



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



Instituto de Conservación y Mejora
de la Agrodiversidad Valenciana



Tesis Doctoral

Departamento de Biotecnología

Selección y mejora de ecotipos de pimiento (*Capsicum* sp.) para agricultura sostenible y calidad nutricional y organoléptica

Presentada por:

Ana M^a Ribes Moya

Noviembre de 2020

Directores:

Adrián Rodríguez Burruezo

M^a Dolores Raigón Jiménez

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA
Programa de doctorado en Biotecnología



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA

INSTITUTO UNIVERSITARIO DE CONSERVACIÓN Y MEJORA DE LA AGRODIVERSIDAD
VALENCIANA (COMAV)



TESIS DOCTORAL

**Selección y mejora de ecotipos de pimiento (*Capsicum* sp.) para
agricultura sostenible y calidad nutricional y organoléptica**

DOCTORAL THESIS

**Selection and breeding of pepper ecotypes (*Capsicum* sp.) for
sustainable agriculture and nutritional and organoleptic quality**

Presentada por:

Ana M^a Ribes Moya

Directores:

Adrián Rodríguez Burruezo

M^a Dolores Raigón Jiménez

PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTORADO POR LA
UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

Valencia, noviembre de 2020

Gracias a mis directores de tesis Adrián y Lola, por formar parte de este trabajo. También quería mostrar mis agradecimientos a la estructura del COMAV y de la UPV, por suponer el apoyo material y económico de esta tesis.

Gracias a mi familia, por su amor, especialmente a Eva, por estar siempre, y a Sofía, mi compañera incondicional.

Gracias a mis amigxs, en especial a Laura, Cristinas, María, Nuria y Elena, en quienes tanto me he apoyado.

Gracias a mis compañerxs, por aportar luces tan diferentes al espacio de trabajo, en especial a Estela y Loles, por enseñarme y acogerme en cuanto llegué.

Gracias a mis compañeras de piso, por haber hecho de mi lugar de trabajo un hogar, especialmente en los meses más difíciles de la pandemia.

Gracias también a la gente que se ha cruzado en mi trayectoria durante esta etapa de mi vida y con la que he aprendido grandes cosas.

En definitiva, gracias a todxs los que me han ayudado a tener presente lo verdaderamente importante.

Resumen

La actual problemática medioambiental está demandando sistemas de producción más sostenibles, con menos residuos y más respetuosos con los ecosistemas. Las prácticas agrícolas convencionales tienen un alto impacto en la composición biológica, bioquímica y en la fertilidad de los suelos. Además, el uso de algunos productos fitosanitarios tiene un alto impacto en la fauna de los ecosistemas y conlleva posibles riesgos para la salud humana. Por estos motivos, los hábitos de consumo han evolucionado hacia una mayor demanda de productos provenientes de sistemas de producción alternativos como los de la agricultura ecológica. En este sentido, las variedades tradicionales o ecotipos son materiales altamente interesantes para este tipo de sistemas de producción al tratarse de material vegetal adaptado a condiciones locales específicas (normalmente de bajos insumos), con rasgos de calidad característicos como, por ejemplo, caracteres de calidad organoléptica, que aportan un valor añadido extra. Asimismo, se trata de germoplasma con una amplia variabilidad genética, lo que supone una interesante fuente de recursos genéticos para potenciales programas de mejora, concretamente para la adaptación a la producción ecológica. El cultivo del pimiento (*Capsicum* sp.) resulta de especial interés en estos programas, además de por la importancia económica de esta hortaliza, por el gran número de tipos varietales y ecotipos originarios de diferentes centros de diversidad secundarios. Además, a los frutos de pimiento se le atribuyen elevadas propiedades nutricionales, gracias a su alto contenido en compuestos antioxidantes y una alta variedad de características organolépticas, lo cual diversifica y potencia sus usos culinarios.

En la presente tesis se ha estudiado la calidad nutricional y organoléptica del cultivo del pimiento (*Capsicum* sp.) en los dos estados de madurez comercial (verde y maduro) y bajo diferentes prácticas culturales (sistemas ecológico y convencional). Así, se han analizado los principales compuestos nutricionales de los frutos de pimiento: el ácido ascórbico, los compuestos fenólicos y los carotenoides; así como la composición de la fracción volátil de los frutos, y se ha estudiado su variación en una amplia colección varietal, que incluye ecotipos procedentes de Denominaciones de Origen Protegidas (DOPs) e Indicaciones Geográficas Protegidas (IGPs), según el estado de madurez, el sistema de cultivo y sus interacciones. Adicionalmente, también se ha estudiado la fertilidad biológica del suelo a través de las actividades enzimáticas de la fosfatasa

alcalina y la catalasa en interacción con el cultivo del pimiento bajo los sistemas de cultivo convencional y ecológico.

El estudio de la calidad nutricional (contenido en ácido ascórbico, carotenoides, fenoles totales y flavonoides individuales) mostró amplios rangos de variación según el factor genotipo, aunque el estado de maduración y el sistema de cultivo también contribuyeron a las diferencias observadas. En el estudio de flavonoides individuales, la luteolina tuvo la mayor contribución al total de flavonoides en pimiento para ambos estados de maduración, salvo alguna excepción, seguida de la quercetina y la miricetina, y en menor medida por la apigenina y el kenferol. Se detectaron correlaciones entre los flavonoides en ambos estados de maduración, especialmente entre los principales flavonoides, luteolina y quercetina, y entre la quercetina y el kenferol, lo cual permitiría selecciones positivas indirectas. En general, los frutos maduros presentaron niveles superiores de compuestos bioactivos, especialmente para el ácido ascórbico. Asimismo, el cultivo ecológico proporcionó, en general, niveles más altos de ácido ascórbico y compuestos fenólicos en el estado maduro. La notable interacción genotipo \times sistema de cultivo para el contenido en ácido ascórbico y fenoles totales, y en menor intensidad para el contenido en flavonoides individuales, permitió la selección de varias accesiones con alto rendimiento en estos compuestos, bajo condiciones de cultivo ecológico en ambos estados de maduración. Por el contrario, los efectos del sistema de cultivo y la interacción genotipo \times sistema de cultivo no resultaron significativos en los niveles de carotenoides, cuya variación se debió principalmente al factor genotipo.

El estudio de la composición volátil permitió encontrar amplias diferencias cuantitativas y cualitativas para este factor de calidad organoléptica en los frutos de pimiento, dependiendo principalmente del factor genético y del estado de maduración, mientras que el sistema de cultivo afectó en menor medida y significativamente a algunos compuestos volátiles individuales. Se encontraron un total de 124 y 122 volátiles en el estado inmaduro y maduro, respectivamente. Según la contribución general de cada grupo químico, en *C. annuum* destacaron los monoterpenos (aromas herbales) en el estado inmaduro y los alcanos y sesquiterpenos (aromas céreos, a madera y dulces) en el estado maduro. En *C. baccatum*, destacaron los productos de escisión lipoxigenasa en ambos estados de maduración (mezcla de fragancias grasas/herbales/afrutadas) y el grupo de los ésteres en las especies *C. chinense* y *C. frutescens* (aromas frutales y dulces). Los cambios en el perfil volátil con la maduración

fueron evidentes y muy diversos según el genotipo, sin embargo, la tendencia general fue la reducción de los monoterpenos y monoterpénoides, de aromas herbales y verdes característicos, y el incremento relativo de otros grupos químicos con combinaciones variadas de aromas frutales/florales/dulces/madera/cerosos. En general, el sistema de cultivo ecológico favoreció la acumulación de compuestos volátiles en ambos estados de maduración y durante el proceso de maduración.

Las actividades enzimáticas fosfatasa alcalina y catalasa aumentaron durante la fase de cultivo, con actividades máximas generales en la fase intermedia, especialmente para la fosfatasa alcalina. El sistema de cultivo tuvo una mayor contribución a la variación, resultando significativo y superior para el sistema convencional en fase intermedia para ambas actividades y estando generalmente seguido del factor genotipo, significativo para la fosfatasa alcalina en fase intermedia. Se observaron diferencias entre genotipos en cada fase y sistema de cultivo. La interacción genotipo \times sistema de cultivo permitiría seleccionar variedades, con capacidad para que los suelos acumularan mayores valores de las actividades enzimáticas fosfatasa alcalina y catalasa, en el sistema de cultivo ecológico.

En definitiva, los resultados de este trabajo proporcionarán información de especial utilidad para programas de investigación en hortalizas de alto valor añadido y programas de mejora de la calidad en agricultura ecológica, así como para el control de autenticidad de variedades tradicionales.

Abstract

The current environmental problem is demanding more sustainable production systems, with less waste and more respectful with the ecosystems. Conventional agricultural practices have a high impact on the biological and biochemical composition and on the fertility of soils. Furthermore, the use of some phytosanitary products has a high impact on the fauna of the ecosystems and carries possible risks to human health. For these reasons, consumption habits have evolved towards a greater demand for products from alternative production systems such as organic farming. In this sense, traditional varieties or ecotypes are highly interesting materials for this type of production systems as they are plant material adapted to specific local conditions (usually low-input), with characteristic quality traits such as, for example, organoleptic traits, which provide extra added value. Likewise, it is germplasm with a wide genetic variability, which is an interesting source of genetic resources for potential improvement programs, specifically for adaptation to organic production. The cultivation of pepper (*Capsicum* sp.) is of special interest in these programs, in addition to the economic importance of this vegetable, due to the large number of varietal types and ecotypes originating from different secondary centres of diversity. In addition, pepper fruits are attributed high nutritional properties, thanks to their high content of antioxidant compounds and a wide variety of organoleptic characteristics, which diversifies and enhances their culinary uses.

In this thesis, the nutritional and organoleptic quality of the pepper crop (*Capsicum* sp.) has been studied in the two ripening stages (unripe and fully ripe) and under different cultural practices (organic and conventional systems). Thus, the main nutritional compounds of pepper fruits have been analysed: ascorbic acid, phenolic compounds and carotenoids; as well as the composition of the volatile fraction of the fruits, and its variation has been studied in a wide varietal collection, which includes ecotypes from Protected Denominations of Origin (PDOs) and Protected Geographical Indications (PGIs), according to the ripening stage, the growing system and its interactions. Additionally, the biological fertility of the soil has also been studied through the enzymatic activities of alkaline phosphatase and catalase in interaction with the cultivation of peppers under conventional and organic growing systems.

The study of nutritional quality (content of ascorbic acid, carotenoids, total phenolics and individual flavonoids) showed wide ranges of variation according to the genotype factor, although the ripening stage and the growing system also contributed to the differences observed. In the study of individual flavonoids, luteolin had the highest contribution to the total flavonoids in pepper for both ripening stages, with some exceptions, followed by quercetin and myricetin, and to a lesser extent by apigenin and kenferol. Correlations were detected between flavonoids at both ripening stages, especially between the main flavonoids, luteolin and quercetin, and between quercetin and kenferol, which would allow indirect positive selections. In general, fully ripe fruits presented higher levels of bioactive compounds, especially for ascorbic acid. Also, organic farming provided, in general, higher levels of ascorbic acid and phenolic compounds at the fully ripe stage. The remarkable genotype \times growing system interaction for the content of ascorbic acid and total phenolics, and to a lesser extent for the content of individual flavonoids, allowed the selection of several accessions with high yields in these compounds, under organic cultivation conditions at both ripening stages. On the contrary, the effects of the growing system and the genotype \times growing system interaction were not significant in carotenoid levels, whose variation was mainly due to the genotype factor.

The study of the volatile composition allowed to find wide quantitative and qualitative differences for this organoleptic quality factor in pepper fruits, depending mainly on the genetic factor and the ripening stage, while the growing system affected to a lesser extent and significantly some individual volatile compounds. A total of 124 and 122 volatiles were found at the unripe and the fully ripe stages, respectively. According to the general contribution of each chemical group, in *C. annuum* the monoterpenes (herbal aromas) at the unripe state and the alkanes and sesquiterpenes (waxy, woody and sweet aromas) at the fully ripe stage, stood out. In *C. baccatum*, the lipoxygenase cleavage products stood out at both ripening stages (mixture of fatty/herbal/fruity fragrances) and the group of esters in the species *C. chinense* and *C. frutescens* (fruity and sweet aromas). The changes in the volatile profile with ripening process were evident and very diverse according to the genotype, however, the general trend was the reduction of monoterpenes and monoterpenoids, of characteristic herbal and green aromas, and the relative increase of other chemical groups with combinations of fruity/floral/sweet/woody/waxy aromas. In general, the organic farming system

favoured the accumulation of volatile compounds at both ripening stages and during the ripening process.

Alkaline phosphatase and catalase enzymatic activities increased during the growing phase, with average maximum activities in the intermediate phase, especially for alkaline phosphatase. The growing system had a greater contribution to variation, being significant and superior for the conventional system in the intermediate phase for both activities and being generally followed by the genotype factor, significant for alkaline phosphatase in the intermediate phase. Differences between genotypes were observed in each phase and growing system. The genotype \times growing system interaction would allow the selection of varieties, which influence soils to accumulate higher values of the enzymatic activities alkaline phosphatase and catalase, in the organic growing system.

In conclusion, the results of this work will provide information of special use for research programs in vegetables with high added value and quality breeding programs in organic farming, as well as for the authenticity control of traditional varieties.

Resum

L'actual problemàtica mediambiental està demandant sistemes de producció més sostenibles, amb menys residus i més respectuosos amb els ecosistemes. Les pràctiques agrícoles convencionals tenen un alt impacte en la composició biològica, bioquímica i en la fertilitat dels sòls. A més, l'ús d'alguns productes fitosanitaris té un alt impacte en la fauna dels ecosistemes i comporta possibles riscos per a la salut humana. Per aquests motius, els hàbits de consum han evolucionat cap a una major demanda de productes provinents de sistemes de producció alternatius com els de l'agricultura ecològica. En aquest sentit, les varietats tradicionals o ecotips són materials altament interessants per a aquest tipus de sistemes de producció al tractar de material vegetal adaptat a condicions locals específiques (normalment de baixos inputs), amb trets de qualitat característics com, per exemple, caràcters de qualitat organolèptica, que aporten un valor afegit extra. Així mateix, es tracta de germoplasma amb una àmplia variabilitat genètica, el que suposa una interessant font de recursos genètics per a potencials programes de millora, concretament per a l'adaptació a la producció ecològica. El cultiu del pebrot (*Capsicum* sp.) resulta d'especial interès en aquests programes, a més de per la importància econòmica d'aquesta hortalissa, pel gran nombre de tipus varietals i ecotips originaris de diferents centres de diversitat secundaris. A més, als fruits de pebrot se li atribueixen elevades propietats nutricionals, gràcies al seu alt contingut en compostos antioxidants i una alta varietat de característiques organolèptiques, la qual cosa diversifica i potencia els seus usos culinaris.

En la present tesi s'ha estudiat la qualitat nutricional i organolèptica del cultiu del pebrot (*Capsicum* sp.) en els dos estats de maduresa comercial (verd i madur) i sota diferents pràctiques culturals (sistemes ecològic i convencional). Així, s'han analitzat els principals compostos nutricionals dels fruits de pebrot: l'àcid ascòrbic, els compostos fenòlics i els carotenoides; així com la composició de la fracció volàtil dels fruits, i s'ha estudiat la seva variació en una àmplia col·lecció varietal, que inclou ecotipus procedents de Denominacions d'Origen Protegides (DOPS) i Indicacions Geogràfiques Protegides (IGP), segons l'estat de maduresa, el sistema de cultiu i les seves interaccions. Addicionalment, també s'ha estudiat la fertilitat biològica del sòl a través

de les activitats enzimàtiques de la fosfatasa alcalina i la catalasa en interacció amb el cultiu del pebrot sota els sistemes de cultiu convencional i ecològic.

L'estudi de la qualitat nutricional (contingut en àcid ascòrbic, carotenoides, fenols totals i flavonoides individuals) va mostrar amplis rangs de variació segons el factor genotip, encara que l'estat de maduració i el sistema de cultiu també van contribuir a les diferències observades. En l'estudi de flavonoides individuals, la luteolina va tenir la major contribució al total de flavonoides en pebrot per a tots dos estats de maduració, tret d'alguna excepció, seguida de la quercetina i la miricetina, i en menor mesura per l'apigenina i el kenferol. Es van detectar correlacions entre els flavonoides en els dos estats de maduració, especialment entre els principals flavonoides, luteolina i quercetina, i entre la quercetina i el kenferol, la qual cosa permetria seleccions positives indirectes. En general, els fruits madurs van presentar nivells superiors de compostos bioactius, especialment per a l'àcid ascòrbic. Així mateix, el cultiu ecològic va proporcionar, en general, nivells més alts d'àcid ascòrbic i compostos fenòlics en l'estat madur. La notable interacció genotip \times sistema de cultiu per al contingut en àcid ascòrbic i fenols totals, i en menor intensitat per al contingut en flavonoides individuals, va permetre la selecció de diverses accessions amb alt rendiment en aquests compostos, sota condicions de cultiu ecològic en els dos estats de maduració. Per contra, els efectes de el sistema de cultiu i la interacció genotip \times sistema de cultiu no van resultar significatius en els nivells de carotenoides, la variació es va deure principalment al factor genotip.

L'estudi de la composició volàtil va permetre trobar àmplies diferències quantitatives i qualitatives per aquest factor de qualitat organolèptica en els fruits de pebrot, depenent principalment del factor genètic i de l'estat de maduració, mentre que el sistema de cultiu va afectar en menor mesura i significativament a alguns compostos volàtils individuals. Es van trobar un total de 124 i 122 volàtils en l'estat immadur i madur, respectivament. Segons la contribució general de cada grup químic, en *C. annuum* van destacar els monoterpens (aromes herbals) en l'estat immadur i els alcans i sesquiterpens (aromes ceris, a fusta i dolços) en l'estat madur. En *C. baccatum*, van destacar els productes d'escissió lipoxigenasa en els dos estats de maduració (barreja de fragàncies greixos/herbals / afruitades) i el grup dels èsters en les espècies *C. chinense* i *C. frutescens* (aromes de fruites i dolços). Els canvis en el perfil volàtil amb la maduració van ser evidents i molt diversos segons el genotip, però, la tendència general va ser la

reducció dels monoterpens i monoterpènoïdes, d'aromes herbals i verds característics, i l'increment relatiu d'altres grups químics amb combinacions variades d'aromes fruiters/florals/dolços/fusta/cerosos. En general, el sistema de cultiu ecològic va afavorir l'acumulació de compostos volàtils en els dos estats de maduració i durant el procés de maduració.

Les activitats enzimàtiques fosfatasa alcalina i catalasa van augmentar durant la fase de cultiu, amb activitats màximes generals en la fase intermèdia, especialment per a la fosfatasa alcalina. El sistema de cultiu va tenir una major contribució a la variació, resultant significatiu i superior per al sistema convencional en fase intermèdia per a ambdues activitats i estant generalment seguit del factor genotip, significatiu per a la fosfatasa alcalina en fase intermèdia. Es van observar diferències entre genotips en cada fase i sistema de cultiu. La interacció genotip \times sistema de cultiu permetria seleccionar varietats, amb capacitat perquè els sòls acumuleixin grans valors de les activitats enzimàtiques fosfatasa alcalina i catalasa, en el sistema de cultiu ecològic.

En definitiva, els resultats d'aquest treball proporcionaran informació d'especial utilitat per a programes d'investigació en hortalisses d'alt valor afegit i programes de millora de la qualitat en agricultura ecològica, així com per al control d'autenticitat de varietats tradicionals.

Índice

Introducción	1
1. Importancia económica del pimiento.....	3
2. Taxonomía, domesticación y difusión.....	6
2.1 Taxonomía.....	6
2.2 Origen, domesticación y difusión de pimientos y otros frutos Capsicum.....	13
3. Botánica, requerimientos, manejo del cultivo y fertilidad.....	15
3.1 Botánica.....	15
3.2 Exigencias agroclimáticas	17
3.3 Manejo del cultivo.....	18
3.4 Importancia de la fertilidad del suelo para el cultivo del pimiento: medida indirecta a través de la actividad enzimática	20
4. Caracteres de interés en la mejora del pimiento: calidad nutricional y organoléptica	22
4.1 Calidad nutricional y compuestos bioactivos.....	22
4.2 Calidad organoléptica.....	28
5. Las variedades tradicionales: importancia y aprovechamiento	30
5.1 Importancia y aprovechamiento	30
5.2 Principales variedades locales de pimiento y diversidad de usos	31
6. El cultivo ecológico	35
6.1 Generalidades de la agricultura ecológica.....	35
6.2 Reglamento y etiquetado de la agricultura ecológica.....	39
6.3 Tendencias de consumo y producción ecológica	41
6.4 Influencia del sistema de producción ecológica en la calidad.....	43

6.5 Influencia del sistema de producción ecológica en la calidad del pimiento	46
Objetivos.....	47
Resultados	53
CAPÍTULO 1: CALIDAD NUTRICIONAL EN EL CULTIVO DE PIMIENTO BAJO CONDICIONES DE CULTIVO ECOLÓGICO	55
Response to organic cultivation of heirloom <i>Capsicum</i> peppers: variation in the level of bioactive compounds and effect of ripening.....	57
Variation of flavonoids in a collection of peppers (<i>Capsicum</i> sp.) under organic and conventional cultivation: effect of the genotype, ripening stage and growing system	99
CAPÍTULO 2: CALIDAD ORGANOLÉPTICA EN EL CULTIVO DE PIMIENTO BAJO CONDICIONES DE CULTIVO ECOLÓGICO	143
Effect of organic farming and fruit ripening in the volatile composition of <i>Capsicum</i> peppers analysed by headspace/solid phase micro-extraction.....	145
CAPÍTULO 3: ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA EN EL CULTIVO DE PIMIENTO BAJO CONDICIONES DE CULTIVO ECOLÓGICO	207
Estudio preliminar de la actividad enzimática fosfatasa alcalina y catalasa en cultivos ecológico y convencional de ecotipos de pimiento (<i>Capsicum</i> sp.)	209
Discusión general.....	231
1. Análisis estadístico para parámetros de calidad nutricional, calidad organoléptica y fertilidad biológica del suelo.	233
2. Contenido en compuestos nutricionales y perfil volátil según el genotipo, el sistema de cultivo y el estado de maduración.	235
2.1 Contenido en ácido ascórbico (CAA), fenoles totales (FT), flavonoides individuales y carotenoides totales (CT _A y CT _R).....	235
2.2 Efecto del sistema de cultivo y su interacción con el genotipo para los caracteres de calidad nutricional	237

2.3 Estudio del perfil de compuestos volátiles	239
3. Influencia del proceso de maduración en el contenido en compuestos nutricionales y perfil volátil de los frutos de pimiento y su interacción con el cultivo ecológico.	241
4. Evolución de la actividad enzimática durante el ciclo de cultivo e interacción con el genotipo y el sistema de cultivo.	243
5. Potenciales selecciones de materiales para el cultivo ecológico según la calidad nutricional y organoléptica y genotipos destacados según su interacción con la actividad enzimática.	244
Conclusiones.....	247
Anexos.....	253
Material vegetal general	255
Referencias generales	259

Introducción

1. IMPORTANCIA ECONÓMICA DEL PIMIENTO

El cultivo y uso de frutos de las especies del género *Capsicum*, generalmente conocidos como pimientos, chiles o ajíes, originarios de América y pertenecientes a la familia de las solanáceas, ha tenido una gran difusión a nivel mundial, adquiriendo una importancia económica notable con casi dos millones de hectáreas cultivadas (Tabla 1) [1]. El éxito de su cultivo se debe principalmente a la versatilidad de sus usos y a las propiedades nutricionales y organolépticas que se le atribuyen. El principal uso es el culinario, consumiéndose sus frutos en fresco, deshidratados o procesados, como hortaliza, especia, colorante y como conservante. La diversidad de formas y colores de sus frutos también hace que tenga un uso ornamental. Asimismo, en diferentes culturas se utiliza con fines medicinales gracias a sus propiedades como estimulante digestivo, antiparasitario, astringente, cicatrizante, y rubefaciente energético. También es utilizado en la industria farmacológica y en la elaboración de cosméticos [2–5].

