associados aos ácidos graxos para a população Beija-Flor.

População	Mol.	Cr.	Posição SNP	Gene Candidato	Anotação Gênica
Beija-Flor	AE	2	12915	Zm00001eb097230	UDP-glicosiltransferase
	AL	6	37449	Zm00001eb292580	Proteína da família do fator citosólico SEC14
	AO	1	1945	Zm00001eb013340	Dessaturase de ácidos graxos 8 (FAD8)
		1	5559	Zm00001eb043440	Citocromo b5 (isoforma E)
		1	7888	Zm00001eb060070	Proteínas da família NPC2
		5	30839	Zm00001eb242380	Acetil-coenzima A sintetase (EC 6.2.1.1)
		6	37449	Zm00001eb292580	Proteína da família do fator citosólico SEC14
		9	50685	Zm00001eb397960	Fosfopiruvato hidratase (EC 4.2.1.11)
		9	50685	Zm00001eb398000	Glicosiltransferase (Domínio da família 1)

Mol. – molécula; Cr – cromossomo; AE – ácido esteárico; AL – ácido linoleico; AO – ácido oleico.

Os níveis de expressão para cada gene candidato foram expressos em FPKM, uma métrica que padroniza a taxa de expressão de cada gene, normalizando as contagens brutas por meio de duas outras variáveis, a profundidade do sequenciamento (número de leituras ou fragmentos) e o comprimento da característica (tamanho do transcrito ou gene avaliado). Os níveis de expressão para que os genes sejam considerados ativos são os que apresentam valor de expressão em FPKM superior a 3 (Hart et al., 2013; Zhao et al., 2021).

A tabela 4 apresenta os níveis de expressão dos genes candidatos encontrados no embrião do grão, expressos em FPKM. O gene Zm00001eb292580, presente em AL e AO, apresenta a maior diferença em sua expressão com o desenvolvimento do embrião, demonstrando quase 6 vezes a mais de expressão do gene durante o início do desenvolvimento do embrião e o final. Os genes Zm00001eb097230 (AE), Zm00001eb013340 (AO), Zm00001eb060070 (AO), Zm00001eb242380 (AO), Zm00001eb397960 (AO), Zm00001eb398000 (AO) possuem o nível de expressão estável, exibindo pouca variação

durante o desenvolvimento do embrião. O gene Zm00001eb043440 (AO) é o que exprime o maior nível de expressão durante todo o desenvolvimento do embrião.

Tabela 4: Níveis de expressão (FPKM) para cada gene candidato encontrado.

Molécula	Gene Candidato	Expressão (FPKM)				
		16 DAP	18 DAP	20 DAP	22 DAP	24 DAP
AE	Zm00001eb097230	4.31	5.81	6.38	6.42	6.70
AL	Zm00001eb292580	4.20	15.08	20.29	22.94	23.85
AO	Zm00001eb013340	3.96	3.02	2.19	1.79	1.88
	Zm00001eb043440	58.87	56.69	60.07	59.10	62.95
	Zm00001eb060070	5.16	4.02	3.71	3.58	3.86
	Zm00001eb242380	13.81	14.57	14.09	12.61	12.05
	Zm00001eb292580	4.20	15.08	20.29	22.94	23.85
	Zm00001eb397960	4.56	6.22	5.64	5.28	5.00
	Zm00001eb398000	2.03	1.86	1.94	2.12	1.63

AE – ácido esteárico; AL – ácido linoleico; AO – ácido oleico; DAP – dias após a polinização.

5. DISCUSSÃO

Os teores de ácidos graxos identificados nas duas populações são bastante divergentes com relação a dados encontrados em literatura, porém não devem ser realizadas comparações diretas entre os teores encontrados nesse trabalho e os de literatura, já que os teores aqui descritos são teores relativos de cada amostra. Em estudos com variedades de polinização aberta na Argentina, foram identificados conteúdos lipídicos de 56,9 a 63,4% de ácido linoleico, seguido de 23,3 a 29,7% de ácido oleico, 9,1 a 12,1% de ácido palmítico e 1,2 a 1,9% de ácido esteárico (Borras et al., 2006). Os resultados encontrados por Borras et al., (2006), são semelhantes aos observados em outros estudos com híbridos americanos (Cutrufeili, R; Pelirsson, P. R, 1991; Park et al., 2000). Além do mais, o manejo cultural também pode interferir na composição lipídica do milho-pipoca (Kaplan et al., 2023). Essa diferença pode ser explicada pelo fato de que as amostras utilizadas nesse estudo para a extração e quantificação do perfil lipídico foram extraídas diretamente do gérmen do milho-pipoca, diferentemente de outros estudos realizado que utilizaram grãos inteiros ou o óleo para realizar essa quantificação. O método utilizado na quantificação (GC-MS) também traz grande precisão para os teores identificados e quantificados. No entanto, mais estudos devem ser realizados para confirmar esses apontamentos.

