UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu

FCA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
UNESP | BOTUCATU

GABRIEL CÁSSIA FORTUNA

DESEMPENHO AGRONÔMICO E FITOQUÍMICO DE VARIEDADES DE LÚPULO PRODUZIDAS EM CONDIÇÕES TROPICAIS SOB MANEJO ORGÂNICO E CONVENCIONAL

Botucatu

2021

GABRIEL CÁSSIA FORTUNA

DESEMPENHO AGRONÔMICO E FITOQUÍMICO DE VARIEDADES DE LÚPULO CULTIVADAS EM CONDIÇÕES TROPICAIS EM MANEJO ORGÂNICO E CONVENCIONAL

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp Campus de Botucatu, para obtenção do título de Doutor em Agronomia - Horticultura

Orientador: Prof. Dr. Filipe Pereira Giardini Bonfim

Botucatu

2021

F745d

Fortuna, Gabriel Cássia

Desempenho agronômico e fitoquímico de variedades de lúpulo cultivadas em condições tropicais em manejo orgânico e convencional / Gabriel Cássia Fortuna. -- Botucatu, 2022

87 p. : il., tabs., fotos

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu

Orientador: Filipe Pereira Giardini Bonfim

1. Humulus lupulus L.. 2. Cultivo de lúpulo. 3. Sistemas de cultivo. 4. Variedades. 5. Compostos químicos. I. Título.

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

Essa ficha não pode ser modificada.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Botucatu

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: DESEMPENHO AGRONÔMICO E FITOQUÍMICO DE VARIEDADES DE LÚPULO PRODUZIDAS EM CONDIÇÕES TROPICAIS SOB MANEJO ORGÂNICO E CONVENCIONAL

AUTOR: GABRIEL CÁSSIA FORTUNA

ORIENTADOR: FILIPE PEREIRA GIARDINI BONFIM

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

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

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

Prof. Dr. CRISTIANO SOLEO DE FUNARI (Participaçao Virtual)
Bioprocessos e Biotecnologia / Faculdade de Ciências Agronômicas - UNESP - Botucatu

Dr.ª MÁRCIA ORTIZ MAYO MARQUES (Participaçao Virtual)
Centro de Pesquisa de Recursos Genéticos Vegetais / Instituto Agronômico de Campinas

Prof. Dr. JOSÉ BALDIN PINHEIRO (Participaçao Virtual)
Departamento de Genética / Universidade de São Paulo(USP/ESALQ) - Piracicaba/SP

Botucatu, 20 de outubro de 2021

A minha amada companheira Michelle,
As pessoas que me deram e me ensinaram a vida, meus pais Ângelo (In Memoriam)
e Maria Stela,
A minha querida irmã Jana,
Aos meus doces sobrinhos Maria Anita e Miguel Ângelo,
Dedico.

AGRADECIMENTOS

Esse trabalho foi desenvolvido por muitas mãos, e não teria acontecido se não fosse a paixão e dedicação de todos que ajudaram a torná-lo uma realidade.

À minha amada companheira de vida Michelle Bruna Santana Santos por toda a ajuda no campo, na redação da tese, por me dar tranquilidade e propiciar as melhores condições para que eu pudesse desenvolver esse trabalho.

Aos meus pais Ângelo Barcelos Fortuna e Maria Stela Cássia Fortuna, que me ensinaram todos os valores que levo comigo e me proporcionaram com muito trabalho as melhores condições que eu poderia ter para chegar até aqui.

A minha irmã Jana Maria Fortuna de Castro, minha referência com bons exemplos e cuidados comigo. Ao meu cunhado Filipe Ávila de Castro por construírem uma linda família ao gerarem os dois maiores presentes que tenho, meus sobrinhos Maria Anita e Miguel Ângelo, fontes de inspiração para minha vida.

Ao meu orientador Prof. Dr. Filipe Pereira Giardini Bonfim, que aceitou iniciar esse projeto me acolhendo e dando confiança e autonomia para desenvolvê-lo, seus ensinamentos deram o suporte necessário para o sucesso no trabalho, e ainda se tornou um grande amigo, com muitos churrascos e degustações de boas cervejas.

Ao Prof. Dr. Cristiano Soleo de Funari e o Dr Amauri Alves Souza pelas orientações e análises químicas feitas no LACEM, e a Prof. Dra. Márcia Ortiz Marques Mayo pelos ensinamentos fitoquímicos e análises feitas no laboratório de voláteis do IAC.

A pós-doutoranda Jordany de Oliveira Gomes pela contribuição com o desenvolvimento do trabalho, solucionando dúvidas sempre de prontidão, e por toda a sua contribuição no desenvolvimento dos artigos e nas análises fitoquímicas.

Aos meus amigos Guilherme Moleiro, Walney Pena, Olívia Pak e Caio Scardini por todo o suor derramado no campo e no laboratório, e por fazer com que o trabalho fosse cada vez mais prazeroso por estar com vocês todos os dias compartilhando da mesma paixão de trabalhar com o lúpulo. Aos estagiários pela força de trabalho e interesse de aprender que me motivava cada dia mais a ir para o campo.

Ao meu grande amigo de infância Guilherme Agostinho, começamos juntos a paixão e imersão pelo universo cervejeiro, e ele foi o grande responsável por eu ter iniciado essa pesquisa com o lúpulo e minha caminhada dentro desse segmento.

Ao Programa de Pós-Graduação, a FCA-UNESP e seus professores e funcionários

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudos concedida

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo financiamento do projeto de pesquisa (Processo n° 2019/27066-8)

RESUMO

O lúpulo é uma planta com vários compostos químicos já conhecidos e usados por diversas indústrias como a farmacêutica e cosmética, porém o seu uso é quase que exclusivamente voltado para o mercado cervejeiro. Os compostos químicos de interesse no lúpulo como os ácidos amargos e compostos voláteis estão nas glândulas lupulínicas presentes nos cones (inflorescência). Além dos fatores genéticos e idade da planta, as condições ambientais e de manejo irão influenciar na produção de cones e teores destes compostos bioativos. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o desempenho agronômico e fitoquímico de cinco variedades de lúpulo cultivadas sob manejo orgânico e convencional. O experimento foi implantado no “Pomar Didático”, da FCA da UNESP – Botucatu, em novembro de 2018, sendo avaliado nesse trabalho apenas o 2° ano de produção. Foi adotado o delineamento de blocos casualizados, com 4 blocos em esquema de parcelas subdivididas 2x5, tendo como fator principal os sistemas de cultivo, e como fator secundário as variedades. Os parâmetros morfológicos produtivos avaliados após a colheita foram o peso fresco de cones, altura de inserção dos primeiros cones, comprimento dos entrenós, comprimento dos ramos laterais, comprimento dos cones e dias do início da brotação até a colheita. Também foram avaliados os parâmetros de qualidade em relação aos alfas e beta ácidos, óleo essencial e teor de xanthohumol. O sistema de manejo orgânico obteve maior produção de cones frescos em relação ao convencional. A variedade mais produtiva foi a Columbus, e a menos produtiva foi a Hallertau Mittelfrüeh. O comprimento médio dos cones foi maior nas variedades Cascade, Chinook e Nugget. O ciclo da planta foi mais precoce no sistema convencional para Cascade e Nugget, e para a Hallertau Mittelfrüeh no sistema orgânico. Para o monoterpeno mirceno, a Hallertau Mittelfrüeh obteve um teor maior no sistema orgânico (62%), assim como o sesquiterpeno trans-cariofileno (37%), que foi maior na variedade Columbus. Já o teor de farneseno foi maior na Hallertau Mittelfrüeh cultivada em sistema convencional. Os resultados demostram que o manejo pode influenciar na produtividade e nas características de aroma do lúpulo, e as diferenças nos parâmetros produtivos e de qualidade entre as variedades demonstram a diferença entre os materiais genéticos estudados.

Palavras-chave: *Humulus lupulus* L.; variedades; sistema orgânico; sistema convencional; compostos químicos.

ABSTRACT

Hops is a plant with several chemical compounds already known and used by various industries such as pharmaceuticals and cosmetics, but its use is almost exclusively aimed at the beer market. The chemical compounds of interest in hops such as bitter acids and volatile compounds are found in the lupulin glands present in the cones (inflorescence). In addition to genetic factors and plant age, depending on environmental and management conditions influence the bioactive compound contents. Therefore, the objective of this work was to evaluate the agronomic and phytochemical performance of five hop varieties grown under organic and conventional management. The experiment was implemented in the "Didactic Orchard", of the FCA of UNESP - Botucatu, in November 2018, only the 2nd year of production was evaluated in this work. A randomized block design was adopted, with 4 blocks in a 2x5 subdivided plot scheme, with the cultivation systems as the main factor and the varieties as the secondary factor. The productive morphological parameters obtained after harvest were fresh weight of cones, height of insertion of the first cones, length of internodes, length of lateral branches, length of cones and days from beginning of sprouting to harvest. Quality parameters regarding alpha and beta acids, essential oil and xanthohumol content were also considered. The organic management system obtained greater production of fresco cones compared to the conventional one. The most productive variety for Columbus, and the least productive for Hallertau Mittelfrüeh. The average length of the cones was greater in Cascade, Chinook and Nugget varieties. The plant cycle was earlier in the conventional system in Cascade and Nugget, and for a Hallertau Mittelfrüeh in the organic system. For the myrcene monoterpene, a Hallertau Mittelfrüeh obtained a higher content in the organic system, as well as the trans-caryophyllene sesquiterpene, which was higher in the Columbus variety. The farnesene content was higher in Hallertau Mittelfrüeh cultivated in a conventional system. The results show that management can influence the yield and flavor characteristics of hops, and the differences in yield and quality parameters between varieties demonstrate the difference between the genetic materials studied.

Keywords: *Humulus lupulus* L.; varieties; organic system; conventional system; chemical compounds.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 15
2 REVISÃO DE LITERATURA 17
2.1 Lúpulo (*Humulus lupulus* L., Cannabaceae), variedades estudadas e importância econômica 17
2.2 Compostos químicos do lúpulo 22
2.2.1 Ácidos amargos 23
2.2.2 Óleo essencial 26
2.2.3 Xanthohumol 29
2.3 Cultivo de Lúpulo Orgânico 31
3 MATERIAL E MÉTODOS 35
3.1 Caracterização da área experimental 35
3.2 Implantação e condições de cultivo 38
3.2.1 Cultivo convencional 39
3.2.2 Cultivo orgânico 40
3.2.3 Tratos culturais 40
3.3 Delineamento experimental e tratamentos 41
3.4 Parâmetros morfológicos produtivos 41
3.5 Análise dos ácidos amargos e xanthohumol 43
3.6 Teor e perfil químico de óleo essencial 44
3.7 Análise estatística 45
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO 46
4.1 Características químicas e biológicas do solo 46
4.2 Produção e características morfológicas produtivas 51
4.3 Maturidade tecnológica 57
4.4 Caracterização do perfil químico 58
5 CONCLUSÕES 75
REFERÊNCIAS 77

1 INTRODUÇÃO

Com produção anual de aproximadamente 14 bilhões de litros de cerveja, o Brasil é o terceiro maior produtor de cerveja do mundo (MAPA, 2017). Em 2020 foram registradas 1.383 cervejarias no país (MAPA, 2020), e o número de estabelecimentos registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) entre 2008 e 2018 aumentou em oito vezes, passando de menos de 100 para 889 (MARCUSSO; MULLER, 2018).

Esse mercado vem gerando um faturamento de R$ 77 bilhões, equivalente a 2% do PIB nacional, e 117 mil hectares de área cultivada com matéria-prima (cereais maltados) para a produção da bebida (SINDCERV, 2017). Além dos cereais maltados, o lúpulo (*Humulus lupulus* L.) é o principal ingrediente da cerveja, sendo a indústria cervejeira responsável por 98% do uso mundial da planta (MOIR, 2000).

O Brasil destaca-se como maior importador de lúpulo da América do Sul (FAO STAT, 2015). As importações de lúpulo no ano de 2020 custaram aproximadamente US$ 57 milhões de dólares, sendo importados 3,24 mil toneladas de lúpulo (COMEXSTAT, 2020). A total dependência do mercado externo de lúpulo torna a produção da cerveja artesanal mais onerosa e de qualidade reduzida, em decorrência do transporte e tempo de armazenamento do lúpulo (CEOLA, 2020). Portanto, a produção local de lúpulo e a expansão do mercado cervejeiro aumentaram o interesse por lúpulos dotados de perfis fitoquímicos peculiares e para novas zonas de cultivo, produzindo lúpulo com características sensoriais próprias de cada região (MONGELLI *et al*., 2016).

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, conhecidas como glândulas de lupulina, contêm grandes quantidades de resinas, compostos fenólicos e óleos essenciais (FARAG e WESSJOHANN, 2013), substâncias essas responsáveis pelo aroma e amargor da cerveja além de terem propriedades medicinais anti-inflamatórias, antibacterianas, antioxidantes e outras bioatividades (KONDO, 2004; COWAN, 1999; SAKAMOTO e KONINGS, 2003). A resina encontrada nos cones é constituída por alfa e beta ácidos, que conferem a cerveja o amargor. 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, atuando também no aumento da imunidade e na saúde de maneira geral por possuírem ação antioxidante (BOULTON, 2013).

Fatores climáticos como horas de insolação, temperatura, disponibilidade hídrica e os fenótipos expressos por cada variedade em diferentes condições ambientais irão influenciar na formação de teores distintos de compostos ativos, que é um dos parâmetros mais importantes para a indústria cervejeira na avaliação da qualidade das flores de lúpulo (PAVLOVIČ, 2010).

Keukeleire *et al*. (2007) sugerem em seus estudos que algumas variedades de lúpulo podem apresentar melhor desempenho do que outras em condições de cultivo orgânico e que as respostas na produção de metabolitos secundários parecem ser ocasionadas em função de níveis de estresse ocorridos na planta em função da grande interação de fatores bióticos e abióticos deste sistema.

Como o cultivo de lúpulo ainda é muito recente no Brasil, com os primeiros campos comerciais implantados em 2018 e uma cadeia de produção ainda incipiente, o lúpulo brasileiro ainda não consegue atender nem 1% da grande demanda interna do mercado, porém se mostra altamente promissor com os primeiros resultados obtidos a campo e o futuro crescimento da cadeia produtiva.

Portanto tornam-se necessárias pesquisas de manejo para o estabelecimento de protocolos de cultivo de lúpulo dentro das nossas condições climáticas, de solo e de escala de produção, assim como avaliar o desempenho agronômico e fitoquímico de diferentes variedades nessas condições locais, tendo em vista que a composição química e teor dos óleos essenciais e resinas, compostos estes de grande valor comercial para indústria cervejeira e farmacêutica, são influenciados tanto por fatores genéticos, quanto manejo e condições ambientais dos locais de cultivo (LAFONTAINE *et al*., 2018). Essa pesquisa é a primeira no país avaliando como diferentes sistemas de manejo podem afetar a produção e qualidade do lúpulo.

Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a adaptação agronômica de cinco variedades de lúpulo e a influência do manejo orgânico e convencional na composição química dos ácidos amargos e óleo essencial dessas variedades, a fim de trazer informações que possam gerar subsídios para o cultivo de lúpulo com padrão comercial em regiões com clima semelhante às do local do estudo.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Lúpulo (*Humulus lupulus* L., Cannabaceae), variedades estudadas e importância econômica

O gênero *Humulus* pertence à família Cannabaceae, que em 2003 foi inserida a ordem Rosales (APG II, 2003), sendo representado pelas espécies *Humulus japonicus*, *Humulus lupulus* e *Humulus yunnanensis*, porém a produção de lupulina, resina produzida na flor que contém todos os compostos químicos de valor comercial, é encontrada apenas na espécie *H. lupulus*. Essa espécie é originária das regiões temperadas do Hemisfério Norte. As espécies menos conhecidas *H. japonicus* e H. *yunnanensis* não são cultivados comercialmente, embora o primeiro seja às vezes cultivado como planta ornamental. A espécie *H. lupulus* engloba cinco variedades conhecidas: var. *lupuloides*, *neomexicanus* e *pubescens*, que tem origem na América do Norte, var. *cordifolius* que é originária da Ásia Oriental, e a var. *lupulus*, da Europa e Ásia Ocidental, representa a maior parte do lúpulo comercial cultivado em todo o mundo (DODDS, 2017).

O *Humulus lupulus var. lupulus* é uma espécie perene, herbácea, dioica, anemófila e trepadeira dextrogira (JELIAZKOVA *et al*., 2018), sendo considerada, em relação ao fotoperíodo, uma planta de dias curtos (MAHAFFEE e PETHYBRIDGE, 2009). A planta consiste em uma coroa de rizomas abaixo do solo e trepadeiras anuais acima dele. O rizoma é um caule subterrâneo com brotos e raízes, órgão de armazenamento perene que vai alimentar o crescimento inicial e garantir a sobrevivência da planta de uma temporada para outra. Seu sistema radicular possui raízes pivotantes muito profundas e raízes efetivas superficiais que alimentam o crescimento. Na primavera, emergem novos brotos de gemas dormentes nos rizomas logo abaixo da superfície do solo (DODDS, 2017).

Os tipos de solo ideais podem variar bastante, sendo de regra que todos devem ser profundos e bem drenados para proporcionar o crescimento ideal do grande sistema radicular do lúpulo (BURGESS, 1964). As raízes perenes de uma planta de lúpulo bem desenvolvidas podem crescer mais de 4 m de profundidade e até 5 m lateralmente, sendo este extenso sistema radicular necessário para a absorção e armazenamento de água e nutrientes necessários para o rápido crescimento e

escalada dos ramos nos meses de primavera e verão (BEATSON *et al*., 2009; BURGESS, 1964).

A colheita do lúpulo é feita quando os cones alcançam o seu ponto de maturidade, atingindo o máximo crescimento em tamanho e peso, assim como no conteúdo de resinas e óleos essenciais. Se os cones forem colhidos antes de terminarem a sua maturação, o seu rendimento em produção e qualidade será menor, porém caso ele seja colhido muito depois da sua maturação, os cones irão ficar totalmente amarelos ou acastanhados, ocorrendo a oxidação dos compostos de valor comercial que acabam perdendo sua qualidade para o mercado cervejeiro, além de ocorrer perdas devido à dispersão e desintegração dos cones de lúpulo (ČEH e ZMRZLAK, 2012).

Geralmente, a produção de lúpulo é limitada a regiões acima de 35 ° N ou 55° S latitude (MAHAFFEE E PETHYBRIDGE, 2009), sendo portanto a temperatura e o fotoperíodo as principais restrições climáticas limitantes a plena produção dos cones de lúpulo (MOZNY *et al*., 2009). Segundo Kavalier *et al*. (2011), o lúpulo é cultivado predominantemente em regiões de clima temperado, entretanto, alguns pesquisadores apontam a possibilidade de produção em diferentes climas, incluindo regiões semiáridas, marítimas, úmidas continentais e subtropicais, devido à grande quantidade de variedades disponíveis adaptadas a condições climáticas distintas.

De acordo com Patzak *et al*. (2010), o lúpulo é uma espécie com hábito rústico e alto grau de variabilidade genética intraespecífica que o faz se adaptar a diferentes condições climáticas e ecológicas sendo, portanto, reconhecido como uma espécie extremamente polimórfica (MURAKAMI *et al*., 2006). Com isso uma grande quantidade de variedades de lúpulo foi desenvolvida em todo o mundo, variando quanto ao rendimento, adaptação climática, desempenho agronômico e produção de metabólitos especializados (PATZAK *et al*., 2010). Além dos fatores genéticos, o manejo e condições ambientais dos locais de cultivo influenciam na produção desses metabólitos (LAFONTAINE *et al*., 2018), ocorrendo diferenças do perfil químico dentro de uma mesma variedade devido a sua interação com os fatores edafoclimáticos e bióticos externos (RONG *et al*., 2000; BARTH, 2005).

Além do perfil químico, as variedades podem exibir também padrões de crescimento distintos de acordo com o sistema de manejo empregado, ocorrendo em diferentes condições de cultivo, variedades que apresentam um melhor desempenho em relação a outras (KEUKELEIRE, 2007).

As variedades de lúpulo podem ser classificadas em variedades de amargor, duplo proposito e aroma (YAKIMA, 2016). De acordo com Krofta (2003), o lúpulo selvagem e as variedades comerciais podem ser dividas em 4 grupos: como aroma fino (ácidos alfa de 3 a 4,0%; óleos essenciais <1%), aroma (ácidos alfa de 3 a 7%; óleos essenciais 1 a 2%), amargor (ácidos alfa <8,0%; óleos essenciais 1 a 2%) e alto alfa ácidos (ácidos alfa >15,0%; óleos essenciais 1,5 a 3%) e separação subsequente com base na razão alfa/beta ácidos, de acordo com as necessidades da indústria cervejeira (KROFTA, 2003).

Variedades de amargor normalmente têm ao menos níveis de alfa-ácido entre 8–10% do peso seco. As variedades Columbus, Tomahawk® e Zeus tem perfis químicos tão semelhantes que são agrupadas como variedades CTZ, sendo três dos principais lúpulos de amargor cultivados nos EUA. Os lúpulos de aromas geralmente têm um teor de ácido alfa baixo em comparação com variedades amargas. Os perfis de óleos essenciais dessas variedades significam que o lúpulo vai dar mais aromas e sabores à cerveja. As variedades americanas Citra® e Cascade, e a variedade Motueka® da Nova Zelândia são variedades selecionadas por suas propriedades aromáticas. O lúpulo de dupla finalidade tem alto perfil de alfa ácidos e óleos essenciais que os tornam ideais para entregar tanto amargor quanto aroma a cerveja. Alguns exemplos de lúpulo de dupla finalidade incluem Nelson Sauvin® (NZ), Centennial, Chinook e Simcoe® (todos dos EUA) (DODDS, 2017).