Tabla 1. Área cultivada en hectáreas y producción en miles de toneladas a nivel mundial de las principales hortalizas en 2018 [1].

Hortaliza	Área cultivada (ha)	Producción (10 ³ t)
Remolacha	4'821'573	275'486
Tomate	4'762'129	182'258
Sandía	3'243'758	103'975
Guisante verde	2'744'094	21'227
Coles	2'412'167	69'382
Calabaza	2'044'055	27'655
Pimiento en fresco	1'990'423	36'771
Pepino	1'984'518	75'219
Berenjena	1'864'556	54'077
Judía verde	1'567'394	24'753

Asia es el continente con mayor extensión de terreno dedicada al cultivo de pimiento, con más de la mitad de la superficie total [1]. Además, también es el principal productor, alcanzando casi el 70% de la producción mundial (Tabla 2). El segundo continente en cuanto a superficie cultivada es África, con un 16% de la superficie total, siendo el tercero en producción mundial, con cerca del 10% del total. Paradójicamente,

América (origen de estas especies) abarca un 12% de la superficie mundial, si bien es el segundo productor, con un 14% de la producción total (Tabla 2). El continente europeo ocupa el cuarto lugar tanto en superficie cultivada como en producción, con un 5% y un 9% del total mundial, respectivamente, por delante de Oceanía (Tabla 2). La producción en seco está más concentrada, siendo Asia nuevamente el primer continente tanto en superficie cultivada como en producción, con un 70% para ambos, seguido del continente africano, con un 20% de superficie y producción (Tabla 2).

En cuanto a la producción por países, China es el principal productor en fresco con casi la mitad de la producción mundial, lo que supone más de 18 millones de toneladas. A un segundo nivel, se encuentran México (9%), Turquía e Indonesia (7%) y España en quinto lugar como productor mundial, con un 3.5% de la producción mundial (Figura 1). Respecto a la producción en seco, ésta se centra fundamentalmente en países del lejano oriente, destacando la India y China, seguidos de Etiopía (Figura 1).

Tabla 2. Área cultivada (hectáreas), producción (toneladas) y rendimiento (toneladas por hectárea) de pimiento fresco y seco, en los diferentes continentes y su porcentaje respecto al mundial (% total) en 2018 [1].

Continente	Área cultivada (ha)		Producción (t)		Rendimiento (t·ha ⁻¹)	
	% total		% total		fresco	seco
	fresco	seco	fresco	seco	fresco	seco
Asia	1'326'527 66.6	1'310'183 73.8	24'991'347 68.0	3'019'423 72.5	18.8	2.3
África	311'757 15.7	356'355 20.1	3'478'095 9.5	921'963 22.1	11.2	2.6
América	243'025 12.2	40'151 2.3	5'029'394 13.7	106'965 2.6	20.7	2.7
Europa	106'904 5.4	69'643 3.9	3'219'399 8.8	116'238 2.8	30.1	1.7
Oceanía	2'210 0.1	2 1·10 ⁻⁴	53'247 0.1	4 9.6·10 ⁻⁵	24.1	2.0
Mundial	1'990'423	1'776'334	36'771'482	4'164'594	-	-

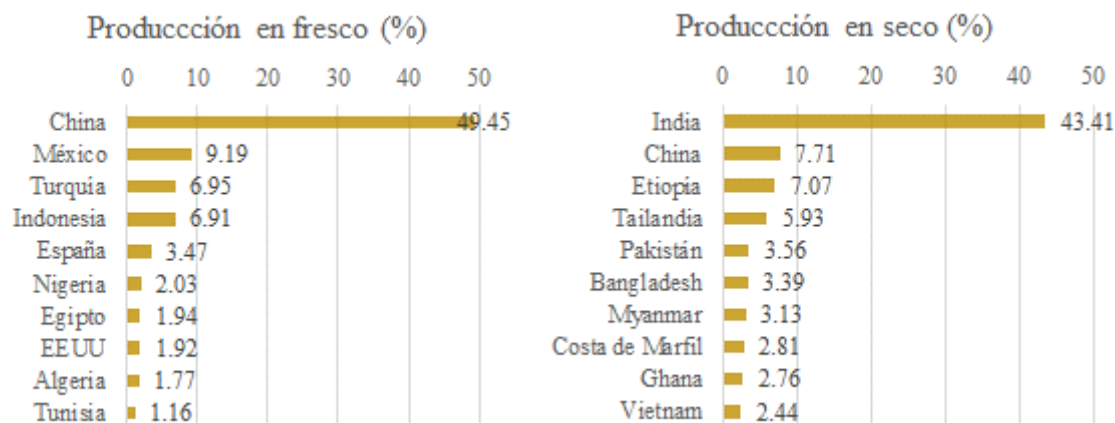


Figura 1. Producción de pimienta en fresco y en seco (% del total mundial) de los principales productores en 2018 [1].

A nivel nacional, en 2018 se cultivaron unas 20'580 hectáreas de pimienta fresca en España, con una producción de 1.3 millones de toneladas [1]. A nivel de Comunidades Autónomas, la mayor productora fue Andalucía, con unas 795'000 toneladas en 2017, seguida de Murcia, Galicia, Castilla la Mancha y la Comunidad Valenciana (Tabla 3). Con un 3.5% de la producción mundial, España es el principal productor de Europa y, por extensión, de la UE. Esto se debe, principalmente a las condiciones agroclimáticas características que favorecen la producción, especialmente en el período invernal, donde las regiones de Almería, Murcia, Alicante y Canarias se conocen como la “huerta de invierno de Europa” [3]. Además, en 2017 exportó unas 717'000 toneladas, resultando el segundo país exportador a nivel mundial para este cultivo, después de México [1]. Todo ello refleja la extraordinaria importancia económica que el pimienta tiene para el sector hortícola español, un cultivo del que dependen muchos agricultores, cooperativas, empleados de plantas de procesado y sus familias.

Tabla 3. Análisis provincial en España de superficie (en hectáreas), rendimiento (en kilogramo por hectárea) y producción (en toneladas) en 2017 [6].

Provincias y Comunidades Autónomas	Superficie (ha)				Rendimiento (kg·ha ⁻¹)			Producción (t)
	Secano	Regadío		Total	Secano	Regadío		
		Aire libre	Protegido			Aire libre	Protegido	
Andalucía	15	1'557	10'879	12'451	6'033	38'262	67'624	795'335
R. de Murcia	–	268	1'257	1'525	–	58'000	128'000	176'440
Galicia	–	557	640	1'197	–	57'228	63'555	72'551
Castilla la Mancha	2	1'076	–	1'078	8'000	38'113	–	62'540
C. Valenciana	–	459	388	847	–	38'369	108'696	59'786
Navarra	–	1'090	27	1'117	–	30'345	35'000	34'021
Extremadura	–	674	12	686	–	40'854	254'084	30'584
Canarias	3	59	182	244	10'000	41'949	80'027	17'030
Cataluña	3	210	52	265	7'060	22'273	44'277	7'000
La Rioja	–	179	3	182	–	31'000	42'000	5'675
País vasco	93	128	47	268	8'425	15'713	32'170	4'307
Aragón	–	172	3	175	–	17'326	47'000	3'121
Castilla y León	–	118	3	121	–	20'534	28'500	2'509
Baleares	–	65	31	96	–	20'870	37'000	2'504
P. de Asturias	42	10	–	52	7'900	14'600	–	478
Madrid	–	11	1	12	–	27'000	50'000	347
Cantabria	3	–	–	3	12'000	–	–	36
España	161	6'633	13'525	20'319	8'130	37'410	74'185	1'274'264

2. TAXONOMÍA, DOMESTICACIÓN Y DIFUSIÓN

2.1 Taxonomía

Las especies del género *Capsicum* pertenecen a la familia tropical *Solanaceae*, de la que son miembros otros cultivos importantes como el tomate, la patata, el tabaco y la planta ornamental petunia. Los frutos *Capsicum* son llamados de formas muy diversas, dependiendo de la especie, el cultivar o la zona. En España son conocidos por los términos pimientos, chiles, ajíes o ajís, guindillas, tabasco, etc. [7].

La gran variabilidad de formas existentes en las especies cultivadas y la diversidad de criterios utilizados en la clasificación, han convertido la taxonomía dentro del género *Capsicum* en un asunto históricamente complejo. En los primeros trabajos del botánico

Armando Hunziker en 1956, se consideraba que el género estaba dividido en tres secciones, *Tubocapsicum* y *Pseudoacnistus*, con una sola especie cada una (*C. anomalum* y *C. brevifolium*, respectivamente) y la tercera sección, homónima al género *Capsicum*, que incluía 24 especies [8]. La falta de una taxonomía estable y de consenso sobre la nomenclatura de las especies domesticadas motivaron una reunión de expertos sobre recursos genéticos de *Capsicum* en 1980, convocada por el *International Board for Plant Genetic Resources* (IBPGR). Desde entonces la clasificación ha estado bajo revisión continua de manera que en la actualidad el género *Capsicum* incluye al menos 37 especies silvestres y 5 especies cultivadas (Tabla 4) [9].

Capsicum annuum

Es la especie más importante y representada a nivel global y con mayor diversidad varietal, siendo *C. annuum* var. *annuum* la predominante en España y Europa (Figura 2) [10]. Las flores son solitarias en cada nudo, aunque ocasionalmente fasciculadas; de corola blanca lechosa (a veces púrpura) y pétalos rectos (Figura 2). En el cáliz de los frutos maduros no existe constricción anular en la unión con el pedicelo (a veces rugoso), y cuenta con venas que se prolongan a menudo en dientes cortos. La carne del fruto suele ser firme, con semillas color crema. El número cromosómico es $2n = 24$, con dos pares de cromosomas acrocéntricos.

Normalmente se clasifican según las características del fruto, como la pungencia, el color, la forma, el sabor, el tamaño y el uso. Una clasificación principal sería la tipificación según frutos picantes o no picantes, también conocidos como dulces, aunque hay tipos con cultivares tanto picantes como dulces (ej. Yellow Wax y Cherry) [7]. Dentro del grupo de los dulces están los de tipo *bell* o morrón, como el “California Wonder” y Lamuyo, también otros tipos como el “Pepperoncini”, y dentro de los picantes o semipicantes los Jalapeños, los Serranos, el chile Cayena, chile de Árbol, las guindillas, el Pimiento de Padrón, Ancho/Mulato, Pasilla, Mirasol, etc. *C. annuum* var. *glabriusculum* se encuentra normalmente como forma silvestre, también conocido como “bird pepper”, con frutos de pequeño tamaño de 2 cm de largo y 1 cm de ancho. En México estos chiles silvestres se conocen como tipo Chiltepín, con frutos de forma redonda y tipo Piquín, con forma ovalada [7].

Tabla 4. Listado de especies y variedades botánicas del género *Capsicum*. [9].

Especie ¹
<i>C. annuum</i> L.
<i>C. annuum</i> var. <i>annuum</i> L.
<i>C. annuum</i> var. <i>glabriusculum</i> (Dunal) Heiser & Pickersgill
<i>C. baccatum</i> L.
<i>C. baccatum</i> var. <i>baccatum</i> L.
<i>C. baccatum</i> var. <i>pendulum</i> (Willd.) Eshbaugh
<i>C. baccatum</i> var. <i>praetermissum</i> (Heiser & P. G. Sm.) Hunz.
<i>C. baccatum</i> var. <i>umbilicatum</i> (Vell.) Hunz. & Barboza
<i>C. benoistii</i> Hunz. Ex Barboza
<i>C. buforum</i> Hunz
<i>C. caatingae</i> Barboza & Agra
<i>C. caballeroi</i> M. Nee
<i>C. campylopodium</i> Sendtn.
<i>C. cardenasii</i> Heiser & P. G. Sm.
<i>C. ceratocalyx</i> M. Nee
<i>C. chacoense</i> Hunz.
<i>C. chinense</i> Jacq.
<i>C. coccineum</i> (Rusby) Hunz.
<i>C. cornutum</i> (Hiern) Hunz.
<i>C. dimorphum</i> (Miers) Kuntze
<i>C. dusenii</i> Bitter
<i>C. eshbaughii</i> Barboza
<i>C. eximium</i> Hunz.
<i>C. flexuosum</i> Sendtn.
<i>C. friburgense</i> Bianchetii & Barboza
<i>C. frutescens</i> L.
<i>C. galapagoense</i> Hunz.
<i>C. geminifolium</i> (Dammer) Hunz.
<i>C. hookerianum</i> (Miers) Kuntze
<i>C. hunzikerianum</i> Barboza & Bianchetti
<i>C. lanceolatum</i> (Greenm.) C. V. Morton & Standl.
<i>C. leptopodium</i> (Dunal) Kuntze
<i>C. longidentatum</i> Agra & Barboza
<i>C. longifolium</i> Barboza & S. Leiva
<i>C. lycianthoides</i> Bitter
<i>C. minutiflorum</i> (Rusby) Hunz.
<i>C. mirabile</i> Mart. Ex Sendtn.
<i>C. mositicum</i> Toledo
<i>C. neei</i> Barboza & X. Reyes
<i>C. parvifolium</i> Sendtn.
<i>C. pereirae</i> Barboza & Bianchetii
<i>C. piuranum</i> Barboza & S. Leiva
<i>C. pubescens</i> Ruiz & Pav.
<i>C. rhomboideum</i> (Dunal) Kuntze
<i>C. schottianum</i> Sendtn.
<i>C. scolnikianum</i> Hunz.
<i>C. tovarii</i> Eshbaugh et al.
<i>C. villosum</i> Sendtn
<i>C. villosum</i> var. <i>muticum</i> Sendtn.
<i>C. villosum</i> var. <i>villosum</i>

¹ formatos en **negrita** indican las especies/variedades cultivadas.



Figura 2. Flor típica de la especie *C. annuum* [11] y variabilidad para forma y color de fruto dentro de esta especie [12].

Capsicum chinense

En Latinoamérica el cultivo de esta especie está muy extendido, conocida por los chiles de tipo Habanero. Tiene dos o más flores por nudo (en ocasiones solitarias). La corola es blanca-verdosa (a veces púrpura) y pétalos rectos (Figura 3). En esta especie se encuentra que el cáliz de los frutos maduros suele presentar una constricción anular en la unión con el pedicelo. La carne del fruto es firme y las semillas color crema. El número cromosómico es $2n = 24$, con un par de cromosomas acrocéntricos [13].

La diversidad en la forma de los frutos es tan amplia como en *C. annuum*, y pueden llegar a ser muy aromáticos, extremadamente picantes y de pungencia persistente. La cuenca Amazónica es la zona que concentra mayor diversidad de tipos, además, *C. chinense* es de las especies más comunes cultivadas en el Caribe. Los tipos más comunes son el Habanero y “Scotch Bonnet” (Figura 3). El Habanero tiene forma de farolillo, con 6 cm de largo y 2.5 de ancho, naranja, amarillo, blanco o rojo en la maduración y muy picante. El “Scotch Bonnet” con forma de boina, está muy extendido en Jamaica, con tamaño y pungencia similares a las del Habanero, madura a amarillo, blanco, rojo o naranja, y en raras ocasiones a color chocolate. Ambos se utilizan en fresco para salsas, incorporados directamente a platos cocinados o fermentados para elaborar salsas picantes [7]. Otro cultivar popular es el “Carolina Reaper”, el cual desde 2013 está considerado como el más picante del mundo, con un máximo de 2.2 millones de unidades Scoville (Figura 3) [14].



Figura 3. Flor y frutos de la especie *C. chinense* [15]. Cultivares de izquierda a derecha: Habanero (CC0), “Scotch Bonnet” [16] y “Carolina Reaper” [17].

Capsicum frutescens

Tiene especial importancia en los mercados asiático y latinoamericano, sobre todo procesado como “Tabasco” [18]. Las flores también son solitarias en cada nudo (en ocasiones fasciculadas), de pedicelos erectos en la antesis pero flores tumbadas. La colora es blanca-verdosa y el cáliz de los frutos maduros tampoco tiene constricción anular en la unión con el pedicelo (a menudo rugoso) (Figura 4). La carne del fruto suele ser blanda y con semillas color crema. El número cromosómico es igual que los anteriores, con un par de cromosomas acrocéntricos.

Aunque no tiene tanto cultivares como *C. annuum* o *C. chinense*, la mayoría de los pimientos referidos como “bird peppers” en África y Asia pertenecen a la especie *C. frutescens*. El Tabasco es de los cultivares más comunes, con un fruto de 2.5 a 5 cm de largo y 0.5 cm de ancho, de color amarillento o amarillo-verdoso en inmaduro y rojo en la maduración. Los frutos tienen una pungencia elevada y los maduros rojos son utilizados para la elaboración de la salsa Tabasco®. El cultivar Malagueta también es importante, especialmente en Brasil, conocido en África como “Zimbabwe Bird”, así como el cultivar híbrido interespecífico con *C. chinense* “Naga Jolokia” (también “Bhut Jolokia” o “Ghost Pepper”) que llegó a ser durante unos años el más picante a nivel mundial [7,19].



Figura 4. Flor típica de la especie *C. frutescens* [20]. A la derecha, frutos erectos del cultivar Tabasco [21] y frutos del cultivar híbrido “Naga Jolokia” [22].

Capsicum baccatum

Es de las especies cultivadas más comunes en América del Sur, comúnmente conocida como ají. La variedad *C. baccatum* var. *pendulum* es la empleada para consumo mientras que *C. baccatum* var. *umbilicatum* tiene importancia a nivel ornamental. Las flores de esta especie son solitarias en cada nudo, de corola blanca-verdosa, con manchas difusas amarillas, marrones o verde oscuras en la base de los pétalos, éstos ligeramente revolutos (Figura 5). El cáliz de los frutos maduros no presenta la constricción anular como *C. chinense*, pero consta de venas prolongadas en dientes prominentes. La carne del fruto es firme y las semillas son de color crema. Como los anteriores, el número cromosómico es $2n = 24$, con un par de cromosomas acrocéntricos [13].

Tiene tantos tipos de fruto como *C. annuum*, dependiendo de la forma, color y tamaño (Figura 5). El grado de pungencia de los frutos es muy variable, desde media hasta muy alta (50'000 unidades Scoville), al igual que la diversidad de aromas y sabores. El Ají Amarillo, también conocido como “Yellow Pepper”, “Yellow Peruvian Pepper” o Ají Escabeche es de los tipos más comunes. Los frutos tienen de 10 a 15 cm de longitud, un color naranja intenso en la maduración, sabor afrutado y pungencia intensa. Son utilizados en la elaboración del plato popular ceviche. Otros cultivares importantes son el “Bishop’s Crown”, también conocido como “Christmas bell”, “Joker’s hat” o “Peri peri”, llamado así por su forma característica acampanada (Figura

5), y el “Lemon drop pepper” o Ají Limón, de sabor cítrico y frutos con forma cónica, de 6 cm de largo y 1.2 cm de ancho [2,7].



Figura 5. Flor con manchas amarillas y verdes de la especie *C. baccatum* [23]. Diversidad varietal en los frutos de la especie [24] y frutos del cultivar “Bishop’s Crown” [25].

Capsicum pubescens

Conocido comúnmente como ají rocoto/locoto, a pesar de ser prácticamente desconocido para el mercado occidental, tiene gran relevancia en la región andina [10]. De flores solitarias en cada nudo, con pedicelos erectos en anthesis pero flores tumbadas. Dichas flores son de color púrpura (ocasionalmente con los márgenes y/o el tubo blanco), pétalos usualmente rectos y largos nectarios (Figura 6). No presenta constricción anular en el cáliz de los frutos maduros, y tiene venas prolongadas en dientes. La carne del fruto es firme y las semillas son de color oscuro. El número cromosómico es igual a los anteriores, también con un par de cromosomas acrocéntricos [13].

Los frutos de *C. pubescens* varían en forma y color, sin embargo no existe tanta diversidad como para *C. annuum*. Tienen formas desde elongadas a esféricas y pueden tener un cuello pronunciado, madurando en rojo, naranja o amarillo, con carne gruesa no recomendable para el deshidratado, combina la suavidad y jugosidad del pimiento morrón junto con la pungencia del Habanero (Figura 6). Existen numerosas variedades locales en la zona desde los Andes de Perú hasta las tierras altas de México. Los tipos más relevantes son el Manzano, con forma propia del nombre y color rojo, y el tipo Perón, con forma de pera y color amarillo. Otros nombres conocidos son Siete Caldos y Caballo, ambas denominaciones referentes a la intensa pungencia [7].



Figura 6. Foto de la típica flor color púrpura y tallos pubescentes de *C. pubescens* [26]. De izquierda a derecha, frutos de los tipos varietales Manzano y Perón [27,28].

2.2 Origen, domesticación y difusión de pimientos y otros frutos *Capsicum*

Todas las especies del género tienen su origen en América. Existen varias hipótesis sobre el origen concreto, pero la de mayor extensión en la comunidad científica es la teoría defendida por McLeod *et al.* [29], que propone un origen Sudamericano del género en un “área nuclear” del altiplano boliviano. De esta manera, el proceso migratorio hacia el norte (Andes) y hacia el sur (Amazonia) separó evolutivamente los taxones, dando lugar a cambios genéticos significativos y originando especies distintas. Según esta hipótesis, el grupo de flores púrpura (*C. eximium*) habría migrado a las tierras altas de los Andes, dando lugar por selección direccional a *C. cardenasii* por efecto fundador y a *C. pubescens* como especie domesticada. El ancestro que originó el grupo de flores blancas dio lugar a *C. baccatum* en el área relativamente seca y de altiplano del sur de Bolivia. El grupo de flores blancas seguiría su migración fuera del área nuclear, hacia las tierras bajas de Bolivia tropical y de la cuenca amazónica. Estas formas darían lugar posteriormente a la rama que alumbraría al complejo *annuum* (Figura 7). Finalmente, el complejo *annuum* experimentó al menos dos procesos de domesticación, por un lado en la Amazonía dando lugar a *C. frutescens* y *C. chinense* y, por otro lado, en México y parte de Mesoamérica generando *C. annum* [30].

