

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta tese/dissertação será disponibilizado somente a partir de
25/02/2022

OLIVIA PAK CAMPOS

**ANATOMIA, HISTOQUÍMICA E DENSIDADE DE TRICOMAS DE VARIEDADES
DE *Humulus lupulus* L. SOB MANEJO ORGÂNICO E CONVENCIONAL**

Botucatu

2021

OLIVIA PAK CAMPOS

**ANATOMIA, HISTOQUÍMICA E DENSIDADE DE TRICOMAS DE VARIEDADES
DE *Humulus lupulus* L. SOB MANEJO ORGÂNICO E CONVENCIONAL**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Ciências Agronômicas da Unesp *Campus*
de Botucatu, para obtenção do título de
Mestre em Agronomia (Horticultura)

Orientador: Prof. Dr. Filipe Pereira Giardini
Bonfim

Coorientadora: Prof. Dra. Rosani do Carmo
de Oliveira Arruda

Botucatu

2021

C198a	<p data-bbox="427 1384 667 1417">Campos, Olivia Pak</p> <p data-bbox="427 1429 1109 1579">Anatomia, histoquímica e densidade de tricomas de variedades de <i>Humulus lupulus</i> L. sob manejo orgânico e convencional / Olivia Pak Campos. -- Botucatu, 2021 59 p. : il., tabs., fotos</p> <p data-bbox="427 1630 1141 1780">Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu Orientador: Filipe Pereira Giardini Bonfim Coorientadora: Rosani do Carmo de Oliveira Arruda</p> <p data-bbox="427 1832 1189 1915">1. Lúpulo cultivado. 2. Morfologia. 3. Anatomia vegetal. 4. Óleo essencial. 5. Compostos fenólicos. I. Título.</p>
-------	--

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: ANATOMIA, HISTOQUÍMICA E DENSIDADE DE TRICOMAS DE VARIEDADES DE *Humulus Lupulus* L. SOB MANEJO ORGÂNICO E CONVENCIONAL

AUTORA: OLIVIA PAK CAMPOS

ORIENTADOR: FILIPE PEREIRA GIARDINI BONFIM

COORDENADORA: ROSANI DO CARMO DE OLIVEIRA ARRUDA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em AGRONOMIA (HORTICULTURA), pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. FILIPE PEREIRA GIARDINI BONFIM (Participação Virtual)
Produção Vegetal / Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu - UNESP

Prof.ª Dr.ª JORDANY APARECIDA DE OLIVEIRA GOMES (Participação Virtual)
Pós-Doutoranda - Centro de P&D de Recursos Genéticos Vegetais / Instituto Agrônomo de Campinas

Prof. Dr. FLÁVIA MARIA LEME (Participação Virtual)
Instituto de Biociências / Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

Botucatu, 25 de fevereiro de 2021

*Aos meus amados pais Antônio Ruy e Song,
aos meus irmãos Jeremias e Flora,
Dedico.*

AGRADECIMENTOS

“Andorinha sozinha não faz verão”, tenho isso como lei de vida, por esse motivo sou grandemente agradecida a todos que me acompanharam e/ou acompanham minha jornada.

À minha Ohana. Aos meus pais Antônio Ruy Régis de Campos e Song Hi Pak Campos, que construíram ponte de privilégios sob a qual tenho caminhado; aos meus irmãos Jeremias Pak Campos e Flora Régis Pak Campos; ao meu namorado Daniel Callili; a minha cunhada Susana Sales, agradeço pelo zelo, carinho, incentivo e apoio, vocês são a minha motivação.

Ao meu orientador Prof. Dr. Filipe Pereira Giardini Bonfim, que ao longo da orientação deu suporte, ensinou, participou de maneira assídua, e ainda, se fez amigo.

A minha coorientadora Prof. Dra. Rosani de Carmo de Oliveira Arruda, por ser tão solícita e por tanto agregar.

A técnica Dra. Flávia Maria Leme que me ensinou, pacientemente, todas as metodologias de análises anatômicas, e me acolheu em seu lar carinhosamente.

A pós-doutoranda Jordany Ap. de Oliveira Gomes que desde o início contribuiu com o desenvolvimento do trabalho, sanando várias dúvidas, sempre de prontidão.

Aos meus parceiros de campo e amigos Gabriel Fortuna e Caio Scardini, pelas várias trocas de conhecimentos e união no trabalho. Aos estagiários que passaram e aos que ainda participam pela força e por deixarem o ambiente mais alegre. Ao grupo de pesquisa HorgBio pela colaboração mútua.

Ao Programa de Pós-Graduação, a FCA-UNESP, e seus professores e funcionários pelo profissionalismo e assistência.

Ao CNPQ – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, pela bolsa de estudos concedida.