O lúpulo também pode diferir nos teores dos seus compostos entre as safras, dentro da mesma variedade, decorrentes da interação entre o genótipo, o ambiente e o manejo empregado. A quantificação dos compostos químicos é de grande importância para o mestre cervejeiro, que irá definir qual tipo de lúpulo irá usar para adicionar amargor e aroma à bebida com base no perfil químico de cada variedade. As variedades de lúpulo estudadas nessa pesquisa são descritas a seguir:

‘*Cascade*’:

Origem: Estados Unidos. Lançada em 1972, resultado do cruzamento entre as variedades Serebrianka (russa) e a Fuggle (inglesa), é o lúpulo mais popular do mercado cervejeiro artesanal, sendo ótimo para dry hopping. Seu cone é compacto, de tamanho médio e tem uma forma quadrada no ombro, possuindo uma quantidade moderada de lupulina amarelo claro. Apresenta potencial produtivo de 2000 a 2500 kg/ha, com densidade aproximada de 2.777 plantas/há. Seus cones possuem de 4,5 a 8% de alfa-ácidos, 4,5 a 7% de beta-ácidos, cohumulona de 33 a 40%, xanthohumol

de 0,1 a 0,4% do total de polifenóis, óleo total de 0,7 a 1,5 ml/ 100g, com 45 a 60% de mirceno, 8 a 16% de humuleno, 3 a 6% de cariofileno e farneseno de 3 a 7% (VARIETY manual, 2018). Seu aroma é médio com tons florais e cítricos, movendo-se mais em direção a características de grapefruit. Foi a primeira cultivar comercialmente aceita, com amargor relativamente baixo e aroma médio com tons florais e cítricos, representa 10% de todo lúpulo produzido nos Estados Unidos. Susceptível a ácaros, com notável resistência ao míldio e é ligeiramente suscetível ao oídio (BROOKS *et al*.,1972).

‘*Chinook*’:

Origem: Estados Unidos. Lançada em 1985, proveniente do cruzamento entre ‘Peltham Golding’ e ‘63012M’. Com potencial produtivo de 2000 a 2400 kg/ha, com densidade aproximada de 2.217 plantas/há, apresenta cones com 12 a 14% de alfa-ácidos, 3 a 4% de beta-ácidos, cohumulona de 29 a 34%, xanthohumol de 0,4 a 0,5% do total de polifenóis, 1,5 a 2,5 mL de óleo total/100g, com 35 a 40% de mirceno, 18 a 25% de humuleno, 9 a 11% de cariofileno e farneseno menor que 1% (VARIETY manual, 2018). Super alfa híbrido com alto vigor e rendimento, é um lúpulo de dupla aptidão, sendo amargo/aromatizante com aroma pesado; picante, pinho-resinoso com notas de toranja, muito utilizada para dry hopping. Seus cones são grandes e abertos, sendo considerado uma variedade de ciclo médio a tardio. Possui maior resistência a míldio e pragas em relação a maioria das variedades (KENNY e ZIMMERMANN, 1986).

‘*Columbus*’:

Origem: Estados Unidos. A linhagem exata da ‘Columbus’ é desconhecida. As variedades Columbus, Zeus e Tomahawk são muito próximas e por isso são muitas vezes referidas genericamente como lúpulo CTZ. Seus cones são compactos e aglomerados, requerendo uma secagem e armazenamento cuidadoso. É uma variedade de maturidade média a tardia, com potencial de produção de 2500 a 2.800 kg/ha e densidade aproximada de 2.610 plantas, pode apresentar de 14 a 18% de alfa-ácidos, 4,5 a 6% de beta-ácidos, cohumulona de 30 a 35%, xanthohumol 0,7 a 0,8% do total de polifenóis, 2 a 3,5 mL de óleo total/100g, 25 a 45% de mirceno, 15 a 25% de humuleno, 8 a 12% de cariofileno e farneseno menor que 1% (HOP VARIETIES, 2019). É uma variedade de duplo propósito, com aroma forte, cítrico, herbário e resinoso. Devido ao seu alto teor de alfa ácidos, é geralmente utilizada para o amargor, sendo muito usada, além dos pellets, na forma de extratos. Alta

susceptibilidade a oídio e míldio em condições de elevada umidade (HAUNOUD *et al*., 1976).

‘*Hallertau Mittelfrueh’*:

Origem: Alemanha. Nativa da região de Hallertau, é uma variedade muito usada em programas de melhoramento, sendo considerado típico lúpulo de aroma nobre alemão. Faz parte da família Hallertauer, sendo usado em toda cerveja alemã tradicional (Pilsner e Lagers). É uma variedade de maturidade precoce, com potencial produtivo de 1.000 a 1400 kg/ha, com densidade aproximada de 3.663 plantas/ha. Possui concentração de 3 a 5,5% de alfa-ácidos, 3 a 5% de beta-ácidos, cohumulona de 18 a 24%, xanthohumol de 0,2 a 0,3% do total de polifenóis,0,7 a 1,3 mL de óleo total/100g, com 20 a 28% de mirceno, 30 a 38% de humuleno, 10 a 12% de cariofileno e farneseno menor que 1% (HOP VARIETIES, 2019). Tem baixos valores de alfa ácidos, sendo usado como lúpulo de aroma, e possui um floral sutil, gramíneo, levemente picante, com toque de especiarias. Cultivado em grande parte da região sul da Alemanha, é uma variedade suscetível a míldio, oídio e outras doenças fúngicas. (KOHLMANN e KASTNER, 1975).

‘*Nugget*’:

Origem: Estados Unidos. Lançada em 1982, resultante do cruzamento diploide entre ‘Brewers Gold’ e um macho de alto teor de alfa-ácido com boas propriedades de armazenamento (USDA65009 X USDA63015M). Tem uma estrutura de cone mais agrupada, firme e moderadamente longa. A lupulina é abundante, com uma cor amarelo-laranja. Com potencial produtivo de 1700 a 2200 kg/há e densidade aproximada de 2.500 plantas/há, apresenta 12 a 14,5 % de alfa-ácidos, 4 a 6% de beta-ácidos, cohumulona de 22 a 30%, xanthohumol de 0,4 a 0,7% do total de polifenóis, óleo total de 1.5 a 3.2 ml / 100g, com 48 a 59% de mirceno, 12 a 22% de humuleno, 7 a 10% de cariofileno e farneseno menor que 1% (VARIETY manual, 2018). É uma importante variedade de amargor nos EUA e Alemanha, de aroma forte com notas de ervas verdes (não cítricas). Mostra-se resistente ao míldio, oídio e prunus necrotic ring-spot virus. (HAUNOUD *et al*., 1985).

O Brasil destaca-se como maior importador de lúpulo da América do Sul (FAO STAT, 2014). As importações de lúpulo no ano de 2019 custaram aproximadamente US$ 28 milhões, sendo importados no total 3,24 mil toneladas de lúpulo nos seus mais diferentes formatos (COMEXSTAT, 2020), ao mesmo tempo em que foram produzidos

localmente em 2020 um total aproximado de 24 toneladas (PRODUÇÃO de lúpulo brasileiro, 2021), o que não atende 1% da demanda interna.

A total dependência do mercado externo de lúpulo torna a produção da cerveja artesanal mais onerosa e de qualidade reduzida, em decorrência do transporte e tempo de armazenamento do lúpulo (CEOLA, 2020). O crescente foco na fabricação local e a expansão dos mercados de cerveja aumentaram o interesse pelo lúpulo dotado de perfis fitoquímicos peculiares e para novas zonas de cultivo, produzindo lúpulo local com características sensoriais próprias de cada região (MONGELLI *et al*., 2016).

A tendência é de crescimento nos próximos anos devido a fatores já ocorrentes como a estabilização da maturidade da planta em campos com mais de três anos de idade, a comercialização dos lúpulos no formato de pellets, a criação de maquinários específicos para a colheita e beneficiamento, a liberação de crédito rural para o cultivo de lúpulo, a geração do zoneamento agroecológico para o plantio em cada região, o desenvolvimento de pesquisas a campo e o início de assistência técnica especializada para o acompanhamento dos produtores.

2.2 Compostos químicos do lúpulo

Somente as flores de plantas fêmeas são utilizadas para a produção de cerveja devido as plantas masculinas apresentarem apenas 10 a 15 glândulas de resina por flor, enquanto as plantas fêmeas possuem 10000 ou mais glândulas de resinas em cada flor (RYBACEK, 1991). Essas inflorescências femininas, também denominadas cones, possuem estruturas secretoras que sintetizam e armazenam diversos aglomerados de compostos químicos, tais como resinas (15-30%), óleos essenciais (0,5-3%), proteínas (15%), polifenóis (4%), ceras (traços-25%), celulose (43%) e aminoácidos (0,1%). Um conjunto de substâncias complexas e distintas são biosintetizadas nas glândulas de lupulina, podendo se estender desde metabólitos polares terpenofenólicos a terpenos voláteis, sendo estes últimos predominantes em lúpulos para aroma usados em diversos estágios específicos do processo de fabricação da cerveja (KISHIMOTO *et al*., 2008). Os compostos químicos do lúpulo estudados foram os alfa e beta ácidos, o xanthohumol e os compostos aromáticos presentes nos óleos essenciais.

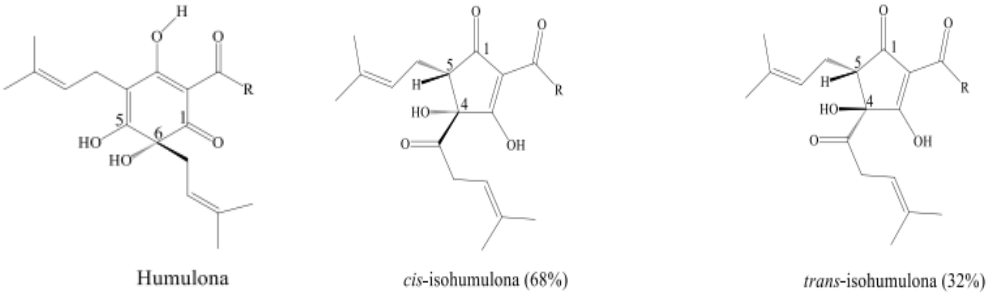
2.2.1 Ácidos amargos

Os ácidos amargos presentes no lúpulo estão nas resinas produzidas pelas flores, sendo que o total de resinas representa a soma de todas as frações amargas e pode ser dividida em resinas duras e maciais. Nas resinas macias estão presentes os ácidos amargos mais desejados do lúpulo que são os alfas ácidos, na proporção entre 3-17% e os beta ácidos, os quais estão em menor proporção 3-7% (KROTTENTHALER, 2009). O teor de alfa ácidos é um dos mais importantes parâmetros de qualidade de mercado do lúpulo, e pode variar de 2-8% por variedades de aroma até 12-18 % por variedades de amargor (PAVLOVIČ, 2009). Análises de alfa-ácido e óleo essencial precisas e atualizadas para cada safra são informações importantes para os produtores de lúpulo e para as cervejarias, que oferecem melhores preços em seus contratos de venda com as fazendas de acordo com a qualidade desses parâmetros.

Estes componentes contribuem positivamente para o amargor da cerveja, já que após sua isomerização, formam a principal classe de compostos para o amargor. Entretanto, estes compostos não têm apenas a influência sensorial na cerveja, como também um efeito antibacteriano, principalmente sobre bactérias grampositivas, auxiliando na preservação do produto. O mecanismo de ação microbiano é atribuído à interferência do grupo prenil, característico das cadeias laterais dos betas ácidos do lúpulo, com a membrana plasmática da célula dos microrganismos. Além disso, os ácidos amargos ajudam na estabilização da espuma da cerveja, o que foi observado pela presença dos iso-α-ácidos. Estes, por sua vez, se ligam às proteínas localizadas na parede das bolhas presentes na espuma (KEUKELEIRE, 2000).

Nos alfa ácidos podem ser encontrados três compostos majoritários: cohumulona, humulona e adhumulona, enquanto nos beta ácidos os três compostos mais comuns são colupulona, lupulona e adlupulona. Os alfa-ácidos, nomeadamente a humulona e a cohumulona, são convertidos em formas iso durante a fervura do mosto, conferindo os ácidos desejados ao amargor e sabor na cerveja (DURELLO et al., 2019)

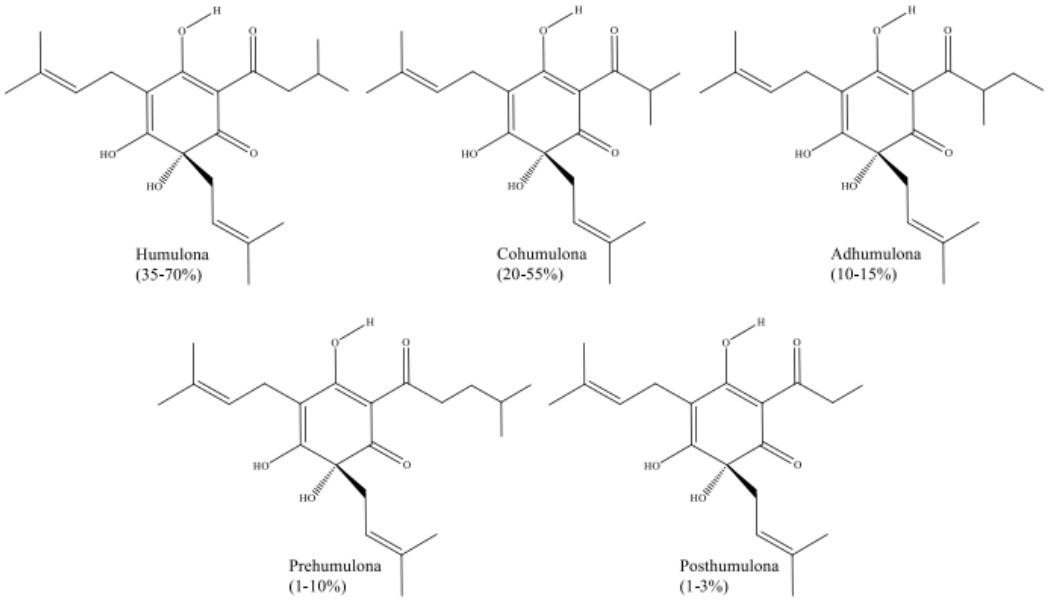
Figura 1 - Estrutura química da humulona e sua isomerização



Adaptado por: Jaskula *et al*. (2008).

Também é notado que as isocohumulonas tendem a transmitir um sabor amargo e mais severo do que outras isohumulonas (KEUKELEIRE, 2000). Contudo, a proporção de humulonas e cohumulonas são dependentes diretamente da variedade de lúpulo (HARDWICK, 1994).

Figura 2 - Estrutura química dos principais alfa ácidos do lúpulo



Adaptado de: Verzele; Keukeleire (1991).

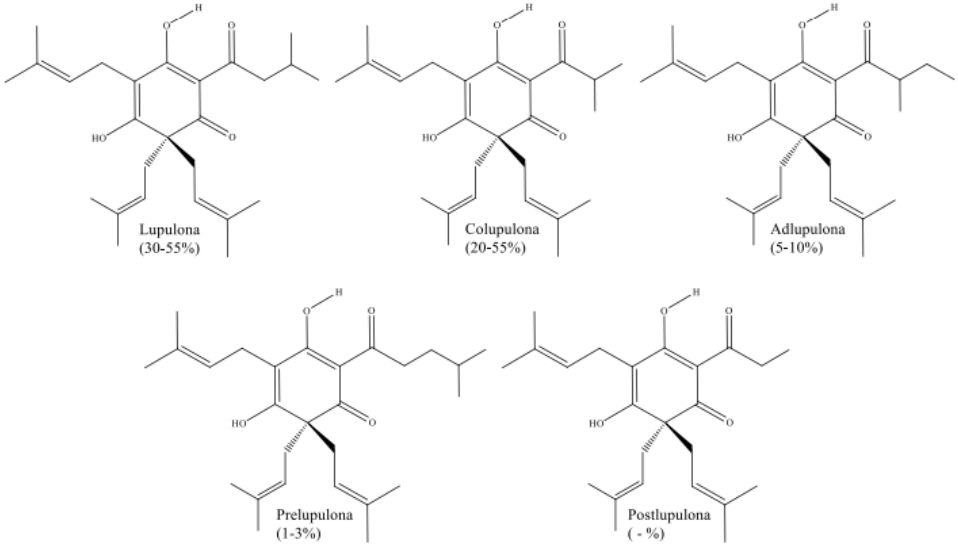
A humulona é solúvel em todos solvente orgânico, sendo oticamente ativa e, ácida (pKa 5,4) e possui um amargor fraco. Por outro lado, as cohumulonas são uma das frações mais relevantes na escolha de uma variedade de lúpulo pelos cervejeiros,

já que ela é associada a uma baixa qualidade de amargor por ser um amargor mais áspero em comparação com outros lúpulos de menor cohumulona (DE KEUKELEIRE, 2000; HARDWICK, 1994). A fração mais importante para a característica de amargor da cerveja são os iso-alfa-ácidos, apesar do amargor real percebido pelos consumidores ser modificado pela complexação destes compostos com o açúcar residual presente na cerveja, resultando em um amargor mais agradável sensorialmente. (DE KEUKELEIRE, 2000)

A quantificação e caracterização dos ácidos amargos do lúpulo é feita por análises por cromatografia líquida de alta performance (HPLC), identificando assim, os diferentes componentes presentes nesta fração dos ácidos amargos. Dentro dos alfas ácidos a maior porção é composta pelas humulonas (30-70%), seguida pelas cohumulonas (20-55%), adhumulona (10-15%) (BLAND *et al*., 2015).

Uma pequena fração da resina macia é representada pelos betas ácidos, os quais são compostos cristalinos e sem cor, que tem como principal componente as lupulonas, composta por três compostos majoritários denominados lupulona (30-55%), colupulona (20-55%), adlupulona (5-10 %) (VERZELE, 1986). A solubilidade do beta ácido é baixa em água, sendo que as propriedades do mosto não favorecem a sua solubilidade e como consequência, somente traços são encontrados na cerveja. Ao contrário dos alfas ácidos, eles não sofrem isomerização ao longo da fervura do mosto, portanto não contribuem para o amargor final da cerveja (ALMAGUER *et al*., 2014).

Figura 3 - Estrutura química dos principais beta ácidos do lúpulo



Adaptado de: Verzele; Keukeleire (1991).

Os betas ácidos tem um valor menor na aplicação do processo cervejeiro, contudo, possuem uma alta atividade antimicrobiana devido à presença de três grupos isoprenil. Essa bioatividade é importante para a morte dos microrganismos na estocagem da cerveja. Além do mais, estes compostos são sensíveis a oxidação, podendo atuar como agente antioxidante na cerveja. Entretanto, os produtos da oxidação dos betas ácidos são indesejáveis na cerveja, sendo o principal motivo das cervejarias preferirem variedades de lúpulo com menor teores desses compostos. (BOULTON, 2013).

2.2.2 Óleo essencial

Por definição, o óleo essencial é uma das frações voláteis obtida por destilação, hidrodestilação ou destilação por arraste a vapor, de uma planta ou de suas partes. Uma vez extraído, o óleo essencial é separado da fase aquosa por um processo que não interfira na sua composição (HARBORNE, 1984; FIGUEIREDO *et al*., 2014).

O óleo de lúpulo é um dos óleos essenciais mais complexos conhecidos nas plantas (KING, 2003). Com base no número de picos relatados em estudos usando técnicas cromatográficas avançadas e levando em conta que ainda há necessidade de métodos mais sensíveis para capturar compostos em níveis de traço, acredita-se que mais de 1000 compostos voláteis estejam presentes nos óleos essenciais do lúpulo (EYRES *et al*., 2009).

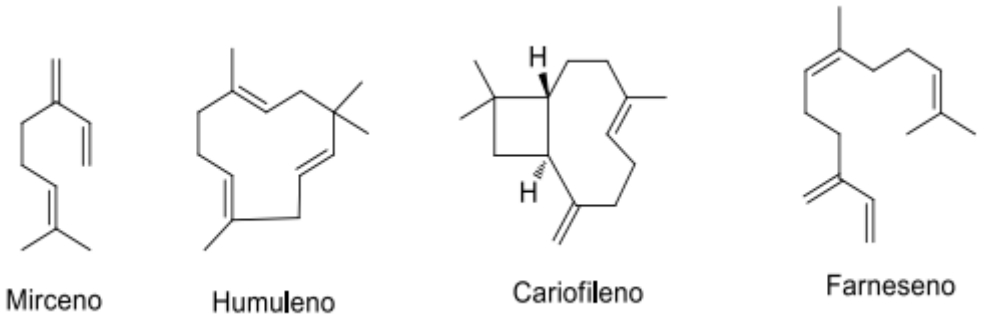
Os teores de óleos essenciais dos cones secos do *H. lupulus* variam de 0,5 - 3% (EYRES *et al*., 2007). A composição aromática proveniente do lúpulo é constituída essencialmente pelos hidrocarbonetos e os seus compostos oxidados. Os hidrocarbonetos são classificados em hidrocarbonetos alifáticos, monoterpenos e sesquiterpenos, sendo muito voláteis e suscetíveis à oxidação e polimerização. A solubilidade dos hidrocarbonetos em água, mosto ou na cerveja é muito baixa, embora possuam um alto limite de detecção sensorial. Considerando ainda que sua maior parte é perdida durante o processo de fervura do mosto, ou posteriormente, ao longo da fermentação, sendo encontrados apenas traços destes compostos no produto final (ALMAGUER *et al*., 2014, HARDWICK, 1994).

A fração de hidrocarbonetos terpênicos ocorre em maior escala, podendo corresponder de 50% a 80% do óleo essencial, sendo o mirceno (monoterpeno)

composto majoritário com até 60% da constituição do óleo. Os sesquiterpenos cariofileno, α-humuleno e β-farneseno, juntamente ao mirceno são os compostos mais relevantes para o aroma, representando juntos aproximadamente 80% do total dos óleos essenciais, sendo o percentual relativo desses oscilante de acordo com a variedade (AMALGUER *et al*., 2014; YAN *et al*., 2018).