Todo este proceso de domesticación condujo a una variación paralela en las diversas especies domesticadas: sabor del fruto desde dulce hasta extremadamente picante, color inmaduro desde blanco hasta verde intenso, color en madurez desde amarillo a rojo

oscuro, morado o chocolate, forma desde larga y estrecha hasta corta y redondeada, porte de recto a pendiente, etc. [31].

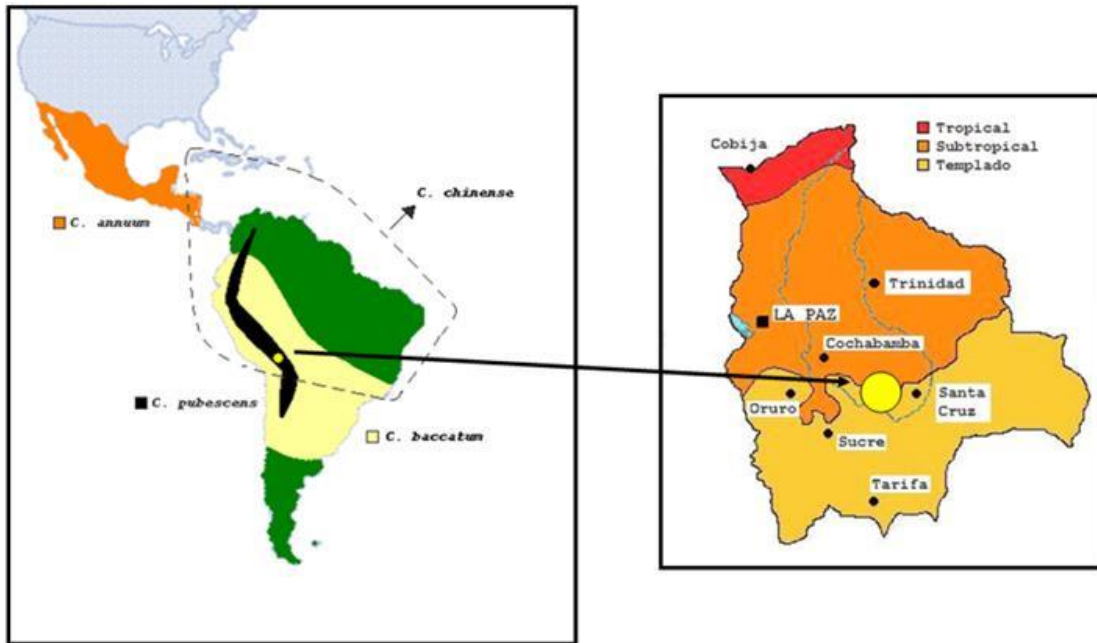


Figura 7. Centro de origen y centros de domesticación del género *Capsicum* en la época precolombina [32].

La expansión del pimiento al resto del mundo tuvo lugar con gran rapidez. En la Europa del siglo XV, las especias tenían un gran valor económico, dado su importante papel en la época como conservadoras de los alimentos, saborizantes y preventivas de parásitos intestinales [13,33]. Colón pretendía encontrar un camino más corto hacia las islas del Extremo Oriente para adquirir especias y tomar el control del mercado para la Corona Española. La expedición se financió para buscar una ruta alternativa hacia Asia, y evitar así la ruta africana controlada por Portugal. En su lugar lo que halló fue una nueva y gran diversidad de plantas alimenticias, entre las cuales se encontraban los pimientos, chiles y ajíes, siendo una de las primeras plantas cultivadas en Mesoamérica y, desde la época prehispánica, parte importante de la dieta regional [34–36]. En este marco, los frutos *Capsicum* representaban una alternativa muy viable a la apreciada pimienta de Asia (*Piper nigrum* L.), lo que favoreció una rápida expansión por el Viejo Mundo.

En el siglo XVI, la difusión por Europa fue notable. Primero, desde España hacia el Mediterráneo, Inglaterra y Europa Central y luego, se difundirían *C. frutescens* y *C.*

chinense por los portugueses, desde sus colonias en lo que hoy es Brasil hacia sus áreas de influencia en África e India [37]. Paradójicamente, fueron pioneros españoles quienes a finales del siglo XVI introdujeron el pimiento y chile en la zona suroeste estadounidense (Texas, Nuevo México, Arizona), teniendo una difusión posterior hacia la costa oriental, i.e. California [13].

3. BOTÁNICA, REQUERIMIENTOS, MANEJO DEL CULTIVO Y FERTILIDAD

3.1 Botánica

El pimiento es una planta que en su hábitat natural se desarrolla de forma perenne, sin embargo, comúnmente se cultiva como una herbácea anual. Es una planta dicotiledónea de germinación epigea, variando los cotiledones en tamaño y forma, aunque generalmente presentan su ancho máximo en la parte media, estrechándose hacia la base y el ápice (Figura 8) [7].



Figura 8. Ilustración de los caracteres de la especie *Capsicum annuum* [38].

Las raíces del pimiento son fibrosas, con una raíz principal vigorosa y raíces laterales de distribución uniforme. La mayoría de las raíces se localizan cerca de la superficie del suelo, con un crecimiento horizontal entre 30 y 50 cm y un crecimiento en profundidad entre 30 y 60 cm. Los tallos jóvenes son angulares y se vuelven circulares en la sección media con la maduración, a excepción de *C. baccatum*, de tallos cuadrangulares. El tallo puede presentar pigmentación por antocianinas y puede ser glabro, pubescente o de formas intermedias. Los hay de crecimiento indeterminado y semi-indeterminado (la planta ralentiza el crecimiento con la aparición de frutos). El cultivar y las condiciones de cultivo determinarán la altura y la forma de desarrollo [7,13]. Las hojas varían en tamaño, forma y color, aunque la mayoría son simples, enteras y simétricas. Pueden ser lisas o arrugadas y glabras o subglabras. Algunas son pubescentes como en las plantas de tipo serrano o en la especie *C. pubescens*. Tienen una forma entre lanceolada, elíptica y aovada, con el borde entero o ligeramente sinuoso en la base. Normalmente son de color verde, aunque también las hay de tipo morado, variegado o amarillento. El peciolo puede ser largo o muy corto, casi sésil, dependiendo de la especie y cultivar. Se desarrollan en racimos, individualmente en forma de espiral (forma común en el eje principal) o por parejas opuestas.

La mayoría de las especies *Capsicum* tienen flores autocompatibles, a excepción de *C. cardenasii* y algunas accesiones de *C. pubescens*. Sin embargo, en muchas zonas la polinización cruzada puede ser predominante y el porcentaje puede variar desde el 2 al 90%, dependiendo de varios factores agronómicos y ambientales [39]. Habitualmente, la flor de *Capsicum* es pentámera, hermafrodita e hipógina. La corola es rotada, con 5 a 7 pétalos de 10 a 20 mm, siendo campanulada para *C. cardenasii* y *C. tovari*. La flor de *C. annuum* tiene un diámetro de 10 a 15 mm, siendo más pequeñas en las especies silvestres. La corola tiene un color liso o también puede aparecer moteado dependiendo de la especie y la mayoría son de color blanquecino. Existe un número pequeño de accesiones de *C. annuum* con corolas moradas. *C. frutescens* tiene una flor verdosa y en *C. eximium*, *C. pubescens* y *C. cardenasii* son características las flores moradas [7]. Para *C. annuum* las flores suelen ser solitarias en las axilas de las ramas, aunque otras accesiones como mirasol o especies como *C. chinense* tienen múltiples flores en los nudos [40]. En *C. annuum* el cáliz es campanulado y acanalado, con 5 a 7 dientes, de 2 mm de longitud y con pedúnculo torcido hacia abajo en la antesis. En *C. chinense* el cáliz tiene una constricción anular característica. En la mayoría de las especies

domesticadas es persistente, dándose el caso contrario en las silvestres. La longitud del pedicelo del fruto varía desde 10 a 20 mm según el tipo de fruto. Los granos de polen son elípticos, con tres segmentos y de color amarillo llamativo [7]. Los frutos son muy diversos en forma, tamaño y color. Son bayas huecas que albergan dos o más lóculos, cada uno dividido por una placenta central. Dicha placenta contiene vesículas de oleorresinas y capsaicinoides, pero fundamentalmente es el lugar de inserción y sustento de las semillas. Habitualmente los frutos tienen semillas, aunque también existen tipos partenocárpico sin semilla. Las semillas son aplanadas y discoidales, de 2.5 a 6.5 mm de longitud y 0.5 a 5 mm de ancho, generalmente de color blanco amarillento y una profunda depresión en la chalaza. También pueden tener un color tostado y en la especie *C. pubescens* son arrugadas y negras [7,13].

3.2 Exigencias agroclimáticas

El pimiento es un cultivo propio de la estación cálida, con requerimientos similares a otras solanáceas como el tomate y la berenjena, si bien algo más exigente, especialmente en temperatura y luminosidad, aunque existen tipos con frutos pequeños que se adaptan a condiciones más extremas. Es altamente susceptible a las heladas y su crecimiento se ve afectado por temperaturas inferiores a 15 °C, siendo las temperaturas diurnas óptimas entre 23 y 25 °C, y las nocturnas entre 18 y 20 °C (con un diferencial térmico entre el día y la noche entre 5 y 8 °C) [13]. La germinación se ve favorecida en suelos con temperaturas entre 24 y 30 °C [7]. Existe una relación directa entre la caída de flores y frutos recién cuajados con temperaturas elevadas, particularmente asociadas a humedades relativas bajas. En una fase más avanzada de su desarrollo, el fruto resulta menos sensible a estos efectos [41]. Las bajas temperaturas pueden reducir la viabilidad del polen y favorecen la formación de frutos partenocárpico, alargados o deformados o demasiado apuntados. La humedad relativa óptima está en un rango entre el 50% y el 70%, favoreciéndose el desarrollo de enfermedades en la parte aérea con valores muy elevados de humedad [13].

Igualmente, el pimiento es más exigente en agua y suelo que el tomate, siendo más sensible a la salinidad y a la asfixia radicular o encharcamiento. Como para la mayoría de los cultivos, el suelo recomendable para la producción de pimiento se describe como profundo, bien drenado y aireado, de textura medio arenosa o suelo franco, permeable y

que mantenga la humedad y rico en materia orgánica (ya que el pimiento es muy exigente en nitrógeno en las primeras fases del cultivo). La mayoría crecen en suelos con un rango de pH entre 7 y 8.5, aunque se adapta bien a cierto grado de acidez [7,13]. En áreas de lluvia regular y abundante la irrigación no es necesaria, si bien es esencial en las regiones áridas y semiáridas. Aunque las plantas de pimiento son resistentes a la sequía, el cuajado de los frutos se ve afectado. La irrigación es esencial en la producción de pimiento, especialmente durante la temporada de crecimiento [7]. Para un cultivo de pimiento en primavera se han estimado unas necesidades hídricas de 1000 L·m⁻² [13]. Un estrés hídrico durante la floración y cuajado de frutos puede producir su caída. Por otro lado, las plantas que sufren estrés hídrico generalmente producen frutos más picantes.

3.3 Manejo del cultivo

El cultivo del pimiento al aire libre puede iniciarse desde una siembra directa en el campo o, más habitualmente, a través del trasplante de la plántula, en forma de raíz desnuda o como cepellón. Las plantas obtenidas a través de trasplantes son más uniformes, pueden tolerar mejor los estreses abióticos y bióticos y pueden alcanzar antes la maduración comparadas con aquellas provenientes de siembra directa [7]. La planta comercial del pimiento se obtiene de semilleros, con 6-8 semanas de edad y 15-20 cm de altura, trasplantándose a mano, generalmente, o con la ayuda de instrumentos de trasplante (plantador de hortalizas), en fechas que permitan el desarrollo del cultivo durante el período estival o seco. Existen numerosas variantes en el marco de plantación, utilizándose densidades entre 50'000 y 70'000 plantas·ha⁻¹, con distancias entre líneas de 70 a 100 cm, y 25 y 50 cm entre plantas, dependiendo del cultivar y tipo de crecimiento [7,13].

Como labores culturales son importantes los aporcados que eviten el contacto directo del tallo con el agua de riego, las podas de formación con una concentración de la producción en dos o tres ramificaciones, las podas de regeneración tras la recolección de los frutos de los primeros pisos, y el entutorado en plantas altas y cargadas de frutos para evitar que se quiebren o que los frutos toquen el suelo [13]. El uso del mantillo o acolchado también está bastante extendido dadas sus ventajas en el incremento de rendimientos tempranos, retención de la humedad, control de plantas adventicias,

reducción de la lixiviación de fertilizantes, disminución de la compactación del suelo, protección del fruto de los depósitos del suelo y sus microorganismos y facilitación de la fumigación [7].

El cultivo de pimiento en invernadero también está muy extendido por sus ventajas en cuanto a la protección de condiciones climáticas adversas y plagas, así como la posibilidad de tener una temperatura elevada todo el año. Los túneles son otra forma de cultivo que permiten alterar los microclimas bajo condiciones de cultivo al aire libre, siendo más económicos que los invernaderos [7].

El estado del fruto de pimiento y número de cosechas depende del uso final de éste, así como de los mercados, variedad y las condiciones climáticas. La mayoría se recogen en el estado fisiológico inmaduro (maduro a nivel hortícola, en verde), aunque la industria para deshidratado y elaboración de pastas los requieren en estado fisiológico maduro (con coloración por carotenoides, en rojo, naranja o amarillo). La cosecha se prolonga durante dos o tres meses, debido a su fructificación escalonada, habitual en la mayoría de las variedades de este cultivo. Los frutos son cosechados manualmente en la mayoría de los casos ya que así se mejora la calidad. El personal cosechador puede descartar *in situ* los frutos podridos, deteriorados, inmaduros o pasados. Además, las plantas se ven menos dañadas, de manera que no sólo se obtienen frutos de mejor calidad sino que también aumenta el rendimiento por unidad de área [7,13].

Las plantas silvestres son un problema para el cultivo de pimiento, sobre todo en las fases iniciales del cultivo, en cuanto a la competencia por los nutrientes, luz y agua, ya que reducen el rendimiento, adicionalmente en la fase productiva, dificultan la recolección de frutos y pueden producir obstrucciones en la maquinaria. Los programas de control de plantas silvestres difieren según los sistemas de cultivo y áreas, encontrando distintas prácticas culturales, mecánicas y químicas. Las prácticas de acolchado pueden reducir el crecimiento de las plantas espontáneas, las escardas antes y durante el cultivo también son eficientes, así como tratamientos de solarización del suelo antes del cultivo y finalmente, la aplicación de herbicidas es otra opción, cuando los contextos lo autoricen [7].

Las plagas y enfermedades constituyen restricciones primordiales en la producción del cultivo, influyendo tanto en el rendimiento como en la calidad y variando según la zona y la época específica. Estas enfermedades y daños las causan agentes de tipo

abiótico, como niveles extremos de temperatura, humedad, luz, nutrientes, pH, contaminantes del aire y fitosanitarios, así como agentes bióticos, como las bacterias, hongos, micoplasmas, virus, insectos y nematodos [42]. El control de plagas y enfermedades resulta fundamental en el rendimiento final del cultivo, siendo primordial un diagnóstico correcto y a tiempo. Las estrategias de control han de adecuarse tanto al tipo de sistema de cultivo como a la zona geográfica. La rotación de cultivos es una práctica especialmente recomendable, así como la adecuación de marcos de plantación que permitan el correcto aireamiento y el uso de variedades resistentes o tolerantes. Además, se debe partir de semillas o plántulas sanas, comprobar el agua en la zona de la raíz y cuello, controlar la presencia de insectos vectores y emplear técnicas sanitarias como la desinfección y limpieza de los materiales y los equipos [7]. Es esencial un correcto manejo de las prácticas culturales junto con métodos de control como la lucha biología. También pueden emplearse sustancias fitosanitarias, aunque éstas tienen restricciones según el tipo de sistema de cultivo, la zona y los riesgos [43].

3.4 Importancia de la fertilidad del suelo para el cultivo del pimiento: medida indirecta a través de la actividad enzimática

Una fertilidad óptima es esencial para el desarrollo del cultivo del pimiento. Además, el pimiento requiere cantidades adecuadas de la mayoría de macro y micronutrientes y deficiencias nutricionales durante el período de crecimiento pueden causar pérdidas tanto en la calidad como en el rendimiento del cultivo [7,44]. La fertilidad del suelo es la cualidad de éste para sustentar la vida vegetal y depende de diversos factores químicos, físicos y biológicos interdependientes [45], como la disponibilidad de nutrientes para las plantas, la capacidad de retención de agua, y la estructura del suelo influyente en el desarrollo de las raíces. La medida de la fertilidad implica, por tanto, analizar múltiples parámetros de calidad y salud del suelo para integrarlos y hacer un análisis más amplio de la situación general. Dada la dificultad de dichos procedimientos, otra posibilidad sería la selección de factores específicos y su evaluación a lo largo del tiempo [46]. En agricultura, la actividad de las enzimas involucradas en los ciclos de los nutrientes del suelo ha sido uno de los indicadores empleados para ello junto con otros indicadores biológicos [47,48]. La liberación enzimática por secreción o lisis celular es un proceso constante por parte de los

organismos vivos como las raíces de las plantas, siendo una pequeña parte la que queda estable después de procesos de desnaturalización, inactivación o degradación [46]. La medida de la actividad de las enzimas fosfatasa alcalina y catalasa ha sido utilizada como método de evaluación de la fertilidad de los suelos [49,50].

Actividad fosfatasa alcalina

Dentro del amplio grupo de las enzimas fosfatasas está el grupo de las fosfatasas alcalinas como tipo de enzimas hidrolasas, al catalizar la hidrólisis de compuestos orgánicos fosforados a formas inorgánicas utilizables por las plantas [51]. Estas enzimas se originan mayoritariamente en las raíces de las plantas, hongos y microorganismos del suelo y pueden ser un buen indicador de la mineralización potencial del fósforo orgánico y la actividad biológica del suelo. Dicha actividad enzimática tiene relación con las condiciones del suelo y la vegetación, viéndose influenciada por cambios en el manejo del cultivo y fluctuaciones estacionales de temperatura y humedad [52].

Actividad catalasa

Las catalasas son otro ejemplo de enzimas importantes, del grupo de las oxidorreductasas, ya que actúan como enzimas antioxidantes degradando el H_2O_2 generado en los procesos metabólicos de los organismos vivos, como la oxidación fotorrespiratoria y la β -oxidación de los ácidos grasos. Se encuentra fundamentalmente en los peroxisomas de las células a nivel intracelular, además de estar en todas las bacterias aeróbicas y en la mayor parte de los organismos anaerobios facultativos. Por ello, la medida de la actividad de esta enzima se ha correlacionado con el índice de la biomasa edáfica y como componente de índices de fertilidad [53]. Están relacionadas con el mantenimiento del balance redox durante condiciones de estrés oxidativo y el estrés ambiental tiene influencia en la intensidad de su actividad [54].

4. CARACTERES DE INTERÉS EN LA MEJORA DEL PIMIENTO: CALIDAD NUTRICIONAL Y ORGANOLÉPTICA

Establecer los objetivos de mejora en la calidad del pimiento y otras especies de *Capsicum* resulta algo complejo ya que existen diversos parámetros que definen la calidad del fruto. Los factores de calidad que han tenido mayor relevancia en la mejora han sido los relacionados con la calidad organoléptica, la capacidad colorante y el valor nutritivo. La importancia de estos parámetros dependerá del uso del fruto, de manera que en el uso como hortaliza la calidad organoléptica, el valor nutritivo y la calidad externa serán fundamentales, mientras que en la aplicación como especia serán la pungencia y la capacidad colorante los atributos de mayor interés [10]. Al igual que otros aspectos del fruto como el tamaño, la forma y el color, las características organolépticas y la composición nutricional varían según la especie, el cultivar, el estado de madurez y las condiciones de cultivo y postcosecha [55–59].

4.1 Calidad nutricional y compuestos bioactivos

La calidad nutricional es la capacidad de los alimentos de proporcionar los elementos nutritivos que se necesitan para una buena salud [60,61]. En hortalizas como el pimiento, esta calidad depende de la cantidad y calidad de macronutrientes (proteínas, carbohidratos y lípidos) y micronutrientes (vitaminas, elementos minerales, ácidos grasos y aminoácidos esenciales) que proporcionan. El contenido nutricional del pimiento es alto comparado con otras hortalizas de amplio consumo (Tabla 5).

Dentro de la calidad nutricional se encuentra lo que se denomina “calidad nutracéutica” de los alimentos, que se refiere a alimentos o partes de ellos que proporcionan beneficios médicos o para la salud, incluyendo la prevención y/o el tratamiento de enfermedades [62]. A menudo, las moléculas de origen vegetal con acción beneficiosa para la salud se denominan compuestos bioactivos. Dichos compuestos serían los responsables de los beneficios aportados por los alimentos nutracéuticos.

Tabla 5. Composición de pimientos dulces y picantes (por 100 g de porción comestible) y otras hortalizas y frutas de consumo habitual [63,64].

	Pimiento ¹		Tomate	Zanahoria	Kiwi	Naranja
	Dulce	Picante				
Agua (%)	94	88	94	89	72	89
Energía (kcal)	19	40	18	33	42	35
Proteínas (g)	0.9	2.0	1.0	0.9	1.0	0.8
Lípidos (g)	0.2	0.2	0.3	0.2	0.4	trazas
Carbohidratos (g)	3.7	9.5	3.0	7.3	9.1	8.6
Fibra (g)	1.2	1.8	1.5	2.9	1.6	2.0
Na (mg)	2	--	3	77	3	3
Ca (mg)	12(2)	18(2)	11	41	21	36
Fe (mg)	0.5(4)	1.2(9)	0.6	0.7	0.3	0.3
Mg (mg)	11(3)	--	10	13	13	12
K (mg)	210(11)	340(17)	290	255	250	200
Vit. A (retinol, µg equiv.)	94(12)	120(15)	207	1333	5	33
Vit. B ₁ (tiamina, mg)	0.05(5)	0.09(8)	0.06	0.05	0.01	0.10
Vit. B ₂ (riboflavina, mg)	0.04(3)	0.09(6)	0.04	0.04	0.03	0.03
Vit. B ₃ (niacina, mg)	0.90(6)	0.95(6)	0.80	0.60	0.30	0.30
Vit. B ₆ (pírodoxina, mg)	0.17(12)	0.28(20)	0.11	0.15	0.13	0.06
Vit. C (ác. ascórbico, mg)	131(164)	243(304)	26	6	51	50
Vit. E (mg)	0.8(7)	1.1(9)	1.2	0.5	--	0.2

¹ los valores entre paréntesis corresponden a % CDR.