A principal característica analisada em programas de melhoramento de milho-pipoca, é a capacidade de expansão (CE), pois está relacionada com a qualidade da pipoca e é de interesse do consumidor final, e por conta disso, há o objetivo de desenvolver híbridos com CE elevada ($CE \geq 40 \text{ cm}^3/\text{g}$) (Castro et al., 2022; Hartmann Caranhato et al., 2022; Mafra et al., 2019; Saito et al., 2021). É de conhecimento que as populações temperadas possuem maior CE em comparação a populações tropicais, e características importantes para CE foram indiretamente selecionadas em programas de melhoramento para milho-pipoca temperado, como o conteúdo de zeínas no endosperma do grão e podem estar relacionadas com a maior CE das populações temperadas (Gotardi et al., 2024). Com relação ao teor de ácidos graxos, estudos demonstram que a composição lipídica dos grãos pode interferir na capacidade de expansão, no entanto a composição de ácido oleico possui correlação negativa com CE, porém a composição de ácido linoleico apresenta correlação positiva (Borras et al., 2006; Sweley; Rose; Jackson, 2012). Contudo, os resultados obtidos por Borras et al., (2006), não estabelecem uma relação de causa e efeito para tais correlações, diferentemente do que se observa para outros componentes do grão, como o perfil de zeínas e a estrutura da parede celular do pericarpo, que possuem mecanismos de influência sobre a CE mais bem consolidados (Damasceno Junior et al., 2022).

As moléculas encontradas somente na população UFV-MP5, γ -tocoferol e β -sitosterol, também apresentaram teores elevados comparado a dados da literatura. O γ -tocoferol é uma molécula antioxidante natural de suma importância, que previne a peroxidação dos ácidos graxos, mantendo a integridade de membranas, e evitando danos oxidativos durante o armazenamento (Li et al., 2019b, 2022; Wu et al., 2022). O β -sitosterol é um esterol com grande relevância no milho, já que auxilia na manutenção da fluidez da membrana celular, contribui também em respostas ambientais como absorção de nutrientes e defesa quanto a patógenos (Cabianca et al., 2021; Elshahawy; Abd El-Wahed, 2022; Pavlík et al., 2010).

Como os estudos de associação genômica não identificaram nenhuma marca significativa para a população UFM-MP5, isso pode indicar que há menor variabilidade genética intrapopulacional, já que seus indivíduos têm origem biparental, advinda de cruzamentos ao acaso de um híbrido comercial americano de milho-pipoca (AP4502). É importante destacar que, apesar de não haver nenhum SNP significativo, isso não significa que a característica não possui controle genético, apenas que a variância genética aditiva da população não foi suficiente para ultrapassar o limiar de significância determinado (Uffelmann et al., 2021). A falta de SNPs significativos pode indicar que a população possui efeitos de genes individuais pequenos, incapazes de superar o poder estatístico dado o tamanho amostral ou MAF (Adam et al., 2021; Barsh et al., 2012; Chen et al., 2021)

O gene candidato Zm00001eb097230 no cromossomo 2, foi associado ao ácido esteárico. Apesar da enzima não atuar diretamente na biossíntese de ácidos graxos, ela pode estar relacionada a precursores compartilhados e interação regulatória por meio do fluxo de carbono entre as vias acil-lipídios e flavonóides. Além disso, a glicosilação de esteróis pode alterar a membrana plasmática, interferindo na fluidez da membrana, o que está relacionado com o transporte e interações entre as proteínas presente na membrana e os lipídios (Li et al., 2019a, 2018; Petrich et al., 2025; Ullmann et al., 1993).

As proteínas SEC14, codificadas pelo gene candidato Zm00001eb292580, no cromossomo 6 e que foi associado à ácido linoleico e ácido oleico, são responsáveis por realizar o transporte de lipídios entre membranas, interferindo diretamente em sua composição e sinalização nas células (Mousley et al., 2007; Mousley; Davison; Bankaitis, 2012). Esse processo ocorre principalmente do retículo endoplasmático para o cloroplasto, sendo que as proteínas da família SEC14 são especializadas em transportar ácidos graxos insaturados C18, como o ácido oleico e ácido linoleico (Yao et al., 2023). O controle do transporte entre as membranas pode interferir no perfil lipídico, fluidez da membrana, respostas a situações de

estresse, ou ainda regulação de genes durante o desenvolvimento do pólen (Huercano et al., 2025; Montag; Ivanov; Bauer, 2023; Xu et al., 2024; Zhang et al., 2025).

As enzimas dessaturase de ácidos graxos (FAD), são uma importante família de enzimas responsáveis por transformar ácidos graxos saturados em ácidos graxos insaturados, uma vez que removem hidrogênios das ligações entre os átomos de carbono e as convertem em uma ligação dupla entre os carbonos (Gishini; Kachroo; Hildebrand, 2025; Xiao et al., 2022; Zhao et al., 2019). O gene candidato Zm00001eb043340, que foi associado ao ácido oleico, codifica a enzima dessaturase de ácido graxos 8 (FAD8), que age na conversão de ácidos mono insaturados (18:1) para ácidos poli insaturados (18:2 e 18:3), alterando a composição das membranas celulares, contribuindo para a estabilidade e função das membranas, principalmente em situações de estresse (Hernández et al., 2024; Xiao et al., 2022; Zhao et al., 2019)

O gene candidato Zm00001eb043440, associado ao ácido oleico e localizado no cromossomo 1, o qual codifica o citocromo b5 (Cb5), possui alta relação com ácidos graxos, já que age na dessaturação, alongamento e modificação de ácidos graxos (Kumar et al., 2012, 2012b; Liu, 2022; Smith et al., 1995). O Cb5 é uma proteína de membrana, localizada no retículo endoplasmático, em que realiza a transferência de NADH, por meio da citocromo b5 redutase, para enzimas envolvidas na dessaturação de ácido graxos, especialmente as enzimas FAD2 e FAD3, essas responsáveis pela conversão de 18:1 (ácido oleico) para 18:2 (ácido linoleico) e 18:3 (ácido linolênico) (Kumar et al., 2012). Além disso, outras enzimas também se relacionam com Cb5, recebendo os elétrons de NADH e realizando a hidroxilação, elongação e formação de triplas ligações entre os átomos de carbono (Liu, 2022).