O grupo dos sesquiterpenos é caracterizado principalmente pelos compostos α-humuleno, β-cariofileno e β-farneseno, e possuem um ponto de ebulição maior do que os monoterpenos. O α-humuleno é o sesquiterpeno mais abundante no lúpulo, seguido do β-cariofileno, o qual junto com o α-humuleno trazem impactos positivos no aroma do lúpulo, sendo desejados em uma proporção de 3:1 (α-humuleno: β-cariofileno) para oferecer um aroma com caráter mais nobre, destacando-se fortemente as notas herbais, florais e de especiarias. O sesquiterpeno β- farseno é comumente encontrado em altas concentrações que podem chegar até 30% do total do óleo essencial nos lúpulos do grupo Saazer, o qual são amplamente utilizados em cervejas do estilo Bohemian Pilsner. (ALMAGUER *et al*., 2014; HARDWICK, 1994; KROTTENTHALER, 2009).

Figura 4 - Estrutura química dos principais mono e sesquiterpenos do lúpulo



Fonte: Almaguer *et al*. (2014).

Os hidrocarbonetos oxigenados são outro grupo de compostos encontrados nos óleos essenciais, representando uma fração de até 30% do total dos óleos essenciais, sendo sua composição mais diversificada do que os hidrocarbonetos. A fração total dos compostos oxigenados é constituída por uma mistura complexa de álcoois, aldeídos, ácidos, cetonas, epóxidos e ésteres. No entanto, somente uma pequena parte dos componentes oxigenados dos óleos essenciais ainda permanecem na cerveja, embora contribuam de forma significativa para o sabor da bebida. Estes

compostos possuem um limite de detecção baixo, medidos em partes por bilhão (ppb) ao invés de partes por milhão (ppm) (ALMAGUER *et al*., 2014; HARDWICK, 1994).

Um dos compostos oxigenados de maior interesse no lúpulo é o linalol, o álcool terpênico encontrado no lúpulo e considerado uma substância importante como indicador da qualidade do aroma da cerveja e frescor do lúpulo. O linalol tem grande atividade sensorial apesar de estar presente no óleo essencial normalmente em proporções menores que 1%. Este composto é responsável pelo aroma de caráter floral na cerveja e possui um limite de detecção por volta de 6 ppb em água e 10 ppb na cerveja (ALMAGUER *et al*., 2014; HARDWICK, 1994).

A quantidade de óleo essencial e a proporção de frações individuais variam entre as variedades de lúpulo (EYRES *et al*., 2009). As concentrações de compostos individuais em frações específicas de óleo de lúpulo também diferem entre as variedades de lúpulo e o geraniol é um exemplo importante, sendo um composto específico que não pode ser encontrado em todas as variedades de lúpulo em concentrações detectáveis (STEINHAUS *et al*., 2007; VAN OPSTAELE *et al*., 2012).

Plantas de uma mesma espécie podem apresentar diferenças anatômicas, fisiológicas e morfológicas de acordo com o habitat que estão inseridas (LARCHER, 2000). Desse modo, os metabólitos produzidos também podem exibir diferentes quantidades e proporções relativas dos componentes das secreções (GOBBO NETO *et al*., 2007). Desse modo o manejo empregado no cultivo vai influenciar na interação genótipo x ambiente, resultando em diferenças nos teores dos compostos produzidos pelas plantas.

O conteúdo total de óleo essencial do lúpulo, assim como sua composição, pode variar de acordo com o material genético, condições de cultivo, época de colheita (grau de maturação), método de secagem, oxidação, tempo e condições de armazenamento (HOWARD e SLATER, 1957).

Diferentes variedades de lúpulo podem contrastar tanto na proporção quanto nos vários compostos ácidos e suas cadeias laterais variáveis, o que acarreta em uma variedade de sabores e aromas diferentes. Mesmo dentro de uma única variedade de lúpulo, diferenças nas condições de manejo e crescimento também podem afetar o aroma e sabor resultante (KEUKELEIRE, 2000).

2.2.3 Xanthohumol

No lúpulo os compostos fenólicos correspondem em média a 4% da massa seca dos cones, sendo encontrados nas pétalas, com exceção do composto xantohumulol que está localizado nas glândulas de lupulina. A composição dos compostos fenólicos do lúpulo depende da variedade, manejo do cultivo e estado de maturação dos cones, que quando estão mais avançados, apresentam maior teor de polifenóis em comparação com os cones mais imaturos. Dentre os polifenóis presentes no mosto, cerca de 20 a 30% provém do lúpulo e o restante advém do malte (ALMAGUER *et al*., 2014; KROTTENTHALER, 2009).

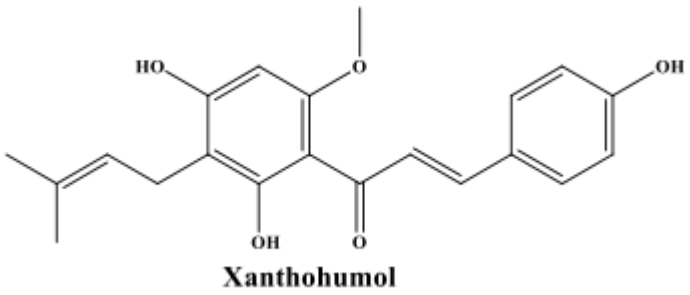
Esses compostos incluem grande variedade de moléculas com distintas características químicas como os flavonoides, flavan-3-ois, prenilflavonoides, taninos, ácidos fenólicos, estilbenos, entre outros (GOIRIS *et al*., 2014). A atividade antioxidante dos compostos fenólicos é decorrente da sua capacidade de agir como interruptor de radicais livres, sendo muito eficientes na prevenção da auto oxidação (SHAHIDI *et al*., 1992).

Na fabricação da cerveja os compostos fenólicos do lúpulo e do malte são responsáveis pela atividade antioxidante, prevenindo a ocorrência de processos oxidativos, além de promover a saúde. Os polifenóis contêm dois ou mais grupos fenólicos ligados e contribuem para o sabor da cerveja proporcionando adstringência. Os polifenóis oxidados contribuem para a cor da cerveja, além de promover a estabilidade coloidal da espuma através da complexação com proteínas (BOULTON, 2013). O amargor produzido pelos polifenóis interage com o amargor proveniente dos iso-α-ácidos, já que cervejas com baixos níveis de polifenóis possuem a qualidade e intensidade de amargor semelhante àquele provindo dos isoα-ácidos. Já em altos níveis de polifenóis, o amargor é considerado com caráter medicinal e metálico (ALMAGUER *et al*., 2014).

Os compostos que mostram ser os mais promissores são o xanthohumol e a 8-prenilnaringenina, que são prenilflavanóides produzidos nos cones femininos de lúpulo (SCHAEFER et al., 2003). A 8-prenylnaringenina mostra ser um potente composto de fitoestrógeno capaz de tratar cólicas menstruais e osteoporose (STEVENS & PAGE, 2004). O xanthohumol é especialmente interessante porque se

descobriu que causa inibição nos estágios de iniciação, promoção e progressão da carcinogênese (GERHAUSER et al., 2002).

Figura 5 - Estrutura química do Xanthohumol



Adaptado de: Stevens e Jonathan (2004).

A distribuição de xantohumol é limitada e onipresente em *H. lupulus*. Ele é secretado como parte da resina de lúpulo por tricomas glandulares encontrados nas superfícies adaxiais de brácteas cônicas, sendo também encontrado nos tricomas na parte inferior das folhas jovens. Esse composto é o principal prenilflavonoide do lúpulo (0,1–1% em peso seco), porém essa pequena quantidade de xanthohumol produzida naturalmente em cada flor é muito difícil de extrair e, em geral, o custo de colheita não é efetivo para o volume necessário para uso farmacêutico (NAGEL et al., 2008)

Atualmente, existem quatro procedimentos principais para tentar prospectar o xanthohumol. Os métodos são a reprodução seletiva, síntese química, produção microbiana e engenharia genética. O método mais utilizado para seleção de traços é a seleção seletiva, e este método tem sido efetivo no aumento da produção de outros metabolitos de lúpulo (NEVE, 1991). No entanto, só foi eficaz para aumentar a produção de xanthohumol de 0,95% para 2%, o que permite extrair, mas ainda ineficiente para uso farmacêutico (RENAULT et al., 2006). Embora seja possível sintetizar quimicamente o xanthohumol a partir da cloracetofenona, o rendimento é apenas de cerca de 10% (KHUPSE & ERHARDT, 2007), que não é nem eficiente nem suficientemente alto para ser um procedimento econômico. Também é possível usar agentes microbianos, como bactérias ou fungos para auxiliar na produção de produtos químicos fora da própria planta, e isso foi tentado com o lúpulo ao introduzir o gene

responsável pela fabricação de O-metiltransferase a enzima que sintetiza xanthohumol, em *E. coli* com a esperança de criar um prospector de xanthohumol (NAGEL et al., 2008). No entanto, a proteína foi insolúvel e não funcional em E. coli e levou à morte celular (GERHAUSER et al., 2002).

Dos métodos propostos para tentar amplificar a quantidade de xanthohumol produzida por cones de lúpulo, o mais promissor até agora parece ser o da engenharia genética. Em 2010, a pesquisa foi conduzida na tentativa de tentar introduzir o gene estrutural Cinnamate 4- hydroxylase (C4H) através da transformação mediada por *Agrobacterium temufaciens* para amplificar a quantidade de xanthohumol presente em cones de lúpulo feminino (KETTLESON, 2010). Embora não tenham sido identificadas plantas transgênicas, o processo é muito promissor como um método para aumentar a facilidade e a eficiência da colheita de xanthohumol para pesquisa farmacêutica. O principal revés da pesquisa referente ao transgênico geneticamente modificado a produção de xanthohumol é determinar se o transgene, uma vez introduzido com sucesso na planta, alcançará o efeito desejado nos cones. Atualmente, o processo para testar lúpulo para transformação bem-sucedida é incrivelmente longo (SCHWEKENDIEK et al., 2007).

Segundo Keukeleire *et al*. (2007) algumas variedades de lúpulo podem apresentar melhor desempenho do que outras em condições de manejo orgânico, havendo uma tendência de as respostas na produção de metabolitos especializados como os polifenóis serem ocasionadas em função dos níveis de estresse ocorridos na planta em função da grande interação de fatores bióticos e abióticos neste tipo de sistema de manejo. Acredita-se, portanto, que sistemas de manejo que favoreçam o aumento dos metabólitos de interesse comercial pela indústria farmacêutica devem ser estudados e implementados no cultivo dessas futuras variedades com maiores teores de xanthohumol introduzidos por engenharia genética ou transgenia e que podem ser potencialmente incrementados pelo sistema de manejo.

2.3 Cultivo de Lúpulo Orgânico

A história do cultivo de lúpulo orgânico em todo o mundo começou em meados de 1980 na Baviera, quando duas fazendas em Hallertau começaram a cultivar a variedade Hersbrucker em sistema orgânico, existindo destes pioneiros ainda hoje

três empresas em funcionamento. Nos EUA, o primeiro lúpulo orgânico foi produzido no Vale Yakima em 2000 e desde então experimentou um rápido aumento (WEIHRAUCH, 2012). Um relatório recente da American Organic Hop Grower Association informou que 51 ha de lúpulo dos EUA foram certificados orgânicos em 2010 e 146 ha e pelo menos 18 cultivares foram certificadas na safra 2012 (American Organic Hop Grower Association, 2011). Grande parte da atual produção de lúpulo orgânico está ocorrendo na Nova Zelândia, enquanto a China também está começando a entrar nesse segmento (KEUPPER et al., 2005).

Em 2013 o lúpulo é removido da lista de ingredientes permitidos de serem produzidos no sistema convencional, e a partir desta data, uma cerveja só pode ser vendida como uma cerveja orgânica se o lúpulo orgânico for utilizado (GOLDMAN-ARMSTRONG, 2011). O lúpulo orgânico agora encontrou seu caminho no mercado de lúpulo mais importante do mundo em um nicho especial (DER BARTH REPORT 2011).

Produtores e cervejarias já exploram esse novo mercado das cervejas orgânicas nos EUA. A certificação vai agregar valor ao produto e possibilitar a entrada da cervejaria no mercado exclusivo de cervejas orgânicas. O cultivo orgânico, além de trazer uma nova perspectiva de melhoria nos aspectos sociais, ambientais e econômicos da propriedade, e melhorar as características físicas, químicas e biológicas do solo, pode incrementar os teores de alguns compostos químicos de grande valor comercial para o mercado cervejeiro e medicinal. Portanto torna-se importante a pesquisa com manejo de lúpulo orgânico, que pode ser uma alternativa viável para pequenos e médios produtores que querem agregar ainda um maior valor por unidade de área, assim como criar protocolos de manejo que possam facilitar os produtores em seus esforços para estabelecer práticas agronômicas orgânicas eficazes para o crescimento e floração do lúpulo.

Para a nutrição do lúpulo em sistema orgânico um dos maiores desafios é conseguir atender às altas demandas de nitrogênio na cultura (PANG E LETEY, 2000). Estratégias para a rápida construção de uma fertilidade orgânica rentável em maiores áreas precisam ser desenvolvidas para atender aos altos requisitos de nitrogênio do lúpulo em um curto período.

A implantação de cultivos de cobertura com espécies leguminosas fixadoras de nitrogênio no solo pode ser uma boa alternativa. Segundo Hartwig e Ammon (2002), a longo prazo, os cultivos de cobertura trazem muitas vantagens ao sistema

que vão além do que pagar os custos da semeadura, reduzindo a necessidade de outras entradas de nitrogênio de fontes com maior custo.

Manter uma rotação de culturas diversas com o uso de diversas espécies de adubos verdes é um meio comum de fornecimento de nitrogênio em sistemas de cultivo orgânico (WATSON et al., 2002). Esterco e os compostos à base de gado são usados não apenas para fornecer os nutrientes essenciais às culturas, mas também para aumentar as propriedades físicas e biológicas do solo (DARBY et al., 2006). Os sistemas orgânicos de produção de lúpulo exigem a composição de diversas estratégias de manejo para poder fornecer todos os nutrientes demandados pela cultura e promover o controle de pragas e doença de forma preventiva e eficiente.

A avaliação da atividade biológica torna-se uma importante ferramenta para avaliar a influência do manejo nos parâmetros de qualidade biológica de um solo, estando relacionada com os atributos físicos e químicos, que devem ser olhados de forma integrada para avaliar a saúde daquele solo. As enzimas B -Glicosidase e Arilsulfatase são as enzimas indicadoras que apresentam maior sensibilidade para detectar alterações no solo em função do sistema de manejo utilizado, apresentando uma estreita relação com a matéria orgânica e com o rendimento de grãos (LOPES et al., 2013, 2018; MENDES et al., 2019a). Além disso, as duas enzimas não são influenciadas pela aplicação de adubos e calcário (MENDES et al., 2019b).

Todo o trabalho de desenvolvimento dessa análise biológica do solo intitulada de BIOAS durou 17 anos, estabelecendo no momento padrões de referência desses bioindicadores apenas em alguns tipos de solos do Cerrado e para a cultura da soja e do milho, comparando sistemas de plantio direto, rotação de culturas, consórcios com adubação verde, pousio e preparo convencional. Para outras culturas não temos ainda parâmetros de relação com matéria orgânica e produtividade, porém podemos usar a análise do BIOAS como indicador, ao longo do tempo, para avaliar se o manejo está melhorando, mantendo ou piorando a qualidade biológica do solo.

De acordo com GRZYB et al (2012), as diferenças fundamentais nos sistemas agrícolas orgânico e convencional são em relação aos métodos de fertilização, manejo da fertilidade do solo e protocolos de proteção de plantas, e esses fatores afetam a composição dos nutrientes nas plantas.

Estudos clínicos de pequenos animais sustentam que o consumo de alimentos orgânicos é benéfico para a saúde humana, e isto está relacionado com um aumento no teor de nutrientes minerais, especialmente oligoelementos, vitaminas e alguns

metabolitos secundários em alimentos cultivados organicamente (HALLMANN E REMBIAŁKOWSKA, 2012). Existe uma preocupação crescente de que os níveis de alguns compostos fenólicos possam ser inferiores ao ideal para a saúde humana em alimentos convencionais (LAIRON, 2009). Essa preocupação surge porque as práticas agrícolas convencionais utilizam níveis de pesticidas e fertilizantes que podem resultar em um rompimento da produção natural de metabólitos fenólicos na planta (SOLARSKA *et al*., 2015). O conteúdo de compostos biologicamente ativos, como os polifenóis, que são antioxidantes muito fortes, aumentam em cultivos orgânicos (LIMA E VIANELLO, 2011).

Um estudo de Keukeleire *et al*. (2007), comparou a produção dos ácido α e β em três anos em três variedades de lúpulo cultivadas sob métodos de produção orgânicos e convencionais, e sugeriu que diferentes cultivares podem exibir diferentes padrões de crescimento e níveis de ácidos amargos sob produção orgânica, além de que algumas variedades podem apresentar melhor desempenho do que outras em condições de cultivo orgânico, com as respostas na produção de metabolitos secundários tendendo a ser em função de algum estresse ocorrido na planta.

Solarska *et al*. (2015), encontraram um aumento significativo no conteúdo de xanthohumol usando microrganismos probióticos com extratos vegetais para proteção vegetal do lúpulo orgânico, em relação ao lúpulo convencional, assim como a fertilização com estrume com farelo de basalto e microrganismos probióticos afetou significativamente o aumento no conteúdo de importantes substâncias biologicamente ativas no lúpulo.

O fato de algumas variedades desenvolverem melhor em condições orgânicas e produzirem um perfil de ácidos e óleos com maior qualidade é um importante caminho a ser avaliado, portanto torna-se importante o maior detalhamento de estudos que possam avaliar a influência dos sistemas de manejo na composição química dos cones de lúpulo. Esses estudos devem ser empregados em diversas variedades por um longo período para que tenhamos conclusões mais incisivas e uma avaliação local sobre a adaptabilidade de variedades ao sistema de manejo nas condições edafoclimáticas da região de Botucatu – SP.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Caracterização da área experimental

O experimento foi implantado no “Pomar Didático”, do Departamento de Horticultura pertencente à Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP, *Campus* Botucatu. A área experimental está localizada no município de Botucatu-SP, situada entre os paralelos 22º 30’ a 23º 05’ de latitude Sul e os meridianos 48º 15’ a 48º 52’ de longitude W Gr e altitude média de 800 m.

Segundo Köppen (1948), o clima local é classificado como subtropical com verão quente (Cfa), com temperatura média anual de 19,4ºC e precipitação pluviométrica média anual de 1.314 mm (CUNHA e MARTINS, 2009). Os dados climáticos da área experimental nos dois anos de produção são apresentados na Figura 6. O solo é do tipo Latossolo Vermelho distroférrico de textura argilosa (SANTOS, 2018) e suas características químicas foram definidas através de análise de solo, feitas em intervalo de 3 meses nas profundidades de 0-20 e 20-40 cm para orientar o manejo nutricional nos dois sistemas de produção.

Foram realizadas também a avaliação da atividade biológica do solo a partir das análises das enzimas arilsulfatase e β-glicosidase, após o segundo ano de produção, na área do sistema orgânico, do convencional e na área ao lado do experimento, onde nunca foi feito preparo do solo, correção e adubação, encontrando-se atualmente vegetada com *Brachiaria decumbes*. Foram coletadas amostras, em cada sistema de manejo, na profundidade de 0–10 cm, que deve ser usada como camada diagnóstica para essa análise (ANGHINONI et al., 2002).

As atividades das enzimas β-glicosidase e arilsulfatase foram determinadas seguindo o método descrito por Tabatabai (1994). Para tal foi feita a incubação das amostras de solo a uma temperatura de 37°C, com uma solução tamponada de substratos específicos para cada enzima, promovendo a liberação do p-nitrofenol, que é determinado colorimetricamente. A partir disso foi realizado a leitura através do espectrofotômetro com o programa UVProbe (Photometric) que gera os valores e a curva padrão. A atividade enzimática do solo foi expressa em microgramas de p-nitrofenol liberado por hora por grama de solo seco (µg p-nitrofenol h-1 g-1 solo). Para a análise química completa de solo foi utilizada a metodologia proposta por Claessen (1997).

As análises dos materiais orgânicos usados para fertilização estão apresentadas na Tabela 1.