Los compuestos bioactivos más importantes en el pimiento son:

Vitaminas

El pimiento contiene una importante fuente de vitaminas o precursores de las vitaminas A, C, B₁, B₂, B₃, B₆ y E. Las más relevantes por su elevado aporte a la dieta son las vitaminas A, C y E [10].

La vitamina A, retinol o axeroftol, previene la xerofltalmia (proceso degenerativo del globo ocular que puede ocasionar ceguera). La falta de esta vitamina puede llevar a infecciones agudas, mortalidad infantil, afecciones epiteliales y algunos tipos de cáncer [65]. Además, se le atribuyen propiedades antioxidantes y anticancerígenas [66,67]. En el pimiento, la vitamina A se encuentra en forma de provitaminas o sustancias precursoras: α -caroteno, β -caroteno, γ -caroteno y β -criptoxantina. El β -caroteno es el más efectivo ya que de cada molécula se obtienen dos de vitamina A, mientras que el α -caroteno y la β -criptoxantina proporcionan una molécula por molécula de provitamina

[13]. Además, el β -caroteno puede suponer más del 90% del aporte diario en provitamina A en algunos frutos maduros de pimiento, siendo el contenido mayor que en los frutos inmaduros [65,68].

La vitamina C o ácido ascórbico, fundamentalmente en forma de L-ascórbico (Figura 9), es esencial para la prevención del escorbuto (enfermedad que provoca hemorragias frecuentes en encías, incluso la muerte en cuadros clínicos graves). Esta vitamina se considera uno de los agentes antioxidantes más potentes de origen vegetal [69]. Es un factor de calidad muy importante en los frutos *Capsicum*, de elevado contenido en esta vitamina, considerablemente superior a otros frutos como la naranja o el kiwi (Tabla 5) [64]. Así como los factores genéticos, el estado de madurez es una componente altamente influyente en el contenido de vitamina C, aumentando con la maduración del fruto [7,58,59]. Dicho contenido también se ve afectado por otros factores de tipo agronómico como el cultivo al aire libre o en invernadero, marco de plantación y riego, etc. Por su naturaleza hidrófila, en frutos deshidratados o en derivados como el pimentón el contenido en ácido ascórbico es muy bajo o inapreciable [13].

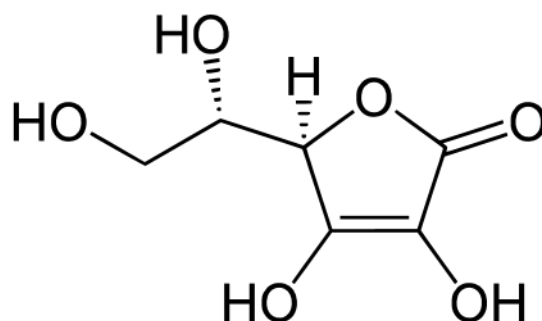


Figura 9. Representación molecular de la estructura química del ácido L-ascórbico.

La vitamina E también es un potente antioxidante, gracias a su capacidad para limitar la oxidación y neutralizar los radicales libres, aconsejándose para la prevención de la arteriosclerosis y el cáncer [65]. Aparece en proporciones considerables en el pimiento, en forma de α -tocoferol en el pericarpio y γ -tocoferol en las semillas [70]. Como otros compuestos nutricionales, el contenido de esta vitamina depende, entre otros, del genotipo, estado de madurez, prácticas culturales y ambiente [71].

Polifenoles

Los compuestos fenólicos o polifenoles son muy comunes en el reino vegetal. Son metabolitos secundarios producidos naturalmente por las plantas a través de las vías pentosa fosfato, shikimato y fenilpropanoide [72]. La unidad básica consiste en un grupo de hidrocarburo aromático con uno o más grupos hidroxilo, comúnmente en forma de glucósido (en lugar de aglicona) ya que las unidades fenólicas se esterifican o metilan y se someten a conjugación con mono y polisacáridos [73–75].

Las funciones de estos metabolitos secundarios en las plantas son muy amplias: protección frente a plagas, enfermedades y estreses (fitoalexinas e interacciones alelopáticas), contribución al sabor, al aroma y al color de frutas y hortalizas (pigmentos y compuestos volátiles), como reguladores del crecimiento y relacionados con la integridad estructural (biosíntesis de lignina), etc. [76–80]. Estos compuestos igualmente varían en contenido según factores genéticos y agroclimáticos [81–83]. Los polifenoles son compuestos bioactivos muy apreciados en la dieta humana gracias a sus numerosos efectos beneficiosos derivados de funciones antioxidantes, tales como actividades antiinflamatorias, antiateroscleróticas, antitumorales, antimutagénicas, antibacterianas o antivirales [58,84–88].

Estos compuestos son de especial relevancia en los frutos de pimiento por su elevado contenido, superior al de otras frutas y hortalizas como el tomate, el brócoli o la banana [89,90]. El grupo más abundante en *Capsicum* son los flavonoides, con una estructura de dos anillos de fenilo y un anillo heterocíclico (C6-C3-C6) (Figura 10) [91]. Se clasifican en seis clases principales: antocianinas, chalconas, flavonas, flavonoles, flavandioles y taninos condensados, considerando algunos autores también las auronas [92]. Los flavonoides más importantes en pimiento son la quercetina y la luteolina en un nivel, y la miricetina, el kenferol y la apigenina en otro nivel (Figura 10) [57,93–96].

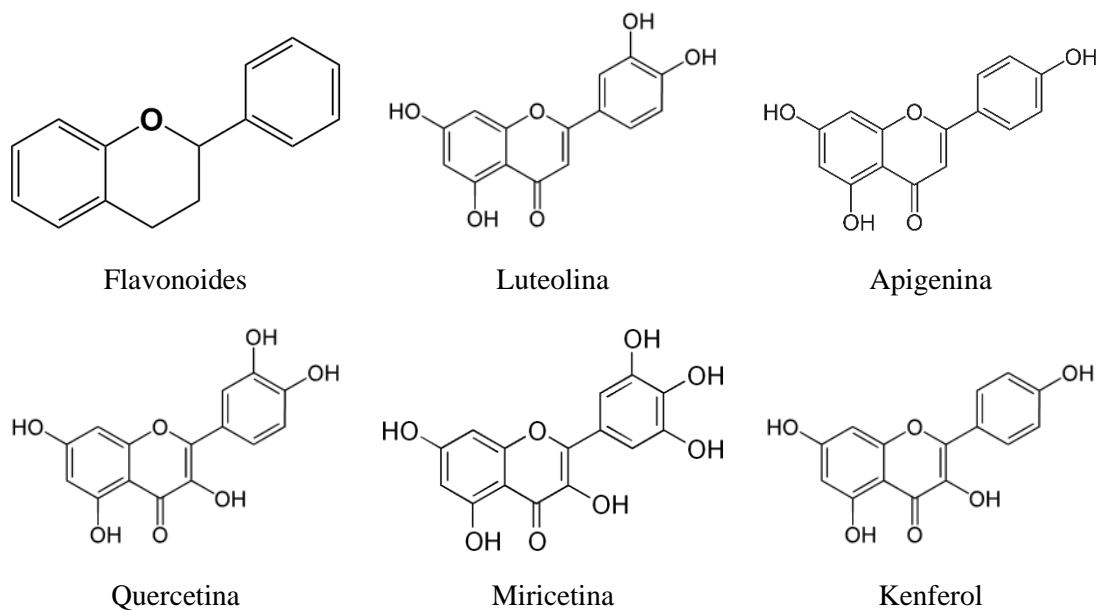


Figura 10. Representación molecular de la estructura general de los flavonoides y de los más representativos en pimienta.

Pigmentos carotenoides

Los pigmentos de los frutos de *Capsicum* se incluyen dentro del grupo de los carotenoides. Los carotenoides son compuestos terpenoides derivados de la condensación de ocho unidades de isopreno. Sus propiedades cromáticas vienen determinadas según la presencia de determinados grupos químicos al final de una cadena, clasificándose en dos grandes familias: rojos y amarillos/naranjas. Estos pigmentos pueden encontrarse en las hojas, junto con la clorofila, o en otras partes de la planta, como raíces y frutos [13]. Son uno de los grupos de pigmentos con mayor relevancia y distribución e importantes funciones metabólicas [97,98]. Resultan esenciales en la realización de la fotosíntesis por las plantas y como protectores contra la fotooxidación. Estos compuestos son útiles como colorantes alimentarios, lo que ha permitido utilizar los frutos de *Capsicum* con este fin durante siglos, siendo los pimentones y las oleorresinas su versión moderna. Además, tienen efectos beneficiosos como antioxidantes, precursores de vitaminas (vitamina A) o agentes antitumorales [99–101].

En este sentido, los frutos de *Capsicum* están entre los productos hortofrutícolas más ricos en estos compuestos. Las distintas combinaciones de estos pigmentos dan lugar a

la extraordinaria diversidad cromática de los frutos maduros del género *Capsicum* [37], en el cual se han descrito más de treinta carotenoides [102]. Cuantitativamente destacan las xantofilas capsantina y capsorubina entre los del grupo rojo y exclusivos de *Capsicum* y β -caroteno, β -criptoxantina, luteína, violaxantina y zeaxantina entre los del tipo naranja y amarillo [100]. De entre ellos, destacan la capsantina, β -caroteno, luteína y zeaxantina al presentarse en niveles nutricionalmente aceptables (Figura 11). El carotenoide que se encuentra en mayores proporciones en las variedades de fruto rojo es la capsantina. Este compuesto tiene una mayor actividad antioxidante y de efecto más prolongado dentro de los carotenoides. Además, previene las cataratas y procesos degenerativos de la mácula ocular [103,104]. El β -caroteno es un precursor de la vitamina A. La luteína es un protector frente a enfermedades coronarias, siendo fundamental, junto a su isómero la zeaxantina, en la protección del ojo a la radiación solar [102]. La luteína no tiene interés como objetivo de mejora para variedades consumidas en estado maduro, ya que desaparece con la maduración. Salvo por la presencia de luteína y niveles relativamente bajos de β -caroteno, en general, el contenido en carotenoides de frutos inmaduros es muy bajo. Por el contrario, estos niveles son muy altos en estado maduro, por lo que la mayoría de los estudios de estos terpenoides se realizan en fruto maduro [10].

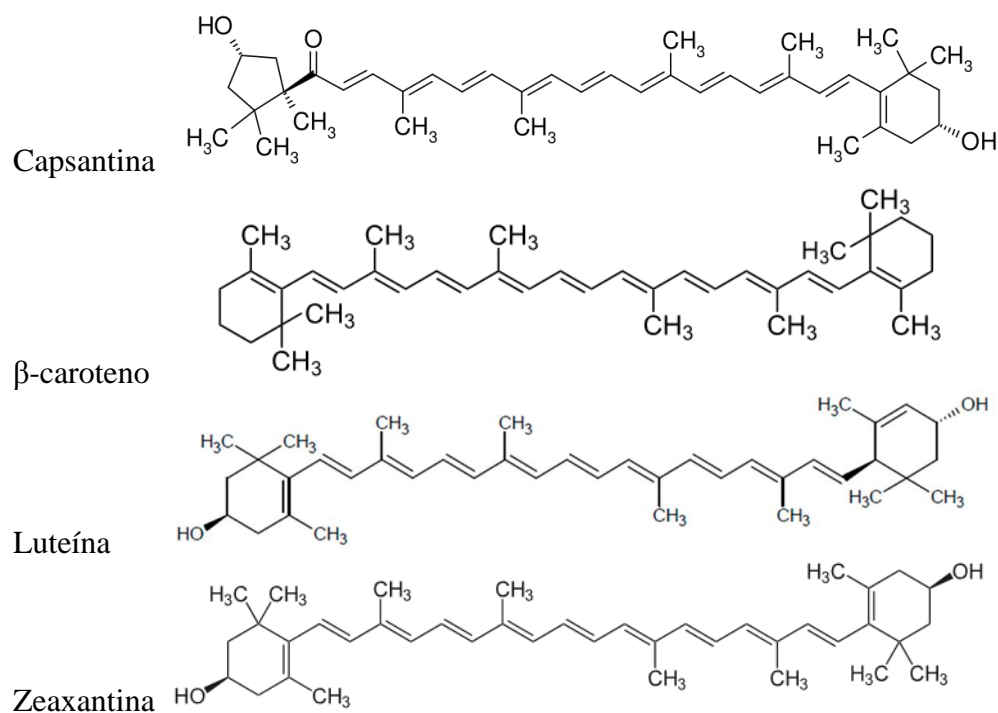


Figura 11. Estructura química de los carotenoides más destacados en pimiento.

4.2 Calidad organoléptica

La calidad organoléptica hace referencia a la percepción sensorial por parte del consumidor. Esta impresión viene dada principalmente por el contenido en azúcares, ácidos y compuestos volátiles, así como de la sensación de pungencia. Este último atributo ha tenido gran consideración en los estudios de mejora varietal, siendo menos intensa la investigación en los primeros [10].

Pungencia

La pungencia es la sensación de ardor propia de los frutos de muchas variedades de *Capsicum* que contienen capsaicinoides, unas sustancias de la familia de los vanilloides que se producen y acumulan en las glándulas de la placenta de los frutos, siendo exclusivas de este género [10]. Se han identificado una veintena de capsaicinoides, aunque la capsaicina, dihidrocapsaicina y nordihidrocapsaicina suponen normalmente más del 90% de los capsaicinoides totales [105]. Estas sustancias son incoloras, inodoras y sin sabor, actuando al provocar la irritación de las terminaciones trigeminales de las cavidades bucal y nasal [106]. La pungencia se expresa en unidades de calor Scoville (SHU), medidas a través de un test organoléptico [107]. Este potente efecto estimulador resulta un atributo muy deseable a nivel culinario en muchas culturas alrededor del mundo (e.g. “Goulash” húngaro, “Sambal” indonesio, enchiladas, tacos y burritos mejicanos, “Huoguo” u “Hot Pot” chino, “Kimchi Jigae” coreano, salsa “Piri-Piri” africana, “All i Pebre” valenciano). Además, la adición de muchas personas por los pimientos picantes podría estar explicada por este carácter, ya que el cerebro libera endorfinas para atenuar la señal de irritación, lo cual genera sensación de bienestar [7]. También existen programas de mejora para eliminar de los frutos este atributo, ya que muchos consumidores evitan el efecto irritante y prefieren los tipos dulces [10]. Otro aspecto positivo de los capsaicinoides es que resultan útiles en la conservación de alimentos además de atribuírseles efectos beneficiosos para la salud. Por ejemplo, tienen aplicación en la industria farmacéutica como cicatrizantes, antifúngicos, antiinflamatorios y analgésicos, para tratar dolor muscular u otros dolores crónicos ocasionados por *Herpes zoster*, cefaleas, artritis reumatoide y osteoartritis [108–111]. También se usan en la industria cosmética y para la elaboración de aerosoles de defensa personal [7,112].

Azúcares y ácidos

En cuanto a la composición de azúcares, predominan la fructosa y la glucosa. Por otro lado, aunque influye en la calidad organoléptica, la concentración de ácidos orgánicos en pimiento es muy baja. En este caso, el ácido cítrico, málico, oxálico, fumárico, glutámico y succínico son los que predominan en los frutos [113,114]. El contenido y perfil de azúcares y ácidos varía en función del tipo de fruto, cultivar y ambiente, siendo mayor en el estado maduro [7].

Compuestos volátiles

El aroma resulta un factor fundamental en la mejora de la calidad organoléptica, ya que los compuestos volátiles junto con las sustancias sólidas constituyen el flavor, también conocido como fase gustativa y que engloba tanto el sabor como las sensaciones olfativas. El aroma determina en gran medida el agrado o desagrado por parte del consumidor. Sin embargo, los estudios para la mejora de este carácter son escasos [10]. Así como para otros caracteres de calidad, se ha visto que el perfil aromático varía según las condiciones agroambientales [115–117].

Los trabajos sobre la fracción volátil de los frutos *Capsicum* han puesto en evidencia la extraordinaria riqueza y diversidad de compuestos que presentan. Ya en los primeros experimentos Haymon y Aurand aislaron más de 120 volátiles a partir de aceite esencial del tipo varietal “Tabasco” y Keller *et al.* encontraron un centenar de compuestos volátiles en *C. annuum* y *C. frutescens* [118,119]. Más recientemente, Rodríguez-Burruezo *et al.* y Kollmannsberger *et al.* identificaron más de 300 compuestos volátiles a partir de 20 genotipos de las especies cultivadas de *Capsicum*, verificando la riqueza de volátiles que podemos encontrar en dicho género [120,121].

El compuesto con mayor relevancia en el aroma de los frutos *Capsicum* es la 2-metoxi-3-isobutilpirazina (Figura 12) [122,123], responsable del intenso aroma herbáceo de los frutos del pimiento común como los “california”. Es uno de los más potentes que se conocen, pudiendo ser detectado por el olfato humano a concentraciones de 2 partes por billón. Otros compuestos importantes son 2,3-butanodiona (con aroma a caramelo), 1-penten-3-ona (aroma picante), hexanal (herbáceo), octanal (frutal), cis-β-

ocimeno (floral), metilsalicilato (mentolado) y diversas iononas y ésteres (aroma frutal) [7,120].

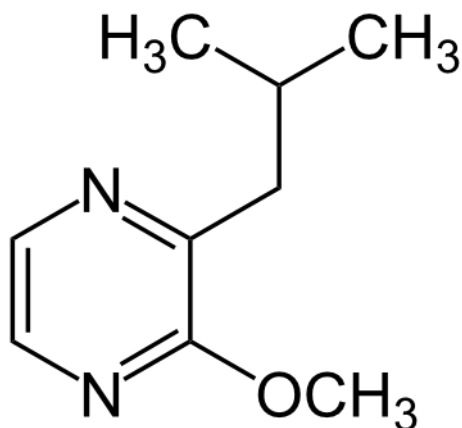


Figura 12. Estructura química de la 2-metoxi-3-isobutilpirazina, compuesto volátil característico en frutos de pimiento.

5. LAS VARIETADES TRADICIONALES: IMPORTANCIA Y APROVECHAMIENTO

5.1 Importancia y aprovechamiento

Los agricultores han ido seleccionando a lo largo del tiempo material vegetal adaptado a unas condiciones agroclimáticas específicas, dando lugar a los ecotipos, variedades tradicionales o variedades locales. Normalmente, esta selección se ha hecho en condiciones de bajos insumos, típicas de los sistemas de cultivo tradicionales anteriores a la revolución verde [124].

Las variedades tradicionales son materiales vegetales que concentran mayor diversidad, abarcando un *pool* genético que no presentan las variedades modernas [125]. Así, la selección continua de estas variedades a lo largo del tiempo en ambientes específicos y su consecuente adaptación local, ha dado lugar a una conservación de caracteres de tolerancia y/o resistencia a estreses tanto bióticos como abióticos. Esto supone una ventaja al tener probabilidades mayores de encontrar características

adaptables al cultivo ecológico, más sostenibles y similares a las condiciones de cultivo tradicional, de donde provienen estas variedades, que las empleadas en la producción forzada de variedades modernas. Por otro lado, la diversidad genética de estos materiales también favorece la explotación de esta variabilidad en los programas de mejora de variedades adaptadas al sistema de cultivo ecológico [126–128]. A nivel medioambiental, otra ventaja que supone esta diversidad genética es la relacionada con la reducción de la erosión genética de la agrobiodiversidad. La conservación de la agrobiodiversidad resulta esencial por su efecto tamponante y adaptativo, protegiendo así la producción agraria global frente al cambio climático [35]. Además de la posible explotación de la variabilidad genética para la mejora de caracteres de interés, estas variedades ya han sido seleccionadas a lo largo de los años por características particulares relacionadas, por ejemplo, con la calidad visual y organoléptica. Estos aspectos característicos confieren a las variedades tradicionales una identidad propia, que fortalece la relación con su origen, haciendo que formen parte del patrimonio social e histórico cultural de la zona. Asimismo, los consumidores están incrementando la demanda de productos con “el sabor del pasado” (*taste of the past*) característico de las variedades tradicionales, así como productos provenientes de mercados de proximidad y alimentos con alto valor añadido en base a su composición [129,130]. Las variedades tradicionales o locales reúnen, de esta manera, un conjunto de características de calidad y aspectos sociales y medioambientales, acumulando así unos valores añadidos favorecedores para su empleo en el sistema de cultivo ecológico.

5.2 Principales variedades locales de pimiento y diversidad de usos

Desde la introducción a España del pimiento a finales del siglo XV, se produjo un proceso de selección tradicional que dio lugar a una gran diversidad de ecotipos y materiales locales adaptados a las diversas condiciones agroclimáticas españolas [35]. La importancia y arraigo de este cultivo a nivel agrario y gastronómico en las regiones españolas ha hecho que el pimiento cuente con el mayor número de Denominaciones de Origen Protegidas (DOPs) e Indicaciones Geográficas Protegidas (IGPs) dentro del ámbito hortofrutícola [131].

Las variedades locales españolas que más abundan son las de carne gruesa y calibre medio-grande (>50 g), generalmente conocidas como de tipo grueso, morrón o tipo *bell*

o *blocky* en el mundo anglosajón (forma rectangular, cuadrada o troncocónica), destacando el Valenciano, Trompa/Morro de Vaca de Murcia, Pimiento de Infantes o de Litro, Morrón de Fresno de la Vega y Benavente o Largo de Reus [35]. También están los morrones de bola (forma acorazonada) como el Tudelano y Calahorrano, de Navarra y Aragón, respectivamente, y el Morrón de Luesia de Aragón [13,132]. Próximos a esta clasificación, pero de forma triangular, cónica o alargada, destacarían Bierzo, Ros Mallorquín y Riojano (también conocido como Najerano o de Santo Domingo), Piquillos y Pico de Mendavia. También los hay de tamaño medio-pequeño, con numerosas variedades procedentes del norte de España. Por ejemplo, existen muchos ecotipos gallegos con una morfología similar a la de Padrón, que se cosechan verdes y a veces antes del tamaño definitivo, también están Arnoia y Oímbra (de la zona de Ourense y de mayor tamaño), Padrón de Herbón y Couto (Coruña y Pontevedra) y Mougán (Lugo). Por otro lado, con una morfología cercana a la de Padrón, pero más alargado y apuntado, se encuentra el Gernika de Euskadi, que se cosecha en verde o maduro para deshidratar (choricero). De tipo rectangular y ligeramente apuntado estarían los pimientos de mojo canarios (para salsa), como la Pimienta Palmera. También hay numerosas variedades de fruto alargado o muy alargado, distinguiendo dos grupos. Por un lado, los “Cornicabra”, cosechados en rojo para pimentón, muy comunes en las regiones de Murcia, Andalucía, Castilla la Mancha y Extremadura, teniendo los ecotipos Ocal o Agridulce y Jaranda o Jariza, utilizados para elaborar el Pimentón de la Vera. Por otro lado, estaría el segundo grupo correspondiente al de las “Guindillas”, generalmente más finos, destacando la Guindilla de Ibarra (verde encurtida) y las Alegrías Riojanas (asadas y envasadas en rojo) [13]. Finalmente, otro tipo varietal sería el de los pimientos de bola o ñoras, de tipo subsférico, generalmente usados deshidratados como colorante alimentario en forma de fruto entero o pimentón. En esta clasificación entrarían el Pimentón de Murcia y la variante de color marrón “negral” (Figuras 13, 14 y 15) [35].