As boas amigas que tornaram minha estada em Botucatu prazerosa e feliz, obrigada pela cumplicidade Mariah, Lia, Sarah, Aline, Flora, Ruan e Roque.

Com o coração gigante, muito obrigada!

RESUMO

O lúpulo é atualmente cultivado quase que exclusivamente para fabricação de cerveja. O Brasil é o terceiro maior produtor mundial da bebida, contudo é grande importador de lúpulo, devido à ausência de cultivo nacional estabelecido. O interesse pelo lúpulo está nos cones (inflorescências femininas), onde estão presentes as estruturas sintetizadoras de lupulina, que é composta por resinas, compostos fenólicos e óleos essenciais, responsáveis pelas propriedades bioativas. Fatores ambientais influenciam teores dos compostos bioativos, tanto quanto a variedade e condições de cultivo. A anatomia de estruturas secretoras vegetais possibilita entender o funcionamento da planta e assim desenvolver técnicas para incremento na produção. Sendo assim, O objetivo deste trabalho foi descrever morfológicamente a parte aérea do lúpulo, identificar tricomas que ocorrem na inflorescência e avaliar a densidade e anatomia dos tricomas peltados, determinar o teor de óleo essencial e compostos fenólicos totais de cinco variedades de lúpulo cultivadas sob manejo orgânico e convencional na cidade de Botucatu – SP, a fim de gerar informações que subsidiem o cultivo de lúpulo no estado de São Paulo. O experimento foi conduzido em delineamento em blocos casualizados, em parcelas subdivididas 2 x 5, sendo fator principal: sistemas de cultivo; e fator secundário: variedades. Para descrição morfológica foram feitos registros fotográficos e descritas as características da planta. O comprimento dos cones foi obtido através da média de 30 amostras. Para identificação de tricomas e densidade de tricomas peltados foram feitas micrografias em microscópio eletrônico de varredura (MEV). Para anatomia e histoquímica, amostras de cones foram fixadas em formalina neutra tamponada, e processadas seguindo as técnicas usuais de anatomia vegetal e submetidas a corantes e reagentes. O óleo essencial foi obtido por hidrodestilação em aparato tipo Clevenger, cujo rendimento foi determinado com base na matéria seca. O teor de compostos fenólicos foi determinado pelo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu. Os resultados obtidos mostraram que os tratamentos não influenciaram o comportamento morfológico das plantas, porém, maiores médias de comprimento de cones foram observadas em sistema orgânico nas variedades Cascade e Chinook. Foram identificados três tipos de tricomas na inflorescência: tector, glandular peltado e glandular bulboso, independente dos tratamentos utilizados. Para densidade de tricomas nas brácteas, houve diferença apenas entre variedades, onde, a 'Cascade' apresentou maior média e a 'Hallertau Mittelfrueh' menor. Para densidade de tricomas nas flores houve interação significativa entre os sistemas e variedades, com exceção da 'Nugget', as variedades apresentaram médias superiores em manejo orgânico, com destaque para 'Hallertau Mittelfrueh' e 'Chinook'. A análise histoquímica revelou presença de polissacarídeos, amido, lipídeos, compostos fenólicos e proteínas nos tricomas peltados. Quanto ao teor de óleo essencial não houve interferência dos sistemas de produção, entretanto houve das variedades, a 'Hallertau Mittelfrueh' apresentou menores teores. Para compostos fenólicos não houve diferença significativa. Foram verificadas correlações positivas entre densidade de tricomas nas brácteas com teor de óleo essencial, densidade de tricomas nas flores com teor de

compostos fenólicos, teor de óleo essencial com teor de compostos fenólicos, e comprimento de cone com teor de compostos fenólicos. De maneira geral, nas condições estudadas, se destacam as variedades Chinook e Cascade, e o sistema orgânico de produção.

Palavras-chave: Bioativos. Lupulina. Lúpulo. Microscopia eletrônica de varredura (MEV). Morfologia.