Com relação ao gene candidato Zm00001eb060070, presente no cromossomo 1, associado ao ácido oleico, é responsável por codificar as proteínas da família NPC2, que são enzimas fosfolipases C, responsáveis por converter fosfolipídios presentes em membranas em diacilglicol (DAG) e triacilglicol (TAG), influenciando diretamente no perfil lipídico de reserva (Bose et al., 2021; Ngo et al., 2018). Além do mais, a NPC2 alteram as membranas, influenciando no metabolismo lipídico, pois altera a composição de ácidos graxos em galactolipídios (Pokotylo et al., 2013).

Outro gene associado ao ácido oleico é o Zm00001eb242380, localizado no cromossomo 5, é responsável pela informação que codifica a Acetil-Coenzima A sintetase, e sua produção ocorre nos plastídio, através do complexo piruvato desidrogenase. Essa enzima, que é um componente celular presente no citosol e no estroma do cloroplasto, sintetiza Acetil-Coenzima A (Acetil-CoA), utilizando acetato como substrato, empregando seus carbonos para sustentar a lipogênese e alongamento dos ácidos graxos (Ke et al., 2000; Oliver; Nikolau;

Wurtele, 2009; Zhang et al., 2024). É importante ressaltar que a Acetil-CoA é a molécula base para a sintetização dos ácidos graxos. O processo de sintetização de Acetil-CoA que ocorre nos plastídios, não acompanha o acúmulo de lipídios na semente, desta maneira, a Acetil-CoA sintetase pode ter um papel secundário no acúmulo de lipídios em sementes (Ke et al., 2000).

A fosfopiruvato hidratase, codificada pelo gene Zm00001eb397960 do cromossomo 9, é uma enzima enolase da glicólise, responsável pelo processo de conversão em que 2-fosfoglicerato é convertido em fosfoenolpiruvato (PEP) (Eremina et al., 2015). A PEP, é convertida em piruvato, principal fonte de energia (ATP) e o ponto de entrada de carbono na célula (Hu et al., 2025; Li et al., 2019a). O carbono adquirido pelo processamento do piruvato é utilizado no plastídio das células para a produção de Acetil-CoA e essa é então utilizada na biossíntese de ácidos graxos (Katral et al., 2024; Li et al., 2019a; Yang et al., 2010). Pode se dizer que a fosfopiruvato hidratase controla indiretamente o teor de ácidos graxos, uma vez que é a responsável pelo início da cadeia energética da célula e fornecimento de carbono para a sintetização dos precursores lipídicos.

6. CONCLUSÃO

Os resultados evidenciam que existe divergência quanto à composição de ácidos graxos e de CE entre as duas populações. A população temperada se destaca pela maior CE e por possuir o teor de ácido oleico mais elevado, porém a população tropical apresenta os teores de ácido linoleico, ácido palmítico e ácido esteárico mais elevados. A população temperada ainda se destaca por possuir duas moléculas antioxidantes em sua composição (γ -tocoferol e β -sitosterol), que podem ser importantes para o desenvolvimento de novos híbridos. A população tropical pode ser uma promissora fonte de germoplasma no desenvolvimento de novos genótipos com teores de ácido graxos contrastantes, apesar de apresentar menor CE.

Os estudos de associação genômica permitiram identificar genes candidatos relacionados a três dos quatro ácidos graxos presentes na população Beija-Flor, sendo que não foi encontrada nenhuma associação com ácido palmítico. Um gene relacionado ao ácido esteárico, um gene para ácido linoleico e sete para ácido oleico, sendo que um dos genes associado ao ácido oleico, é o mesmo associado ao ácido linoleico. Apesar de não serem reveladas nenhuma associação para as moléculas encontradas na população UFV-MP5, a população apresenta teores de ácidos graxos que podem ser utilizados em trabalhos futuros. A não associação de genes candidatos na UFV-MP5 pode estar relacionado com a origem biparental da população.

Novos estudos devem ser realizados para buscar entender a correlação entre os teores de ácidos graxos e CE, verificando se existe efeito de causalidade entre essas variáveis, e de que forma isso pode interferir no desenvolvimento de novos híbridos, que possuam alta CE e perfil lipídico que atendam às exigências nutricionais e industriais do mercado consumidor. A identificação de genes relacionados às características traz luz a regulação da biossíntese de lipídios, auxiliando na elucidação das vias metabólicas relacionadas a cada molécula no embrião do milho-pipoca.