Esta amplia diversidad de tipos varietales puede dar lugar a distintas formas de clasificación, como, por ejemplo, según el sistema de producción (invernadero vs aire libre) o la concentración de maduración (agrupada vs escalonada), pero una clasificación muy útil es la que se refiere al tipo de uso. Así, existen variedades para consumo en fresco, variedades para la industria conservera o variedades para la industria de pimiento deshidratado [13].

Dentro de la producción de consumo en fresco, los híbridos F₁ han desplazado progresivamente a las variedades tradicionales o locales para producciones intensivas (invernaderos) o para las más avanzadas técnicamente. Estas variedades presentan heterosis (vigor híbrido), mayor homogeneidad y mejor cuajado, pero tienen una renovación constante en los mercados y la diversidad genética es mucho más estrecha [13]. Sin embargo, el uso de las variedades tradicionales todavía persiste en explotaciones tradicionales al aire libre. Las variedades utilizadas para el consumo en fresco presentan ciertas características: fácil cuajado del fruto, precocidad adecuada, productivas, homogéneas en cuajado y precocidad, resistentes a enfermedades y manipulación postcosecha (Figura 13).



Figura 13. Relación de las principales variedades locales para consumo en fresco en España.

Por otro lado, en España existen numerosas especialidades conserveras, transformando industrialmente los pimientos de diversas maneras: asados enteros, asados en tiras, encurtidos, deshidratados, congelados, precocinados, etc. Para ello existe una amplia gama de tipos varietales desarrollados exclusivamente para este uso, principalmente los denominaremos morrones o tres o cuatro cantos (Figura 14). Estos tipos varietales se prefieren por cualidades como elevada productividad, resistencia al agrietado y al almacenamiento, color estable e intenso, carne gruesa, forma de fruto y textura de carne adaptadas al proceso, buena calidad organoléptica, adaptación al cultivo y recolección mecanizados y resistencia a plagas y enfermedades [13]. No obstante, una parte de los frutos de variedades empleadas para fresco, fundamentalmente la producción de destrío descartada para la comercialización en fresco, también se utiliza para la industria conservera.

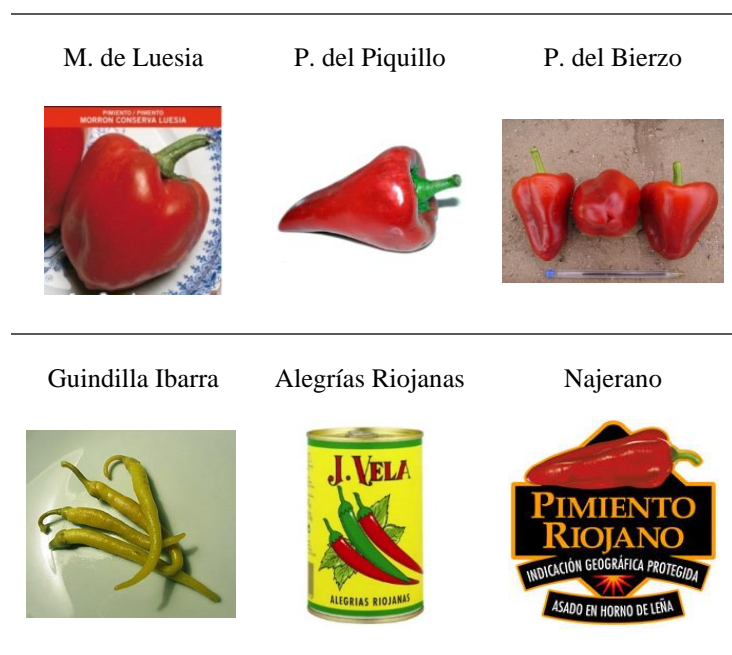


Figura 14. Relación de las principales variedades locales para la industria conservera en España.

Finalmente, dentro de la industria de pimiento deshidratado se incluyen las variedades utilizadas para la producción de pimentón (frutos deshidratados y molidos), utilizados en la condimentación alimentaria y conocidos como variedades para la obtención de “cáscara”, siendo la materia prima de las industrias extractoras de

colorantes (Figura 15). En esta industria, la forma del fruto es indiferente siempre y cuando no interfiera en la mecanización del cultivo y la cosecha de los frutos. Los parámetros importantes para dicha aplicación son la elevada productividad, la carne fina y bajo contenido en agua para facilitar el deshidratado, el alto contenido en carotenoides colorantes, la adaptación al cultivo y cosecha mecanizados y la resistencia a plagas, enfermedades y almacenamiento [13].



Figura 15. Relación de las principales variedades locales para la industria de deshidratado en España.

6. EL CULTIVO ECOLÓGICO

6.1 Generalidades de la agricultura ecológica

Existen diferentes tipos de agriculturas alternativas a la agricultura industrial o convencional que renuncia al uso de insumos químicos, garantizando sistemas más sostenibles de producción, estos modelos de producción agrícola pueden adoptar nombres como agricultura ecológica, natural, biodinámica, integrada, etc.

Los rasgos comunes a este tipo de agriculturas alternativas son:

- Existe una visión holística de los procesos y fenómenos relacionados con la producción agropecuaria.
- Tendencia a generar un sistema de producción lo más integrado y cerrado posible.
- Se emplean materias primas e insumos locales, evitando o disminuyendo la contaminación ambiental.
- Cuidado y alimentación de los organismos vivos del suelo estimulando su existencia.
- Utilización y manejo óptimo de residuos orgánicos, estimulando los procesos biológicos que metaboliza, ciclan y movilizan los nutrientes.
- Diversificación estructural de los procesos y condiciones productivas, lo que vitaliza y hace resistentes a las plantas.
- Tienen en cuenta las condiciones locales a la hora de su selección del tipo y variedad de cultivo.
- Se estimula y protege a los organismos benéficos para prevenir las plagas y enfermedades.
- Generación y conservación de un paisaje diversificado y atractivo, base para un sistema de producción sostenible.
- Se asegura la conservación y generación adicional de empleos humanamente dignos, con ingresos satisfactorios.
- Bajo riesgo empresarial y reducidos costos en capital e insumos que aseguren una rentabilidad económica local.
- No se podrán emplear, fertilizantes de fácil solubilidad, abonos y fitosanitarios sintéticos, productos químicos sintéticos para la protección y maduración en almacén, así como hormonas y reguladores del crecimiento.

La agricultura ecológica, biológica u orgánica “es un sistema holístico de gestión de la producción que fomenta y mejora la salud del agroecosistema, y en particular la biodiversidad, los ciclos biológicos de cultivo, y la actividad biológica del suelo. Hace hincapié en el empleo de prácticas de gestión prefiriéndolas respecto al empleo de insumos externos a la finca, teniendo en cuenta que las condiciones regionales requerirán sistemas adaptados localmente. Esto se consigue empleando, siempre que sea posible, métodos culturales, biológicos y mecánicos, en contraposición al uso de materiales sintéticos, para cumplir cada función específica dentro del agrosistema”

[133]. Según la Federación Internacional de los Movimientos de Agricultura Ecológica (IFOAM-Organics International, de sus siglas en inglés), la agricultura ecológica se define como “un sistema de producción que mantiene la salud de los suelos, los ecosistemas y las personas. Se basa en procesos ecológicos, biodiversidad y ciclos adaptados a las condiciones locales, en lugar del uso de insumos con efectos adversos. La agricultura ecológica combina tradición, innovación y ciencia para beneficiar el medio ambiente compartido y promover relaciones justas y una buena calidad de vida para todos los involucrados” [134].

El objetivo de la agricultura ecológica es producir alimentos de elevada calidad nutritiva en suficiente cantidad. Todo ello desarrollado dentro de un escenario sostenible donde intervienen el sistema productivo (compatible con la capacidad del ecosistema para sustentar los usos y aprovechamientos) y los sistemas social y ambiental, marcando éstos últimos las metas del desarrollo en un contexto económicamente sostenible [135]. De este modo, la agricultura ecológica persigue unas mayores exigencias respecto a la calidad del entorno, así como de los productos agrarios y el panorama asociado a ellos.

Los principios técnicos de la agricultura ecológica buscan recuperar, mantener o mejorar las condiciones ecológicas del medio, por ello se pone énfasis en el nivel de materia orgánica del suelo, se promueven los policultivos, la rotación cultural, los cultivos intercalados, mixtos, etc. para incrementar la diversidad genética, de especies y de estructuras, en el tiempo y el espacio.

En cuanto a las acciones relacionadas con la gestión y fertilización del suelo, la principal limitación está en no utilizar fertilizantes procedentes de la síntesis química, por ello la agricultura ecológica realiza prácticas de labranza y cultivo que mantienen o incrementan la materia orgánica del suelo, reforzando la estabilidad y la biodiversidad edáficas, y evitando la compactación y la erosión del suelo. Entre otras, se aplican las siguientes prácticas [136]:

- Programa de rotación plurianual de cultivos, incorporando en las rotaciones cultivos de leguminosas, abonos verdes y diversidad vegetal. La combinación de plantas con diferentes hábitos de crecimiento, formación de hojas, raíces, etc. permite una mejor utilización de los factores (nutrientes, agua y radiación solar).

- Utilización de estiércol animal o materia orgánica de producción ecológica, preferentemente compostados, con un máximo de 170 kg de nitrógeno al año por hectárea de superficie agrícola empleada.
- Uso de fertilizantes y acondicionadores del suelo permitidos según la norma vigente y en la medida necesaria, cuando las necesidades nutricionales de las plantas no puedan satisfacerse únicamente con las prácticas anteriores.
- Tratamiento del suelo o activación del compost, para mejorar las condiciones generales o la disponibilidad de nutrientes, con preparados adecuados a base de plantas y microorganismos o preparados biodinámicos.

En lo que se refiere a la gestión de plagas, enfermedades y control de especies arvenses, las prácticas se fundamentan principalmente en la prevención de los daños causados por dichos agentes, mediante:

- El equilibrio en el sistema con enemigos naturales.
- Elección de especies, variedades y materiales heterogéneos resistentes.
- Rotación de los cultivos.
- Técnicas de cultivo como la biofumigación, métodos mecánicos y físicos, y procesos térmicos como la insolación y en el caso de cultivos protegidos, el tratamiento con vapor de agua, a una profundidad de 10 cm del suelo como máximo.
- Cambios en la época y en la densidad de siembra de cultivos.
- Sólo podrán utilizarse (y únicamente en la medida necesaria) los productos y sustancias autorizados para su uso en la producción ecológica según la norma vigente, cuando las plantas no puedan protegerse adecuadamente de las plagas mediante las medidas anteriores, o en caso de que se haya comprobado la existencia de una amenaza para el cultivo.

En definitiva, el manejo de la explotación ecológica va a depender de una compleja interdependencia biológica, que condiciona estabilidad al sistema contra plagas y otras limitantes locales. Por ejemplo, la no utilización de abonos con productos químicos solubles, sobre todo de los nitrogenados, representa una ventaja para la planta al hacerla

menos vulnerable al ataque de plagas y enfermedades. Debido a que no se interfiere en el metabolismo de la planta, al no generar mayor fracción de brotes tiernos y suculentos para algunas plagas. En la misma línea, la escasez de fuentes de materia orgánica en el suelo favorece el desequilibrio y desarrollo de nematodos y hongos patógenos [137–139].

6.2 Reglamento y etiquetado de la agricultura ecológica

Para orientación del productor y protección del consumidor, a nivel internacional, el Codex Alimentarius y la IFOAM han creado unas Normas Internacionales Básicas para la Producción y Elaboración Orgánica, donde se describen los principios de gestión aprobados para la producción, manipulación, almacenamiento, elaboración, envasado, transporte, sustancias permitidas y procedimientos de inspección y certificación [140]. Estas directrices son normas mínimas que orientan a los gobiernos y organismos privados de certificación en el establecimiento de normas, por lo que los sistemas de agricultura ecológica son diversos y se producen en todo el mundo.

En muchos países, la agricultura ecológica cuenta con una clara base legislativa y sistemas de certificación para la producción y la transformación. En concreto alrededor de 180 países reconocen los modelos agricultura ecológica. Muchas de las prácticas agroecológicas están reguladas por políticas nacionales y controladas por organizaciones supranacionales que promueven la agricultura ecológica. Los reglamentos que especifican la producción ecológica y de la transformación de alimentos ecológicos son muy estrictos, y adherirse a ellos debe generar garantía de una alta calidad del producto.

En la Unión Europea, la agricultura ecológica está regulada desde el 1 de enero de 2009 por el Reglamento (CE) 834/2007 del Consejo de 28 de junio de 2007 sobre producción y etiquetado de los productos ecológicos, que deroga el Reglamento (CEE) 2092/91 [141]. Se espera la entrada en vigor de una nueva regulación por el Reglamento (UE) 848/2018 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 30 de mayo de 2018, sobre producción ecológica y etiquetado de los productos ecológicos y por el que se deroga el Reglamento (CE) 834/2007 del Consejo [136]. Este Reglamento define que es obligatorio el uso del logotipo de producción ecológica de la Unión Europea en los productos ecológicos envasados producidos en los países comunitarios. Además, en el etiquetado también se permite añadir el logotipo del país o de la región de origen.

La UE ha establecido un sistema de control en el que intervienen organismos que llevan a cabo una serie de inspecciones físicas de las instalaciones de producción o de transformación, la verificación de la contabilidad documental y la obtención de muestras de productos finales, productos cosechados, muestras vegetales o de suelos, etc. para comprobar si se han utilizado sustancias no autorizadas por el Reglamento.

La figura 16 muestra la jerarquía en el proceso de control y certificación [142]. Los Estados miembros de la UE designan a las autoridades competentes encargadas de autorizar y supervisar los organismos de control, y aplicar las medidas de ejecución (incluidas sanciones) cuando sea necesario. En el caso español, la autoridad competente es el Ministerio de Agricultura, quien delega las competencias a las Consejerías de Agricultura en las correspondientes Comunidades Autónomas. Los sistemas de control y de certificación pueden ser públicos, privados o una combinación de ambos. Los organismos de control privados deben estar acreditados de acuerdo con la Norma ISO/IEC 17065 [143] y deben ser independientes, imparciales y profesionalmente íntegros. El reconocimiento por parte de los consumidores del producto ecológico se realiza a través del logotipo que otorga los organismos de control a los operadores. Y con él se protegen los alimentos obtenidos por este sistema productivo y quedan protegidos para la alimentación los términos ecológico, biológico y orgánico y sus acrónimos “eco” y “bio”.

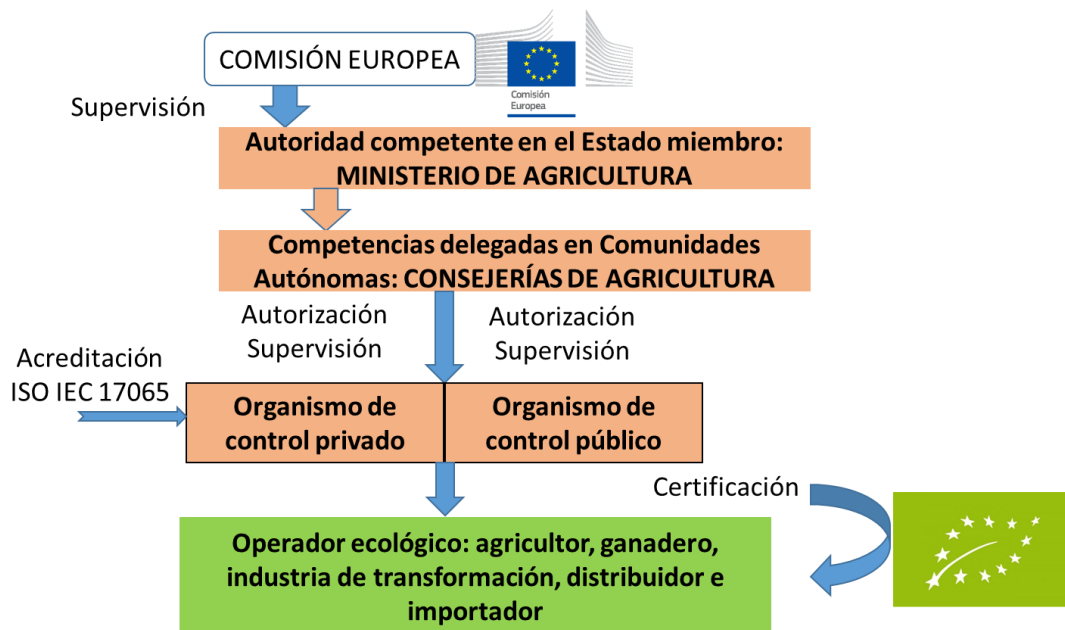


Figura 16. Estructura legislativa de control y certificación del Reglamento de Producción Ecológica [142].

Según IFOAM cuatro principios fundamentales avalan la definición de agricultura ecológica [144]:

- Principio de Salud: La agricultura ecológica debe sostener y mejorar la salud del suelo, plantas, animales, seres humanos y del planeta como un todo indivisible.
- Principio de Ecología: La agricultura ecológica debe basarse en sistemas y ciclos ecológicos vivos, trabajar con ellos, emularlos y ayudarlos a sostenerlos.
- Principio de Equidad: La agricultura ecológica debe basarse en relaciones que aseguren la equidad con respecto al ambiente y las oportunidades de la vida.
- Principio de Cuidado: La agricultura ecológica debe ser manejada de manera preventiva y responsable para proteger la salud y el bienestar de las generaciones actuales y futuras, y del medio ambiente.

6.3 Tendencias de consumo y producción ecológica

Según el reglamento europeo, la producción ecológica es «un sistema general de gestión agrícola y producción de alimentos que combina las mejores prácticas en materia de medio ambiente y clima, un elevado nivel de biodiversidad, la conservación de los recursos naturales y la aplicación de normas exigentes sobre bienestar animal y sobre producción que responden a la demanda, expresada por un creciente número de consumidores, de productos obtenidos a partir de sustancias y procesos naturales». Entre los productos ecológicos se cuentan alimentos, bebidas, piensos y semillas, tanto transformados como no transformados.

En los últimos años se ha observado una tendencia creciente en el consumo de productos provenientes de agricultura ecológica. Un motivo fundamental de esta tendencia es la actual preocupación medioambiental que demanda el uso de prácticas más respetuosas tanto con la fauna y flora de los ecosistemas como con su entorno natural [145,146]. El aire, suelo y agua que componen este entorno, junto con los productos de consumo derivados de la actividad agraria, suponen un medio de difusión hacia el ser humano y demás seres vivos de los productos fitosanitarios y fertilizantes utilizados en las prácticas agrícolas [147]. Algunos de estos productos tienen efectos carcinogénicos, mutagénicos, neuro-destructivos, alérgicos y producen alteraciones endocrinas, suponiendo una amenaza no sólo para la salud humana sino también para la

biodiversidad [148,149]. Los posibles riesgos para la salud humana asociados a estos productos junto con la suposición de que los alimentos ecológicos son más ricos en compuestos nutritivos son también causas del aumento de la demanda de productos ecológicos [148,150–152]. De esta manera, la preocupación por la propia salud humana junto con la concienciación social hacia los problemas medioambientales, representan los motivos fundamentales que promueven el uso de prácticas más sostenibles y respetuosas como las aplicadas en la agricultura ecológica.

En términos numéricos, esta tendencia creciente queda reflejada en la evolución de varios parámetros como, la superficie dedicada al cultivo ecológico en los últimos años. La superficie cultivada a nivel mundial ha pasado de más de 43 millones de hectáreas en 2013 a 71.5 millones de hectáreas en 2018 [153]. En Europa para el mismo periodo pasó de 11.4 a 15.6 millones de hectáreas, estando el 3.12% de la superficie de cultivo dedicada a la producción ecológica con 418'610 productores (Figura 17). En este sentido el 22% de la superficie ecológica mundial se encuentra en Europa, siendo España, Francia, Italia y Alemania los países europeos con mayor superficie destinada al cultivo ecológico en orden descendente. Hay nueve países en Europa con más de un 10% del área de cultivo destinada a la producción ecológica: Liechtenstein, Austria, Estonia, Suecia, Italia, Letonia, Suiza, Finlandia y la República Checa, en orden descendente desde un 39% hasta un 13%.

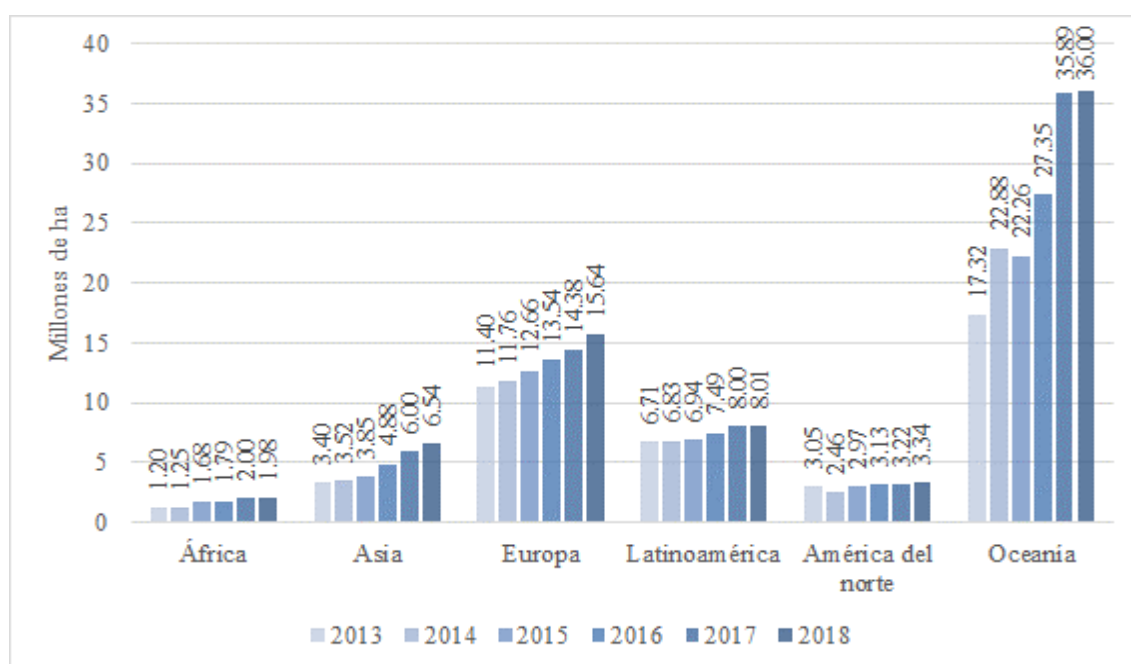


Figura 17. Evolución por continentes de la superficie dedicada a la agricultura ecológica desde 2013 a 2018 [153].