Figura 6 - Dados climáticos de 2018, 2019 e janeiro a maio de 2020

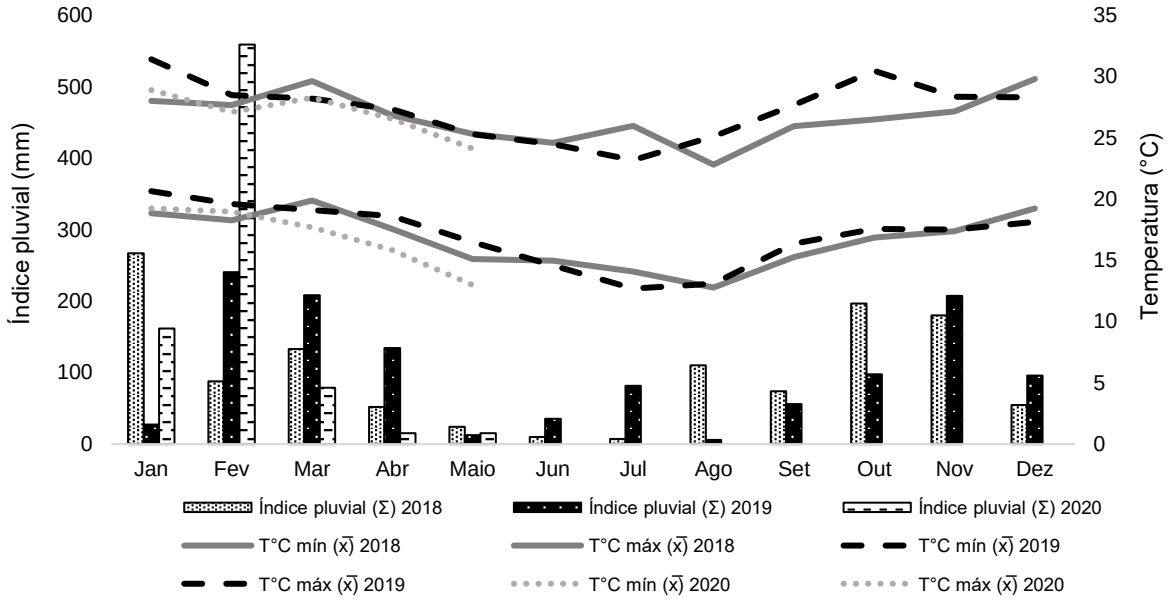


Tabela 1 - Análise química de materiais orgânicos usados para fertilização no sistema orgânico e convencional de produção

	N	P_2O_5	K_2O	Ca	Mg	S	Umidade	M.O	C.O	Na	B	Cu	Fe	Mn	Zn	C/N	pH
	----------% (ao natural)----------								seca	----------mg/kg (ao natural)----------							ao natural
Esterco bovino orgânico	0,97	0,67	1,37	1,03	0,88	0,26	39	38	34	1160	---	31	4761	304	111	22/1	8,9
Cama de frango orgânica	1,25	2,18	1,20	6,19	0,65	0,11	34	39	33	1634	---	32	2965	343	109	17/1	7,63
Cama de frango convencional	0,72	1,17	0,77	4,29	0,60	0,11	39	18	17	725	---	21	6238	173	33	14/1	7,98

3.2 Implantação e condições de cultivo

Para condução do lúpulo foram instalados postes de eucalipto autoclavados de 7,5m de altura e de 12 a 14cm de diâmetro. Os postes foram enterrados a 1,5 m de profundidade, com espaçamento de 10 m no sentido das linhas de plantio e 12m entre as linhas de plantio, que foram espaçadas 3m uma das outras. Em cada poste das quatro pontas foram usados como esteio dois mourões em diagonal, e apenas um esteio para os postes laterais. Cabos de aço conectaram os postes formando um quadrado, arames foram presos nos cabos e esticados paralelamente as linhas de plantio, com 1 m de distância entre o corredor de arame. Para fazer a condução das plantas em “V” foram fixadas cordas de sisal do arame até a superfície do solo, sendo puxados dois fios por planta, onde foram selecionados de dois a quatro ramos mais vigorosos e com a forma hexagonal (PERAGINE, 2011), para serem conduzidos no sisal no sentido horário.

Foi utilizada a irrigação por gotejamento, com duas linhas de fita gotejadora em cada linha de plantio, com espaçamento entre os emissores de 0,5m e vazão de 1,1 $L.h^{-1}$. O sistema de irrigação foi manejado automaticamente pelo ASI (MEDICI et al., 2010), aparelho que faz o manejo da irrigação com base na tensiometria, sendo constituído por uma cápsula cerâmica porosa (vela de filtro) que funciona com um sensor, conectado por um tubo flexível (mangueira de nível) a um pressostato. O sensor foi instalado abaixo de uma muda, a 0,20 m de profundidade.

Para preparo do solo foi realizada escarificação à 40 cm de profundidade, seguida de aração e gradagem. Para a correção do solo foi usado calcário dolomítico e gesso, e na adubação de plantio foram aplicados 2 kg/metro linear de esterco bovino curtido em ambos os sistemas, e no sistema convencional foi adicionado nas covas de plantio superfosfato triplo, e no sistema orgânico Yoorin master®.

O plantio das mudas foi feito em covas, em novembro de 2018, adotando o espaçamento de 3,2 m x 1,0 m. As variedades foram selecionadas em função da disponibilidade de mudas comerciais no país e foram adquiridas de viveiro idôneo

Nas entrelinhas do lúpulo foram semeadas espécies de adubação verde: crotalárias (*Crotalaria breviflora*) no verão; aveia preta (*Avena strigosa*) e nabo forrageiro (*Raphanus sativus*) no inverno.

Os fatores de diferenciação entre os sistemas de cultivo foram empregados no manejo nutricional e no controle de pragas e doenças. O cultivo orgânico foi conduzido

de acordo com o regulamentado estabelecido pela Lei Nº 10.831, de 23 de dezembro de 2003 e o Regulamento Técnico da Instrução Normativa 46, de 06/10/2011, complementada pela IN 17, de 18/06/2014.

Figura 7 - Implantação do experimento para cultivo de lúpulo no campus da UNESP/Botucatu. (A) Gradagem durante o preparo do solo. (B)Adubo verde de inverno nas ruas. (C) Experimento implantado. (D) Plantas no topo da estrutura no início da fase reprodutiva

3.2.1 Cultivo convencional

Na primeira safra a adubação de cobertura nitrogenada foi realizada com nitrato de cálcio e ureia, a adubação potássica com cloreto de potássio, e a de micronutrientes com o MIB®. Para controle fitossanitário, diante de infestação de ácaro rajado (*Tetranychus urticae*) foram feitas aplicações de Abamex® (Abamectina). Para controle de formigas foi aplicado nos olheiros encontrados Regent® (Fipronil).

Para combate de oídio (*Podosphaera macularis*) foram realizadas duas pulverizações de Folicur® (Tebuconazole).

Na segunda safra a adubação de cobertura nitrogenada seguiu com nitrato de cálcio e ureia, foi também adicionado cama de frango proveniente de sistema convencional, a adubação potássica com cloreto de potássio, e a de micronutrientes com MIB®. Foi feita também uma adubação boratada com ácido bórico, e adubação foliar com sulfato de zinco a partir da constatação de sua necessidade. O controle fitossanitário de ácaro e formiga foi idêntico ao da primeira safra, houve ocorrência de lagartas que foram controladas com Dipel® (*Bacillus thuringiensis*).

3.2.2 Cultivo orgânico

Na primeira safra para adubação nitrogenada foi utilizado esterco bovino curtido e torta de mamona, com a adubação potássica feita com o sulfato de potássio permitido pela legislação orgânica. Para controle fitossanitário, devido a ocorrência de ácaros, foram feitas aplicações de calda sulfocalcica da marca comercial Sulfocal®, o controle de formigas foi feito com Bioisca®. Para combate de oídio (*Podosphaera macularis*) foram realizadas pulverizações com leite de vaca cru a 10%.

Na segunda safra a adubação nitrogenada foi feita com o adubo fermentado tipo Bokashi e cama de frango de sistema orgânico. Para adubação potássica foi utilizado sulfato de potássio, para adubação fosfatada Yoorin®, para a adubação boratada foi usado ácido bórico, e foi feita adubação com farinha de osso para ajudar na suplementação do cálcio. Foram feitas pulverizações com o biofertilizante SuperMagro e ativação biológica do solo com EM (Microrganismos Eficientes). Para controle fitossanitário de acáros, pulgão e cigarrinhas, foi realizado o controle biológico com os fungos *Metharizium anisopliae* e *Beuaveria bassiana*. O controle de formigas foi feito com Bioisca®, e o de lagartas com Dipel® (*Bacillus thuringiensis*).

3.2.3 Tratos culturais

Nas entrelinhas dos dois sistemas foram semeadas espécies de adubação verde duas vezes ao ano, sendo essas espécies roçadas no momento da sua iniciação floral. A biomassa da roçada era depositada como cobertura vegetal nas linhas do

lúpulo orgânico, sendo colocado 2 kg/m^2 de *Crotalária breviflora* e 1kg/m^2 de *Raphanus sativus*. O controle de plantas espontâneas foi realizado de forma mecânica através de roçada, capina e arranquio manual. Eram colocadas periodicamente, nas linhas do lúpulo, para ambos os sistemas de produção, palhada proveniente de roçada da brachiaria ao redor da área experimental, com o intuito de reduzir a mato competição.

No final de setembro foi realizada uma poda rente ao solo de todos os primeiros brotos emergentes pós dormência, com o intuito de uniformizar a brotação, eliminar ramos ladrões e favorecer a emergência de ramos mais vigorosos. Após o treinamento dos ramos, foi realizada a poda de todos os brotos que não foram conduzidos.

O ponto ideal de maturação para a colheita foi definido através da determinação da matéria seca de uma amostra de cones, que foi feita após constatado no campo que os cones atingiram os parâmetros qualitativos de ponto ideal para a colheita, que são: mudança sutil de cor verde para amarelado; barulho de amassar papel ao toque e cor amarela das glândulas de lupulina se intensificam (DODDS, 2017). Após essas avaliações sensoriais, foram retiradas amostras de cones da parte superior da planta, dentro cada parcela, a fim de determinar no laboratório o teor de matéria seca dos cones, que se encontram no momento ideal de colheita quando atingirem de 20 a 23% de matéria seca (MADDEN E DARBY, 2012). A colheita avaliada foi realizada em fevereiro/março de 2020, em plantas de segundo ano de produção.

3.3 Delineamento experimental e tratamentos

Foi adotado o delineamento experimental em blocos casualizados, em esquema de parcelas subdivididas 2x5, sendo fator principal (parcela) sistemas de cultivo: convencional e orgânico; e fator secundário (subparcela) variedades de lúpulo: ‘Cascade’, ‘Columbus’, ‘Chinook’, ‘Hallertau Mittelfrueh’ e ‘Nugget’, com quatro blocos, e duas plantas úteis por parcela.

3.4 Parâmetros morfológicos produtivos

Após a colheita, realizada no ponto de maturidade fisiológica da cultura, foram feitas as avaliações das características morfológicas relacionadas aos aspectos

produtivos do lúpulo. Os caracteres avaliados foram a distância dos entrenós, comprimento dos ramos laterais, altura de formação dos primeiros cones e comprimento dos cones.

Para as avaliações, foram escolhidos os dois ramos mais produtivos de cada planta. Na determinação do comprimento do cone (cm), foram medidos, com fita métrica, trinta cones de cada planta, sendo selecionados os que apresentavam comprimento mais homogêneo. A altura de formação dos cones (m) foi medida como a distância da superfície do solo até o nó do qual os primeiros ramos férteis foram formados. Para o comprimento de entrenós e ramos laterais (cm), o valor médio de cada planta foi obtido pela média aritmética de todos as medidas obtidas acima de 1 metro da planta. Os dias até a maturidade tecnológica foram calculados com base no número de dias a partir da data de poda dos brotos na primavera até a data em que a maioria dos cones atingiu a maturidade tecnológica (SKOMRA, 2013). A produtividade foi determinada como o peso fresco dos cones (g) após a colheita. Todas as características foram medidas nas duas plantas de cada parcela. Os valores médios foram obtidos com base em seis medições no caso do comprimento dos entrenós e ramos laterais (em dois ramos de cada planta), e no comprimento de cones nas 30 peças florais avaliadas.

Figura 8 - (A) Avaliação de comprimento de cones; (B) Avaliação de comprimento de entrenós; (C) Colheita manual dos cones da planta; (D) Avaliação de comprimento de ramos laterais

3.5 Análise dos ácidos amargos e xanthohumol

A análise dos ácidos amargos e teor de xanthohumol foram realizadas no Laboratório Central Multiusuários (LACEM) da UNESP/FCA, em Botucatu – SP. O Xanthohumol e um padrão de mistura de ácidos amargos (extrato calibrado internacionalmente, ICE-4) foram adquiridos da American Society of Brewing Chemists (Estados Unidos). De acordo com o fabricante, o padrão de mistura ICE-4 continha 13,88% de coumulona e 30,76% de n-humulona + adumulona, e ácidos com 13,44% de colupulona e 10,84% de n-lupulona + adlupulona.

O método de extração foi realizado seguindo a metodologia proposta por Prencipe et al, (2014). 50 mg de inflorescências de lúpulo desidratadas e moídas foram extraídas por maceração dinâmica a 1000 rpm, por 30 min. (Heidolph MR Hei-

Tec, Alemanha), com 2.0 ml de MeOH-HCOOH (99:1 v/v). Em seguida, o extrato foi filtrado com filtro seringa PTFE 22 µm e injetado em um Cromatógrafo Líquido de Ultra-Alta Eficiência (Shimadzu Nexera UC, Kyoto, Japão) com detector UV (SPD-M20A) e espectrômetro de massas. O método HPLC-PAD/UV para a quantificação de alfa e beta ácidos foi transposto para UHPLC-PAD/UV com auxílio do software *HPLC calculator version 3.0* (Guillaume et al., 2008). As separações foram feitas em uma coluna C18 de 150 x 2,1 mm; 1,7 µm (Kinetex, Phenomenex, EUA). A fase móvel foi composta por H2O e acetonitrila (ACN), ambas com 0.25% de ácido fórmico, no seguinte gradiente: 35–75% ACN (0–12 min), 75–100% ACN (12–25 min), e 100% ACN (25–28 min) com vazão de 0.39 mL/min, volume de injeção de 1.5 µL e temperatura de análise de 30 °C. Espectros UV foram obtidos entre 200 e 400 nm. Os dados foram processados usando o software LabSolutions LCMS, versão 5.96 (Shimadzu Corporation, Japão).

Uma curva de calibração de diferentes concentrações do padrão vs. a área do pico em oito pontos foi construída para cada um dos seis alfa e beta ácidos presentes no padrão ICE-4 e para o xantohumol. Como o ICE-4 contém uma mistura de seis alfa e beta ácidos, as concentrações das soluções padrão de cada composto foram calculadas de acordo com as porcentagens declaradas pelo fabricante (Prencipe et al., 2014).

3.6 Teor e perfil químico de óleo essencial

Os cones colhidos com aproximadamente 80% de umidade, foram secos em estufa de ventilação de ar forçado à 35ºC, até atingir cerca de 10% de umidade, levando em média 28 horas para atingir esse teor de umidade. Posteriormente o material foi armazenado em sacos selados a vácuo e mantidos em freezer a -3°C até o momento da extração, feita no laboratório de Plantas Medicinais do departamento de Horticultura da UNESP/FCA.

A extração do óleo essencial foi realizada por hidrodestilação, em aparato clevenger, a partir de 50 g de folhas secas por 1 h e 30 min. Os óleos essenciais foram separados da fase aquosa e acondicionados em frascos de 5 mL, mantidos ao abrigo da luz sob refrigeração a - 4º C.

A determinação do perfil químico dos óleos essenciais foi realizada no Instituto Agronônico de Campinas (IAC), em cromatógrafo a gás acoplado ao espectrômetro de massas (CG-EM, QP 5000 – Shimadzu) dotado de coluna capilar OV-5 MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm) e hélio (99,9999% de pureza) como gás de arraste (vazão: 1 mL.min-1). O sistema foi operado no modo full scan, com impacto de elétrons (70 eV), e faixa de 40 a 450 *m/z*. O injetor foi mantido a 220 ºC, com divisão de vazão do gás de arraste (*split*) na razão de 1:20, seguindo a programação da temperatura de 60 ºC – 240 ºC (3 ºC.min^{-1}). A temperatura da interface foi mantida em 240 ºC. As amostras de óleo essencial foram diluídas em acetato de etila (grau cromatográfico, 1mg.mL^{-1}) e injetado 1 µL de solução. A análise quantitativa dos óleos essenciais foi conduzida em cromatógrafo a gás com detector de ionização de chama (CG-DIC, Shimadzu, CG-2010/AOC-20i), dotado de coluna capilar de sílica fundida OV - 5 (30 m x 0.25 mm x 0.25 µm, Ohio Valley Specialty Chemica), hélio como gás de arraste (vazão de 1,0 mL min^{-1}), injetor a 280°C, detector a 300°C, split 1:20 e o mesmo programa de temperatura do sistema CG-EM. A identificação dos constituintes químicos foi efetuada por meio da análise comparativa dos espectros de massas das substâncias com a biblioteca National Institute of Standards and Technology (Nist 62.lib) e os índices de retenção das substâncias (ADAMS, 2007). Os índices de retenção foram obtidos a partir da injeção da mistura de n-alcanos (C9-C24, Sigma USA) nas mesmas condições cromatográficas das amostras, aplicando-se a equação de VAN DEN DOOL & KRATZ (1963).

3.7 Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Scott & Knott a 5% de probabilidade, através do programa computacional SISVAR (FERREIRA, 2011). Os dados de composição química dos óleos essenciais foram submetidos a análise multivariada de componentes principais (PCA) por meio do software estatístico minitab (versão 19.2).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Características químicas e biológicas do solo

Analisando as características químicas e biológicas do solo ao longo dos dois anos de manejo (Tabelas 2 e 3), observa-se algumas mudanças relacionadas a diferenciação dos manejos que podem ter influenciado nas diferenças de produção de cones frescos nos dois sistemas de produção. Como esperado os níveis de matéria orgânica foram maiores no sistema orgânico devido a fertilização nitrogenada ser feita somente com materiais orgânicos nesse manejo, com o uso de esterco bovino curtido, torta de mamona, cama de frango e bokashi. Isso pode ter influenciado no aumento da maioria dos micronutrientes, além do cálcio, magnésio e potássio, quando comparado com o sistema convencional.

O uso de material orgânico proporciona diversas melhorias nas características físicas, químicas e biológicas do solo, com o aumento da capacidade de troca catiônica (CTC) (SANTOS et al., 2003), complexação de elementos tóxicos e micronutrientes (LEITE E GALVÃO, 2008), capacidade de reter nutrientes como o potássio, cálcio e magnésio, podendo atuar como reservatório de nitrogênio, fósforo, enxofre e boro, sendo capaz de suprir parte das necessidades da cultura durante seu ciclo (BOT E BENITES, 2005). Assim o teor de matéria orgânica é considerado indicador da qualidade do solo, pois interage e influencia diversos fatores que afetam a disponibilidade de nutrientes para a solução do solo, como o pH, aeração, umidade, matéria orgânica, temperatura e presença de outros íons (PRADO, 2008).

A partir da análise de novembro de 2018 foi calculada toda a adubação de cobertura para os dois sistemas, visando equilibrar e atingir os níveis nutricionais recomendados por Gingrich *et al.*, (1994) para a cultura do lúpulo. Na análise de abril de 2019, após a colheita da primeira safra, os teores nutricionais encontravam-se equilibrados nos dois manejos, com apenas o manganês e o zinco ainda em quantidades maiores no orgânico, ao mesmo tempo em que o enxofre reduziu bruscamente nesse sistema.

A maior parte do enxofre encontra-se na matéria orgânica do solo, chegando a atingir de 95 a 98% de enxofre total (TABATABAI e BREMNER, 1972), e nos solos tropicais o teor de enxofre total está correlacionado com o teor de nitrogênio total (NEPTUNE *et al*., 1975), o que corrobora com a dinâmica do enxofre observada, que

apresentou níveis altos no início do ciclo do cultivo, momento de intenso crescimento vegetativo e adição de adubação nitrogenada, e reduzia drasticamente nas análises feitas após a colheita, no período em que não eram realizadas adubações com nitrogênio e os níveis de matéria orgânica no solo eram mais baixos.

Em agosto de 2019 foi realizada outra análise, e os seus resultados orientaram a adubação de cobertura em ambos os sistemas para o 2° ano de produção. Uma nova análise de solo foi feita em novembro de 2019, no início da crescente demanda nutricional da cultura. Nessa análise, a partir das correções feitas com base na análise de solo de agosto, o pH no sistema orgânico estava dentro da faixa recomendada para o lúpulo, que fica entre 6 a 7 (GENT *et al*., 2019).

O cálcio e o boro estavam mais altos no sistema convencional, provavelmente por conta do uso do nitrato de cálcio, que continha também boro em sua formulação e foi usado para a adubação nitrogenada do sistema convencional. Além desses nutrientes, o enxofre também estava com teores mais altos no sistema convencional.

O enxofre disponível para a planta na forma de $S\text{-}SO_4^{-2}$ encontra-se relacionado com o pH do solo e os teores de matéria orgânica, argila e óxidos, além de uma contínua exportação deste elemento pelas colheitas (RHEINHEIMER *et al*., 2007), sendo observado grande extração de enxofre no solo após a colheita do lúpulo. A ocorrência da permuta de ânions possibilita com que quantidades equivalentes de nitrato (NO3-) sejam ocupadas pelo $S\text{-}SO_4^{-2}$, ou pelo cloro (Cl-), e fiquem adsorvidos no solo, sendo essa reação possível de ser revertida para que o nitrato possa ser liberado para absorção pelos vegetais (SENGIK e ALBUQUERQUE, 2003).

Os altos níveis de enxofre em ambos os manejos em novembro de 2019 foi decorrente de uma gessagem feita em Junho. Devido ao uso do nitrato de cálcio no sistema convencional, o NO3- possivelmente ocupava os sítios de adsorção do $S\text{-}SO_4^{-2}$ e ficava adsorvido as partículas de argila com óxidos-hidróxidos de ferro e alumínio característicos do solo local, tornando o enxofre disponível para as plantas e altamente lixiviável.

Na análise de março de 2020, assim como na análise de março de 2019, podemos observar uma grande extração de nutrientes após a colheita. Após o treinamento de ramos o lúpulo inicia uma fase de rápido crescimento vegetativo com crescente demanda nutricional até a floração e maturação dos cones (NEVE, 1991). O intenso desenvolvimento do seu sistema radicular, tanto horizontalmente por suas raízes alimentadoras anuais em superfície quanto verticalmente com suas raízes

maduras em profundidade (SOBOTIK *et al*., 2018) fazem com que os nutrientes sejam absorvidos e translocados intensamente para todos os pontos de crescimento, ocasionando em uma grande extração de nutrientes no solo após a colheita e poda da planta.

O pH reduziu bastante em todas as análises feitas após a colheita, o que também foi relatado por Gingrich *et al*., (1994), que observou valores mais baixos de pH do solo no final do verão ou início do outono, e os maiores valores no final do inverno ou início da primavera, antes do início das adubações de cobertura.

Os níveis de fertilidade em um ano (novembro de 2019 a 2020) foram semelhantes nos dois sistemas de manejo para a maioria dos macros e micronutrientes, não havendo diferenças expressivas de fertilidade química do solo nos manejos empregados que possam vir a justificar maiores rendimentos em algum sistema de produção.