REFERÊNCIAS

- ADAM, Yagoub *et al.* Performing post-genome-wide association study analysis: overview, challenges and recommendations. **F1000Research**, v. 10, p. 1002, 4 out. 2021.
- ANDRADE, Andréa Carla Bastos *et al.* Linkage disequilibrium and haplotype block patterns in popcorn populations. **PLOS ONE**, v. 14, n. 9, p. e0219417, 25 set. 2019.
- AZIZIAN, Hormoz; KRAMER, John K. G. A rapid method for the quantification of fatty acids in fats and oils with emphasis on *trans* fatty acids using fourier transform near infrared spectroscopy (FT-NIR). **Lipids**, v. 40, n. 8, p. 855–867, ago. 2005.
- BARRERA-ARELLANO, Daniel; BADAN-RIBEIRO, Ana Paula; SERNA-SALDIVAR, Sergio O. Corn Oil: Composition, Processing, and Utilization. *In: Corn. [S.l.]*: Elsevier, 2019. p. 593–613.
- BARSH, Gregory S. *et al.* Guidelines for Genome-Wide Association Studies. **PLoS Genetics**, v. 8, n. 7, p. e1002812, 5 jul. 2012.
- BELITZ, H. D.; GROSCH, W.; SCHIEBERLE, P. **Food Chemistry**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2004.
- BELÓ, André *et al.* Whole genome scan detects an allelic variant of *fad2* associated with increased oleic acid levels in maize. **Molecular Genetics and Genomics**, v. 279, n. 1, p. 1–10, jan. 2008.
- BENJAMINI, Yoav; HOCHBERG, Yosef. Controlling the False Discovery Rate: A Practical and Powerful Approach to Multiple Testing. **Journal of the Royal Statistical Society Series B: Statistical Methodology**, v. 57, n. 1, p. 289–300, 1 jan. 1995.
- BORRAS, Francisco *et al.* Relationship Between Popcorn Composition and Expansion Volume and Discrimination of Corn Types by Using Zein Properties. **Cereal Chemistry**, v. 83, n. 1, p. 86–92, jan. 2006.
- BOSE, Debayan *et al.* Non-specific phospholipases C2 and C6 redundantly function in pollen tube growth via triacylglycerol production in Arabidopsis. **The Plant Journal**, v. 106, n. 2, p. 409–418, abr. 2021.
- BROWNING, Brian L.; BROWNING, Sharon R. A Unified Approach to Genotype Imputation and Haplotype-Phase Inference for Large Data Sets of Trios and Unrelated Individuals. **American Journal of Human Genetics**, v. 84, n. 2, p. 210–223, 13 fev. 2009.
- CABIANCA, Alessandro *et al.* Changes in the Plant β -Sitosterol/Stigmasterol Ratio Caused by the Plant Parasitic Nematode *Meloidogyne incognita*. **Plants**, v. 10, n. 2, p. 292, 4 fev. 2021.
- CASTRO, Camila Rodrigues *et al.* Adaptability and stability analysis of new popcorn simple hybrids evaluated using additive main effects and multiplicative interaction Bayesian approaches. **Bragantia**, v. 81, p. e1322, 2022.
- CHEN, Zhongsheng *et al.* Revisiting the genome-wide significance threshold for common variant GWAS. **G3 Genes|Genomes|Genetics**, v. 11, n. 2, p. jkaa056, 12 abr. 2021.

CHRISTIE, William W. Gas chromatography-mass spectrometry methods for structural analysis of fatty acids. **Lipids**, v. 33, n. 4, p. 343–353, abr. 1998.

CLARK, Darryl *et al.* Genetic Analysis of Corn Kernel Chemical Composition in the Random Mated 10 Generation of the Cross of Generations 70 of IHO × ILO. **Crop Science**, v. 46, n. 2, p. 807–819, mar. 2006.

CUTRUFELI, R; PELIRSSON, P. R. Composition of Foods: Snacks and Sweets. **Department of Agriculture**, 1991.

DABNEY, A; STOREY, J. Bioconductors qvalue package. [*S.d.*].

DAMASCENO JUNIOR, Clério Valentin *et al.* Biochemical composition of the pericarp cell wall of popcorn inbred lines with different popping expansion. **Current Research in Food Science**, v. 5, p. 102–106, 2022.

DOYLE, J. J; DOYLE, J. L. Isolation of Plant DNA from Fresh Tissue. **Focus**, v. 12, n. 1, p. 13–15, 1990.

ELSHAHAWY, Ibrahim E.; ABD EL-WAHED, Mohamed S. Suppression of *Cephalosporium maydis* by the resistance inducer beta-sitosterol. **European Journal of Plant Pathology**, v. 163, n. 3, p. 673–693, jul. 2022.

ENDELMAN, Jeffrey B. Ridge Regression and Other Kernels for Genomic Selection with R Package rrBLUP. **The Plant Genome**, v. 4, n. 3, 2011.

EREMINA, Marina *et al.* ENO 2 activity is required for the development and reproductive success of plants, and is feedback-repressed by A t MBP -1. **The Plant Journal**, v. 81, n. 6, p. 895–906, mar. 2015.

EVANNO, G.; REGNAUT, S.; GOUDET, J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. **Molecular Ecology**, v. 14, n. 8, p. 2611–2620, jul. 2005.

FLINT-GARCIA, Sherry A.; THORNSBERRY, Jeffry M.; BUCKLER, Edward S. Structure of Linkage Disequilibrium in Plants. **Annual Review of Plant Biology**, v. 54, n. 1, p. 357–374, jun. 2003.

GIOIELLI, Luiz Antonio. Óleos e gorduras vegetais: composição e tecnologia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 5, n. 2, p. 211–232, 1996.

GISHINI, Mohammad Fazel Soltani; KACHROO, Pradeep; HILDEBRAND, David. Fatty acid desaturase 3-mediated α -linolenic acid biosynthesis in plants. **Plant Physiology**, v. 197, n. 2, p. kief012, 7 fev. 2025.