El mercado europeo según cifras relativas en este sector pasó de 24.2 mil millones de euros en 2013 a 40.7 mil millones de euros en 2018 [153]. Con estos números, la agricultura ecológica se encuentra actualmente en un contexto bastante positivo y la tendencia hacia alternativas más sostenibles favorece este panorama. El actual estado de crisis ambiental ha hecho que muchos países se hayan declarado en estado de emergencia climática [154,155]. Así, las políticas agroalimentarias se enfrentan a retos que requieren de un nuevo marco estratégico: proteger el medio ambiente y la biodiversidad, mitigar el cambio climático, permitir el desarrollo rural y garantizar la producción de alimentos de calidad, para satisfacer el consumo sostenible basado en el bienestar rural y una dieta saludable [156–159]. Para poder avanzar y llegar a soluciones más competitivas, es necesario un conocimiento científico y tecnológico, siendo indispensable una mayor inversión en el sector y la apuesta por planes de acción que proporcionen un marco para la integración de políticas y medidas con el fin de fomentar el desarrollo del sector ecológico [160–162].

6.4 Influencia del sistema de producción ecológica en la calidad

La calidad del fruto puede venir determinada por diversos atributos según se haga referencia a la calidad externa o interna. En el cultivo ecológico, la calidad visual o externa no tiene por qué verse afectada comparada con el cultivo convencional. Las características visuales de los cultivos han sido mejoradas a lo largo de los años mediante la selección, siendo las variedades mejoradas para estos caracteres las que aportan dicha calidad. El uso generalizado en producciones ecológicas de variedades alternativas a las convencionales, como las variedades tradicionales o locales, con posibles caracteres de calidad externa potencialmente mejorables, hace que se pueda correlacionar de manera errónea estos aspectos de calidad visual con el sistema de producción ecológico.

En cuanto a la calidad interna, se distinguen la calidad organoléptica (contenido en azúcares, ácidos, textura, aroma...) y la calidad nutricional (vitaminas, proteínas, carotenoides, compuestos fenólicos, minerales...). En referencia a la calidad organoléptica, generalmente los estudios coinciden en que el sabor de los frutos ecológicos es mejor, estando relacionado con un mayor contenido en sólidos solubles [163–166]. Sin embargo, otros estudios encontraron contenidos similares en el

contenido total de azúcares [167]. Rembiałkowska, a través de un panel de cata determinó que las frutas y verduras de procedencia ecológica tenían mejores cualidades sensoriales, además también observó menores cantidades de nitratos para el cultivo ecológico, lo que mejoraría a su vez la calidad nutricional de los frutos [168]. En hortalizas de hoja ecológicas, se observó que la textura mejoraba debido al menor aporte de nitratos [169,170]. En cuanto al aroma, en zumo de mandarina ecológico se detectaron concentraciones mayores de volátiles que beneficiaban la calidad [171]. Este mismo aspecto se observó en aceite esencial de mejorana [172].

A nivel de calidad nutricional existen mayores discrepancias. El estudio de Brandt et al. describe que la mayor disponibilidad de nitrógeno, propia de los sistemas convencionales con fertilización nitrogenada, reduce la acumulación de vitamina C y metabolitos secundarios relacionados con la defensa de las plantas, mientras que otros metabolitos secundarios como los compuestos carotenoides, no implicados en la defensa contra plagas y enfermedades, pueden aumentar [173]. En esta línea, para los estudios sobre el contenido en carotenoides se han visto mayores variaciones. Hay trabajos donde se ha detectado mayor cantidad de compuestos carotenoides para el cultivo ecológico [174–177], mientras que otros encontraron cantidades menores en dicho sistema [175,178–180] y otros registraron contenidos similares para ambos sistemas [181–183]. En cuanto al contenido en proteínas, generalmente se produce un aumento en el sistema convencional respecto al ecológico [163,184,185], mientras que la calidad de las proteínas es superior en el sistema ecológico [184,186–188]. La mayoría de los estudios para el contenido en vitamina C han determinado que los frutos provenientes de sistemas ecológicos tienen mayores cantidades de dicho antioxidante [165,189–193], aunque algunos trabajos también detectaron contenidos similares o menores [179,194,195]. En el caso de los compuestos fenólicos se observa una tendencia similar, generalmente con mayores contenidos registrados para el sistema de cultivo ecológico [178,196–201], habiendo también discrepancias [202–204]. El contenido en minerales también resultó generalmente mayor en el cultivo ecológico [186].

Existen dos teorías principales que explican los factores que determinan los niveles de los compuestos en las plantas [205]. Por un lado la teoría del balance carbono/nitrógeno, sostiene que en condiciones de fácil disponibilidad de nitrógeno, la planta favorecerá la producción de compuestos con alto contenido en nitrógeno (proteínas y metabolitos secundarios nitrogenados, como alcaloides y glucosinolatos),

mientras que en condiciones limitantes de nitrógeno, el metabolismo de la planta beneficiará a los compuestos que contienen más carbono (celulosa, almidón y metabolitos secundarios como compuestos fenólicos y terpenoides). La segunda teoría es la hipótesis del balance crecimiento/diferenciación (GBDH), por la cual la planta valora los recursos disponibles y optimiza sus procesos metabólicos en consecuencia hacia el crecimiento o la diferenciación (formación de compuestos defensivos, maduración y desarrollo de semilla), siendo la teoría del balance C/N un caso especial de la teoría GBDH, ya que la limitación de nitrógeno es una condición bastante frecuente en los ecosistemas naturales [206].

Muchos de los resultados de los estudios anteriores podrían explicarse según estas teorías. Así, se esperaría una mayor acumulación de productos ricos en carbono y con mayor implicación en funciones de diferenciación en los frutos producidos en sistemas de producción ecológico, como, por ejemplo, la vitamina C y los compuestos fenólicos. Por otro lado, el contenido en compuestos nitrogenados y relacionados con el crecimiento, como las proteínas, habría ser mayor para los producidos en sistemas convencionales con fertilización nitrogenada. Sin embargo, existen discrepancias entre las conclusiones de los trabajos. Estas inconsistencias podrían deberse a la variabilidad de las condiciones de los estudios, como por ejemplo, las prácticas culturales de los sistemas, el historial del suelo, el sistema y calidad de agua de riego, las condiciones ambientales y las variedades empleadas [207].

En cuanto a la calidad del suelo y su influencia en la salud del cultivo, muchos estudios a largo plazo han demostrado que las prácticas culturales como la rotación de cultivos, el uso de cultivos de cobertura y el abonado de origen animal tienen un efecto significativo en la salud de las plantas [208–213]. El sistema de cultivo ecológico con un buen manejo generalmente aumenta la calidad del suelo en comparación con el cultivo convencional [138,211,214–217]. Algunas revisiones recientes y metaanálisis confirman que la agricultura ecológica generalmente incrementa el carbono orgánico del suelo, como indicador clave en la calidad del suelo [218–221]. Sin embargo, también existen discrepancias al respecto [218,222]. Esta disconformidad, tal y como se ha visto para la calidad interna, podría verse explicada por la gran diversidad de prácticas culturales empleadas entre los productores ecológicos y los productores convencionales [207]. Por otro lado, otros autores han detectado una gran influencia en la actividad enzimática del suelo por parte de los productos químicos empleados en la agricultura,

así como por las prácticas agrícolas, detectando valores superiores en los sistemas conservacionistas [53].

6.5 Influencia del sistema de producción ecológica en la calidad del pimiento

A pesar de los numerosos estudios realizados evaluando la influencia de la agricultura ecológica en distintos aspectos de calidad, los trabajos llevados a cabo en pimiento son escasos. Algunos autores han estudiado caracteres de calidad nutricional como la vitamina C, los carotenoides y los compuestos fenólicos en el cultivo ecológico. Sin embargo, la diversidad genética utilizada en los trabajos es escasa, empleando únicamente una o tres variedades de la especie *C. annuum*, no siempre evaluando ambos estados de madurez comercial [56,57,176]. En cuanto a los aromas, no existen trabajos específicos comparando el perfil aromático entre frutos cultivados en el sistema convencional y el ecológico. La investigación de la calidad nutricional y organoléptica en el cultivo del pimiento resulta de especial interés dado el alto contenido en compuestos antioxidantes y la gran variedad de perfiles aromáticos. Además, la explotación de la amplia diversidad genética de este cultivo en interacción con los diferentes estados de maduración enriquece las posibilidades y oportunidades en potenciales programas de mejora y adaptación de los materiales vegetales para agricultura ecológica.

Objetivos

Los objetivos del presente trabajo se han fijado atendiendo a la importancia adquirida durante los últimos años en el consumo de productos ecológicos, con una demanda cada vez mayor por parte de los consumidores, ante la falta de materiales desarrollados específicamente para las condiciones de la producción ecológica, y dotados de alta calidad nutricional y organoléptica.

La revisión bibliográfica muestra la existencia de algunos trabajos interesantes sobre calidad nutricional en el cultivo de *Capsicum* bajo prácticas agrícolas ecológicas, sin embargo, la mayoría de ellos están basados en una diversidad varietal escasa o nula y/o únicamente considerando un estado de maduración comercial de los frutos. Por lo tanto, el conocimiento sobre el rango de respuestas esperadas por parte de la gran diversidad de variedades tradicionales de pimiento disponibles, así como las oportunidades para explotar la interacción genotipo por ambiente en cada estado de madurez, es prácticamente inexistente. Esta carencia de información es todavía más notoria en los trabajos sobre calidad organoléptica, en concreto sobre el perfil aromático de los frutos de pimiento, ya que este aspecto de calidad en frutos *Capsicum* no ha sido evaluado en el cultivo ecológico.

Atendiendo a estos aspectos se desarrollan dos de los principales objetivos de la tesis, expuestos en los dos primeros capítulos de ésta y que hacen referencia a la Calidad Nutricional (compuestos nutricionales) y Calidad Organoléptica (compuestos volátiles) en el cultivo de pimiento bajo condiciones de cultivo ecológico. De este modo, sobre una amplia colección de accesiones de pimiento, pertenecientes a la especie *C. annuum* y otros pimientos exóticos de las especies *C. baccatum*, *C. chinense* y *C. frutescens*, que incluye variedades tradicionales o ecotipos españoles con Denominación de Origen Protegida (DOP) y con Indicación Geográfica Protegida (IGP), además de variedades y ecotipos de otros países, cultivados en condiciones de cultivo ecológico y cultivo convencional se pretende determinar, tanto en estado inmaduro (verde) como maduro (rojo/naranja/chocolate):

- La contribución que los efectos variedad (accesión o genotipo), estado de madurez y sistema de cultivo, así como las interacciones entre éstos, pueden tener sobre la variación en el contenido de ácido ascórbico, fenoles totales, carotenoides,

flavonoides individuales (calidad nutricional) y compuestos volátiles (calidad organoléptica).

- El estudio detallado de cómo el estado de madurez y el proceso de maduración afecta a los niveles de ácido ascórbico, compuestos fenólicos totales e individuales y compuestos volátiles, tanto en términos generales como a nivel individual para cada accesión. De forma análoga, también se pretende determinar como el sistema de cultivo, dentro de cada estado de madurez, afecta a los niveles de estos antioxidantes junto con carotenoides totales y compuestos volátiles, tanto en promedio como considerando individualmente cada accesión.
- Profundizar en la interacción genotipo \times sistema de cultivo para cada accesión (genotipo) en base a regresiones entre el cultivo ecológico y el convencional, a fin de identificar qué entradas se ven más favorecidas por las condiciones de cultivo ecológico o convencional para cada estado de madurez y explotar la interacción genotipo \times ambiente (sistema de cultivo) o, alternativamente, identificar aquellas entradas más estables frente al sistema de cultivo y, por tanto, susceptibles de ser seleccionadas para ambos sistemas de cultivo, según su concentración en compuestos bioactivos.

Según la información disponible, este es el primer estudio comparativo exhaustivo en *Capsicum* para la adaptación al cultivo ecológico explotando su variación en compuestos bioactivos para cada estado de madurez comercial. Igualmente, atendiendo a la diversidad genética estudiada junto con las interacciones del estado de madurez y las prácticas culturales, este trabajo amplía enormemente el conocimiento actual sobre el perfil volátil en los frutos *Capsicum*.

Otro de los factores influyentes en la calidad del cultivo es la salud y fertilidad del suelo. La calidad y salud del suelo influye tanto en el rendimiento del cultivo como en aspectos de la calidad de éste (ej. calidad nutricional). Existen trabajos que han evaluado la salud del suelo en el sistema de cultivo ecológico, pero la medida de la interacción con el factor genético (el cultivo) es casi nula. En relación con estos aspectos se desarrolla el tercer objetivo principal, expuesto en el tercer capítulo de la tesis y que estudia la Actividad Enzimática en el cultivo de pimiento bajo condiciones de cultivo ecológico, como medida indirecta de la fertilidad biológica del suelo. Por ello, dentro de la misma colección de accesiones de pimiento descrita para los aspectos

de calidad nutricional y organoléptica, y en condiciones de cultivo ecológico y cultivo convencional, se pretende determinar, en las fases inicial, intermedia y final del cultivo:

- La contribución de los efectos genotipo y sistema de cultivo, así como sus interacciones, sobre los valores de dos actividades enzimáticas del suelo, la de la fosfatasa alcalina y la de la catalasa.
- El estudio detallado de cómo la fase del cultivo afecta a los valores de las actividades enzimáticas, a nivel general por sistema de cultivo (comparando entre las fases inicial, intermedia y final), y a nivel individual para cada accesión en cada sistema (comparando entre fases intermedia y final).
- De manera análoga, también se pretende determinar como el sistema de cultivo, dentro de cada fase, afecta a los valores de las actividades enzimáticas, en promedio y para cada accesión.
- En la fase final de cultivo, se pretende definir las diferencias de los niveles de actividad enzimática entre los dos tipos de muestreo para esta fase, es decir, entre la zona de la rizosfera y el muestreo entre plantas, a nivel general por sistema de cultivo y a nivel individual para cada accesión en cada sistema.

La evaluación de la interacción del factor genético que aporta la gran diversidad de la colección de accesiones de *Capsicum* empleadas, es un aspecto totalmente novedoso en el estudio de la calidad del suelo en agricultura ecológica.

Resultados

**CAPÍTULO 1: CALIDAD NUTRICIONAL EN EL CULTIVO DE PIMIENTO
BAJO CONDICIONES DE CULTIVO ECOLÓGICO**



Response to organic cultivation of heirloom *Capsicum* peppers: variation in the level of bioactive compounds and effect of ripening

Short title: Organic cultivation and ripening effects on *Capsicum* peppers quality

Ana M. Ribes-Moya, María D. Raigón, Estela Moreno-Peris, Ana Fita, Adrián Rodríguez-Burruezo*

Instituto COMAV. Edificio 8E, acceso J. Universitat Politècnica de València, Valencia, Spain

* Corresponding author

E-mail: adrodbur@doctor.upv.es

Published: November 21, 2018

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0207888>

Abstract

Peppers (*Capsicum* spp.) are one of the most important vegetables and their double use (vegetable or spice) and two commercial stages (unripe and fully ripe) contributed to their use in many recipes and fast diffusion from America. Nowadays, Spain is a center of diversity for *C. annuum*, with many landraces, offering a great opportunity for adaptation to organic cultivation. Furthermore, *Capsicum* peppers contain many bioactive compounds, essential to provide high added-value to these cultivars, especially for organic markets, although knowledge about the effect of organic cultivation on *Capsicum* fruit quality is still scarce. Here, 37 accessions of Spanish landraces and foreign materials from *C. annuum* and other species were grown under organic and conventional conditions and evaluated for ascorbic acid (AAC), total phenolics (TP) and total red and yellow/orange carotenoids, considering both ripening stages. A large genotypic variation was found within each ripening stage and growing condition for the studied traits. Also, both stages showed high levels, although fully ripe fruits were the richest. Organic conditions enabled higher levels in fully ripe fruits of AAC and TP on average (135 vs. 117 mg·100 g⁻¹ and 232 vs. 206 mg·100 g⁻¹) and in most accessions, although the genotype×growing conditions interaction also contributed, but at lower extent, to the observed variation. Significant genotype×ripening stage and growing conditions×ripening stage interactions were also found, suggesting that the magnitude of the increase with ripening depends on the accession and growing conditions. By contrast, there were no differences between growing conditions for carotenoids and differences were mainly due to the genotype factor. Finally, the large genotypic variation and favourable organic conditions allowed identifying several materials from different types and uses with very high levels of bioactive compounds for organic cultivation, in both ripening stages but particularly at fully ripe stage (>500 mg·100 g⁻¹).

Introduction

The increase of human population and changes in their needs are causing a considerable impact on the use of land for cultivation and drives to an unsustainable use of agricultural inputs [1]. Furthermore, human selection practices, unsustainable agricultural and industrial activities, and spreading of urban areas have brought to displacement and readjustment of natural ecosystems [2]. All these facts are driving regional, national, and international institutions to consider a change in the management of resources and inputs towards a more efficient use and exploitation [3,4]. For these reasons, the efforts in more sustainable and environment-friendly agricultural practices are increasing. Furthermore, organic agriculture is expanding in the last years, offering farmers an alternative of diversification of their production. In addition, Europe has increased the acreage for organic agriculture, from 6.8 million hectares in 2005 to 13.5 million hectares in 2016 [5]. This is mainly due to a growth in the demand of consumers, who require products coming from more sustainable production systems [6,7].

Nowadays, most cultivars used in organic production are modern F1 materials, with a narrow genetic pool, and initially developed for conventional high-input conditions. By contrast, heirlooms, ecotypes and local varieties encompass a wide genetic diversity and evolved and were bred under low input conditions, similar to those of the current organic agriculture. Also, consumers are increasing the demand in products with “the taste of the past” of ancient landraces. Furthermore, the wide diversity encompassed by traditional cultivars offers the opportunity to select high added value materials on the basis of their composition, which is also another highly demanded trait from consumers. Finally, promoting the use of traditional landraces and ecotypes under organic cultivation contributes to mitigate the genetic erosion of agrobiodiversity in terms of environmental and ecological characteristics [8].

In this regard, the fruits from *Capsicum* species, known as peppers or chillies, are grown worldwide with a harvested area of 1.7 and 1.9 million ha of dry chillies and fresh pepper in 2014, respectively [9]. Native from America, they encompass a huge genetic variation and there are five cultivated species, including the common pepper *C. annuum* and its relatives, members of the *annuum* complex, *C. chinense* (e.g. Habanero, Jolokia types) and *C. frutescens* (e.g. Tabasco types, bird peppers). In addition, other

species like *C. baccatum* or South American *ají* and *C. pubescens* or *rocoto* are profusely cultivated and consumed in the Andean region [10,11]. *C. annuum* is spread worldwide and has become the most important species, with a plethora of varietal types adapted to a wide range of agroclimatic conditions [12]. *Capsicum* peppers, both unripe and fully ripe stages, have a range of culinary uses as vegetable and/or spice, colorant or preservative agents, as well as medicinal, cosmetic and ornamental uses [13,14]. Moreover, Spain is a relevant center of diversity, especially for *C. annuum* since it was introduced in the 15th century from America. The diversity of agroclimatic conditions and a process of adaptation and traditional breeding performed by generations of farmers arose many ecotypes and landraces. In fact, *C. annuum* is the vegetable with the highest number of protected designations of origin (PDOs) and protected geographical indications (PGIs) in Spain [8].

As already mentioned, these materials could be exploited by their environment adaptation and quality. In this regard, *Capsicum* peppers have been reported to have the highest antioxidant properties among common-use vegetables as a result of their high levels of bioactive compounds, e.g. ascorbic acid, phenolics and carotenoids [15–17]. Ascorbic acid (i.e. vitamin C, mainly L-ascorbic), is one of the most powerful antioxidants [18] and appears at high levels in *Capsicum* pods, increasing with ripening [19] and considerably higher than other fruits such as orange or kiwifruit [20]. Phenolics are secondary metabolites with very diverse roles: defence against pests and stresses, contribution to fruit flavour and colour, growth regulation, etc. [21,22]. Flavonoids (e.g. quercetin and luteolin) are the most abundant group in *Capsicum* fruits and significant antitumoral, antioxidant and antiviral activities have been attributed to these metabolites [23–25]. Finally, the diversity of colours in the fully ripe fruits of *Capsicum* is due to a combination of up to more than thirty carotenoids. They contribute as food colorants, but also as protectors against photooxidation and providing health benefits as antioxidants, vitamin A precursors or antitumoral agents [26–30]. Carotenoids are mainly present in the fully ripe fruits of *Capsicum*, while their level are comparatively negligible (or even nil) in unripe fruits [31]. Therefore, these traits are of paramount importance for breeding peppers and, at the same time, for promoting the use of traditional varieties of *C. annuum* by increasing their added value in the frame of organic production and markets.

Objective

Despite there are some interesting reports on the levels of bioactive compounds in *C. annuum* under organic practices, most of them were based on a scarce or nil varietal diversity and/or only considered one ripening stage [32–34]. Thus, the knowledge about the range of responses expected from the great variation available in the traditional varieties of this crop, as well as the opportunities for exploiting the genotype-by-environment interaction at each ripening stage, remains almost nil. The objective of the present work is to assess, in a comprehensive collection of *C. annuum* and other exotic *Capsicums*, the response of different genotypes to organic practices in comparison to conventional practices in terms of the levels of their main bioactive factors, i.e. ascorbic acid, phenolics, and carotenoids, considering also the two main commercial stages, unripe and fully ripe. The effect of ripening stage and growing conditions, as well as the interactions of cultivars (genotype) with these factors and the opportunities of selecting materials for specific growing conditions are also discussed. To our knowledge, this is the first comprehensive comparative study in *Capsicum* for adaptation to organic conditions by exploiting their variation in bioactive compounds.