Podemos observar na Tabela 3 que o manejo orgânico aumentou a atividade biológica do solo em comparação ao manejo convencional e a área sem manejo, constituída por uma vegetação de brachiaria. O manejo convencional também teve um aumento em relação a área sem manejo, muito provavelmente devido a adição de matéria orgânica animal na adubação de plantio, assim como na cobertura das linhas de plantio com material vegetal em decomposição (cobertura morta), prática sempre realizada de forma igual nos dois sistemas de manejo.

Como o estabelecimento de diferentes manejos e cultivos influencia diretamente a biota do solo e os processos realizados por ela, esses indicadores microbiológicos são um componente importante na avaliação da qualidade dos solos agrícolas, devido à sua sensibilidade para detectar com mais antecedência em comparação a avaliações físicas e químicas, alterações que ocorrem no ambiente em função do seu manejo, que pode manter, melhorar ou degradar a qualidade biológica do solo (DORAN, 1980; DICK, 1994; MATSUOKA *et al*., 2003; SILVA *et al*., 2010).

Como essa análise começou a ser disponibilizada por alguns laboratórios credenciados pela EMBRAPA em agosto de 2020, para esse presente trabalho só temos uma avaliação realizada em novembro de 2020, que mostrou a influência do manejo orgânico na melhoria da atividade enzimática do solo. A partir de agora essas análises poderão serem feitas periodicamente, mostrando em futuros trabalhos a dinâmica dessas enzimas em diferentes momentos dentro do ano de produção da

cultura, e como elas podem ser influenciadas pelo incremento de matéria orgânica e uso de produtos biológicos ao longo do tempo.

Tabela 2 - Análise química completa de solo em cultivo orgânico e convencional de *Humulus lupulus* L feitas entre novembro de 2018 a março de 2020 - Botucatu-SP - 2020

		pH	MO	P	K	Ca	Mg	CTC	V%	S	B	Cu	Fe	Mn	Zn
		C_aCl_2	g/dm³	mg/dm³	----------mmol$_c$/dm³----------				%	----------mg/dm³----------					
Data	Sistema/Prof (cm)														
Nov. 2018	Org. 0-20	5,4	29	49	13,5	32	15	84	72	124	0,44	4,7	34	6,9	3,0
	Org. 20-40	5,0	22	35	7,5	25	12	84	53	77	0,63	4,9	34	5,3	1,6
	Conv. 0-20	5,6	19	29	9,6	26	9	65	68	139	0,38	5,4	27	4,7	0,6
	Conv. 20-40	5,3	18	12	2,6	14	5	51	42	52	0,31	5,5	39	4,6	0,4
Abr. 2019	Org. 0-20	5,3	17	27	1,9	25	11	63	60	4	0,43	2,0	34	6,8	1,3
	Org. 20-40	5,0	17	23	2,9	14	11	67	42	25	0,55	1,2	34	5,7	1,1
	Conv. 0-20	5,4	22	34	1,4	29	10	70	58	27	0,48	1,9	35	4,5	0,5
	Conv. 20-40	4,5	16	10	1,2	12	7	63	33	43	0,44	0,5	36	2,1	0,4
Ago. 2019	Org. 0-20	5,7	21	14	1,6	33	12	64	72	17	0,34	3,6	18	2,1	1,2
	Org. 20-40	4,4	15	3	0,5	11	5	64	26	67	0,33	4,5	18	0,8	0,1
	Conv. 0-20	5,0	19	17	0,3	19	7	58	45	34	0,30	4,1	21	2,4	0,2
	Conv. 20-40	4,3	15	4	0,4	11	4	70	21	48	0,35	4,8	17	1,7	0,2
Nov. 2019	Org. 0-20	6,0	24	39	4,3	47	13	84	76	101	0,39	4,2	24	3,7	3,9
	Org. 20-40	5,6	22	40	2,8	40	17	83	71	80	0,63	3,8	24	3,4	3,4
	Conv. 0-20	5,8	25	44	4,0	80	10	119	79	422	0,63	3,6	19	3,4	3,3
	Conv. 20-40	5,6	25	49	5,5	66	8	107	74	305	0,58	4,0	26	3,9	2,8
Mar. 2020	Org. 0-20	5,0	25	56	3,4	39	11	77	70	71	1,00	4,7	19	5,1	3,8
	Org. 20-40	4,8	19	30	2,2	23	10	70	50	52	0,90	5,4	17	3,0	1,7
	Conv. 0-20	4,9	19	16	2,6	20	5	64	42	42	1,09	6,1	19	3,2	0,9
	Conv. 20-40	4,4	15	6	1,4	13	4	63	29	148	0,86	5,3	16	3,1	0,4

Tabela 3 - Atividade enzimática da β –Glicosidase e Arilsulfatase em cultivo orgânico e convencional de *Humulus lupulus* L e em área não cultivada, vegetada com brachiaria - Botucatu-SP - 2020

Sistema de Manejo	Atividade Enzimática (mg de p-nitrofenol/kg de solo/h)	
	β -Glicosidase	Arilsulfatase
Sem Manejo	45	92
Convencional	49	85
Orgânico	89	126

4.2 Produção e características morfológicas produtivas

De acordo com a análise de variância apresentada na Tabela 4, ocorreram diferenças significativas no peso fresco de cones e maturidade tecnológica para os sistemas de manejo e variedades, e para as variedades em relação ao comprimento de cones.

Tabela 4 - Resumo da análise de variância das características produtivas peso fresco de cones (PF), altura de inserção dos primeiros cones (AC), comprimento do entrenó (CE), ramos laterais (RL), dias para maturação (DM) e comprimento de cones (CC) de variedades de *Humulus lupulus* L., cultivadas em manejo orgânico e convencional - Botucatu-SP - 2020

Fontes de variação	GL	Quadrados Médios					
		PF	AC	CE	RL	DM	CC
Bloco	3	94135,33 ns	0,18 ns	11,34 ns	199,49 ns	13,96 ns	0,21 ns
Manejo(a)	1	1969877,31*	0,06 ns	177,87 ns	1063,88 ns	10,00 ns	4,13 ns
Resíduo(a)	3	100723,91	0,04	24,02	152,70	5,46	0,64
Variedades	4	374906,14**	0,11 ns	6,2 ns	251,22 ns	1666,50**	0,90*
Manejo x Variedades	4	206836,94*	0,11 ns	22,34 ns	357,00 ns	106,37**	0,33 ns
Resíduo(b)	24	68855,31	0,09	10,94	207,09	8,32	0,25
Total	39	-	-	-	-	-	
CV1(%)		53,14	11,72	23,55	23,42	1,58	23,56
CV2(%)		43,94	17,71	15,89	27,28	1,95	14,93

**= efeito significativo em nível de 1% de probabilidade pelo teste F.
* = efeito significativo em nível de 5% de probabilidade pelo teste F.
ns = efeito não-significativo em nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Para o peso fresco de cones ocorreram diferenças significativas entre as variedades e sistemas de manejo (Tabela 5). O sistema de manejo orgânico obteve

em relação ao convencional uma produção de cones frescos 54% maior para Cascade, 77% para Chinook e 70% em Columbus. Dentre as variedades no mesmo sistema de produção, a única que apresentou diferenças foi a Hallertau Mittelfrüeh, com uma produção 76% menor que a variedade Columbus, no sistema orgânico.

Tabela 5 - Médias de peso fresco de cones (g) de variedades de *Humulus lupulus* L cultivadas em manejo orgânico e convencional - Botucatu-SP - 2020

Variedades	Manejo	
	Orgânico	Convencional
Cascade	940,40 aA	433,91 bA
Nugget	698,26 aA	587,95 aA
Chinook	1088,27 aA	361,24 bA
Hallertau Mittelfrüeh	267,84 aB	160,50 aA
Columbus	1100,66 aA	332,66 bA

Médias seguidas das mesmas letras maiúsculas nas colunas e minúsculas na linha não diferem estatisticamente pelo teste Scott & Knott a 5% de probabilidade.

Esse resultado corrobora com o encontrado na literatura, sendo a Hallertau Mittelfrüeh a menos produtiva dentre todas as variedades analisadas. No sistema convencional a Hallertau Mittelfrüeh não apresentou diferença significativa em relação aos demais tratamentos pois a produção das outras variedades foi menor quando comparado ao sistema orgânico, ficando assim mais próximo da produção relatada na literatura para essa variedade.

No Brasil, produtividades abaixo da média mundial também foram relatadas em Lages – SC, onde Fagherazzi (2020), obteve em plantas de lúpulo de 2° ano valores médios de produção fresca de cones de aproximadamente 400 g/planta para as variedades Cascade e Chinook, e de 1.200 g/planta para a variedade Columbus. Gonzaga (2021), cultivando lúpulo em Jaboticabal – SP, encontrou valores de massa fresca de cones para Chinook de 50 g/planta, Columbus 80g/planta, Nugget 46g/planta e para a variedade denominada “Mantiqueira” uma produção de 499g/planta.

No presente trabalho foram obtidos valores médios de peso fresco de cones, para o sistema de manejo mais produtivo, de 940g em Cascade, 1.088g em Chinook, 1.110g em Columbus e 698g para Nugget. Esses resultados demonstram a variabilidade de produção que pode ocorrer entre as variedades, locais de cultivo e manejo empregados.

Na região central da Itália, localizada em uma latitude de 42° N e com a maior duração do dia do ano passando de 15 h, o rendimento do cone variou amplamente de acordo com a variedade e a idade da planta, oscilando desde cerca de 120 até 2.800 g fresco por planta, em plantas de 2° e 3° ano (RUGGERI *et al*. 2018). Rossini *et al*. (2016), na mesma área experimental, obteve no 2° ano de produção de Cascade, Hallertau Mittelfrüeh e Columbus, 2.140, 400 e 325 gramas fresca de cones por planta, respectivamente.

Para a altura de inserção dos primeiros cones não houve diferenças significativas entre as variedades e manejos empregados (Tabela 6).

Tabela 6 - Médias e desvios padrão da altura de inserção dos primeiros cones (m) de variedades de *Humulus lupulus* cultivado em manejo orgânico e convencional - Botucatu-SP - 2020

Variedades	Orgânico (m)	Convencional (m)
Cascade	1,72 ± 0,19	1,95 ± 0,39
Nugget	1,84 ± 0,37	1,60 ± 0,23
Chinook	1,51 ± 0,19	1,92 ± 0,23
Hallertau Mittelfrueh	1,95 ± 0,26	1,94 ± 0,32
Columbus	1,63 ± 0,34	1,64 ± 0,15

De acordo com a pequena variação nos desvios das médias entre as variedades e sistemas de manejo, a altura de inserção dos primeiros cones ocorreu de forma uniforme no campo e não foi afetada pelos tratamentos, apesar desse parâmetro morfológico produtivo ser diretamente ligado a produção por planta, pois o número de ramos laterais produtivos é determinado pelo comprimento dos entrenós e pela altura de formação dos primeiros cones (MONGELLI *et al*., 2016).

Este parâmetro, apesar de não ter apontado diferença entre as variedades, está relacionado com o comprimento dos entrenós e dos ramos laterais produtivos, podendo o conjunto desses três parâmetros explicar a diferença de produção entre as variedades e sistemas de manejo. A Hallertau Mittelfrüeh não apresentou diferença significativa na altura de inserção dos primeiros cones, porém se avaliarmos a relação de todos os parâmetros produtivos veremos que os baixos valores encontrados para essa variedade em todas as características morfológicas relacionadas diretamente com a produção justificam o seu menor rendimento dentre todos os materiais genéticos avaliados.

De acordo com a Tabela 7, não houve diferenças significativas para o comprimento dos entrenós entre as variedades e manejos testados. Os desvios mostram que no sistema orgânico as variedades apresentaram menor variação nas médias do que no sistema convencional, possuindo um comprimento de entrenós mais uniforme.

Tabela 7 - Médias e desvios padrão do comprimento dos entrenós (cm) de variedades de *Humulus lupulus* L. cultivadas em manejo orgânico e convencional - Botucatu-SP - 2020

Variedades	Orgânico (cm)	Convencional (cm)
Cascade	20,83±3,57	20,75±1,77
Nugget	21,68±3,99	18,97±4,26
Chinook	22,82±2,09	16,79±3,60
Hallertau Mittelfrüeh	23,88±1,90	20,45±3,40
Columbus	25,39±3,50	16,55±4,08

Na agricultura orgânica há uso de fontes nutricionais com maior complexidade de moléculas químicas e, eventualmente, a liberação de nutrientes para a planta ocorre de forma mais gradual em relação aos fertilizantes utilizados na agricultura convencional (RAIJ, 2011; MACHADO e MACHADO FILHO, 2014).

No lúpulo os nutrientes mais requeridos no crescimento vegetativo são o nitrogênio e o potássio (GINGRICH *et al*., 1994) Os fertilizantes orgânicos e convencionais foram aplicados via solo, parcelados cada um em três adubações de cobertura. Devido aos fertilizantes químicos serem mais solúveis ocorre maiores perdas dos nutrientes por lixiviação do que os adubos orgânicos, sendo assim difícil de suprir a alta demanda semanal da planta nessa fase de crescimento ao trabalhar com um pequeno parcelamento da adubação ao longo do ciclo.

Desse modo o sistema orgânico possibilita um fornecimento de nutrientes mais gradual e contínuo durante o ciclo, com menores perdas de nutrientes por lixiviação, além de tornar a planta mais resiliente aos stress bióticos e abióticos que podem ocorrer. Esses fatores influenciam em um crescimento vegetativo mais uniforme, como observado nessa variável avaliada.

Não houve diferença significativa entre as variedades e manejo empregados para o comprimento de ramos laterais. No entanto, de acordo com o desvio padrão, a variedade Hallertau Mittelfrüeh para ambos os sistemas de produção apresentou um menor desvio das médias em relação as outras variedades, se apresentando como

uma variedade com maior estabilidade no comprimento dos ramos laterais, como pode ser observado na Tabela 8.

Tabela 8 - Médias e desvios padrão do comprimento dos ramos laterais (cm) de variedades de *Humulus lupulus* L. cultivadas em manejo orgânico e convencional - Botucatu-SP - 2020

Variedades	Orgânico (cm)	Convencional (cm)
Cascade	58,58 ± 9,68	37,82 ± 11,23
Nugget	50,92 ± 12,64	39,75 ± 17,77
Chinook	63,92 ± 19,47	52,35 ±11,44
Hallertau Mittelfrüeh	50,13 ± 3,60	62,27 ± 6,67
Columbus	65,94 ± 21,22	45,68 ± 9,79

Os ramos laterais, chamados também de braços laterais, desenvolvem-se de botões axilares no caule principal de plantas masculinas e femininas. Em condições de campo, os ramos laterais podem atingir um comprimento de 50 a 200 cm cada, dependendo da cultivar (ROBERTS, 1980).

Devido a Hallertau Mittelfrüeh ser uma variedade de origem européia, com desenvolvimento de ramos laterais menores quando comparadas com as variedades de origem norte americanas (KOHLMANN e KASTNER, 1975), o comprimento dos ramos laterais para essa variedade apresenta menor variação em relação as variedades com maiores comprimentos de ramos laterais, como podemos observar no desvio padrão das médias que foi menor do que todas as outras variedades.

Conforme citado por Skomra (2013), Kralj (1982), registrou uma correlação positiva entre o comprimento dos ramos laterais e a produtividade, comportamento que também foi observado em todas as variedades no sistema orgânico de produção, e entre os sistemas de manejo para todas as variedades exceto para a Hallertau Mittelfrüeh, que foi a única que apresentou no sistema convencional uma relação negativa, obtendo o maior valor de comprimento dos ramos laterais e a menor produção dentre os tratamentos. Por ela apresentar a menor variação entre as médias de comprimento dos ramos os seus resultados são mais consistentes e conseguem expressar com maior exatidão os efeitos dos tratamentos quando comparados as variedades com maior variação nas médias de comprimento dos ramos.

As inúmeras variedades cultivadas possuem distintas características morfológicas produtivas como o tamanho e altura de inserção dos cones, comprimento de ramos laterais e distâncias entrenós (LEWIS *et al*., 1999). A produtividade do lúpulo

depende principalmente da quantidade e tamanho de cones produzidos, que é afetado pela quantidade de ramos laterais produtivos e seus comprimentos (RYBAČEK, 1991). Devido as variedades apresentarem um comportamento distinto dos seus caracteres morfológicos produtivos, a avaliação conjunta dos parâmetros morfológicos produtivos pode explicar a diferença de produção entre variedades distintas.

Rigr *et al*. (1997), constatou que os genótipos de lúpulo mais produtivos geralmente apresentavam ramos laterais maiores que 100 cm. O maior comprimento de ramos laterais foi obtido nas variedades Chinook e Columbus, com 63 e 65 cm, respectivamente, estando abaixo das variedades mais produtivas relatadas pelo autor, do qual elas fazem parte. Porém com o aumento esperado da produção no 3° ano de crescimento, essa variável tende a aumentar também, podendo chegar próximo ao comprimento relatado para essas duas variedades.

De acordo com a Tabela 9 ocorreram diferenças no comprimento médio dos cones para as variedades, com Cascade, Chinook e Nugget obtendo um comprimento de cones 20 a 22% maior que a Hallertau Mittelfrüeh, e 9 a 11% maiores que a Columbus.

Tabela 9 - Médias do comprimento dos cones de cinco variedades de *Humulus lupulus* cultivadas em Botucatu-SP - 2020

Variedades	Comprimento dos cones (cm)
Cascade	3,68 a
Nugget	3,58 a
Chinook	3,61 a
Hallertau Mittelfrüeh	2,87 b
Columbus	3,27 b

Médias seguidas das mesmas letras não se diferem estatisticamente pelo teste Scott & Knott a 5% de probabilidade.

O comprimento do cone é um parâmetro utilizado no momento da colheita para identificar o período em que os cones atingem seu tamanho máximo, estando associado ao ponto de maturidade fisiológica dos mesmos (ČEH e ZMRZLAK, 2012). O rendimento de cones por área plantada depende de uma série de fatores, que influenciam direta ou indiretamente a produção, dos quais, o tamanho do cone, que afeta diretamente a produtividade (HAUNOLD, *et al*. 1983).

Estudos realizados por Kavalier *et al*. (2011), revelam que existe uma relação direta entre o desenvolvimento dos cones e o acúmulo de metabólitos especializados. No entanto é importante atentar-se que cones de tamanho excessivo dificultam o processo de secagem, pois requerem mais tempo para serem secos, podendo acarretar em perda de qualidade se a colheita e secagem não for bem planejada (RAUT *et al*. 2021).

4.3 Maturidade tecnológica

Ocorreram diferenças significativas entre os sistemas de manejo, sendo observada uma maturidade mais acelerada no sistema convencional para as variedades Cascade e Nugget, quando comparadas com o sistema orgânico, e para a Hallertau Mittelfrüeh no sistema orgânico. Cascade e Nugget foram as variedades que apresentaram o maior ciclo, e o menor ciclo foi registrado para a Hallertau Mittelfrüeh, como demonstra a Tabela 10.

Tabela 10 - Médias de dias até a maturidade tecnológica de variedades de *Humulus lupulus* L. cultivadas em manejo orgânico e convencional - Botucatu-SP - 2020

Variedades	Manejo	
	Orgânico	Convencional
Cascade	157,00 aA	151,75 bA
Nugget	157,00 aA	152,75 bA
Chinook	152,50 aB	154,25 aA
Hallertau	115,00 bC	128,00 aB
Columbus	152,25 aB	152,00 aA

Médias seguidas das mesmas letras maiúsculas na coluna e minúsculas na linha não se diferem estatisticamente pelo teste Scott & Knott a 5% de probabilidade.

A Hallertau Mittelfrüeh teve o menor ciclo por ser, dentre as variedades analisadas, a única de ciclo precoce (KOHLMANN e KASTNER, 1975). Já as variedades Chinook, Columbus e Nugget são consideradas de ciclo médio a tardio, e a Cascade de ciclo médio (KENNY e ZIMMERMANN, 1986).

O ciclo da planta é geralmente afetado pelas condições de crescimento, como a época da colheita, manejo e a região de crescimento (FORSTER, 1994; KENNY, 1990; PEACOCK e MCCARTY, 1992). Este fato pode explicar a diferença de ciclo de

determinada variedade quando submetida a dois sistemas de manejos distintos. Em relação as variedades esperam-se que as de ciclo médio a tardio tenham um ciclo maior do que uma variedade de ciclo intermediário como a Cascade, o que não ocorreu nesse trabalho.

Fagherazzi (2020), encontrou em plantas de 2° ano das variedades Cascade, Chinook e Columbus cultivadas em Lages – SC, valores respectivos de maturidade tecnológica de 180,189 e 191 dias. Podemos perceber que o ciclo dessas variedades foi menor em Botucatu quando comparado a Lages, provavelmente por conta do clima mais quente no interior de São Paulo, que pode influenciar para um crescimento vegetativo mais acelerado e precocidade da floração do lúpulo (ZMRZLAK e KAJFEŽ-BOGATAJ, 1996), encurtando o ciclo de produção quando comparado com o desenvolvimento da mesma variedade em locais mais frios.

4.4 Caracterização do perfil químico

Não houve diferenças significativas nos compostos fixos (n-humulona, Cohumulona, Adhumulona, n-lupulona, Colupulona, Adlupulona), Xanthohumol, alfa-acidos (%) e beta-acidos (%) entre as cinco variedades de *Humulus lupulus* L. cultivadas sob manejo orgânico e convencional (Tabela 11).