GOTARDI, Leonardo Fioravante *et al.* Characterization of temperate and tropical popcorn populations and GWAS for zeins and starch contents. **Plant Breeding**, v. 143, n. 2, p. 178–189, abr. 2024.

HART, Traver *et al.* Finding the active genes in deep RNA-seq gene expression studies. **BMC Genomics**, v. 14, n. 1, p. 778, 2013.

HARTMANN CARANHATO, André Luís *et al.* GENETIC IMPROVEMENT IN POPCORN. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 21, 18 abr. 2022.

HE, Mei *et al.* Plant Unsaturated Fatty Acids: Biosynthesis and Regulation. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, p. 390, 23 abr. 2020.

HERNÁNDEZ, María Luisa *et al.* 2-Cys peroxiredoxins contribute to thylakoid lipid unsaturation by affecting ω -3 fatty acid desaturase 8. **Plant Physiology**, v. 195, n. 2, p. 1521–1535, 31 maio 2024.

HOSENEY, R. C.; ZELEZNAK, K.; ABDELRAHMAN, A. Mechanism of popcorn popping. **Journal of Cereal Science**, v. 1, n. 1, p. 43–52, jan. 1983.

HU, Runzhou *et al.* Phosphoenolpyruvate and Related Metabolic Pathways Contribute to the Regulation of Plant Growth and Development. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 26, n. 1, p. 391, 4 jan. 2025.

HUERCANO, Carolina *et al.* ER–plastid contact sites as molecular crossroads for plastid lipid biosynthesis. **BMC Biology**, v. 23, n. 1, p. 139, 22 maio 2025.

IBRAHIM, Aminu Kurawa *et al.* Principles and approaches of association mapping in plant breeding. **Tropical Plant Biology**, v. 13, n. 3, p. 212–224, set. 2020.

JIAO, Yiping *et al.* Improved maize reference genome with single-molecule technologies. **Nature**, v. 546, n. 7659, p. 524–527, 2017.

JOHNSTON, David B. *et al.* Composition and economic comparison of germ fractions from modified corn processing technologies. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 82, n. 8, p. 603–608, ago. 2005.

KAPLAN, Mahmut *et al.* Effects of Irrigation Levels on Biochemical Traits of Popcorn Kernels. **Gesunde Pflanzen**, v. 75, n. 4, p. 1099–1106, ago. 2023.

KATRAL, Ashvinkumar *et al.* Allelic Variation in Zmfatb Gene Defines Variability for Fatty Acids Composition Among Diverse Maize Genotypes. **Frontiers in Nutrition**, v. 9, p. 845255, 6 maio 2022.

KATRAL, Ashvinkumar *et al.* Enhancing kernel oil and tailoring fatty acid composition by genomics-assisted selection for *dgat1-2* and *fatb* genes in multi-nutrient-rich maize: new avenue for food, feed and bioenergy. **The Plant Journal**, v. 119, n. 5, p. 2402–2422, set. 2024.

KE, Jinshan *et al.* The Role of Pyruvate Dehydrogenase and Acetyl-Coenzyme A Synthetase in Fatty Acid Synthesis in Developing Arabidopsis Seeds. **Plant Physiology**, v. 123, n. 2, p. 497–508, 1 jun. 2000.

KNAUS, Brian J.; GRÜNWALD, Niklaus J. vcfr: a package to manipulate and visualize variant call format data in R. **Molecular Ecology Resources**, v. 17, n. 1, p. 44–53, jan. 2017.

KNÜPPEL, Sven *et al.* Multi-locus stepwise regression: a haplotype-based algorithm for finding genetic associations applied to atopic dermatitis. **BMC medical genetics**, v. 13, p. 8, 27 jan. 2012.

KUMAR, Rajesh *et al.* Higher Plant Cytochrome b5 Polypeptides Modulate Fatty Acid Desaturation. **PLoS ONE**, v. 7, n. 2, p. e31370, 23 fev. 2012.

LATIMER, George W. **Official methods of analysis of AOAC International**. 19th ed ed. Gaithersburg, Md.: AOAC International, 2012.

LAWSON, Harry. **Food Oils and Fats: Technology, Utilization, and Nutrition**. Boston, MA: Springer US, 1995.

LI, Hui *et al.* Genome-wide association study dissects the genetic architecture of oil biosynthesis in maize kernels. **Nature Genetics**, v. 45, n. 1, p. 43–50, jan. 2013.

LI, Hui *et al.* Leveraging GWAS data to identify metabolic pathways and networks involved in maize lipid biosynthesis. **The Plant Journal**, v. 98, n. 5, p. 853–863, jun. 2019a.

LI, Lin *et al.* An 11-bp Insertion in *Zea mays fatb* Reduces the Palmitic Acid Content of Fatty Acids in Maize Grain. **PLoS ONE**, v. 6, n. 9, p. e24699, 13 set. 2011.

LI, Q. *et al.* Composition and tocopherol, fatty acid, and phytosterol contents in micro-endosperm ultra-high oil corn. **Grasas y Aceites**, v. 70, n. 3, p. e311, 30 set. 2019b.

LI, Yan-jie *et al.* The maize secondary metabolism glycosyltransferase UFGT2 modifies flavonols and contributes to plant acclimation to abiotic stresses. **Annals of Botany**, v. 122, n. 7, p. 1203–1217, 4 dez. 2018.

LI, Ziqi *et al.* Fatty Acid Profiles and Nutritional Evaluation of Fresh Sweet-Waxy Corn from Three Regions of China. **Foods**, v. 11, n. 17, p. 2636, 30 ago. 2022.