ABSTRACT

Hop is currently grown almost exclusively for the brewing industry. Brazil is the third largest producer of beer of the world, however is a big importer of hop, due to the lack of established national cultivation. The interest in hop is related to the cones (female inflorescences), where the synthesizing structures of lupulin are present, which is composed of resins, phenolic compounds and essential oils, which are responsible for bioactive properties. Environmental factors influence contents of bioactive compounds as much as the variety and conditions of cultivation. The anatomy of plant secretory structures makes possible to understand the functioning of the plant and thus develop techniques for increasing production. Thus, the aim of this work was to describe morphologically the aerial part of the hop, identify, evaluate the density and anatomy of the trichomes that occur in the inflorescence, determine essential oil content and total phenolic compounds of five hop varieties cultivated in organic and conventional systems in the city of Botucatu - SP, to generate information that subsidizes hops growing in the state of São Paulo. The experiment was conducted in completely randomized design, in 2 x 5 split-plot, being the main factor: cultivation systems, and the secondary factor: varieties. For morphological description, photographic records were made and the characteristics of plant were described. The length of cones was obtained by averaging 30 samples. For identification of trichomes and density of glandular peltate trichomes, were made micrographs of scanning electron microscopy (SEM). For anatomy and histochemistry cones samples were fixed in FNT, and processed following the usual techniques of plant anatomy and subjected to dyes and reagents. The essential oil was obtained by hydrodistillation in Clevenger apparatus, whose yield was determined based on dry matter. The phenolic compounds content was determined using the Folin-Ciocalteu spectrophotometric method. The results obtained showed the treatments did not influence the morphological behavior of the plants, however, higher mean cones lengths were observed in the organic system, and in the varieties Cascade and Chinook. Three types of trichomes were identified: tector, glandular peltate and glandular bulbous, regardless of the treatments. For trichome density in bracts, was a difference only between varieties, where 'Cascade' had a higher average and 'Hallertau Mittelfrueh' less. Regarding density of trichomes in flowers, there was a significant interaction between systems and varieties, except 'Nugget', the varieties show higher averages in organic system, with emphasis on 'Hallertau Mittelfrueh' and 'Chinook'. Histochemical analysis revealed the presence of polysaccharides, starch, lipids, phenolic compounds and proteins in the glandular peltate trichomes. For essential oil content, was no difference between the systems, however was between the varieties, in both systems the 'Hallertau' showed lower levels. For phenolic compounds was no significant difference. Positive correlations were observed between density of trichomes in bracts with essential oil content, density of trichomes in flowers with phenolic compounds content, essential oil content with phenolic compounds content, and cone length with phenolic compounds content. In general, under the conditions studied, the Chinook and Cascade varieties, and the organic production system stood out.

Keywords: Bioactive. Hop. Lupulin. Scanning electron microscopy (SEM). Morphology.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1	Lúpulo (<i>Humulus lupulus</i> L., Cannabaceae) e variedades	18
2.2	Estruturas secretoras e metabolismo secundário	21
2.2.1	Compostos fenólicos	23
2.2.2	Óleo essencial.....	24
3	MATERIAL E MÉTODOS	26
3.1	Caracterização da área experimental	26
3.2	Tratamentos e delineamento experimental	26
3.3	Caracterização do cultivo	27
3.3.1	Tratos culturais.....	29
3.4	Avaliações	30
3.4.1	Descrição morfológica e comprimento de cones.....	30
3.4.2	Identificação de tricomas e densidade de tricomas glandulares peltados	31
3.4.3	Análise anatômica e histoquímica do tricoma glandular peltado	32
3.4.4	Teor de óleo essencial	32
3.4.5	Teor de compostos fenólicos totais	33
3.5	Análise estatística	33
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
4.1	Descrição morfológica e comprimento dos cones	34
4.2	Tipos de tricomas	38
4.3	Densidade de tricoma glandular peltado	40
4.4	Anatomia e histoquímica do tricoma glandular peltado	44
4.5	Teor de óleo essencial e compostos fenólicos totais	48
4.6	Correlação de Pearson	49
5	CONCLUSÕES	51
	REFERÊNCIAS	53

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de cerveja, com produção anual de 13,3 bilhões de litros, com 117 mil hectares de área cultivada com matéria-prima (cereais), gerando faturamento de R\$ 77 bilhões, equivalente a 2% do PIB (SINDCERV, 2017). Contudo, o país se destaca como maior importador de lúpulo da América do Sul, adquirindo o produto da Alemanha (55%) e Estados Unidos (43%), ao custo de aproximadamente de US\$ 35 milhões ao ano, que equivale a 2,4 mil toneladas de lúpulo (CERVBRASIL, 2016; SILVA, 2017). Condição essa que torna a produção da bebida mais onerosa e de qualidade reduzida, em decorrência do transporte e tempo de armazenamento do lúpulo, isso ocorre devido à ausência de produção nacional estabelecida, mesmo diante da alta demanda interna (FAO STAT, 2015; CEOLA, 2020).