Materials and methods

Plant material

A collection of thirty-seven accessions of *Capsicum* was evaluated in this work, encompassing a wide diversity of varietal types and origins, including many Spanish traditional varieties or ecotypes from PDOs and PGIs and several peppers and chillies from other countries (Table 1, S1 and S2 Figs). This collection mainly included *C. annuum* accessions (30 accessions), but also included *C. chinense* (4), *C. frutescens* (1) and South American ají *C. baccatum* (2).

Table 1. List of accessions used, with local name, origin and fruit traits, and years of evaluation in the experiment.

Cultivar/accession	Origin	Colour	Mesocarp	Shape (Pochard type)	Length/width (mm)	Weight (g)	Year(s)
<i>C. annuum</i>							
Bell peppers							
Bierzo (1)	Cons. Reg. PGI Pimiento Asado Bierzo. Carracedelo, Leon (Spain)	Red	Thick, fleshy	Conical/heart (P)	104/94	100-200	2015-2016
CW Aguila F1	Syngenta Seeds Spain	Pale red	Thick, fleshy	Squared (A1-A2)	112/97	200-300	2015
CW breeding line	COMAV Institute. Valencia (Spain)	Red	Thick, fleshy	Squared (A1-A2)	119/105	200-300	2015
Cuneo	S. Lanteri. Torino, Piedmont (Italy)	Yellow	Thick, fleshy	Squared (A2)	115/109	>250	2015-2016
Najerano	Cons. Reg. PGI Pimiento Riojano. Logroño, La Rioja (Spain)	Red	Thick, fleshy	Triangular elongated (C3)	146/68	150-250	2015
Pimiento Valenciano	COMAV Institute. Valencia (Spain)	Red	Thick, fleshy	(Bell) Elongated (B1)	162/73	>250	2015
Other <i>C. annuum</i>							
Ancho	Puebla (Mexico)	Deep red	Medium	Triangular (C4)	70/45	25-50	2015
Arnoia	PGI Pemento da Arnoia. Orense, Galicia (Spain)	Red	Medium	Elongated (B3)	75/48	25-50	2015
Berbere	Ethiopia. Reimer's Seeds Co.	Red	Thin, high dry	Elongated (B4)	68/18	<10	2015
Bola	Cons. Reg. PDO Pimentón Murcia. Totana, Murcia (Spain)	Deep red	Thin, high dry	Round (N)	35/41	10-25	2015-2016
Chile de Arbol	Mexico. Reimer's Seeds Co.	Red	Thin, high dry	Very elongated (C1)	75/10	<10	2015
Chimayo	Chimayo, New Mexico (USA)	Red	Medium	Elongated (C2-C3)	141/32	25-50	2015
Di Senise	S. Lanteri. PGI Peperone di Senise. Senise, Potenza (Italy)	Deep red	Thin, high dry	Elongated (C2)	152/37	25-50	2015-2016
Doux Long des Landes	Françoise Jourdan. INRA Geves (France)	Red	Medium	Very elongated (C1)	156/23	25-75	2015-2016
Espelette	Françoise Jourdan. Type PGI Piment d'Espelette. INRA Geves (France)	Deep red	Thin, high dry	Elongated (C3)	138/29	25-50	2015-2016
Gernika	I. Ruiz de Galarreta. PGI Gernikako Piperra. NEIKER, Euskadi (Spain)	Deep red	Thin, high dry	Elongated (C2)	84/32	25-50	2015-2016
Guindilla Ibarra	I. Ruiz de Galarreta. EUSKO-Quality Label. NEIKER, Euskadi (Spain)	Red	Thin, high dry	Very elongated (C1)	139/11	<10	2015-2016
Jalapa F1	P.W. Bosland. NMSU, Las Cruces, New Mexico (USA)	Pale red	Thick, fleshy	Elongated (B4)	75/21	10-25	2015
Jalapeno Candelaria	P.W. Bosland. NMSU, Las Cruces, New Mexico (USA)	Pale red	Thick, fleshy	Elongated (B4)	68/22	10-25	2015
Jalapeno Espinalteco	P.W. Bosland. NMSU, Las Cruces, New Mexico (USA)	Pale red	Thick, fleshy	Elongated (B4)	78/22	10-25	2015
Mojo Palmero	Reserva Mundial de la Biosfera. La Palma, Canary Islands (Spain)	Deep red	Thin, high dry	Elongated (C2)	56/21	10-25	2015-2016
Numex 6-4	P.W. Bosland. NMSU, Las Cruces, New Mexico (USA)	Pale red	Medium	Elongated (C2)	225/36	50-200	2015
Numex Big Jim	P.W. Bosland. NMSU, Las Cruces, New Mexico (USA)	Red	Medium	Elongated (C2)	215/34	50-200	2015-2016
Numex Conquistador	P.W. Bosland. NMSU, Las Cruces, New Mexico (USA)	Red	Medium	Elongated (C2)	231/32	50-200	2015
Padron	Cons. Reg. PDO Pemento Herbón. Coruña/Pontevedra, Galicia (Spain)	Red	Thin, high dry	Elongated (B4)	65/26	<10	2015-2016
Pasilla	Mexico. Reimer's Seeds Co.	Brown	Thin, high dry	Very elongated (C1)	210/25	10-25	2015-2016
Petit Marsellais	Françoise Jourdan. INRA Geves (France)	Orange	Thin, high dry	Elongated (B2)	75/42	10-25	2015
Piquillo	Cons. Reg. PDO Pimiento Piquillo de Lodosa. Lodosa, Navarra (Spain)	Deep red	Medium	Triangular (C4)	94/48	50-100	2015-2016
Serrano Criollo	COMAV Institute. Valencia (Spain)	Red	Thin, high dry	Elongated (B4)	38/14	<10	2015
Serrano	Mexico. Reimer's Seeds Co..	Red	Medium	Elongated (B4)	35/16	<10	2015-2016
Other <i>Capsicum</i> species							
BOL-37R (<i>C. baccatum</i>)	Sillane. Chuquisaca (Bolivia)	Red	Medium	Elongated	105/26	5-15	2015
BOL-58 (<i>C. baccatum</i>)	Cochabamba. Cochabamba (Bolivia)	Deep red	Thin, high dry	Elongated	70/15	5-10	2015-2016
Aji dulce (<i>C. chinense</i>)	Caracas (Venezuela)	Pale red	Thin, high dry	Flattened	20/35	5-10	2015
ECU-973 (<i>C. chinense</i>)	El Chaco, Napo (Ecuador)	Red	Thin, high dry	Elongated	44/12	5-10	2015
ECU-994 (<i>C. chinense</i>)	Archidona, Napo (Ecuador)	Red	Thin, high dry	Triangular	42/15	5-10	2015-2016
PI-152225 (<i>C. chinense</i>)	COMAV Institute. From USDA (USA)	Deep red	Thin, high dry	Elongated	40/11	5-10	2015
BOL-144 (<i>C. frutescens</i>)	Yapacani. Santa Cruz (Bolivia)	Red	Thin, high dry	Very elongated	26/6	1-3	2015

Growing conditions

Plants materials were grown open field in two growing conditions, organic and conventional, in the spring-summer growing season of years 2015 and 2016. To work with large numbers of accessions, individuals and fruit analyses is tedious and time-consuming and also involves several technical and logistics difficulties. For this reason, our experiment and materials were conducted in two years and a group of 16 accessions were evaluated in both years as controls of the year effect (Table 1). In both growing conditions plants were transplanted at the 4-5 true leave stage, in April 2015 and 2016 and at planting frame 1×0.5 m. Both organic and conventional experimental plots were located in the area of Sagunto (northern Valencia city, Spain). The organic plot was located in the *Marxal dels Moros* protected area (UTM coordinates X: 734494.88, Y: 4390434.86), while the plot managed under conventional conditions (control) was close to the organic plot to get the same conditions in climate, water, irrigation time, and similar soil main properties (see S1 Table) (UTM coordinates X: 732900.40/ Y: 4391754.37). Plants were irrigated by surface irrigation every 8-10 days, depending on the evapotranspiration, from the irrigation ditch that bordered the plots. In this way, both growing systems differed mainly in management and historical soil conditions.

Both plots were managed by technicians and farmers from the *Unió de Llauradors i Ramaders* (LA UNIÓ), one of the most relevant farmers association in organic production in the Region of Valencia, following their usual organic or conventional practices. The organic management was based in a soil with rotation of crops every four years. Also, fertilization was based on organic sheep manure (4 kg/m²) at the beginning of the season. External treatments for pest control were not necessary as natural predators maintained the microfauna balance. Adventitious plants were controlled by hand tools monthly and three thermal applications (i.e. gas burners) per season, applied on emerging plantlets. The conventional management included fertilization based on one application of vegetable humus (4 kg/m²) and one application of a mix of nitrogen, phosphorus and potassium (15-15-15) (50 g/m²) before transplanting. After transplanting calcium nitrate was applied at three times (one at 20 g/L and two at 10 g/L) and iron chelate was applied once at a dose of 3 kg/1000 m². Pest and diseases were controlled by applying chlorpyrifos (48%, EC) and abamectin (1.8%, EC) as pesticides, combined with copper oxychloride (58.8% WP) as fungicide. Copper oxychloride (100 cc) combined with chlorpyrifos (50 cc) in 20 L of water were applied

six times along the growing season, while copper oxychloride (100 cc) combined with abamectin (30 cc) in 20 L of water were applied three times. Adventitious plants were controlled in the same way as described for the organic plot.

Experimental design and sample preparation

For the design of both plots a random distribution model was arranged. Each accession was represented within each growing system by ten plants distributed in two blocks of five plants randomly distributed the plot. In this way, the position effect in each experimental plot was mitigated and each variety was subject to a generalized environmental distortion within the plot, randomly distributing the position effect. Each plot was surrounded by a bordure of plants to prevent the border effect.

A total of five samples per accession \times growing condition \times ripening stage combination were prepared per year. Each sample was prepared with fruits from the two plants of each block ($n = 5$) and therefore the 10 plants per accession were sampled. Fruits were harvested weekly at both stages of commercial maturity (unripe and fully ripe) from the end of June to the end of October. Each sample was divided into two subsamples i) 15 g of fresh fruits were used for the ascorbic acid analysis and ii) 30 g of fresh fruits were lyophilized and preserved in dark and dry conditions for the subsequent analysis of phenolics and carotenoids. Due to their very low or nil content in unripe fruits, the analyses of carotenoids were only considered in fully ripe samples, while ascorbic acid and phenolics were estimated in both commercial stages. Thus, a total of 1060 subsamples were prepared (530 unripe stage and 530 from fully ripe stage) for each trait under study in the two years of the experiment, and a total of 2650 analyses were done (1060 unripe stage and 1590 fully ripe stage).

Analytical methods

Ascorbic acid content (AAC), total phenolics (TP) and total red carotenoids and yellow/orange carotenoids (C_R and $C_{Y/O}$) were estimated following different spectrophotometrical methods with high accuracy and adapted to peppers, which enable

to process large amounts of fresh and dried samples, essential for breeders in order to evaluate and compare accurately large collections of cultivars [35,36].

Ascorbic acid content (ACC) was determined reflectometrically, based on the reduction of yellow molybdophosphoric acid to phosphomolybdene blue. The equipment used was a reflectometer *RQflex plus* and a test of ascorbic acid *Reflectoquant* (Merck, Darmstadt, Germany). Samples of 15 g of fresh fruit pulp were homogenized with an industrial blender by adding distilled water to facilitate blending. After the homogenization the liquid was filtered with a mesh (0.5 mm) in a 100 mL test tube and it was filled with distilled water up to 50 mL for unripe fruits and 100 mL for fully ripe fruits. The results were expressed in mg of ascorbic acid per 100 g of fresh weight, according to the following equation:

$$\text{AAC (mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}) = \frac{\text{Measure value (mg} \cdot \text{L}^{-1}) \times \text{Volume (mL)}}{10 \times \text{fresh fruit weight (g)}}$$

Total phenolics (TP) were estimated according to Folin-Ciocalteu methodology, based on a colorimetric reaction quantified by measuring absorbance at 750 nm, and results were referred according to a standard curve of chlorogenic acid as reported by [36]. This analysis is used to determinate total phenolic antioxidants by measuring the reducing capacity [36,37]. Prior to the analysis, each sample was submitted to extraction according to the following protocol: 125 mg of lyophilized fruit were placed in 15 mL Falcon centrifuge tubes and 5 mL of extraction solution (700 mL acetone, 5 mL glacial acetic acid and 295 mL Milli-Q® water) were added. Then samples were incubated and stirred for 24 hours at room temperature. Afterwards, the samples were centrifuged (3500 rpm for 3 min) and 1.5 mL of the supernatant was collected in a microcentrifuge tube and stored at -80°C until analysis. For the analyses, samples were centrifuged again (10000 rpm for 5 min) and to 65 µL of the sample were added 500 µL of Folin-Ciocalteu reagent (diluted with water at 10%, v/v) and were incubated for 5 min at room temperature. After that, 500 µL of a saturated sodium carbonate solution (60 g/L) were added and the mixture was incubated for 90 min in darkness at room temperature. Then, an aliquot (200 µL) of each sample or standards was placed in a 96-well microplate, and absorbance was measured at 750 nm using a microplate reader (Bio-Rad iMark™, Herts, England). Based on the dry matter content of each sample, results were expressed as mg of chlorogenic acid per 100 g of fresh weight.

Determination of carotenoids was carried out according to a modification of the spectrophotometric method developed by [38], which estimates accurately the sum of the main red ($TC_R = \text{capsanthin} + \text{capsorubin}$) and yellow-orange ($TC_{Y/O} = \beta\text{-carotene} + \beta\text{-criptoxanthin} + \text{lutein} + \text{violaxanthin} + \text{zeaxanthin}$) isochromic carotenoid fractions in *Capsicum* fruits. The extraction was made from 100 mg of lyophilized samples in a 100 mL Erlenmeyer flask with 20 mL of acetone and shaking for 1 hour in darkness at room temperature. Then the sample was filtered with filter paper (Watman n°2) and the filtered dilution was filled up to 25 mL in a volumetric flask with acetone. A sample of 3 ml of this dilution was introduced in glass cells with an optical path length of 10 mm and the absorbance of the extract was measured at 472 and 508 nm using a visible-UV spectrophotometer (UviLine 9400, SI Analytics, Weilheim, Germany) and comparing to acetone as blank. Lambert-Beer equation for multicomponent mixtures was applied according to the following equations:

$$TC_R (\mu\text{g/mL}) = \frac{\Delta_{508} \text{ mm} \times 2144.0 - \Delta_{472} \text{ mm} \times 403.3}{270.9} \quad TC_{Y/O} (\mu\text{g/mL}) = \frac{\Delta_{472} \text{ mm} \times 1724.3 - \Delta_{508} \text{ mm} \times 2450.1}{270.9}$$

Finally, as for TP, carotenoid content was expressed in mg per 100 g fresh weight.

Statistical analysis

The values of the 16 accessions evaluated both years were used to estimate and correct the year effect. The significance of the year effect was estimated by ANOVA and the data were corrected by subtracting the corresponding mean year deviation (D_y) to the data from all accessions. Mean year deviation was estimated as follows: $D_y = \mu_y - \mu_T$, where D_y is the mean deviation of year y , μ_y is the total mean of the 16 accessions in year y and μ_T is the total mean of both years. The results of two years were expressed as a mean for each combination of genotype \times ripening stage \times growing system. Normality was evaluated by Wof Shapiro-Wilks test and homocedasticity was analysed by Bartlett and Levene's tests, both performed by Statgraphics Centurion XVI software (StatPoint Technologies, Inc; Warrenton, Virginia, USA).

Required transformations were performed to adapt the data to a normal distribution model [39]. Then the analysis of variance ANOVA of main factors genotype, growing system, ripening stage and their interactions were carried out, in both original and

transformed data, in order to verify the statistical interpretation. The linear model used for the main ANOVA was $X_{ijkl} = \mu + a_i + b_j + c_k + (\alpha \times \beta)_{ij} + (\alpha \times \gamma)_{ik} + (\beta \times \gamma)_{jk} + e_{ijk(l)}$, where X_{ijkl} is the trait value for fruit sample l of genotype i , growing system j and ripening stage k ; μ is the general mean; a_i is the effect of genotype i ; b_j is the effect of growing system j ; c_k is the effect of ripening stage k ; $(\alpha \times \beta)_{ij}$ is the interaction between genotype i and growing system j ; $(\alpha \times \gamma)_{ik}$ is the interaction between genotype i and ripening stage k ; $(\beta \times \gamma)_{jk}$ is the interaction between growing system j and ripening stage k and $e_{ijk(l)}$ is the effect of fruit sample l from the combination of genotype i , growing system j and ripening stage k , i.e. the error term. Specific ANOVA considering separately unripe and fully ripe stages were performed and the linear model used was $X_{ijk} = \mu + a_i + b_j + (\alpha \times \beta)_{ij} + e_{ij(k)}$, where X_{ijk} is the trait value in one specific ripening stage for fruit sample k of genotype i and growing system j ; μ is the general mean; a_i is the effect of genotype i ; b_j is the effect of growing system j ; $(\alpha \times \beta)_{ij}$ is the interaction between genotype i and growing system j and $e_{ij(k)}$ is the effect of fruit sample k from the combination of genotype i and growing system j . No differences were found between the original and transformed data in terms of the results of the ANOVA and, therefore, our results were showed and discussed on the basis of the original nontransformed data to facilitate the understanding.

Genotype \times environment (i.e. accession \times growing system) interactions were studied by means of regression analysis [35]. Regression coefficients (β) of each variety were calculated from the average contribution of each growing system according to the formula $\beta_i = (\mu_{ij} - \mu_{ijk}) / (\mu_j - \mu_{jk})$; where β_i is the regression coefficient value for each specific trait and ripening stage for genotype i ; μ_{ij} is the mean of genotype i in growing system j ; μ_{ijk} is the mean of genotype i for both growing systems j and k and μ_j is the mean for all the genotypes in growing system j . The genotypes with β values that did not differ significantly from 0 were considered stable against the growing system effect [40], i.e. they did not show significant differences between the growing systems for the trait under study.

Results and discussion

Analysis of variance in ascorbic acid, phenolics and carotenoids

The year effect had significant contribution to the variation observed in all traits, which indicates that all the traits studied experienced significant changes in their levels from one year to the other, as can be expected in open field trials in agriculture. For that reason and in order to use all the data from both years, the values were corrected considering the year effect. The general ANOVA revealed that the effect of the genotype and particularly the ripening stage were significant and contributed considerably to the variation of AAC and TP according to the magnitude of their mean squares (Table 2). By contrast, the effect of the growing system was only significant for the observed variation in ACC. In addition, the interactions between main factors were also significant and, particularly, those including the ripening stage (Table 2).

Furthermore, mean square values showed a remarkable contribution of the ripening stage in both AAC and TP, not only as a main factor but also as part of interactions with the other factors, which could be biasing the real magnitude of the contribution of the genotype and the growing system, specially the latter. For this reason, further ANOVA considering separately data from unripe fruits and from fully ripe fruits were performed.

Thus, the results of the ANOVAs for each ripening stage showed a significant contribution of both the genotype and growing system factors at both stages, with the only exception of AAC at the unripe stage (Table 2). Furthermore, the contribution of the growing system factor, on the basis of mean square values, increased considerably in comparison to that of the general ANOVA, confirming that the effects of the interactions of the ripening stage with both the genotype and the growing system hidden the real effect of the main factor growing system. Also, the genotype \times growing system interaction was found to be significant for AAC and TP at both ripening stages, suggesting that such interactions could be exploited for selection in these traits. On the basis of these results, the descriptive study of the results will be then displayed in the next sections considering separately both the unripe and fully ripe fruits.

Table 2. General ANOVA for the content of ascorbic acid (AAC) and total phenolics (TP) and specific ANOVA corresponding to each ripening stage for AAC, TP, total red carotenoids (TC_R), and total yellow/orange carotenoids (TC_{Y/O}).

Effect	AAC		TP		TC _R		TC _{Y/O}	
	df ^a	MS ^b	df	MS	df	MS	df	MS
General ANOVA								
Main effect								
Genotype (G)	36	15921***	36	73148***	- ^c		-	
Growing system (S)	1	11118***	1	2864 ^{NS}	-		-	
Ripening stage (R)	1	1570610***	1	844879***	-		-	
Interactions								
G x S	36	4312***	36	10445***	-		-	
G x R	36	7932***	36	28606***	-		-	
S x R	1	21654***	1	179547***	-		-	
Error		467		2544	-		-	
Unripe stage ANOVA								
Main effect								
Genotype (G)	36	6775***	36	63183***	-		-	
Growing system (S)	1	410 ^{NS}	1	55864***	-		-	
Interactions								
G x S	36	3501***	36	8394***	-		-	
Error		283		882	-		-	
Fully ripe stage ANOVA								
Main effect								
Genotype (G)	36	15836***	36	37459***	36	74573***	36	25853***
Growing system (S)	1	24720***	1	102713***	1	4369 ^{NS}	1	43 ^{NS}
Interactions								
G x S	36	2484***	36	12353***	36	2945 ^{NS}	36	318 ^{NS}
Error		601		4097		2942		963

^adegrees of freedom.

^bmean square.

^cCarotenoids were evaluated only at fully ripe stage.

^{NS}, *, ** and *** indicate not significant for a probability $p > 0.05$ and significant for $p < 0.05$, 0.01 and 0.001 , respectively, according to the statistical F ratio.

Finally, the analysis of variance for carotenoids (only at fully ripe stage) showed a high significant contribution of the genotype as it was observed for AAC and TP, while by contrast both the growing system and its interaction with the genotype did not provide significant contribution to the observed variation in red or yellow/orange carotenoids (Table 2). Therefore, these results suggest that the growing system (organic vs. conventional) had no mean effect on the level of carotenoids, and that the opportunity for exploiting the interaction genotype \times growing system is much lower for these compounds than that for AAC and TP.