Tabela 11 - Médias e desvios padrão do teor de n-humulona, Cohumulona, Adhumulona, n-lupulona, Colupulona, Adlupulona, Xanthohumol (mg/g) e alfa ácidos e beta ácidos (%), de variedades de *Humulus lupulus* cultivadas em manejo orgânico e convencional - Botucatu-SP - 2020

Substâncias	Casc.Org	Casc.Con	Nugg.Org	Nugg.Con	Chin.Org	Chin.Conv	Hall.Org	Hall.Con	Colu.Org	Colu.Con
n-humulona	0,77±1,42	0,98±1,26	8,17±9,53	2,98±1,81	1,38±1,51	0,87±1,56	2,39± 0,60	3,19±2,33	0,69±1,49	2,22±3,09
Cohumulona	2,86±0,92	3,46±1,72	28,78±32,47	10,13±7,79	3,45±0,13	3,16±0,78	8,38± 3,88	10,43±5,02	2,34±0,32	6,62±7,64
Adhumulona	0,68±0,21	0,91±0,35	6,08±2,78	2,04±1,66	0,85±0,03	0,76±0,19	1,84±0,90	2,38±1,24	0,58±0,10	2,06±1,75
Colupulona	4,79±0,94	6,78±2,58	8,41±6,31	6,27±3,50	4,38±0,39	4,41±1,70	2,48±0,95	3,18±1,41	4,10±0,92	6,31±3,57
n-lupulona	2,68±1,09	3,64±0,88	7,48±5,50	3,70±0,84	2,37±1,00	2,41±0,87	2,46± 0,47	3,03±1,97	2,08±1,31	3,31±1,60
Adlupulona	1,26±0,39	1,84±0,47	2,69±1,80	1,67±0,68	1,19±0,37	1,20±0,39	0,89± 0,18	1,12±0,73	1,01±0,58	1,63±0,87
Alfa acidos (%)	**0,43±0,68**	**0,54±0,59**	**4,31±4,85**	**1,51±0,70**	**0,53±0,73**	**0,48±0,78**	**1,26± 0,24**	**1,60±1,15**	**0,36±0,72**	**1,06±1,39**
Beta-acidos (%)	**0,87±0,26**	**1,23±0,33**	**1,86±1,23**	**1,16±0,45**	**0,79±0,27**	**0,80±0,26**	**0,58± 0,11**	**0,73±0,49**	**0,72±0,38**	**1,12±0,56**
Alfa+Beta	**1,31±0,33**	**1,76±0,69**	**6,16±6,93**	**2,68±1,25**	**1,32±0,03**	**1,28±0,17**	**1,84±0,82**	**2,33±1,11**	**1,08±0,21**	**2,28±1,84**
Xanthohumol	**0,38±0,03**	**0,56±0,20**	**1,57±1,40**	**0,66±0,08**	**0,79±0,97**	**0,52±0,23**	**0,72± 0,27**	**1,05±0,31**	**0,44±0,21**	**0,40±0,05**

O teor de alfa ácido é constituído por três compostos majoritários: cohumulona, humulona e adhumulona, enquanto nos beta ácidos os três compostos mais comuns são colupulona, lupulona e adlupulona (DURELLO, 2019). A quantidade de beta ácidos é normalmente menor do que os alfa ácidos e a proporção de alfa para betas ácidos depende da variedade de lúpulo analisada (BAMFORTH, 2016).

Nenhum dos tratamentos atingiu a faixa de alfa e beta ácidos totais e xanthohumol relatada na literatura internacional (HOP VARIETIES, 2019). Isso também foi observado por Fagherazzi (2020), em Lages – SC, ao cultivar plantas com dois anos de produção, obtendo respectivamente, para Cascade, Chinook e Columbus, valores de alfa ácidos de 2,84%; 2,35% e 2,81% e de beta ácidos de 1,78%; 2,10% e 2,28%.

O mesmo ocorreu com Silva (2019), ao analisar diferentes amostras de lúpulo brasileiro, encontrando valores respectivos de alfa e beta ácidos para Hallertau Mittelfrüeh de 1,37% e 0,74%, 1,83% e 1,25% para Cascade, 4,98% e 2,18% para Columbus. O mesmo autor ao analisar lúpulo em pellets importado das variedades Citra, Hallertau Magnum e Czech Premiant, constatou que apenas os betas ácidos das variedades Hallertauer Magnum e Czech Premiant corresponderam aos valores dos rótulos.

O solo e as condições meteorológicas, mudanças nas técnicas de cultivo, época de colheita e processamento pós-colheita são fontes de variabilidade no conteúdo de alfa-ácidos (KROFTA e KUCERA, 2009; INUI *et al*., 2016; PAVLOVIC *et al*., 2012). Além das diversas influências ambientais e de manejo que podem modificar o teor desses compostos, fatores como o armazenamento do lúpulo e métodos de extração também podem alterar esses teores, tendo em vista que os alfa e beta ácidos são bem instáveis e oxidam facilmente, o que pode contribuir para diminuição das suas concentrações e até mesmo formação de novas substâncias (TANIGUCHI *et al*., 2013).

Mozny *et al*. (2009), relataram que as mudanças climáticas recentes levaram ao florescimento precoce do lúpulo e níveis reduzidos de alfa ácidos, o que pode ocorrer nas condições climáticas mais quentes do Brasil quando comparados aos locais tradicionais de cultivo.

Pode-se observar na Tabela 11 que o desvio das médias no sistema orgânico para a variedade Nugget foi consideravelmente mais alto que os demais desvios padrões, e por esse tratamento ter obtido o maior teor desses compostos, o alto desvio

pode ter influenciado na redução do valor médio desse tratamento e nas possíveis diferenças que poderiam ser observadas no teor dos ácidos amargos e xanthohumol para esse tratamento.

Este alto desvio das médias pode ter ocorrido por conta do amadurecimento desuniforme dos cones na planta, portanto sugere-se uma amostragem seletiva de cones maduros para as análises químicas ao invés da amostragem homogênea realizada, o que acaba nessas condições de maturação desuniforme misturando na mesma amostra cones maduros com maior concentração e amadurecimento das glândulas lupulínicas, com cones verdes com menor conteúdo e qualidade de lupulina.

Keukeleire *et al*. (2007), estudando variedades de lúpulo cultivadas em sistema orgânico e convencional na Bélgica concluíram que algumas variedades podem apresentar uma influência maior no aumento dos seus rendimentos quando manejadas de forma orgânica, e que o cultivo orgânico pode incrementar o teor de metabólitos especializados da planta, que são os compostos químicos de valor comercial. O autor diz que isso pode ocorrer pelo fato de plantas cultivadas organicamente precisarem produzir um arsenal muito mais complexo de compostos químicos (metabólitos especializados) para defesa contra pragas do que plantas que são protegidas por uma ampla gama de fertilizantes, inseticidas, fungicidas etc, e que além disso, muitas condições ambientais influenciam a produção de metabólitos secundários, em particular compostos fenólicos, nas plantas.

Solarska *et al*. (2015), cultivando lúpulo orgânico na Polônia, encontrou significativo aumento nos teores de xanthohumol, flavan-3-ols e proantocianidinas em relação ao cultivado no sistema convencional. Evidências abundantes indicam que, em média, os alimentos orgânicos contêm níveis mais elevados de metabólitos fenólicos do que frutas e legumes produzidos convencionalmente, no entanto, poucos estudos abordaram diretamente esta relação (WOESE *et al*., 1997), dessa forma um lúpulo com maior teor de alfa e beta ácidos pode não apenas ser importante pela maior qualidade e rendimento, mas o aumento de vários compostos fenólicos, além dos ácidos amargos e óleo essencial, traz um incremento de substâncias benéficas para a manutenção e melhoria da saúde do consumidor, devido a grande atividade anti-oxidante desses compostos (SHAHIDI *et al*., 1992).

Probasco e Murphey (1996), descobriram que, com exceção de algumas variedades de lúpulo contendo grandes quantidades de humulonas, as concentrações de humulonas atingem o pico com aproximadamente 20-22% de matéria seca para a

colheita. Portanto, o potencial amargo do lúpulo é alcançado relativamente cedo na janela de colheita para a maioria das variedades, e como a faixa de matéria seca usada como parâmetro para a colheita de todos os tratamentos foi entre 20 a 23%, não iria ocorrer incrementos nos alfa ácidos caso a colheita fosse feita de forma mais tardia.

Não houve diferenças entre os sistemas de produção para os teores de óleo essencial total. Entre as variedades foram observadas diferenças significativas, com a Hallertau Mittelfrüeh apresentando em média um teor 58% menor que as demais, de acordo com a Tabela 12. Os resultados obtidos estão de acordo com a literatura, que relatam um menor teor de óleo essencial da Hallertau Mittelfrüeh (KATSIOTIS *et al*., 1989), quando comparada às outras variedades avaliadas. Por ser um lúpulo de aroma ela tem baixos teores de alfa ácidos e óleo essencial, possuindo um teor aproximado de 0,7 a 1,3 mL de óleo total/100g (KOHLMANN e KASTNER, 1975).

Tabela 12 - Médias do teor de óleo essencial (%) de variedades de *Humulus lupulus* L. cultivadas em manejo orgânico e convencional - Botucatu-SP - 2020

Variedades	Teor de óleo essencial (%)
Cascade	0,60 a
Nugget	0,58 a
Chinook	0,57 a
Hallertau Mittelfrüeh	0,24 b
Columbus	0,63 a

Médias seguidas das mesmas letras não diferem estatisticamente pelo teste Scott & Knott a 5% de probabilidade.

Os teores de óleo essencial encontrados ficaram dentro da faixa geral de 0,50 a 3,0% de massa seca de cones relatados para as variedades de lúpulo (ALMAGUER *et al*., 2014). Todos os tratamentos tiveram variação entre 0,54 a 0,72% de óleo essencial, com exceção da variedade Hallertau Mittelfrüeh que apresentou rendimento de 0,22 e 0,28%. Como a Hallertau Mittelfrüeh, de acordo com a literatura possui valores de óleo essencial mais baixos dentre todas as variedades testadas, essa redução de produção por conta da idade da planta fez ela atingir teores abaixo do relatado pela literatura, que apresenta os valores de plantas maduras, acima do 3° ano de produção.

Os teores de óleo essencial ficaram abaixo da faixa mínima relatada para cada variedade (HOP VARIETIES, 2019), atingindo um teor 15% menor em Cascade, 62% em Chinook, 68% em Columbus e de 66% em Nugget e Hallertau Mittelfrüeh. Fagherazzi (2020), também encontrou em Lages – SC valores mais baixos de óleo essencial do que os relatados pela literatura, obtendo 0,85% para Cascade e 0,74% para Columbus.

O lúpulo passa por diferentes estágios de crescimento fenológico e atinge o pico de maturidade por volta do terceiro a quinto ano de crescimento, obtendo nessa idade o seu potencial máximo de produtividade e conteúdo de metabólitos especializados (MCADAM *et al*., 2014; SIRRINE *et al*., 2015) portanto no segundo ano de cultivo a cultura ainda não se estabeleceu completamente (SALMON e WORDMALD, 1921), podendo atingir maiores rendimentos quando ela chegar no 3° a 4° ano de idade.

Outro fator essencial a ser considerado no cultivo de lúpulo no Brasil são as horas de luz necessárias para o pleno desenvolvimento da planta. No hemisfério norte, plantas de lúpulo geralmente florescem a partir do solstício de inverno (21 de julho), quando a duração do dia começa a encurtar e passa a ser inferior a 16 horas (ISKRA *et al*. 2019). As plantas de lúpulo irão produzir mais quando a duração do dia for mais longa, garantindo um bom crescimento vegetativo dos ramos antes da floração ser induzida após o solstício de verão. A duração do dia varia em função da latitude, e geralmente a faixa de latitude aceita para a produção comercial de lúpulo é de 35 ° a 55 ° ao norte ou ao sul do equador (DODDS, 2017).

Botucatu, local onde foi realizada essa pesquisa, está a uma latitude de 22° S, e a duração máxima do dia mais longo do ano, no solstício de verão, é de 13, 33 horas. Agehara (2018), disse que plantas de lúpulo cultivadas sob a duração natural do dia na Flórida, que está a uma latitude de 28° N e tem 13,45 horas no dia mais longo do ano, não são suficientes para evitar o florescimento precoce, limitando seu crescimento e rendimento.

De acordo com a análise de variância apresentada na Tabela 13, ocorreram diferenças significativas entre os sistemas de manejo e variedades para o teor de mirceno, trans-cariofileno e farneseno, e entre as variedades para o teor de ledeno.

Tabela 13 - Resumo da análise de variância da proporção relativa (%) dos principais componentes voláteis mirceno, linalol, trans-cariofileno, farneseno e ledeno do óleo essencial de variedades de *Humulus lupulus* L., cultivadas em manejo orgânico e convencional - Botucatu-SP - 2020

Fontes de variação	GL	Quadrados Médios				
		Mirceno	Linalol	Trans-cariofileno	Farneseno	Ledeno
Bloco	3	141,52 ns	0,03ns	2,67 ns	22,34 ns	2,19 ns
Manejo(a)	1	1,24 ns	0,29 ns	50,28*	97,12 ns	2,86 ns
Resíduo(a)	3	398,99	0,05	2,95	74,84	11,57
Variedades	4	883,23**	0,04 ns	24,30 ns	182,35**	16,76*
Manejo x Variedades	4	474,68*	0,01 ns	7,51**	80,22*	9,33 ns
Resíduo(b)	24	123,58	0,02	2,95	24,25	4,64
Total	39	-	-	-	-	-
CV1(%)		45,46	36,00	35,01	35,21	36,22
CV2(%)		25,30	24,00	34,97	20,04	22,95

**= efeito significativo em nível de 1% de probabilidade pelo teste F.
* = efeito significativo em nível de 5% de probabilidade pelo teste F.
ns = efeito não-significativo em nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

De acordo com a Tabela 14, para o mirceno ocorreram diferenças significativas entre os sistemas de produção, com a variedade Hallertau Mittelfrüeh obtendo um teor 62% maior no sistema orgânico. Esse monoterpeno é o composto majoritário do óleo essencial do lúpulo (YAN *et al*., 2018), e por aparecer em maior quantidade, a variação dos seus teores pode ocorrer de maneira mais expressiva do que outros compostos.

Entre as variedades, no sistema convencional a Hallertau Mittelfrüeh obteve um teor de mirceno 71% menor que o obtido na variedade Cascade (Tabela 14). Isto já era esperado para esse composto, pois o mirceno aparece em quantidades menores nas variedades de lúpulo europeu de aroma considerados nobres como a Hallertau Mittelfrüeh (20–28%) e Saaz (5–13%) (KISHIMOTO, 2009).

Com exceção da Hallertau Mittelfrüeh, o Cascade, não se diferiu estatisticamente em relação ao teor de mirceno para as outras variedades. Porém, ele e Nugget são, dentre todas as variedades avaliadas, as que apresentam o maior teor de mirceno. Segundo Almaguer *et al.* (2014), Cascade, Amarillo, Citra, Crystal, Horizon e Simcoe fazem parte do grupo conhecido como “lúpulo de mirceno”, com esse composto representando de 40% (Crystal) a 70% (Amarillo) da fração total do óleo.

Apenas o Cascade, nos dois sistemas de manejo, ficou dentro da faixa padrão de 45 a 60%, enquanto Chinook (35 a 40%), Columbus (25 a 40%), Nugget (48 a 59%) e Hallertau Mittelfrüeh (20 a 28%) (VARIETY manual, 2018), em ao menos um sistema de produção, apresentaram valores diferentes da faixa de teor de mirceno para a variedade, com Chinook e Hallertau Mittelfrüeh obtendo valores fora da faixa conhecida para os dois sistemas de manejo.

Silva (2019), ao analisar lúpulos brasileiros encontrou também teores de acordo com a literatura para Cascade (42,8%) e diferentes para Columbus (76,23%) e Hallertau Mittelfrüeh (59,3%). Fagherazzi (2020), ao cultivar lúpulo em Lages -SC encontrou valores de mirceno acima da faixa padrão para Cascade (85,5%), Columbus (83,3%) e Chinook (77,92%).

Essas diferenças podem ter ocorrido por conta do ambiente e manejo empregado (fertilização e produtos para controle fitossanitário), fatores que são diferentes dos locais de cultivo onde foram determinados essas faixas padrões, o qual podem exercer grande influência na composição dos óleos essenciais do lúpulo (KROFTA e KUČERA 2009; SHARP *et al*. 2014), permitindo assim a expressão do "terroir" brasileiro na composição química do óleo essencial.

Colheitas tardias são relatadas como tendo uma influência no conteúdo total de mirceno, resultando em maiores teores desse composto quando comparado a uma colheita mais precoce (WITTKAMP, 2018), ocorrendo o inverso para os sesquiterpenos (MATSUI *et al*., 2016), no entanto todas as variedades nos dois sistemas de manejo foram colhidas quando estavam na mesma faixa de matéria seca (20 a 23%), não ocorrendo diferenças no ponto de maturação de colheita entre os tratamentos.

O mirceno possui um grande impacto de aroma de lúpulo floral, mostrando características de odor semelhantes a gerânio, limão e amadeirado (STEINHAUS *et al*., 2007). É responsável pelo aroma de lúpulo verde, sendo relacionado com um sabor resinoso, pinho e picante, trazendo sabores interessantes para preparar cervejas frutadas e IPA's (ALMAGUER *et al*., 2014, FORSTER *et al*., 2014). A auto-oxidação do mirceno dá origem a vários produtos de reação cíclica (por exemplo, α-pineno, β-pineno, canfeno, p-cimeno), e formam terpenóides como linalol, nerol, geraniol, citral, α-terpineol ou carvona (RETTBERG *et al*., 2018), podendo ser obtida uma ampla gama de aromas e sabores distintos com esses compostos originados a partir do mirceno.

Tabela 14 - Médias da proporção relativa (%) de mirceno em óleo essencial de variedades de *Humulus lupulus* L. cultivadas em manejo orgânico e convencional, Botucatu-SP, 2020.

Variedades	Manejo	
	Orgânico	Convencional
Cascade	55,91 aA	51,63 aA
Nugget	51,63 aA	41,40 aA
Chinook	57,65 aA	43,97 aA
Hallertau Mittelfrüeh	39,26 aA	14,83 bB
Columbus	38,27 aA	44,84 aA

Médias seguidas das mesmas letras maiúsculas na coluna e minúsculas na linha não diferem estatisticamente pelo teste Scott & Knott a 5% de probabilidade.

Como demonstra a Tabela 15, não ocorreram diferenças significativas para o teor de linalol entre as variedades e sistemas de cultivo.

Por ser considerado um dos mais importantes indicadores da qualidade do aroma da cerveja e frescor do lúpulo, o linalol é um dos compostos aromáticos oxigenados de maior interesse para o mercado cervejeiro, tendo grande atividade sensorial mesmo estando presente no óleo essencial normalmente em proporções menores que 1% (ALMAGUER *et al*., 2014). Linalol está associado com aroma floral e cítrico (SCHÖNBERGER E KOSTELECKY, 2011).

É o mais abundante álcool terpênico oxigenado, sendo considerado uma importante substância indicadora na cerveja. A contribuição do linalol para o perfil de aroma depende do uso do lúpulo na cerveja e não é perceptível na cerveja quando ele é adicionado no início da fervura. Os atributos do linalol para o aroma de lúpulo na cerveja são mais perceptíveis quando uma adição tardia de lúpulo é feita, com um menor tempo de fervura (STEVENS, 1967; RETTBERG *et al*., 2018). O odor floral dado à cerveja geralmente é oferecido pelo linalol, que é um dos componentes do óleo essencial do lúpulo universalmente aceito como tendo um sabor ativo na cerveja (ALMAGUER *et al*., 2014).

A autoxidação do mirceno leva a reações cíclicas formando vários produtos, como alfa- pineno, beta- pineno, canfeno e terpenóides, que incluem linalol e geraniol (RETTBERG *et al*., 2018) O aumento da oxidação, que tem influência na biogênese do mirceno durante o armazenamento, leva a uma perda significativa de mirceno (DIECKMANN e PALAMAND, 1974), e um aumento do linalol devido a oxidação do mirceno em diferentes condições de armazenamento (RAUT *et al*., 2021). No presente

trabalho as condições de secagem e armazenamento foram as mesmas para todos os tratamentos, não ocorrendo, portanto, influência desses fatores nos teores de linalol e mirceno.

Tabela 15 - Médias e desvios padrão da proporção relativa (%) de Linalol em óleo essencial de variedades de *Humulus lupulus* cultivadas em manejo orgânico e convencional - Botucatu-SP - 2020

Variedades	Manejo	
	Orgânico	Convencional
Cascade	0,65 ± 0,13	0,79 ± 0,22
Nugget	0,62 ± 0,16	0,91 ±0,23
Chinook	0,52 ± 0,18	0,68 ± 0,06
Hallertau Mittelfrüeh	0,52 ± 0,18	0,66 ± 0,06
Columbus	0,52 ± 0,22	0,72 ± 0,06

Segundo a Tabela 16, o manejo orgânico possibilitou que o composto do óleo essencial trans-cariofileno atingisse um teor 37% maior do que o obtido no manejo convencional. Dentre as variedades ocorreram diferenças significativas no teor de trans-cariofileno, com a variedade Columbus apresentando o maior teor desse composto, sendo 77% maior do que a Hallertau Mittelfrüeh, variedade que obteve a menor média, e 38% maior do que a Cascade, 29% maior do que Chinook e 20% maior que Nugget (Tabela 17).

Elevações no percentual desse sesquiterpeno, comumente são relacionadas a ataque de pragas (HOLOPAINEN, 2004) justificando o maior percentual deste composto no sistema orgânico, dado a ausência de controle preventivo com inseticidas que visam eliminar o inseto da área ao invés de mantê-los em níveis de danos aceitáveis que não causem prejuízos a cultura.

Tabela 16 - Médias da proporção relativa (%) de trans-cariofileno em óleo essencial de *Humulus lupulus* cultivadas em manejo orgânico e convencional - Botucatu-SP - 2020

Manejo	Trans-cariofileno
Orgânico	6,04 a
Convencional	3,79 b

Médias seguidas das mesmas letras não diferem significativamente pelo teste Scott & Knott à 5% de probabilidade.