O interesse comercial pelo lúpulo se dá essencialmente pelas inflorescências femininas, também chamadas de cones, onde estão presentes as estruturas sintetizadoras e armazenadoras de lupulina (MARCOS *et al.*, 2011). Essas estruturas secretoras, contêm grandes quantidades de resinas, compostos fenólicos e óleos essenciais (FARAG e WESSJOHANN, 2013), substâncias essas responsáveis pelas propriedades medicinais anti-inflamatórias, antibacterianas, antioxidantes, dentre outras (KONDO, 2003; COWAN, 1999; SAKAMOTO e KONINGS, 2003). A resina encontrada nos cones é constituída por alfa e beta ácidos, que conferem a cerveja o sabor. Os óleos essenciais são compostos químicos responsáveis pelo aroma (RODRIGUES, MORAIS e CASTRO, 2015). Os polifenóis contribuem para a coloração, além de promover estabilidade coloidal da espuma através da complexação com proteínas (BOULTON, 2013). Esses compostos também atuam na manutenção das características sensoriais do produto final, além de auxiliar na saúde, pois possuem ação antioxidante, que é caracterizada pela capacidade de doar um átomo de hidrogênio a um radical livre (BOULTON, 2013; GIADA e MANCINI FILHO, 2006).

Fatores ambientais influenciam a formação de teores de compostos ativos, que compõem uma das características mais importantes na avaliação da qualidade do lúpulo. Apesar da existência do controle genético, a expressão dos metabólitos especializados pode sofrer modificações resultantes da interação de processos bioquímicos, fisiológicos, ecológicos e evolutivos (LINDROTH *et al.*, 1987). Os

metabólitos apresentam uma intensa interface química entre as plantas e o meio, logo, sua síntese é frequentemente afetada por condições ambientais (KUTCHAN, 2001).

Deste modo, o rendimento de óleo essencial assim como seu perfil químico é dependente da variedade em questão, tanto quanto da localização geográfica e condições de cultivo. Também do grau de maturidade no momento da colheita, método de secagem empregado e, tempo e condições de armazenamento, uma vez que se tratam de compostos voláteis que são extremamente sensíveis a alterações nas suas concentrações e composição (VENSKUTONIS, 1997; JELIAZKOVA *et al.*, 2018).

A descrição e classificação das estruturas vegetais e suas funções são objetos de estudo da anatomia vegetal. Estas informações podem identificar tendências adaptativas e auxiliar no entendimento do funcionamento das plantas em diversas condições ambientais (DICKISON, 2000). Concomitante, a histoquímica é utilizada para a identificação de substâncias, local de síntese e/ou de armazenamento no vegetal, por meio da aplicação de reagentes e soluções (DORES, 2007). Sendo assim, o uso destas técnicas possibilitam que estratégias de manejo sejam adotadas com maior eficiência para incremento na produção de metabólitos de interesse (DORES, 2007; GOBBO NETO; LOPES, 2007).

No Brasil, estudos sobre o cultivo de lúpulo são ainda insipientes, embora seja o terceiro maior produtor mundial de cerveja, conseqüentemente, com alta demanda interna de matéria-prima. Assim o cultivo do lúpulo nacional é uma importante estratégia para fomento da cadeia produtiva, de modo a possibilitar o desenvolvimento de produtos com identidade 100% brasileira. Visto que a composição química e teor dos óleos essenciais, compostos estes de interesse comercial para indústria cervejeira e farmacêutica, são influenciados tanto por fatores genéticos, quanto características agrônômicas e condições ambientais dos locais de cultivo (LAFONTAINE *et al.*, 2018), estudos que relacionem técnicas de cultivo, morfologia das variedades, densidade de tricomas e composição da secreção são importantes para indicar estratégias de cultivo e variedades com maior potencial econômico.

Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi descrever morfológicamente a parte aérea do lúpulo, identificar, avaliar a densidade, anatomia e histoquímica de tricomas que ocorrem na inflorescência, e determinar o teor de óleo essencial e compostos fenólicos totais de cinco variedades de lúpulo cultivadas sob manejo orgânico e

convencional na cidade de Botucatu – SP, a fim de gerar informações que subsidiem o cultivo de lúpulo no estado de São Paulo.

5 CONCLUSÕES

Os sistemas convencional e orgânico de cultivo, e as variedades Cascade, Chinook, Columbus, Hallertau Mittelfrueh e Nugget, não influenciaram o comportamento morfológico das plantas, contudo, o comprimento dos cones foi afetado pelos tratamentos de maneira isolada, onde, o sistema orgânico incrementou o tamanho desses, e as variedades Cascade e Chinook apresentaram médias de comprimento superiores as demais.

Através de eletromicrografias capturadas por MEV foram identificados três tipos de tricomas presentes nos cones, tais quais, tector, glandular bulboso e glandular peltado, não havendo interferência dos tratamentos sobre a ocorrência desses. Ressalta-se a intensa presença de tricomas peltados na superfície abaxial do cálice das flores, sendo assim, com notável contribuição com o montante total de compostos de interesse do lúpulo.

Com relação a densidade de tricomas peltados nas brácteas, os sistemas de cultivo não influíram, entretanto, houve diferença entre variedades, sendo a Cascade a que apresentou maiores valores. Para densidade de tricomas nas flores, houve interação significativa entre os tratamentos, onde, todas as variedades exceto a 'Nugget', apresentaram maiores médias em condução orgânica, destacando-se a 'Chinook' e 'Hallertau Mittelfrueh'.