LISEC, Jan *et al.* Gas chromatography mass spectrometry–based metabolite profiling in plants. **Nature Protocols**, 2006.

LIU, Chang-Jun. Cytochrome b5: A versatile electron carrier and regulator for plant metabolism. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, p. 984174, 23 set. 2022.

MAFRA, Gabrielle Sousa *et al.* SNP-based mixed model association of growth- and yield-related traits in popcorn. **PLOS ONE**, v. 14, n. 6, p. e0218552, 25 jun. 2019.

MONTAG, Karolin; IVANOV, Rumen; BAUER, Petra. Role of SEC14-like phosphatidylinositol transfer proteins in membrane identity and dynamics. **Frontiers in Plant Science**, v. 14, p. 1181031, 15 maio 2023.

MOSSOBA, Magdi M. *et al.* Rapid FT-NIR Analysis of Edible Oils for Total SFA, MUFA, PUFA, and *Trans* FA with Comparison to GC. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 90, n. 6, p. 757–770, jun. 2013.

MOUSLEY, Carl J. *et al.* The Sec14-superfamily and the regulatory interface between phospholipid metabolism and membrane trafficking. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids**, v. 1771, n. 6, p. 727–736, jun. 2007.

MOUSLEY, Carl J.; DAVISON, James M.; BANKAITIS, Vytas A. Sec14 Like PITPs Couple Lipid Metabolism with Phosphoinositide Synthesis to Regulate Golgi Functionality. *In*: BALLA, Tamas; WYMAN, Matthias; YORK, John D. (Orgs.). **Phosphoinositides II: The**

Diverse Biological Functions. Subcellular Biochemistry. Dordrecht: Springer Netherlands, 2012. v. 59 p. 271–287.

NGO, Anh H. *et al.* A pair of nonspecific phospholipases C, NPC 2 and NPC 6, are involved in gametophyte development and glycerolipid metabolism in *Arabidopsis*. **New Phytologist**, v. 219, n. 1, p. 163–175, jul. 2018.

NUSS, Emily T.; TANUMIHARDJO, Sherry A. Maize: A Paramount Staple Crop in the Context of Global Nutrition. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 9, n. 4, p. 417–436, jul. 2010.

OLIVER, David J.; NIKOLAU, Basil J.; WURTELE, Eve Syrkin. Acetyl-CoA—Life at the metabolic nexus. **Plant Science**, v. 176, n. 5, p. 597–601, maio 2009.

PARK, Donkeun *et al.* Chemical Composition and Physical Characteristics of Unpopped Popcorn Hybrids. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 13, n. 6, p. 921–934, dez. 2000.

PAVLÍK, M. *et al.* The contents of amino acids and sterols in maize plants growing under different nitrogen conditions. **Plant, Soil and Environment**, v. 56, n. 3, p. 125–132, 31 mar. 2010.

PETRICH, Julieta *et al.* Functional characterization of a maize UDP-glucosyltransferase involved in the biosynthesis of flavonoid 7-O-glucosides and di-O-glucosides. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 221, p. 109583, abr. 2025.

POKOTYLO, Igor *et al.* The plant non-specific phospholipase C gene family. Novel competitors in lipid signalling. **Progress in Lipid Research**, v. 52, n. 1, p. 62–79, jan. 2013.

PRITCHARD, Jonathan K.; STEPHENS, Matthew; DONNELLY, Peter. Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data. **Genetics**, v. 155, n. 2, p. 945–959, 1 jun. 2000.

ROSYARA, Umesh R. *et al.* Software for Genome-Wide Association Studies in Autopolyploids and Its Application to Potato. **The Plant Genome**, v. 9, n. 2, p. plantgenome2015.08.0073, 2016.

ROUGHAN, P. Grattan; HOLLAND, Ross; SLACK, C. Roger. On the control of long-chain-fatty acid synthesis in isolated intact spinach (*Spinacia oleracea*) chloroplasts. **Biochemical Journal**, v. 184, n. 2, p. 193–202, 15 nov. 1979.

SAINI, Ramesh Kumar *et al.* Korean Maize Hybrids Present Significant Diversity in Fatty Acid Composition: An Investigation to Identify PUFA-Rich Hybrids for a Healthy Diet. **Frontiers in Nutrition**, v. 7, p. 578761, 5 nov. 2020.

SAITO, Marcelo Akira *et al.* Influence of agronomic and kernel-related properties on popping expansion in popcorn. **Agronomy Journal**, v. 113, n. 3, p. 2260–2272, maio 2021.

SANJEEV, P. *et al.* Comparison of Fatty Acid Profile of Specialty Maize to Normal Maize. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 91, n. 6, p. 1001–1005, jun. 2014.

SCHAUER, Nicolas *et al.* GC–MS libraries for the rapid identification of metabolites in complex biological samples. **FEBS Letters**, v. 579, n. 6, p. 1332–1337, 28 fev. 2005.

SERNA-SALDIVAR, Sergio O.; PEREZ CARRILLO, Esther. Food Uses of Whole Corn and Dry-Milled Fractions. *In: Corn. [S.l.]*: Elsevier, 2019. p. 435–467.

SHAHIDI, Fereidoon (ORG.). **Bailey's Industrial Oil and Fat Products**. 1. ed. *[S.l.]*: Wiley, 2005.