Tabela 17 - Médias da proporção relativa (%) de trans-cariofileno em óleo essencial de cinco variedades de *Humulus lupulus* cultivadas em Botucatu-SP - 2020

Variedades	Trans-cariofileno
Cascade	4,41 b
Nugget	5,69 b
Chinook	5,00 b
Hallertau Mittelfrüeh	2,37 c
Columbus	7,11 a

Médias seguidas das mesmas letras não se diferem significativamente pelo teste Scott & Knott a 5% de probabilidade.

De acordo com as faixas de teores de cariofileno relatadas por Kenny e Zimmermann (1986), a Cascade foi a única variedade que obteve valores de acordo com a literatura (3 a 6%). Silva (2019), encontrou em lúpulos brasileiros 9,6% de cariofileno para Cascade e 8,35% em Columbus, não identificando esse composto na variedade Hallertau Mittelfrüeh.

Os sesquiterpenos farneseno, humuleno e cariofileno são compostos de grande interesse e valor principalmente para as cervejas lagers européias, e o cariofileno também é importante em cervejas ales tradicionais, podendo ser associado a aromas amadeirados, picantes, florais, cravo (SYSTEMBOLAGET, 2020).

O cariofileno é o segundo sesquiterpeno mais abundante no óleo essencial, e junto com o humuleno trazem impactos positivos no aroma do lúpulo, sendo desejados em uma proporção de 3:1 (humuleno: cariofileno) para oferecer um aroma com caráter mais nobre, destacando assim as notas herbais, florais e de especiarias, com notas picantes e amadeiradas (ALMAGUER *et al*., 2014)

De acordo com a Tabela 18, entre os sistemas de manejo o teor de farneseno foi 33% maior na Hallertau Mittelfrüeh cultivada em sistema convencional. Dentre as variedades ela também apresentou um teor mais elevado, com 50% a mais desse composto do que a Chinook, variedade que obteve o menor teor.

A variedade Hallertau Mittelfrüeh destacou-se das demais com percentual médio de 38,43% no sistema convencional, valor 12,27% maior em comparação a segunda variedade com maior percentual do grupo convencional (Nugget) e 12,59 % maior em relação a Hallertau Mittelfrüeh no sistema orgânico.

Tabela 18 - Médias da proporção relativa (%) de Farneseno em óleo essencial de variedades de *Humulus lupulus* cultivadas em manejo orgânico e convencional - Botucatu-SP - 2020

Variedades	Manejo	
	Orgânico	Convencional
Cascade	17,24 aA	22,85 aB
Nugget	23,98 aA	26,16 aB
Chinook	22,69 aA	19,16 aB
Hallertau Mittelfrüeh	25,83 bA	38,43 aA
Columbus	25,29 aA	24,01 aB

Médias seguidas das mesmas letras maiúsculas na coluna e minúsculas na linha não se diferem estatisticamente pelo teste Scott & Knott à 5% de probabilidade.

O farneseno é comumente encontrado em altas concentrações que podem chegar até 30% do total do óleo essencial nos lúpulos nobres, o qual são amplamente utilizados em cervejas do estilo Bohemian Pilsner (KROTTENTHALER, 2009). O farneseno é um sesquiterpeno acíclico, que expressa um bom 'aroma de lúpulo' na cerveja, com notas amadeiradas e aromas que remetem a maçã verde, doce, lavanda. Esse composto é encontrado em quantidades acima de 1% apenas em algumas variedades, podendo ser usado como um marcador para a identificação de variedades de lúpulo (ALMAGUER *et al*., 2014).

A quantidade e composição de óxidos, epóxidos e álcoois na fração de sesquiterpeno diferem acentuadamente entre as variedades de lúpulo, com lúpulos Hallertau Mittelfrüeh e Hersbrucker compreendendo uma grande proporção de derivados oxigenados ou sesquiterpênicos em comparação com outras variedades (GARDNER *et al*., 1994; MOIR *et al*., 1994).

De acordo com Kenny e Zimmermann (1986) o farneseno encontra-se abaixo de 1% em todas as variedades avaliadas no trabalho, exceto para Cascade, que possui um teor de 3 a 7% de farneseno. Para todas as variedades o teor de farneseno foi mais alto do que o relatado na literatura.

Fagherazzi (2020), também encontrou farneseno acima do relatado na literatura nas variedades Chinook (10,3%), e em menor quantidade para Cascade (1,66%) e Columbus (1,63%). Silva (2019), analisando amostras de lúpulo brasileiro colhidas em 2018 em Nova Friburgo – RJ, encontrou farneseno acima de 1% em quase todas as variedades analisadas, exceto em Columbus e Bullion, com o maior teor sendo encontrado na variedade Saaz (9,8%). Mozzon *et al.* (2020), cultivando diversas variedades de lúpulo na Itália também encontrou teores de farneseno acima

da literatura para a variedade Chinook (2,03%), porém em teores menores que os encontrados nos trabalhos brasileiros.

De acordo com Matsui *et al.* (2013), cones de lúpulo Saaz de plantas mais antigas (≥15 anos) apresentaram maiores concentrações de monoterpenos e álcoois terpênicos e conferiram mais frutas cítricas, frutadas e caráter floral à cerveja, enquanto os cones de lúpulo de plantas mais jovens (≤5 anos) apresentaram maiores concentrações de sesquiterpenos e conferiram um caráter mais silvestre à cerveja, contribuindo com aromas mais maltados e doces que podem ser facilmente reconhecidos nesses lúpulos mais jovens. Os teores mais elevados de farneseno encontrados no trabalho podem ocorrer devido as plantas do estudo ainda serem jovens, estando apenas no segundo ano de produção.

O α-humuleno é o sesquiterpeno mais abundante no lúpulo e junto com o β-cariofileno trazem impactos positivos no aroma da cerveja, sendo desejados em uma proporção de 3:1 (α-humuleno: β-cariofileno) para oferecer um aroma com caráter mais nobre, destacando-se fortemente as notas herbais, florais e de especiarias (ALMAGUER *et al*., 2014). O α-humuleno não foi detectado nas variedades avaliadas, fato que pode estar relacionado às condições tropicais do cultivo, que são diferentes das condições de clima temperado das principais regiões produtoras.

Como observado na Tabela 19, o teor de ledeno não apresentou diferenças estatisticamente significantes para os sistemas de manejo, porém dentre as variedades, Columbus e Nugget apresentaram um teor 27% maior que a Hallertau Mittelfrüeh e Cascade, e 17% maior que a Chinook.

Esse composto não é comum de ser encontrado no óleo essencial do lúpulo, porém Rój *et al*. (2015), encontrou o viridifloreno, nome que também é conhecido o ledeno, trabalhando com extrato supercrítico de lúpulo, com um tempo de retenção de 1496 KI.

Tabela 19 - Médias da proporção relativa (%) de ledeno em óleo essencial de cinco variedades de *Humulus lupulus* cultivadas em Botucatu-SP - 2020

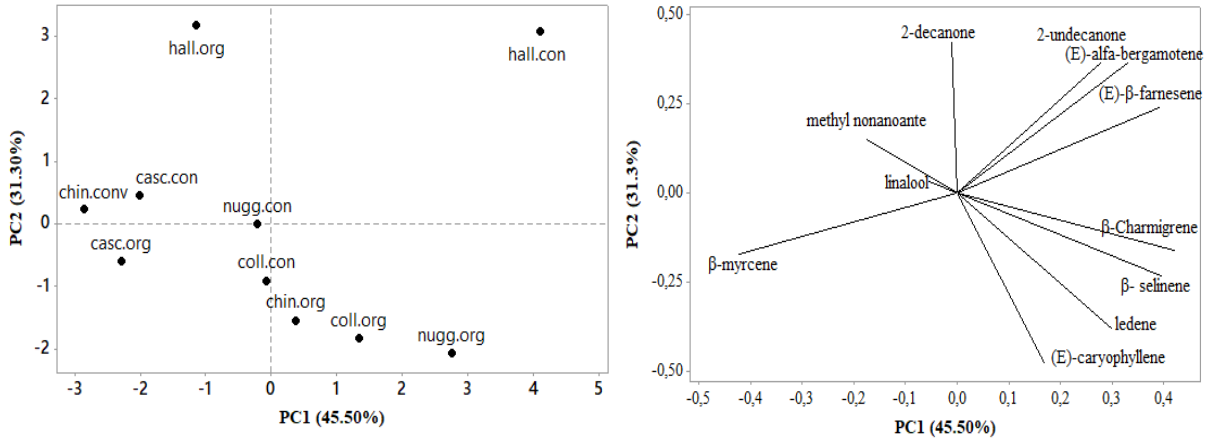
Variedades	Ledeno
Cascade	8,01 b
Nugget	10,87 a
Chinook	9,06 b
Hallertau Mittelfrüeh	7,98 b
Columbus	10,95 a

Médias seguidas das mesmas letras não se diferem significativamente pelo teste Scott & Knott a 5% de probabilidade.

Os sesquiterpenos ledeno e β-selineno destacaram-se como compostos que não são comumente encontrados dentro da composição química das variedades, com percentuais variando de 6,70 a 11,72 e 6,77 a 10,66, respectivamente, em Hallertau Mittelfrüeh e Columbus orgânico. Dessa forma, contribuíram para o maior teor de hidrocarbonetos terpênicos observados para as variedades avaliadas em clima tropical (Tabela 20) em comparação com outros estudos em clima temperado, que apontam valores de 50 a 80% (AMALGUER *et al*., 2014; YAN *et al*., 2018).

Apesar da influência dos compostos majoritários, a totalidade e interação entre os compostos químicos dos óleos essenciais é determinante para a formação de uma diversidade de aromas de interesse para a indústria cervejeira. No lúpulo observa-se a presença, além dos hidrocarbonetos terpênicos, de substâncias como ésteres, álcoois e cetonas, que proporcionam composições aromáticas diferenciadas. Diante disto, por meio da análise de componentes principais foi possível verificar a similaridade entre as variedades nos diferentes sistemas de cultivo. A Figura 9 contém a análise de componentes principais (PCA), sendo 76,80 % da variância total explicada pelas primeiras duas componentes principais.

Figura 9 - Análise de componentes principais de variedades de *Humulus lupulus* cultivadas no sistema orgânico e convencional



A principal diferença foi observada na variedade Hallertau Mittelfrüeh, que em ambos os sistemas de cultivo apresentou características químicas que a distinguiu das demais, principalmente quanto à presença de substâncias do grupo das cetonas e aldeídos. As substâncias metil-heptanona, 2-nonanal, n-nonanal, metil-octanoato, 2-undecanona, undecanal, Undec-9E-em-1-al, 2-metil-Lavandulal butanoato, Germacreno B e eudesmol foram observadas apenas nesta variedade

As variedades Cascade, Chinook, Nugget e Columbus, apresentaram maior similaridade. Entretanto, em relação ao sistema de cultivo adotado, pequenas variações dentro da mesma variedade foram observadas. O monoterpeno mirceno apresentou maior relação com a variedade Cascade cultivada tanto em sistema orgânico quanto convencional e a variedade Chinook em cultivo convencional. As demais variedades, independente do cultivo, apresentaram maior relação com os sesquiterpenos β-chamigreno, β-selineno, ledeno e (*E*)-cariofileno, exceto Hallertau Mittelfrüeh, que apresentou maior relação com o β-farneseno, bem como as cetonas e ésteres detectados.

Tabela 20 - Constituintes do óleo essencial de variedades de lúpulo cultivadas em sistema orgânico e convencional

	Substâncias	IRL. cal	IRL. Lit.	Casc.Org	Casc.Con	Nugg.Org	Nugg.Con	Chin.Org	Chin.Conv	Hall.Org	Hall.Con	Colu.Org	Colu.Con
1	β-pineno	976	974	0,90±0,06	0,68±0,32	0,48±0,30	0,52±0,37	0,57±0,39	0,82±0,02	0,68±0,06	0,23±0,00	0,50±0,18	0,50±0,19
2	Mirceno	991	988	55,92±7,21	51,63±19,08	41,40±13,49	43,20±16,43	43,97±19,06	57,65±2,68	39,26±3,15	14,83±5,65	38,27±11,82	44,84±3,83
3	Metil-heptanona	1021	1021	-	-	-	-	-	-	0,38±0,11	0,27±0,07	-	-
4	2-nonanal	1089	1087	-	-	-	-	-	-	0,43±0,14	0,28±0,10	-	-
5	Linalol	1098	1095	0,65±0,08	0,79±0,27	0,62±0,13	0,91±0,26	0,52±0,19	0,68±0,04	0,62±0,12	0,66±0,00	0,59±0,25	0,72±0,11
6	n-nonanal	1102	1100	-	-	-	-	-	-	0,63±0,34	0,54±0,13	-	-
7	metil-octanoato	1123	1123	-	-	-	-	-	-	0,24±0,04	0,23±0,02	-	-
8	2-decanone	1191	1192	0,24±0,01	0,32±0,18	-	-	-	-	1,09±0,92	0,49±0,05	-	-
9	Metil nonanoato	1222	1223	0,60±0,26	1,03±0,60	0,40±0,19	1,39±0,60	0,45±0,15	0,69±0,32	0,56±0,22	1,16±0,18	0,23±0,00	0,23±0,00
10	2-Undecanona	1191	1293	-	-	-	-	-	-	0,64±0,55	2,42±0,31	-	-
11	Undecanal	1307	1305	-	-	-	-	-	-	0,56±0,22	1,16±0,18	-	-
12	Undec-9E-em-1-al	1312	1311	-	-	-	-	-	-	0,60±0,25	1,47±0,30	-	-
13	(*E*)-cariofileno	1417	1417	4,99±1,85	3,82±1,24	7,49±1,85	3,89±0,88	7,20±4,07	2,81±0,15	2,13±0,34	2,60±0,18	8,37±1,52	5,85±1,05
14	α-(*E*)-Bergamoteno	1434	1432	0,78±0,10	0,93±0,40	1,00±0,23	1,11±0,37	0,97±0,30	0,80±0,05	1,43±0,27	1,89±0,15	1,04±0,22	0,98±0,11
15	(*E*)-β-Farneseno	1456	1452	17,24±1,16	22,85±9,31	23,98±5,52	26,16±8,78	22,69±6,75	19,16±1,10	25,84±2,12	38,43±2,33	25,29±5,66	24,01±2,65
16	β-Charmigreno	1474	1476	1,23±0,25	1,23±0,49	1,67±0,40	1,63±0,45	1,63±0,59	1,09±0,09	1,23±0,20	1,87±0,19	1,76±0,35	1,56±0,11

17	β- selineno	1485	1489	7,37±1,45	7,40±2,95	10,05±2,43	9,73±2,77	9,72±3,42	6,63±0,62	6,77±1,15	10,56±1,22	10,66±2,07	9,43±0,75
18	Ledeno	1494	1496	8,08±1,57	8,12±3,24	11,09±2,57	10,65±2,99	10,72±3,86	7,41±0,67	6,70±1,03	9,26±0,57	11,72±2,31	10,19±0,65
19	2-metil-Lavandulal butanoato	1513	1511	-	-	-	-	-	-	0,74±0,17	0,77±0,13	-	-
20	α-Cadineno	1532	1537	0,30±0,08	-	0,46±0,16		0,33±0,20	0,37±0,11	0,81±0,14	1,22±0,13	0,27±0,08	-
21	mi	1554	1559	-						0,81±0,13	1,20±0,09		
22	α-Eudesmol	1650	1652	-	-	-	-	-	-	0,88±0,20	1,49±0,20	-	-
23	6-*Z*-Pentadecen-2-o	1667	1667	0,63±0,32	0,68±0,23	1,04±0,27	0,82±0,25	1,00±0,43	0,55±0,04	0,90±0,26	1,47±0,23	0,94±0,17	0,87±0,11
Monoterpenos hidrocarbonetos				**56,82**	**52,31**	**41,88**	**43,72**	**44,54**	**57,68**	**39,94**	**15,06**	**38,77**	**45,34**
Monoterpenos oxigenados				**0.65**	**0.79**	**0.62**	**0.91**	**0.52**	**0.68**	**0.62**	**0.66**	**0.59**	**0.72**
Sesquiterpenos hidrocarbonetos				**39,81**	**44.35**	**55,28**	**53,17**	**53,27**	**38**	**44,10**	**64,61**	**59,94**	**52,02**
Sesquiterpenos oxigenados				**-**	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**	**0.88**	**1,49**	**-**	**-**
Ésteres				**0.60**	**1.03**	**0.40**	**1.39**	**0.45**	**0.69**	**1,18**	**1,66**	**0,23**	**0,23**
Cetonas				**-**	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**	**2,22**	**3,45**	**-**	**-**
Aldeídos				**0,24**	**0,32**	**-**	**-**	**-**	**-**	**1,73**	**2.91**	**-**	**-**

IRL. Cal.= índice de retenção linear calculado; IRL. Lit= índice de retenção linear da literatura.

5 CONCLUSÕES

O sistema de manejo orgânico proporcionou maior produção fresca de cones e aumento do teor de alguns compostos terpênicos do óleo essencial como o mirceno e o cariofileno, e o sistema convencional influenciou no aumento do sesquiterpeno farneseno.

A variedade mais produtiva foi a Columbus e a menos produtiva foi a Hallertau Mittelfrüeh.

As variedades se diferiram quanto ao comprimento e produção fresca de cones, maturidade tecnológica, teor e composição química do óleo essencial.

Os sistemas de manejo influenciaram na produção de cones, maturidade tecnológica e composição química do óleo essencial.

Os teores dos ácidos amargos e xanthohumol não sofreram efeito dos sistemas de manejo e das variedades.

As diferenças entre os sistemas de manejo indicam que a fertilização e o controle fitossanitário podem alterar a produção e a composição química do óleo essencial do lúpulo.

As mudanças encontradas para as variedades em alguns parâmetros morfológicos produtivos e fitoquímicos mostram que há diferenças entre alguns materiais genéticos estudados.

REFERÊNCIAS

ADAMS, R.P. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry. **Allured Publishing Corporation**, Carol Stream, IL, 2007.

ALMAGUER, C. *et al*. *Humulus lupulus* - a story that begs to be told. A review. **Journal of the Institute of Brewing**, London, GB, v. 120, n. 4, p. 289–314, 2014.

AMERICAN ORGANIC HOP GROWER ASSOCIATION (AOHGA). **Organic hop market report**, maio,2011. Disponível em: http://usorganichops.com/AOHGA/index/Entries/2011/5/31_Organic_Hop_Market_Report_%28May_2011%29.html Acesso em: 15 jan. 2021.

ANGHINONI, I.; SCHLINDWEIN, J. A.; NICOLODI, M. Amostragem do solo no sistema plantio direto. *In*: CURSO DE FERTILIDADE DO SOLO EM PLANTIO DIRETO, 5., 2002, Guarapuava. **Resumos** […] Passo Fundo: Aldeia Norte, 2002. p. 97-105.

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.

BAMFORTH, C. **Brewing materials and processes**: A practical approach to beer excellence. 1. ed. Cambridge: Academic Press, 2016.

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.

BEATSON, R. *et al*. **Compendium of hop diseases and pests**. St. Paul, MN: The American Phytopathological Society, 2009.

BLAND, J. S. *et al.* Isohumulones from hops (*Humulus lupulus*) and their potential role in medical nutrition therapy. **Pharma Nutrition**, v. 3, n. 2, p. 46-52, 2015.

BOT, A.; BENITES, J. The importance of soil organic matter, Key to drought-resistant soil and sustained food production. **FAO Soils Bulletin**, n. 80, p. 94, 2005.

BOULTON, C. **Encyclopedia of Brewing**. 1. ed. [s.l.] John Wiley & Sons, 2013.

BROOKS, S. N. *et al*. Registration of Cascade hop (Registration No. 1). **Crop Science**, v. 12, p. 394, 1972.

Burgess, A.H. **Hops, botany, cultivation and utilization**. Nova Iorque: Interscience Publishers Inc., 1964.

ČEH, B.; ZMRZLAK M. **HMELJ**: od sadike do storžkov. Žalec: Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije, 2012.

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.

CLAESSEN, M. E. C. Manual de métodos de análise de solo. Embrapa Solos-Documentos (INFOTECA-E), Rio de Janeiro, 212 p., 1997. 2. ed. rev. atual.

COMEXSTAT. *In*: Dados estatísticos do comércio exterior brasileiro. Disponível em: http://comexstat.mdic.gov.br/pt/home. Acesso em: 20 fev. 2021.

COWAN, M. Plant Products as Antimicrobial Agents. **Clinical Microbiology Reviews**. v. 12, n. 4, p. 564-582, 1999.

CUNHA A.R.; MARTINS, D. Classificação climática para os municípios de Botucatu e São Manuel, SP. **Irriga**, v.14, p. 1-11, 2009.

DE KEUKELEIRE, D. Fundamentals of beer and hop chemistry. **Química nova**, São Paulo, SP, v. 23, p. 108-112, 2000.

DE KEUKELEIRE, J. *et al.* Relevance of Organic Farming and Effect of Climatological Conditions on the Formation of r-Acids, â-Acids, Desmethylxanthohumol, and Xanthohumol in Hop (*Humulus lupulus* L.) **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, DC, v. 55, p. 61-66, 2007.

DICK, R. P. Soil enzyme activities as indicators of soil quality. *In*: DORAN, J. W.; COLEMAN, D. C.; BEZDICEK, D. F.; STEWART, B. A. (Ed.). **Defining soil quality for a sustainable environment**. Madison: Soil Science Society of America, 1994. p. 107-124.

DIECKMANN, R.H.; PALAMAND, S.R. Autooxidation of some constituents of hops. I. The monoterpene hydrocarbon myrcene. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, DC, v.22, p. 498–503, 1974.

DODDS, K. **Hops:** A Guide for New Growers. 1. ed. New South Wales: NSW Department of Primary Industries, 2017.

DORAN, J.W. Soil microbial and biochemical changes associated with reduced tillage. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, WI, v.44, p.765-771. 1980.