A anatomia e histoquímica dos tricomas peltados foram iguais em todos os tratamentos, com reação de todos os corantes testados, as respostas variando entre secreção e estruturação dos tricomas.

O teor de óleo essencial não foi afetado pelos sistemas de produção, mas, foi pelas variedades, sendo a 'Hallertau Mittelfrueh' a menos produtiva. Os compostos fenólicos totais não apresentaram diferenciação frente aos tratamentos.

Foram verificadas correlações positivas entre densidade de tricomas nas brácteas com teor de óleo essencial, densidade de tricomas nas flores com teor de compostos fenólicos, teor de óleo essencial com teor de compostos fenólicos, e comprimento de cone com teor de compostos fenólicos. Evidenciando que parâmetros morfoanatômicos possuem alta aplicabilidade em relação a padrões produtivos.

De maneira geral, nas condições estudadas, se destacam a variedade Cascade e Chinook, e o sistema orgânico de produção.

REFERÊNCIAS

- ALMAGUER, C. *et al.* *Humulus lupulus* - a story that begs to be told. A review. **Journal of the Institute of Brewing**, [S.l.], v. 120, n. 4, p. 289–314, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jib.160>. Acesso em: 16 mar. 2020.
- ALMEIDA, J. M. **Análise do óleo essencial de variedades de lúpulo (*Humulus lupulus* L.) cultivadas no Brasil por cromatografia gasosa uni e bidimensional**. 2020. Dissertação – Faculdade de Ciências Agrônômicas, UNESP, Botucatu, 2020.
- APG II. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 141, p. 399-436, 2003.
- ASCENSÃO, L. Estruturas secretoras em plantas. Uma abordagem Morfo-Anatômica. *In*: FIGUEIREDO, A.C. *et al.* (Eds). **Potencialidade e Aplicações das Plantas Aromáticas e Medicinais. Curso Teórico-Prático**. 3 ed. Lisboa: Edição da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, p. 19-28, 2007.
- BARTH, H. J. 1950-2005: Hop trade - Events and trends in the hop market in Germany and the USA from 1950 to the present day. **Hopfen Rundschau International**. p. 66-77, 2005.
- BOULTON, C. **Encyclopedia of Brewing**. 1. ed. [s.l.] John Wiley & Sons, 2013.
- BRAVO L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutrition significance. **Nutrition Reviews**; v. 56 n. 11, p. 317-33, 1998.
- BROOKS, S. N. *et al.* Registration of Cascade hop (Registration No. 1). **Crop Science**, v. 12, p. 394, 1972.
- BULLIS, D. E.; LIKENS, S. T. Hop oil... Past and present, **Brew. Dig.** v. 37, p. 54-59, 1962.
- CASTRO, H. G. *et al.* **Contribuição ao estudo das plantas medicinais: Metabólitos secundários**. 2.ed. Viçosa, MG: Editora da UFV, 2004.
- ČEH B., ZMRZLAK M. Tehnološka zrelost hmelja. *In*: Martin Pavlovič. **HMELJ: od sadike do storžkov**. Žalec: Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije, 2012. p. 105-107.
- CEOLA, D. **Aspectos do Lúpulo no Brasil**. Paraná: Beer School, 2020. Disponível em: <http://beerschool.com.br/2020/03/23/aspectos-do-lupulo-no-brasil/>. Acesso em: 23 jun. 2020.
- CERVBRASIL, Anuário 2016. Disponível em: <http://www.cervbrasil.org.br/arquivos/anuario2016/161130_CervBrasilAnuario2016WEB.pdf>. Acesso em: 13 de Junho. 2019.