SHIKHA, Kumari *et al.* Genome-wide association mapping in maize: status and prospects. **3 Biotech**, v. 11, n. 5, p. 244, maio 2021.

SMITH, Mark A. *et al.* Cytochrome b5 and fatty acid desaturation. *In: KADER, Jean-Claude; MAZLIAK, Paul (Orgs.). Plant Lipid Metabolism*. Dordrecht: Springer Netherlands, 1995. p. 24–26.

STROCCHI, Antonino. Fatty Acid Composition and Triglyceride Structure of Corn Oil, Hydrogenated Corn Oil, and Corn Oil Margarine. **Journal of Food Science**, v. 47, n. 1, p. 36–39, jan. 1982.

STUMPF, P. K. Biosynthesis of Saturated and Unsaturated Fatty Acids. *In: Lipids: Structure and Function. [S.l.]*: Elsevier, 1980. p. 177–204.

SWELEY, Jess C.; ROSE, Devin J.; JACKSON, David S. Hybrid and environment effects on popcorn kernel physiochemical properties and their relationship to microwave popping performance. **Journal of Cereal Science**, v. 55, n. 2, p. 188–194, mar. 2012.

SWELEY, Jess C.; ROSE, Devin J.; JACKSON, David S. Quality Traits and Popping Performance Considerations for Popcorn (*Zea mays* Everta). **Food Reviews International**, v. 29, n. 2, p. 157–177, 13 mar. 2013.

UFFELMANN, Emil *et al.* Genome-wide association studies. **Nature Reviews Methods Primers**, v. 1, n. 1, p. 59, 26 ago. 2021.

ULLMANN, P. *et al.* UDP-glucose sterol β -d-glucosyltransferase, a plasma membrane-bound enzyme of plants: Enzymatic properties and lipid dependence. **Biochimie**, v. 75, n. 8, p. 713–723, jan. 1993.

WEAIRE, P. J.; KEKWICK, R. G. O. The fractionation of the fatty acid synthetase activities of avocado mesocarp plastids. **Biochemical Journal**, v. 146, n. 2, p. 439–445, 15 fev. 1975.

WIMMER, Valentin *et al.* synbreed: a framework for the analysis of genomic prediction data using R. **Bioinformatics**, v. 28, n. 15, p. 2086–2087, 1 ago. 2012.

WU, Di *et al.* Combining GWAS and TWAS to identify candidate causal genes for tocopherol levels in maize grain. **Genetics**, v. 221, n. 4, p. iyac091, 30 jul. 2022.

XIAO, Ruixue *et al.* Fatty acid desaturases (FADs) modulate multiple lipid metabolism pathways to improve plant resistance. **Molecular Biology Reports**, v. 49, n. 10, p. 9997–10011, out. 2022.

XU, Weitao *et al.* OsSNBP4, a Sec14-nodulin Domain Protein, is Required for Pollen Development in Rice. **Rice**, v. 17, n. 1, p. 54, dez. 2024.

XU, Yang *et al.* Genetic mapping of quantitative trait loci in crops. **The Crop Journal**, v. 5, n. 2, p. 175–184, abr. 2017.

YANG, Xiaohong *et al.* Major and minor QTL and epistasis contribute to fatty acid compositions and oil concentration in high-oil maize. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 120, n. 3, p. 665–678, fev. 2010.

YAO, Hong-Yan *et al.* Arabidopsis Sec14 proteins (SFH5 and SFH7) mediate interorganelle transport of phosphatidic acid and regulate chloroplast development. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 120, n. 6, p. e2221637120, 7 fev. 2023.

YU, Jianming *et al.* A unified mixed-model method for association mapping that accounts for multiple levels of relatedness. **Nature Genetics**, v. 38, n. 2, p. 203–208, fev. 2006.

ZHANG, Jinyu *et al.* Genome-wide identification of the Sec14 gene family and the response to salt and drought stress in soybean (*Glycine max*). **BMC Genomics**, v. 26, n. 1, p. 73, 25 jan. 2025.

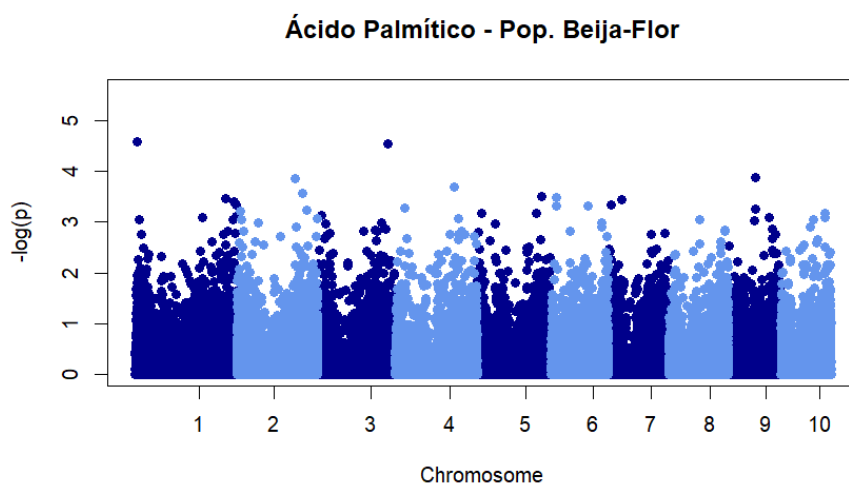
ZHANG, Simiao *et al.* Fatty acid de novo biosynthesis in plastids: Key enzymes and their critical roles for male reproduction and other processes in plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 210, p. 108654, maio 2024.