DURELLO, R. S.; SILVA, L. M.; BOGUSZ, S. Química do lúpulo. **Química Nova**, São Paulo, v. 42, p. 900-919, 2019.

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**, Washington, DC, v. 55, n.15, p. 6252–6261, 2007.

EYRES, G.; DUFOUR, J.P. Hop essential oil: Analysis, chemical composition and odor characteristics. *In*: Preedy, V.R. (ed), **Beer in Health and Disease Prevention**, London, UK: Academic Press, 2009. p. 239-254.

FAGHERAZZI, M. M. **Adaptabilidade de cultivares de lúpulo na região do planalto Sul Catarinense**. 2020. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Lages, 2020.

FAO. *In*: FAOSTAT: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2014. Disponível em: https://www.fao.org/statistics/en/. Acesso em: 20 set. 2019.

FAO. *In*: FAOSTAT: Food and Agriculture Organization of the United Nations, Roma, Itália, 2015. Disponível em: https://www.fao.org/statistics/en/. Acesso em: 8 ago. 2019.

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, SP, v. 114, p. 29-33, 2014.

FORSTER, A., *et al*. **Hops:** Their Cultivation, Composition and Usage. Nuremberg, Germany: Fachverlag Hans Carl GmbH, 2014.

FORSTER, A.; SCHMIDT, R. Characterization and classification of hop varieties. **Brauwelt International**, [S.l.], v. 134, p. 108-124, 1994.

GARDNER D. Hop flavour and aroma products. *In*: Euro-pean Brewery Convention Monograph, 22, 1994, Zoeterwoude, The Netherlands. **Symposium on Hops** […] Zoeterwoude, The Netherlands: Fachverlag Hans Carl,Nürnberg 1994. p. 114-124.

GENT, D.; SIRRINE, R.; DARBY, H. **Nutrient Management and Imbalances**. Hop Growers of America, 2019. Disponível em: https://www.usahops.org/cabinet/data/9.pdf. Acesso em: dez. 2020.

GERHAUSER, C. *et al*. Cancer chemopreventive activity of xanthohumol, a natural product derived from hop. **Molecular Cancer Therapeutics**, Philadelphia, PA, v. 1, p. 959-969. 2002.

GINGRICH, C.; HART, J.; CHRISTENSEN, N. **Fertilizer guide**: Hops***.*** Corvallis, OR: OSU-Extension Service, 1994.

GOBBO NETO, L.; LOPES, N.P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários, **Química Nova**, São Paulo, SP, 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**, [S.l.], v. 72, n. 2, p. 135–142, 2014.

GONZAGA, R.F. **Desenvolvimento de híbridos de lúpulo adaptados às condições tropicais**. 2021. Tese (Doutorado em Melhoramento Genético) – Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2020.

HALLMANN, E.; REMBIAŁKOWSKA, E. Characterization of antioxidant compounds in sweet bell pepper (*Capsicum annuum* L) under organic and conventional growing systems, **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Oxford, v. 92, p. 2409-2415, 2012.

HARBORNE, J. B. **Phytocheminal methods**: A guide to modern techniques of plants analysis. 2 ed. Chapman and Hall, 1984.

HARDWICK, William (Ed.). **Handbook of brewing**. CRC Press, 1994.

HAUNOLD, A.; NICKERSON, G. B.; LIKENS, S. T. Yield and Quality Potential of Hop, Humulus Lupulus L. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, [S.l.], v. 41, n. 2, p. 60-63, 1983.

HAUNOLD, A.; LIKENS, S. T.; HORNER, C. E. Breeding for alpha acid production in hops. *In*: **The Breeding and Development of New Hop Varieties. Proc. Sci. Com. Int. Hop Growers Convention**. Wye College, University of London, London, England. pp. 24–45, 1976.

HOLOPAINEN, J.K. Multiple functions of inducible plant volatiles, **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 11, p. 529-533, 2004.

HOP varieties. *In*: Yakimachief. 2019. Disponível em: https://www.yakimachief.com/hop-varieties/. Acesso em: 20 jul. 2021.

HOWARD, G. A.; SLATER, C. A. Evaluation of hops – VII. Composition of the essential oil of hops, **Journal of the Institute of Brewing**, London, GB, v. 63, p. 491-506, 1957.

INUI, T. *et al*. Effect of harvest time and pruning date on aroma characteristics of hop teas and related compounds of Saaz hops. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, [S.l.], v. 74, n. 4, p. 231-241, 2016.

ISKRA, A. *et al*. Influence of nitrogen fertility practices on hop cone quality. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, [S.l.], (In review), 2019.

JASKULA, B. *et al.* A kinetic study on the isomerization of hop α-acids. **Journal of agricultural and food chemistry**, Washington, DC, v. 56, n. 15, p. 6408-6415, 2008.

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**, Japão, v. 67, n. 7, p. 871-883, 2018.

KATSIOTIS, S.T., *et al*. Comparative study of essential oils of hops from various cultivars of *Humulus lupulus* L. **Flavors and fragrances diary**, [S.l.], v. 4, n. 4, p. 187-191, 1989.

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**, Washington, v. 59, n. 9, p. 4783-93, 2011.

Kenny, S. T. Identification of U.S. grown hop cultivars by hop acid and essential oil analyses. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, [S.l.], v. 48, p. 3-8, 1990.

KENNY, S. T.; ZIMMERMANN, C. E. Registration of Chinook hop (Registration No. 15). **Crop Science**, Madison, v. 26, p. 196-197, 1986.

KEUPPER, G.; ADAM, K.L.; WILLIAMS, P. Lúpulo: produção orgânica. *In*: Serviço Nacional de Informações sobre Agricultura Sustentável, 2005. Disponível em: https://attra.ncat.org/attrapub/summaries/summary.php?pub=87. Acesso em: 12 dez. 2020.

KING, A.J., DICKINSON, J.R. Biotransformation of hop aroma terpe-noids by ale and lager yeasts. **FEMS Yeast Research**, Oxford, v.3, p. 5362, 2003.

KISHIMOTO, T. Investigations of hop-derived odor-active compounds in beer, hop flavor and aroma. *In*: Proceedings of the 1st International Brewers Symposium, 1. 2007, Corvallis, Oregon. **International Brewers Symposia series** […] St. Paul: American Society of Brewing Chemists: Master Brewers Association of the Americas, 2009. p. 49-58.

KISHIMOTO, Toru et al. Comparison of 4-mercapto-4-methylpentan-2-one contents in hop cultivars from different growing regions. **Journal of agricultural and food chemistry**, Washington, DC, v. 56, n. 3, p. 1051-1057, 2008.

KOHLMANN, H.; KASTNER, A. **Der Hopfen**. Hopfenverlag Wolnzach, Germany, 1975.

KONDO, K. Preventive effects of dietary beer on lifestyle-related diseases. **BioFactors**, Oxford, v. 22, p. 303-310, 2004.

KRALJ, D. Investigation of the properties of male plants in hop breeding. **Genetica**, [S.l.], v. 14, n. 1, p. 49-58, 1982.

KROFTA, K. Comparison of quality parameters of Czech and foreign hop varieties. **Plant, Soil and Environment**, [S.l.], v. 49, p. 261–268, 2003.

KROFTA, K.; KUČERA, J. Mathematical model for prediction of alpha acid contents from meteorological data for ‘Saaz’ aroma variety. **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 848, p. 131-139, 2009.

KROTTENTHALER, Martin. Hops. **Handbook of Brewing: Processes, Technology, Markets**, p. 85-104, 2009.

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

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

LEITE, L. F. C; GALVÃO, S. R. S. Matéria orgânica do solo: funções interações e manejo em solo tropical. *In*: ARAÚJO, A.S.F; *et al.* **Matéria orgânica e organismos do solo.** Teresina: EDUFIP, 2008. p. 19.

LEWIS, G. K.; ZIMMERMANN, C. E.; HAZENBERG, H. **Hop variety named Columbus**, 1999. Disponível em: https://patents.google.com/patent/USPP10956P/en. Acesso em: 10 fev. 2020.

LIMA, G.P.P.; VIANELLO, F. Review on the main differences between organic and conventional plant-based foods. **Food Science and Technology International**, London, GB, v. 46, p. 1–13, 2011.

LOPES, A. A. C. *et al*. Interpretation of microbial soil indicators as a function of crop yield and organic carbon. **Soil Science Society of America**, [S.l.], v. 77, p. 461-472, 2013.

LOPES, A. A. C. *et al*. Temporal variation and critical limits of microbial indicators in oxisols in the Cerrado, Brazil. **Geoderma Regional**, [S.l.], v. 12, p. 72-82, 2018.

MACHADO, L. C. P.; MACHADO FILHO, L. C. P. **A Dialética da agroecologia**. São Paulo: Editora Expressão Popular, 2014.

MADDEN, R.; DARBY, H. **Hops harvest moisture determination**. University of Vermont Extension Northwest Crops and Soils Program and USD, Vermont, USA 2012. Disponível em: www.uvm.edu/extension/cropsoil/ wp-content/uploads/Hop_harvest_fact_sheet.pdf. Acesso em: 19 jul. 2020.

MAHAFFEE, W.; PETHYBRIDGE, S. The genus *Humulus*. *In:* **Compendium of hop diseases and pests**. St. Paul, MN: The American Phytopathological Society, 2009. p. 15.

MAPA. *In*: MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO 2017. Disponível em http://www.agricultura.gov.br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/pasta-publicacoes-DIPOV. Acesso em: 20 de ago. 2021.

MAPA. *In*: MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. ANUÁRIO DA CERVEJA 2020. Disponível em: http://www.cervbrasil.org.br/novo_site/wp-content/uploads/2021/04/anuariocerveja2.pdf. Acesso em: 22 de out. 2021.

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

MARCUSSO, E. F.; MÜLLER, C. V. **Anuário da Cerveja 2018**: crescimento e inovação. Ministério da Agricultura. Disponível em: http://www.agricultura.gov.br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/pasta-publicacoes-DIPOV/anuario-da-cerveja-no-brasil-2018. Acesso em: 25 mar. 2019.

MATSUI, H. *et al*. In The influence of the age of a hop plant on the quality of hop aromas in beer. **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 1010, p. 171-182, 2013.

MATSUI, H. *et al*. The influence of pruning and harvest timing on hop aroma, cone appearance, and yield. **Food chemistry**, Washington, DC, v. 202, p. 15-22, 2016.

MATSUOKA, M.; MENDES, I. C.; LOUREIRO, M.F. Biomassa microbiana e atividade enzimática em solos sob vegetação nativa e sistemas agrícolas anuais e perenes na região de Primavera do Leste (MT). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 27, p. 425- 433, 2003.

MCADAM, E.L. *et al*. Quantitative genetic parameters for yield, plant growth and chemical characteristics of the hop cone (*Humulus lupulus* L.). **BMC Genomics**, London, v. 15, p. 1-18, 2014.

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

MENDES, I. C. *et al*. Bioanálise de solo: Aspectos teóricos e práticos. **Tópicos em Ciência do Solo**, [S.l.], v. 10, p. 399-462, 2019[a].

MENDES, I. C. *et al*. Critical limits for microbial indicators in tropical Oxisols at post-harvest: The FERTBIO soil sample concept. **Applied Soil Ecology,** Amsterdam, v. 139, p. 85-93, 2019[b].

MOIR, M. Hop aromatic compounds. *In*: European Brewery Convention Monograph, 22, May/June 1994, The Netherlands. **Symposium on Hops, Zoeterwoude** […] Fachverlag Hans Carl,Nürnberg, Germany, 1994. p 165 - 180.

MOIR, M. Hops - A Millennium review. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, [S.l.], v. 58, p. 131- 146, 2000.

MONGELLI, A. *et al*. Are *Humulus lupulus* L. ecotypes and cultivars suitable for the cultivation of aromatic hop in Italy? A phytochemical approach. **Industrial Crops and Products**, [S.l.], v. 83, p. 693–700, 2016.

MOZNY, M. *et al*. The impact of climate change on the yield and quality of Saaz hops in the Czech Republic. **Agricultural and Forest Meteorology**, Amsterdam, NL, v. 149, p. 913–919, 2009.

MOZZON, M; FOLIGNI, R.; MANNOZZI, C. Brewing quality of hop varieties cultivated in central Italy based on multivolatile fingerprinting and bitter acid content. **Foods**, [S.l.], v. 9, n. 5, p. 541, 2020.

MURAKAMI, A. *et al*. Molecular phylogeny of wild hops, (*Humulus lupulus* L.). **Heredity**, Cary, NC, v. 97, p. 66–74, 2006.

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

NEPTUNE, A. M. L.; TABATABAI, M. A.; HANWAY, J. J. Sulfur fractions and carbon-nitrogen-phosphorus-sulfur relationships in some Brazilian and Iowa soils. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, Wis., v. 39, n. 1, p. 51-55, 1975.

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

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**, Oxford, v. 38, n. 2, p. 136-145, 2010.

PAVLOVIC, V. *et al.* Environment and weather influence on quality and market value of hops. **Plant, Soil and Environment**, [S.l.], v. 58, n. 4, p. 155-160, 2012.

PAVOLOVIČ, V. *et al*. Modelling of quality prediction for hops (*Humulus lupulus* L.) in relation to meteorological variables. **BALWOIS conference proceedings; Ohrid, Republic of Macedonia**, 2010, 1-10. https://balwois.com/wp-content/uploads/old_proc/ffp-1920.pdf

PEACOCK, V. E.; MCCARTY, P. Varietal identification of hops and hop pellets. **Technical quarterly Master Brewers Association of the Americas**, Madison, Wis., v. 29, p. 81-85, 1992.

PERAGINE, J. **Growing your own hops, malts, and brewing herbs**. Ocala: Atlantic, 2011.

PRADO, M. R. Nutrição de plantas. São Paulo: **UNESP**, 2008.

PRENCIPE, F. P. *et al*. Development of a new high-performance liquid chromatography method with diode array and electrospray ionization-mass spectrometry detection for the metabolite fingerprinting of bioactive compounds in *Humulus lupulus* L. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, NL, v. 1349, p. 50-59, 2014.

PROBASCO, G.; MURPHEY, J. M. The development of brewing quality characteristics in hops during maturation. Tech. Q. **Master Brewers Association**, Madison, Wis., v. 33, p. 149-159, 1996.

RAIJ, B. **Fertilidade do solo e manejo de nutrientes**. Piracicaba: IPNI, 2011.

RAUT, S. *et al*. Influence of pre-drying storage time on essential oil components in dried hops (*Humulus lupulus* L.). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Oxford, v. 101, n. 6, p. 2247-2255, 2021.

RETTBERG, N.; BIENDL, M.; GARBE, L. Hop Aroma and Hoppy Beer Flavor: Chemical Backgrounds and Analytical Tools - A Review. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, [S.l.], v. 76, n. 1, p. 1-20, 2018.

RHEINHEIMER, D. dos S. *et al*. Resposta à aplicação e recuperação de enxofre em cultivos de casa de vegetação em solos com diferentes teores de argila e matéria orgânica. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 2, p. 363-371, 2007.

RIGR, A.; NESVADBA, V.; BERANEK, F. Evaluation of important characteristics of selected varieties of the world hop collection**. Rostlinna Vyroba**, Praha, CS, v. 43, p. 319-324, 1997.

ROBERTS, D. D.; KRONSTAD, W. E.; HAUNOLD, A. Genetic Variability and Association of Maturity, Yield, and Quality Characteristics of Female Hops 1. **Crop Science**, v. 20, n. 4, p. 523-527, 1980.

RODRIGUES, M. A.; MORAIS, J. S.; CASTRO, J. P. **O lúpulo: da cultura ao extrato**: Técnica cultural tradicional. Bragança: Instituto Politécnico de Bragança, 2015.

RÓJ, E. *et al*. Supercritical carbon dioxide hops extracts with antimicrobial properties. **Open Chemistry**, [S.l.], v. 13, n. 1, p. 1157–1171, 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**, New York, US, v. 51, p. 545-552, 2000.

ROSSINI, F. *et al*. Agronomic performance and evaluation of beer quality of twenty hop cultivars grown in central Italy. **Italian Journal of Agronomy**, [S.l.], v. 11, p. 180–187, 2016.

RUGGERI, R.; LORETI, P.; ROSSINI, F. Exploring the potential of hops as a dual-purpose crop in the Mediterranean environment: Shoot and cone yields of nine commercial cultivars. EUR. **Agronomy Journal**, Madison, Wis., v. 93, 11-17, 2018.

RYBAČEK, V. **Hop production**. Ed. Elsevier and Faculty of Agronomy, Agricultural University, Prague, Checz Republic. pp 78-99. 1991

SAKAMOTO, K.; KONINGS, W. Beer spoilage bacteria and hop resistance. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, NL, 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.

SANTOS, H. G. *et al*. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 5. ed. Brasília: EMBRAPA SOLOS, 2018.

SANTOS, H.P; TOMM, G.O. Disponibilidade de nutrientes e teor de matéria orgânica em função de sistemas de cultivo e de manejo de solo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.33, p.477-486, 2003.

SCHÖNBERGER, C.; KOSTELECKY, T. 125th Anniversary Review: The Role of Hops in Brewing. **Journal of the Institute of Brewing**, London, GB, v. 117, p. 259-267, 2011.

SENGIK, E.; ALBUQUERQUE, K. P. **Os colóides do solo**. Apostila da disciplina de solos, UEM, 2003. Disponível em: http://www.nupel.uem.br/coloides-2003.pdf. Acesso em: 22 jul. 2021.

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

SHARP D.C. *et al*. Effect of harvest maturity on the chemical composition of Cascade and Willamette hops. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, [S.l.], v. 72, p. 231–238, 2014.

SILVA, A. P. *et al*. Microbial biomass under different soil and crop managements in short- to long-term experiments performed in Brazil**. Field Crops Research**, Netherlands, v. 119, p. 20-26, 2010.

SILVA, C.T.D. **Caracterizações químicas dos primeiros cultivares de lúpulo (*Humulus lupulus L.*) produzidos no Brasil**. 2019. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Espírito Santo, Espírito Santo, 2019.

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

SIRRINE, R. *et al*. **Estimated costs of producing hops in Michigan**, Michigan, v. 1, p. 1-6, 2015. Disponível em: https://www.canr.msu.edu/uploads/resources/pdfs/estimated_costs_of_producing_hops_in_michigan_(e3236).pdf. Acesso em: 10 maio 2020.

SKOMRA, U. *et al*. Agro-morphological differentiation between European hop (*Humulus lupulus* L.) cultivars in relation to their origin. **Journal of Food Agriculture & Environment**, Helsinki, FI, v. 11, p. 1123-1128, 2013.

SOBOTIK, M. *et al*. Beschreibung des Wurzelsystems von Hopfen und Mais über Freilegung am Bodenprofil. **Die Bodenkultur: Journal of Land Management, Food and Environment**, Helsinki, FI, v. 69, n. 2, p. 121-130, 2018.

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

STEINHAUS, M.; WILHELM, W.; SCHIEBERLE, P. Comparison of the mostodour active volatiles in different hop varieties by application of a comparative aroma extract dilution analysis. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 226, p. 45, 2007.

STEVENS, J. F.; PAGE, J. E. Xanthohumol and related prenylflavonoids from hops and beer: to your good health!. **Phytochemistry**, New York, v. 65, n. 10, p. 1317-1330, 2004.

SYSTEMBOLAGET. Ciceron - nördiga ölsamtal. *In*: JONAS, N. O. D. O. **Ciceron snackar humle**. Systembolaget, 2020.

TABATABAI, M. A.; BREMNER, J. M. Assay of urease activity in soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, NY, v. 4, n. 4, p. 479-487, 1972.

TABATABAI, M.A. Soil enzymes. In: Weaver, R.W. *et al*. **Methods of Soil Analysis**: Part 2 Microbiological and Biochemical Properties. Madison: Soil Science Society of America. 1994. p. 778-833.

TANIGUCHI, Y. *et al*. Identification and quantification of the oxidation products derived from α-acids and βacids during storage of hops (*Humulus lupulus* L.). **Journal of agricultural and food chemistry**, Easton, Pa., v. 61, n. 12, p. 3121-3130, 2013.

VAN DEN DOOL, H. KRATZ, P. D. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Journal Chromatography A**, New York, v. 11, p. 463-471, 1963.

VAN OPSTAELE, F. *et al*. Production of novel varietal hop aromas by supercritical fluid extraction of hop pellets—Part 2: Preparation of single variety floral, citrus, and spicy hop oil essences by density programmed supercritical fluid ex-traction. **The Journal of Supercritical Fluids**, Cincinnati, Ohio, v. 71, p. 147-161. 2012.

VARIETY manual. *In*: Hop Growers of America website. [Yakima, WA: Hop Growers of America], 2018. Disponível em: https://www.usahops.org/. Acesso em: 10 ago. 2021.

VERZELE, M. 100 years of hop chemistry and its relevance to brewing. **Journal of the Institute of Brewing**, London, GB, v. 92, n. 1, p. 32-48, 1986.

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

WEIHRAUCH, F.; MEIER, H. Marktanalyse Öko-Hopfen 2012 – Deutschland, Europa, Welt. **Angewandte Forschung und Beratung für den ökologischen Landbau no Bayern**, p. 164-168, 2012.

WITTKAMP, S., **Einfluss der Lagerdauer vor der Trocknung auf die Qualitätvon Flavour-Hopfen**. 2018. BSc thesis - Universität Kassel, Witzenhausen, 2018.

WOESE, K. *et al*. A comparison of organically and conventionally grown foods as results of a review of the relevant literature. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Oxford, v. 74, p. 281–293, 1997.

YAKIMA, C. **Hop Variety Hanbook**. Washington: Hopunion LLC, 2016.

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**, Amsterdam, v. 1536, p. 110– 121, 2018.

ZMRZLAK, M.; KAJFEŽ-BOGATAJ, L. Phenological modeling of growth stages of the hop (*Humulus lupulus* L.). **Biometeorology**, Ljubljana, Slovenia, v. 88, p. 1-8, 1996.