- COWAN, M. Plant Products as Antimicrobial Agents. **Clinical Microbiology Reviews**. v. 12, n. 4, p. 564-582, 1999.
- CRAVEIRO, A. A.; QUEIROZ, D. C. Óleos essenciais e química fina. **Química Nova**. São Paulo – SP, v. 16, n.3, p. 224 – 228, 1993.
- CUNHA A.R.; MARTINS, D. Classificação climática para os municípios de Botucatu e São Manuel, SP. **Irriga** v.14: p. 1-11, 2009.
- DEWICK, P. M. **Medicinal natural products: a biosynthetic approach**. 2. ed. John Wiley & Sons, 2001.
- DICKISON, W.C. **Integrative Plant Anatomy**. Academic Press, New York, London, Tokyo, 2000.
- DORES, R. G. R. **Histoquímica de *Dimorphandra mollis* Benth**. 2007. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2007.
- DURELLO, D. R. *et al.* Química do Lúpulo. **Química Nova**. v.XY, p. 1-20, 2019.
- ENDRESS, P.K. **Diversity and evolutionary biology of tropical flowers**. Cambridge University Press, 1994.
- EYRES, G. T.; MARRIOTT, P. J.; DUFOUR, J. P. Comparison of odor-active compounds in the spicy fraction of hop (*Humulus lupulus* L.) essential oil from four different varieties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n.15, 2007.
- FAHN A. **Plant Anatomy**. 4 ed. Oxford: Pergamon Press, 1990.
- FAHN, A. **Secretory tissues in plants**. London/New York/San Francisco: Academic Press, 1979.
- FAO 2015. FAOSTAT. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**, Roma, Itália. Disponível em: <http://faostat3.fao.org>. Acesso em: 8 ago. 2019.
- FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Statistical Data bases**. Agriculture, 2018.
- FARAG, M. A. *et al.* Metabolite profiling and fingerprinting of commercial cultivars of *Humulus lupulus* L. (hop): a comparison of MS and NMR methods in metabolomics. *In: Metabolomics*. 8. ed. Berlim: Springer, p. 492 -507, 2012.
- FARAG, M. A.; WESSJOHANN, L. A. Cytotoxic effect of commercial *Humulus lupulus* L. (hop) preparations: In comparison to its metabolomic fingerprint. **Journal of Advanced Research**, Cairo, v. 4, p. 417 – 421, 2013.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.
- FIGUEIREDO, A. C.; PEDRO, L. G.; BARROSO, J. G. Plantas aromáticas e medicinais – Óleos essenciais e voláteis. **Revista da Homeopatia**, São Paulo, v. 114, p. 29 -33, 2014.

- GIADA, M. de L. R.; MANCINI FILHO, J. Importância dos compostos fenólicos da dieta na promoção da saúde humana. **Publicatio UEPG: Ciências Biológicas e da Saúde**, Ponta Grossa, v. 12, n. 4, p. 4-7, dez. 2006.
- GOBBO NETO, L., LOPES, N.P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários, **Química Nova**, v.30, p.374–381, 2007.
- GOIRIS, K., *et al.* The flavouring potential of hop polyphenols in beer. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, v. 72, n. 2, p. 135–142, 2014.
- HAUNOLD, A. A., *et al.* Registration of Nugget Hop (Registration No. 13). **Crop Science**. v.24, p.618, 1984.
- HAUNOLD, A. *et al.* Registration of Columbia Hop (Registration No. 5). **Crop Science**. v. 16, p. 738-739, 1976.
- HAUNOLD, A., *et al.* Yield and Quality Potential of Hop, *Humulus lupulus* L. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, Saint Paul, MN, v. 41, n.2, p. 60-63, 1983.
- HOWARD, G. A.; SLATER, C. A. Evaluation of hops - VII. Composition of the essential oil of hops. **Journal of the Institute of Brewing**. v. 63, p. 491-506, 1957.
- JELIAZKOVA, E. *et al.* Sequential Elution of Essential Oil Constituents during Steam Distillation of Hops (*Humulus lupulus* L.) and Influence on Oil Yield and Antimicrobial Activity. **Journal of Oleo Science**, v. 67, n. 7, p. 871–883, 2018.
- JENSEN, W.E. **Botanical histochemistry**: principles and practice. San Francisco: W. H. Freeman and Co, 1962.
- JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw- Hill, 1940.
- KAVALIER, A.R. *et al.* Phytochemical and morphological characterization of hop (*Humulus lupulus* L.) cones over five developmental stages using high performance liquid chromatography coupled to time-of-flight mass spectrometry, ultrahigh performance liquid chromatography photodiode array detection, and light microscopy techniques. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 59, n. 9, p. 4783-93, 2011.
- KENNY, S. T.; C. E. ZIMMERMANN. Registration of Chinook hop (Registration No. 15). **Crop Science**. v. 26, p. 196-197, 1986.
- KEUKELEIRE, J. *et al.* Relevance of organic farming and effect of climatological conditions on the formation of alpha-acids, beta-acids, desmethylxanthohumol, and xanthohumol in hop (*Humulus lupulus* L.) **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 55, p. 61-66, 2007.
- KOETTER U., BIENDL M. Hops (*Humulus lupulus*): A review of its historic and medicinal uses. **HerbalGram**, Austin, v. 87, p. 44–57, 2010.
- KOHLMANN, H.; KASTNER, A. **Der Hopfen**. Hopfenverlag Wolnzach, Germany. p. 34, 1975.

KONDO, K. Preventive effects of dietary beer on lifestyle-related diseases. **EBC Proceedings**, Dublin, p. 133, 2003.

KRALJ, D. *et al.* Variability of essential oils of hops, *Humulus lupulus* L. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 97, p. 197–206, 1991.