ZHAO, Xunchao *et al.* Identification of Fatty Acid Desaturases in Maize and Their Differential Responses to Low and High Temperature. **Genes**, v. 10, n. 6, p. 445, 12 jun. 2019.

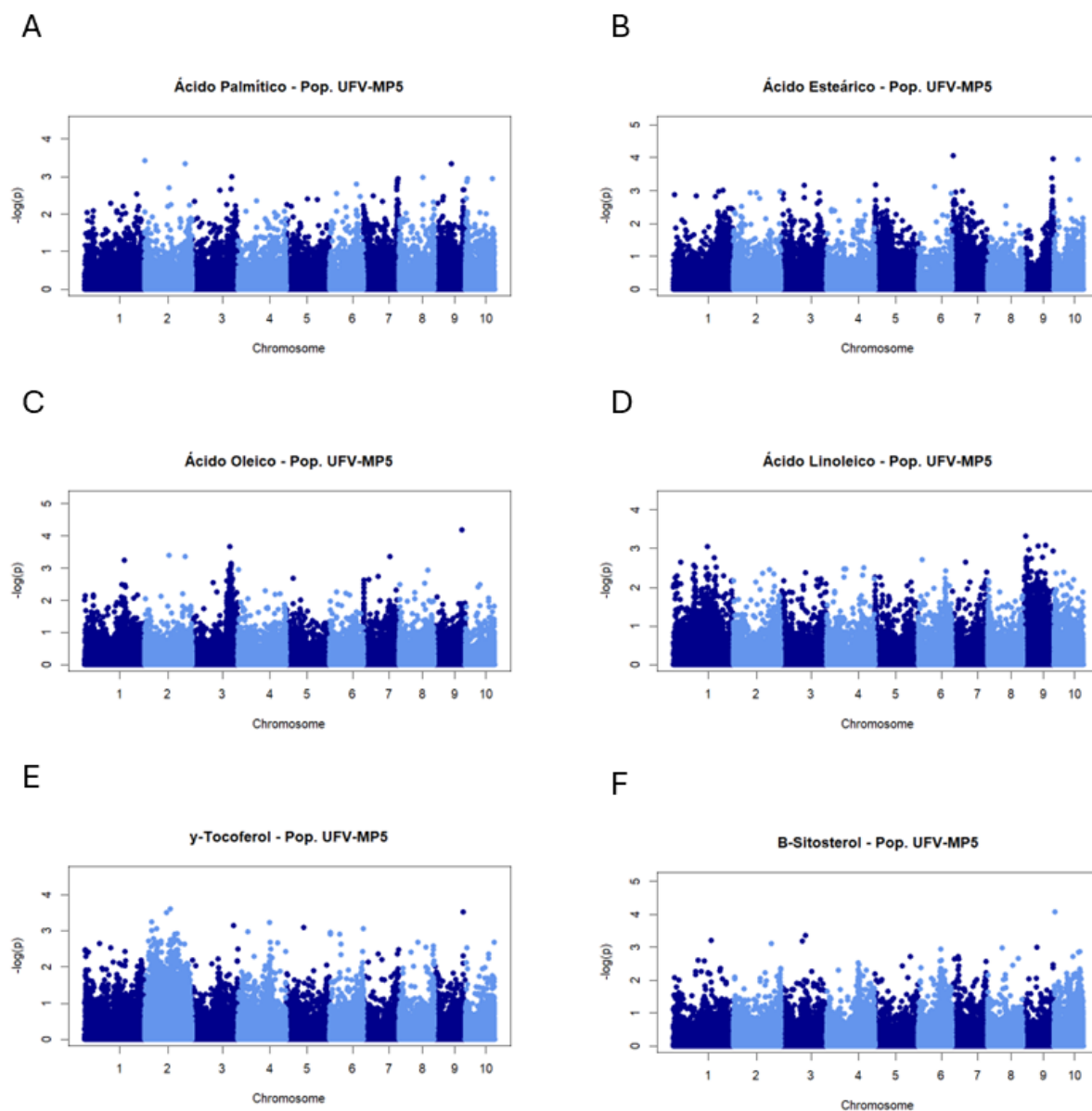
ZHAO, Yingdong *et al.* TPM, FPKM, or Normalized Counts? A Comparative Study of Quantification Measures for the Analysis of RNA-seq Data from the NCI Patient-Derived Models Repository. **Journal of Translational Medicine**, v. 19, n. 1, p. 269, dez. 2021.

ZHENG, Yunxiao *et al.* Genome-wide association studies of grain quality traits in maize. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 9797, 7 maio 2021.

ANEXOS



Anexo A: *Manhattan Plot* da análise GWAS para teor percentual de ácido palmítico na população Beija-Flor.



Anexo B: *Manhattan Plot* da análise GWAS para perfil lipídico na população UFV-MP5. **A:** *Manhattan Plot* da análise GWAS para teor percentual de ácido palmítico; **B:** *Manhattan Plot* da análise GWAS para teor percentual de ácido esteárico; **C:** *Manhattan Plot* da análise GWAS para teor percentual de ácido oleico; **D:** *Manhattan Plot* da análise GWAS para teor percentual de ácido linoleico; **E:** *Manhattan Plot* da análise GWAS para teor percentual de γ -tocoferol; **F:** *Manhattan Plot* da análise GWAS para teor percentual de β -sitosterol;