KUBITZKI, K. Cannabaceae. *In*: KUBITZKI, K., ROHWER, J. G., BITTRICH, V. **The Families and Genera of Vascular Plants: Flowering Plants – Dicotyledons**. Berlin: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1993, p. 204-206.

KUTCHAN, T. M. Ecological and developmental dispatcher: The paradigm of secondary metabolism. **Plant physiology**, v. 125, p. 58, 2001.

LAFONTAINE, S. *et al.* Impact of harvest maturity on the aroma characteristics and chemistry of Cascade hops used for dry-hopping. **Food Chemistry**, v. 278, p. 228–239, 2018.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: Rima, p. 531, 2000.

LEE, S.J. *et al.* Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. **Food Chemistry**, Barking, v. 91, n.1, p. 131-137, 2005.

LIBERATORE, C. M., *et al.* Phenological phases of flowering in hop (*Humulus lupulus* L.) and their correspondence with microsporogenesis and microgametogenesis. **Scientia Horticulturae**, v. 256, p. 1-6, 2019.

LINDROTH, R. L. *et al.* Seasonal patterns in the phytochemistry of three populus species. **Biochemical Systematics and Ecology**. v.15, p. 681, 1987.

MARCOS, J. A. M. *et al.* **Guia del cultivo del lúpulo**. [Galícia]: :[s.n.], 2011.

MAZIA, D.; BREWER, P.A.; ALFERT, M. The cytochemical staining and measurement of protein with mercuric bromphenol blue. **The Biological Bulletin**, v. 104, p. 57-67, 1953.

MEDICI, L.O. *et al.* Automatic controller to water plants. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.67, n.6, p.727-730, 2010.

NAGEL, J. *et al.* EST Analysis of Hop Glandular Trichomes Identifies an O-Methyltransferase That Catalyzes the Biosynthesis of Xanthohumol. **The Plant Cell**, Monona, v. 20, p. 186 – 200, jan. 2008.

NEVE, R. A. **Hops**. 1.ed. Bury St. Edmunds, Suffolk: Chapman and Hall, 1991.

OLIVEIRA, M.M., e PAIS, M.S. Glandular trichomes of *Humulus lupulus* var. Brewer's Gold: Ontogeny and histochemical characterization of the secretion. **Nordic Journal of Botany**. v. 8, p. 349-359, 1988.

- PATZAK, J. *et al.* Assessment of the genetic diversity of wild hops (*Humulus lupulus* L.) in Europe using chemical and molecular analyses. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 38, n. 2, p. 136-145, 2010.
- PATZAK, J. *et al.* Number and size of lupulin glands, glandular trichomes of hop (*Humulus lupulus* L.), play a key role in contents of bitter acids and polyphenols in hop cone. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 50, n.8, p. 1864–1872, 2015.
- PEARSE, A.G.E. **Histochemistry: theoretical and applied**. 3 ed. Baltimore: The Williams & Wilkins Company, 1972.
- PERAGINE, J. **Growing your own hops, malts, and brewing herbs**. Ocala: Atlantic, 2011.
- PERES, L. E. P. **Metabolismo secundário**. Piracicaba – São Paulo: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz”. ESALQ/Universidade de São Paulo, 2004. p. 1-10.
- PIMENTEL, C.V.M.B.; FRANCKI, V.M.; GOLLÜCKE, A.P.B. **Alimentos funcionais: introdução às principais substâncias bioativas em alimentos**. São Paulo: Varela; 2005.
- PIRES, J. S. *et al.* **Ensaio em microplaca de substâncias redutoras pelo método do Folin-Ciocalteu para extratos de algas**. São Paulo: Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, 2017. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/324452676_Ensaio_em_microplaca_de_substancias_redutoras_pelo_metodo_do_Folin-Ciocalteu_para_extratos_de_algas. Acesso em: 10/08/2020
- RAISER, T. C. Commercial aspects of hops, Lecture presented at the 1st Hops Academy, Nürnberg, Germany. 2011.
- RAMARATHNAM, N., *et al.* The contribution of plant food antioxidants to humans health. **Trends Food Science Nutr**, v. 6, n. 3, p. 75-82, 1995.
- RAUT, S., *et al.* Impact of Process Parameters and Bulk Properties on Quality of Dried Hops. **Processes**, Basel, Switzerland, v.8, p.1507, 2020.
- ROBERTS, T. R.; WILSON, R. J.H. Hop analysis. *In*: Priest, F. G. e Stewart, G. G. **Handbook brewing**. 2. ed. Flórida: CRC Press, 2006. p. 181-278.
- RODRIGUES, M. A.; MORAIS, J. S.; CASTRO, J. P. **O lúpulo: da cultura ao extrato**: Técnica cultural tradicional. Bragança: Instituto Politécnico de Bragança, 2015.
- RONG, H. Z. *et al.* Quantitation of 8-prenylnaringenin, a novel phytoestrogen in hops (*Humulus lupulus* L.), hop products, and beers, by benchtop HPLC-MS using electrospray ionization. **Chromatographia**, v. 51, p. 545-552, 2000.
- SAKAMOTO, K.; KONINGS, W. Beer spoilage bacteria and hop resistance. **International Journal of Food Microbiology**. v. 89, p. 105–124, 2003.

SALMON, E. S.; WORMALD, H. A study of the variation in the seedlings of the wild hop (*Humulus lupulus* L.). **Journal of genetics**, Nova Delhi vol. 11, n. 3, p. 241-268, dez. 1921.

SAMUNI-BLANK, M. *et al.* Intraspecific directed deterrence by the mustard oil bomb in a desert plant. **Current Biology**, v. 22, n. 13, p. 1218-1220, 2012.

SANTAGOSTINI, L., *et al.* *Humulus lupulus* L. cv. Cascade grown in Northern Italy: morphological and phytochemical characterization. **Plant Biosystems - An International Journal Dealing with All Aspects of Plant Biology**, v.154, p. 316-325, 2019.

SARNIGHAUSEN, P; SARNIGHAUSEN, V. C. R.; DAL PAI, A. O Lúpulo e a oportunidade do Agronegócio no Brasil. **6ª Jornada de Iniciação Científica da FATEC de Botucatu**, 23 a 27 de outubro de 2017, Botucatu, São Paulo, Brasil.

SAVITHRAMMA, N. *et al.* Screening of medicinal plants for secondary metabolites. **Middle-East Journal of Scientific Research**, v. 8, p. 579-584, 2011.

SHAHIDI, F.; JANITHA P. K.; WANASUNDARA, P. D. Phenolic antioxidants, Critical Reviews, **Food Science and Nutrition**, v. 32, n. 1, p. 67-103, 1992.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. **Food Phenolics: Sources, Chemistry, Effects and Applications**. Lancaster: Technomic Publishing Co., 1995.

Silva, J. B. de A., Pesquisa FAPESP. **Inovações cervejeiras. Investimento em pesquisa e em novas tecnologias melhora a qualidade da cerveja brasileira e os custos de produção**. São Paulo: FAPESP, 2017. Disponível em: <https://revistapesquisa.fapesp.br/inovacoes-cervejeiras/#:~:text=Por%20ser%20uma%20cultura%20t%C3%ADpica,cerca%20de%20US%24%2035%20milh%C3%B5es>. Acesso em: 13/06/2019

SINDCERV. **O setor em números**. Disponível em: <https://www.sindicerv.com.br/o-setor-em-numeros/>. Acesso em: 11 maio 2020.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent, **Methods of Enzymology**, New York, v. 299, p. 152-178, 1999.

SOLARSKA, E. *et al.* The impact of plant protection and fertilization on content of bioactive substances in organic hops. **Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus**, v. 14, n. 3, 2015.

SPÓSITO, M.B. *et al.* **A cultura do lúpulo**. Piracicaba: Editora da ESALQ, 2019.

SRECEC, S. *et al.* Morphogenesis, volume and number of hop (*Humulus lupulus* L.) glandular trichomes, and their influence on alpha-acid accumulation in fresh bracts of hop cones. **Acta Botanica Croatica**, Croácia, v. 70, n. 1, p. 1-8, 2011.

SUGIYAMA, R. *et al.* Two distinct phases of glandular trichome development in hop (*Humulus lupulus* L.). **Plant Biotechnology Journal**, Japan, v. 23, p. 493–496, 2006.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2013.

The Plant List 2013 Version 1.1. Disponível em:
<http://www.theplantlist.org/tpl1.1/search?q=Humulus>. Acesso em: 17 jan. 2021.

VALKAMA, E.; *et al.* Comparative analysis of leaves trichome structure and composition of epicuticular flavonoids in Finnish Birch species. **Annals of Botany**, London, v. 91, n. 6, p. 643- 655, 2003.

VENSKUTONIS, P.R. Effect of drying on the volatile constituents of thyme (*Thymus vulgaris*) and sage (*Salvia officinalis* L.). **Food Chemistry**, v.59, n.2, p.219-277, 1997.

VERZELE, M.; KEUKELEIRE, D. D. **Chemistry and Analysis of Hop and Beer Bitter Acids**, v. 27, Elsevier: Amsterdam. 1991.

YAN, D. D. *et al.* Chemotyping of new hop (*Humulus lupulus* L.) genotypes using comprehensive two-dimensional gas chromatography with quadrupole accurate mass time-of-flight mass spectrometry. **Journal of Chromatography**, v. 1536, p. 110– 121, 2018.