Ascorbic acid content (AAC)

A broad range of variation for AAC in both growing systems and ripening stages was found in this experiment (Table 3). Thus, mean values of studied accessions at the unripe stage ranged from 14 to 121 mg \cdot 100 g $^{-1}$ of fresh weight for Doux Long des Landes and Petit Marsellaise, respectively, in organic conditions, while values were comprised between 10 to 93 mg \cdot 100 g $^{-1}$ for Jalapa F1 and BOL-144 under conventional conditions (Table 3). At the fully ripe stage AAC values increased considerably with values in organic ranging from 48 to 208 mg \cdot 100 g $^{-1}$ in Aji' dulce and Mojo Palmero, respectively, and from 48 to 196 mg \cdot 100 g $^{-1}$ in Serrano and Petit Marsellaise, respectively, in conventional conditions (Table 3). In addition to these wide ranges of variation, it should be noted that the observed AAC values could be considered very high in general. Thus, the recommended daily intake of vitamin C in adults is 60–70 mg [35] and consequently many of our materials may satisfy this threshold with an intake of 50–100 g of fresh fully ripe fruit. Even several accessions at the unripe stage, where the content was clearly lower, also showed very high levels (≥ 60 mg \cdot 100 g $^{-1}$). All these findings demonstrate the richness of *Capsicum* fruits in this antioxidant. In fact, other vegetables like tomato (25 mg \cdot 100 g $^{-1}$), kiwifruit and oranges (50 mg \cdot 100 g $^{-1}$) have in general levels considerably lower than those from our collection [41]. Moreover, in comparison to previous reports of peppers in organic [32,42,43], we observed that our ranges of variation were considerably higher, supporting the advantage of using wide collections to assess the real performance of a crop under different growing conditions, which also offers the opportunity of selecting very high-vitamin C genotypes. Moreover, it has always been believed that fleshy, sweet, high water-content bell peppers

have, in general, lower levels of ascorbic acid than hot/spicy thinner-mesocarp genotypes [41]. However, our results indicate that such acceptance is not so obvious. In fact, in most cases, within each ripening stage and growing condition, the group of bell peppers showed similar or higher AAC average than the other groups with smaller and thin-flesh fruits (other *C. annuum* and other *Capsicums*) (Table 3).

Regarding the effect of the growing system, at the unripe stage we observed as a whole similar mean AAC values in both organic and conventional conditions, around 45 mg·100 g⁻¹ (Table 3), which is in agreement with the nonsignificant contribution of this factor for AAC at the unripe stage detected by ANOVA (Table 2). Nevertheless, this lack of effect in the general mean must be explained in detail, as there was a significant contribution of the growing system but depending on its interaction with the genotype and groups of genotypes. Thus, remarkable differences were found comparing the three *Capsicum* groups, as well as the performance of individual accessions. Thus, the group of bell peppers *C. annuum* and other *Capsicums* showed average values higher in conventional conditions than in organic, while the contrary was true in the other *C. annuum* group (Table 3). Even more, depending on the growing system, a very variable response could be observed in the different genotypes, which confirmed the significant interaction genotype × growing system detected in the ANOVA for this ripening stage (Table 2). By contrast, a different behaviour was found at the fully ripe stage, where the total AAC mean was higher in organic than conventional (135 vs. 117 mg·100g⁻¹), and the same was found in *C. annuum* (142 vs. 121 mg·100g⁻¹ in bell peppers and other *C. annuum*) (Table 3). Also, most studied accessions showed higher values in organic and only accessions from the other *Capsicum* species showed an erratic performance (Table 3). All these results were reflected in a high contribution of the genotype × growing system interaction to the variation in AAC at fully ripe fruits (Table 2).

Table 3. Average content in ascorbic acid (AAC, mg·100 g⁻¹ fresh weight) estimated in the unripe and fully ripe fruits from the peppers studied, evaluated under organic and conventional conditions and regression coefficient (β) based on environmental means.

Genotype	AAC unripe stage (mg·100 g ⁻¹)			AAC fully ripe stage (mg·100 g ⁻¹)		
	Organic	Conventional	β	Organic	Conventional	β
<i>C. annuum</i>						
Bell peppers						
Bierzo	25.1	43.7	-157.55***	120.9	102.3	1.04***
CW Aguila F ₁	39.7	59.0	-163.66***	150.6	142.1	0.48*
CW breeding line	39.9	84.2	-376.35***	150.8	112.7	2.14***
Cuneo	27.5	45.0	-148.77***	131.5	111.4	1.12***
Najerano	24.7	17.4	62.31*	163.8	148.5	0.86***
Pimiento Valenciano	18.2	52.3	-289.68***	139.4	106.0	1.87***
Mean	29.2	50.3		142.8	120.5	
Other <i>C. annuum</i>						
Ancho	25.1	76.4	-435.57***	126.3	188.9	-3.51***
Arnoia	52.9	30.5	189.83***	117.2	92.3	1.40***
Berberé	26.4	57.0	-259.59***	173.1	188.0	-0.83***
Bola	55.2	87.0	-270.46***	129.9	118.9	0.62**
Chile de Arbol	20.0	25.3	-44.17*	143.2	98.8	2.49***
Chimayo	76.4	22.4	458.42***	182.6	148.8	1.89***
Di Senise	65.1	54.1	93.63**	124.9	117.2	0.43 ^{NS}
Doux Long des Landes	14.0	31.0	-144.39***	121.1	119.1	0.12 ^{NS}
Espelette	26.7	37.7	-93.75**	192.2	151.1	2.30***
Gernika	72.9	92.6	-167.99***	172.3	147.3	1.40***
Guindilla Ibarra	29.8	26.4	28.83 ^{NS}	123.2	95.7	1.54***
Jalapa F1	23.9	10.2	116.07***	93.9	88.9	0.28 ^{NS}
Jalapeno Candelaria	16.7	32.4	-132.79***	66.2	66.2	0.00 ^{NS}
Jalapeno Espinalteco	18.5	22.7	-36.16 ^{NS}	70.8	66.3	0.25 ^{NS}
Mojo Palmero	76.2	28.0	409.07***	208.0	129.0	4.42***
Numex 6-4	65.3	19.8	385.82***	159.8	122.2	2.11***
Numex Big Jim	57.4	44.2	112.12***	175.8	147.8	1.57***
Numex Conquistador	52.6	19.3	282.18***	151.2	118.8	1.82***
Padron	106.9	44.8	527.09***	155.4	102.9	2.94***
Pasilla	35.7	46.2	-89.05**	169.4	142.6	1.50***
Petit Marsellais	121.1	93.5	234.14***	178.1	196.2	-1.01***
Piquillo	71.0	52.4	158.64***	89.6	95.6	-0.33 ^{NS}
Serrano Criollo	63.4	25.2	323.88***	179.2	110.8	3.83***
Serrano	32.0	36.0	-34.43 ^{NS}	89.3	48.0	2.31***
Mean	49.5	42.3		141.4	120.9	
<i>C. annuum</i> mean	45.4	43.9		141.7	120.8	
Other <i>Capsicum</i> species						
Aji dulce	24.2	51.0	-227.05***	47.9	68.7	-1.16***
BOL-37R	54.5	82.3	-235.45***	94.1	88.1	0.34 ^{NS}
BOL-58	31.2	28.2	25.54 ^{NS}	68.5	74.6	-0.34 ^{NS}
BOL-144	26.1	93.5	-572.11***	112.4	123.3	-0.61*
ECU-973	19.0	40.5	-182.07***	64.1	79.6	-0.87***
ECU-994	46.6	35.4	94.89***	104.1	117.1	-0.73**
PI-152225	36.7	17.3	164.61***	111.9	119.1	-0.40 ^{NS}
Other <i>Capsicum</i> mean	34.0	49.7		86.2	95.8	
Total mean	45.6 a ^a	45.5 a		134.5 b	116.7 a	
Environmental effect	0.06	-0.06		8.93	-8.93	
Standard error	5.39	5.97		8.59	9.48	

^{NS}, *, ** and *** indicate not significant for a probability $p > 0.05$ and significant for $p < 0.05$, 0.01 and 0.001, respectively, according to the statistical F ratio.

^a Total means with different letters within each ripening stage indicate significant differences at $p < 0.05$.

In this regard, despite ACC average levels at both growing systems were similar at the unripe stage, the considerable contribution of the genotype \times environment interaction provided significant differences among cultivars from one growing system to the other. Thus, within the unripe stage and according to the regression coefficient, fifteen accessions showed significantly higher AAC values under organic (β significantly > 0), being Chimayo, Mojo Palmero, Padron, Petit Marsellaise and Piquillo the cultivars with the highest values and increases due to this growing system. By contrast, eighteen genotypes had a better response under conventional practices (β significantly < 0), of which Bola, BOL-37R, BOL-144, California breeding line and Gernika were the ones with the best behaviour in these growing conditions. Finally, four accessions showed a stable behaviour between growing systems ($\beta = 0$). In the case of fully ripe fruits, where organic conditions provided on average higher ACC, most cultivars followed this trend and showed significant higher values under organic than under conventional practices, although accessions differed considerably in the magnitude of such differences, which was mainly due to the genotype \times environment interaction. Thus, Chimayo, Espellete, Mojo Palmero, Numex Big Jim and Serrano Criollo showed the highest values in organic conditions and considerably higher than their values under conventional conditions (Table 3). Despite this general trend, the genotype \times environment interaction also enabled a few accessions to have better AAC values under conventional practices like Ancho, Berbere and Petit Marsellais. Finally, several genotypes did not show significant differences between growing systems, like Jalapenos, Di Senise, Doux Long des Landes and Piquillo and some *C. baccatum* and *C. chinense* accessions, which could be considered stable under both systems (Table 3).

Total phenolics (TP)

As it occurred in ascorbic acid, TP values were highly variable depending on the genotype and particularly growing conditions (Table 4). Regarding the genotype effect, at unripe stage and considering organic conditions, TP values were comprised between 68 and 626 mg chlorogenic acid equivalents (c.a.) $\cdot 100\text{ g}^{-1}$ fresh weight for California breeding line and BOL-144 respectively, and between 87 and 506 mg $\cdot 100\text{ g}^{-1}$ for the same accessions, respectively, under conventional conditions (Table 4). Similarly to AAC, TP values increased in most cases with ripening. Thus, at fully ripe stage, values

ranged in organic between 109 and 367 mg·100 g⁻¹ for Aji Dulce and Najerano, respectively, and between 96 and 438 mg·100 g⁻¹ in conventional for Jalapeno Candelaria and BOL-144 respectively (Table 4). In comparison, these TP values in both unripe and fully ripe stages were considerably higher than those from other reference species as tomato, broccoli or banana, with average contents of 68 and 88 mg catechol equivalents ·100 g⁻¹ fresh weight, and 36 mg gallic acid equivalents·100 g⁻¹ fresh weight, respectively [44,45], are in the lower limits of our TP intervals and therefore reinforces the idea of peppers as fruits very rich in antioxidants.

The growing system had a significant effect in the phenolic values for both unripe and fully ripe stage as indicated by the ANOVA (Tables 2 and 4). Thus, at the unripe stage, total mean was higher in conventional conditions than organic, with values of 151 and 126 mg·100 g⁻¹, respectively, and the same trend was found in *C. annuum* (80 and 113 mg·100 g⁻¹ in organic and conventional in bell peppers; 123 and 147 mg·100 g⁻¹ in other *C. annuum*), while means were similar in other *Capsicum* species (about 240 mg·100 g⁻¹) (Table 4). Moreover, considering further the genotype × environment interaction, in terms of both the magnitude of the increase/decrease of TP and the sense of this behavior and according to the regression study, twenty-five accessions showed higher TP values in the conventional system, being Berbere, Doux Long des Landes, Gernika and several genotypes from other *Capsicum* species, particularly PI-152225, the accessions with the highest values (200–500 mg·100 g⁻¹), while seven accessions had higher TP values under organic cultivation, being Jalapeno Candelaria, Padron, BOL-37R, BOL-144 and ECU-973 the ones with the highest values (190–600 mg·100 g⁻¹), and five accessions were stable (Table 4).

Table 4. Average content in total phenolics content (TP, mg chlorogenic acid equivalents·100 g⁻¹ fresh weight) estimated in the unripe and fully ripe fruits from the peppers studied, evaluated under organic and conventional conditions and regression coefficient (β) based on environmental means.

Genotype	TP unripe stage (mg·100 g ⁻¹)			TP fully ripe stage (mg·100 g ⁻¹)		
	Organic	Conventional	β	Organic	Conventional	β
<i>C. annuum</i>						
Bell peppers						
Bierzo	78.3	114.2	1.43***	169.6	179.8	-0.38 ^{NS}
CW Aguila F ₁	76.4	144.2	2.71***	159.0	120.7	1.44***
CW breeding line	67.7	86.6	0.76***	169.8	103.5	2.50***
Cuneo	71.5	94.0	0.90***	163.1	172.1	-0.34 ^{NS}
Najerano	72.0	89.2	0.69***	366.9	106.1	9.83***
Pimiento Valenciano	110.7	151.6	1.63***	129.3	122.5	0.26 ^{NS}
Mean	79.5	113.3		193.0	134.1	
Other <i>C. annuum</i>						
Ancho	128.6	209.9	3.25***	231.3	220.3	0.41 ^{NS}
Arnoia	97.1	122.9	1.03***	113.3	116.3	-0.11 ^{NS}
Berberé	80.8	243.3	6.49***	187.2	232.1	-1.69***
Bola	99.3	162.9	2.54***	190.5	195.5	-0.19 ^{NS}
Chile de Arbol	119.6	154.5	1.39***	251.8	165.5	3.25***
Chimayo	102.2	119.3	0.68***	271.2	153.8	4.42***
Di Senise	101.2	117.6	0.66***	238.7	188.8	1.88***
Doux Long des Landes	130.6	211.7	3.24***	251.1	210.7	1.53***
Espelette	111.7	185.6	2.95***	257.5	179.1	2.96***
Gernika	130.2	215.0	3.39***	274.0	390.3	-4.39***
Guindilla Ibarra	136.7	136.7	0.00 ^{NS}	295.8	241.1	2.06***
Jalapa F1	85.7	89.8	0.16 ^{NS}	215.7	110.1	3.98***
Jalapeno Candelaria	229.3	89.4	-5.59***	115.6	96.1	0.74**
Jalapeno Espinalteco	113.0	126.8	0.55**	121.1	101.3	0.74**
Mojo Palmero	134.7	122.6	-0.48**	290.6	247.4	1.63***
Numex 6-4	99.7	96.9	-0.11 ^{NS}	351.0	162.6	7.10***
Numex Big Jim	84.0	93.1	0.36*	281.6	192.5	3.36***
Numex Conquistador	86.3	113.5	1.09***	183.9	144.1	1.50***
Padron	190.0	153.0	-1.48***	246.5	248.1	-0.06 ^{NS}
Pasilla	151.2	192.7	1.66***	286.3	269.1	0.65*
Petit Marsellais	148.1	139.1	-0.36*	355.7	217.6	5.21***
Piquillo	94.4	98.8	0.18 ^{NS}	205.5	173.4	1.21***
Serrano Criollo	159.4	170.5	0.45*	176.4	237.2	-2.29***
Serrano	128.4	168.4	1.60***	232.3	236.9	-0.17 ^{NS}
Mean	122.6	147.2		234.4	197.1	
<i>C. annuum</i> mean	114.0	140.5		226.1	184.5	
Other <i>Capsicum</i> species						
Aji dulce	148.6	176.0	1.10***	108.9	190.3	-3.07***
BOL-37R	257.1	242.8	-0.57**	248.7	195.4	2.01***
BOL-58	108.4	104.5	-0.16 ^{NS}	302.6	283.2	0.73**
BOL-144	626.3	506.1	-4.81***	339.3	438.1	-3.73***
ECU-973	258.5	214.2	-1.77***	142.3	141.1	0.05 ^{NS}
ECU-994	164.6	180.6	0.64***	198.9	219.1	-0.76**
PI-152225	106.1	227.0	4.83***	265.9	170.7	3.59***
Other <i>Capsicum</i> mean	238.5	235.9		229.5	234.0	
Total mean	125.5 a ^a	150.5 b		232.1b	205.6 a	
Environmental effect	-12.51	12.51		108.9	190.3	
Standard error	9.59	11.14		24.54	24.60	

^{NS}, *, ** and *** indicate not significant for a probability $p > 0.05$ and significant for $p < 0.05$, 0.01 and 0.001, respectively, according to the statistical F ratio.

^a Total means with different letters within each ripening stage indicate significant differences at $p < 0.05$.

Contrary to these results, fully ripe fruits showed, on the whole, higher TP levels under organic conditions than under conventional conditions (total means of 232 vs 206 mg·100 g⁻¹, respectively) and the same was found in most cultivars, particularly in *C. annuum* (226 vs 185 mg·100 g⁻¹) (Table 4), similarly to AAC. Nevertheless, other *Capsicum* species showed a less consistent trend, highly depending on the accession, and means from organic and conventional conditions were very similar (about 230 mg·100 g⁻¹). This fact confirmed again the high contribution of the ripening stage and their interactions to the observed variation in TP, as well as in AAC (Table 2). Regarding the individual behavior of the different accessions, twenty-two accessions had better behaviour in organic, where BOL-58, Guindilla Ibarra, Numex 6-4, Najerano and Petit Marsellaise showed the highest values (300–360 mg·100 g⁻¹), while only six accessions showed a better performance in conventional conditions, being Gernika and BOL-144 the most outstanding materials (>300 mg·100⁻¹), and nine accessions were stable (Table 4).

Total red carotenoids and yellow/orange carotenoids (TC_R, TC_{Y/O})

The range of variation in carotenoids in fully ripe *Capsicum* fruits was very wide, similar to that observed in AAC and TP, and it confirmed the high contribution of the genotype factor to the observed variation (Tables 2 and 5). Organic conditions registered values of red carotenoids (TC_R) comprised between 0 and 257 mg·100 g⁻¹ of fresh matter from yellow-fruited cultivars like Cuneo or Petit Marsellais and brownish-fruited cultivar Pasilla, respectively, and TC_{Y/O} between 2 and 147 mg·100 g⁻¹ for Jalapeno Espinalteco and BOL-58 respectively (Table 5). Within the conventional growing system, TC_R values ranged again between 0 and 324mg·100 g⁻¹ in the same genotypes than organic system, and TC_{Y/O} were comprised between 1 and 166 mg·100 g⁻¹ for Jalapeno Espinalteco and Gernika respectively (Table 5). These values of total carotenoids were relatively high in comparison to other vegetables and fruits like broccoli, tomato, carrot, apricot or squash (around 5, 7, 15, 17 and 41 mg·100 g⁻¹, respectively) [46–48] and makes clear that *Capsicum* pods are a rich source of this bioactive compounds. In addition, by contrast to AAC and TP results, bell peppers had, in general, considerably lower amounts of carotenoids than the other *C. annuum* and other *Capsicum* species. Thus, the average mean of bell peppers was 18 and 11 mg·100

g^{-1} in TC_R and $\text{TC}_{Y/O}$, respectively, and only Bierzo (65 and 30 $\text{mg}\cdot 100 \text{ g}^{-1}$) reached the usual levels of the other groups, which showed a thin mesocarp and were less fleshy than bell peppers, with the only exception of Arnoia and Jalapeno types. Such results can be explained by the high correlation between carotenoids and dry matter content in peppers [41].

Moreover, the level in carotenoids showed by several accessions was very interesting. Thus, Pasilla was the cultivar with the highest values TC_R and very high $\text{TC}_{Y/O}$, regardless the growing system (Table 5). This fact suggests paradoxically that the chlorophyll retainer (*cl*) mutation, characterized by inhibition of chlorophyll degradation during fruit ripening and causing brown fruits (due to the combination of chlorophylls and red carotenoids) [49], also provides high levels of carotenoid pigments [29]. In addition, other peppers like Bola, Espelette or Mojo Palmero also showed very high TC_R levels (Table 5), which explain why they were mainly selected to be used as food colorants in different food preparations (e.g. ground powder, sauces, spicy pork sausages and chorizo) [8]. Moreover, it should be also pointed out the performance of cultivars like Gernika, Guindilla de Ibarra or Padron, which have been selected for consumption at the unripe stage (i.e. roasted or pickled at very early unripe fruit stage), had very high average measures of TC_R , suggesting that their use at the fully ripe stage can be promoted as, in fact, it has been partly started in the Basque Country, where they are called Chorizeros (to make chorizo) when fully ripe [8]. Finally, Di Senise, Numex Big Jim and Piquillo, despite used when fully ripe but not as food colorants they also showed high TC_R levels ($>100 \text{ mg}\cdot 100 \text{ g}^{-1}$), as well as the exotic BOL-58 and ECU-994 ($100\text{--}200 \text{ mg}\cdot 100 \text{ g}^{-1}$) (Table 5), indicating that materials not selected originally as food colorants can be also fully ripe selected for high red carotenoid content.

In terms of yellow/orange carotenoids, we found a high correlation with red carotenoids and therefore those accessions with the highest TC_R values mentioned before were also the ones with the highest $\text{TC}_{Y/O}$ values ($70\text{--}170 \text{ mg}\cdot 100 \text{ g}^{-1}$). These levels in yellow and red carotenoids (including β -carotene and β -cryptoxanthin) indicates that these accessions can provide high levels of provitamin-A as reported in previous works [29,31] while yellow-fruited accessions Cuneo and Petit Marsellais showed very low $\text{TC}_{Y/O}$ values (Table 5). Such fact can be explained because red-fruited peppers contain both red and yellow/orange carotenoids, and the red pigments

Table 5. Average content in total red carotenoids and yellow/orange carotenoids (TC_R and TC_{Y/O}, mg·100 g⁻¹ fresh weight) estimated in the unripe and fully ripe fruits from the peppers studied, evaluated under organic and conventional conditions and regression coefficient (β) based on environmental means.

Genotype	TC _R fully ripe stage (mg·100 g ⁻¹)			TC _{O/Y} fully ripe stage (mg·100 g ⁻¹)		
	Organic	Conventional	β	Organic	Conventional	β
<i>C. annuum</i>						
Bell peppers						
Bierzo	63.8	65.8	0.20 ^{NS}	33.0	27.8	-15.29 ^{NS}
CW Aguila F ₁	5.1	7.0	0.18 ^{NS}	1.7	2.6	2.84 ^{NS}
CW breeding line	11.8	8.2	-0.33 ^{NS}	3.5	3.2	-0.82 ^{NS}
Cuneo	0.0	0.0	0.00 ^{NS}	16.5	17.1	1.96 ^{NS}
Najerano	17.1	5.3	-1.11 ^{NS}	7.9	2.7	-15.59 ^{NS}
Pimiento Valenciano	7.8	17.6	0.93 ^{NS}	2.7	7.2	13.55 ^{NS}
Mean	17.6	17.5		10.9	10.1	
Other <i>C. annuum</i>						
Ancho	22.1	30.9	0.83 ^{NS}	12.9	24.2	33.74*
Arnoia	6.7	8.2	0.14 ^{NS}	3.2	5.9	7.98 ^{NS}
Berbere	29.5	22.7	-0.64 ^{NS}	20.8	12.6	-24.63 ^{NS}
Bola	136.5	161.3	2.33***	71.5	67.2	-12.89 ^{NS}
Chile de Arbol	31.9	34.7	0.27 ^{NS}	16.8	7.9	-26.69 ^{NS}
Chimayo	25.6	32.4	0.63 ^{NS}	12.6	18.7	18.45 ^{NS}
Di Senise	114.9	124.4	0.90 ^{NS}	80.7	74.5	-18.68 ^{NS}
Doux Long des Landes	105.6	109.5	0.37 ^{NS}	77.1	78.1	3.04 ^{NS}
Espelette	127.7	195.0	6.33***	106.8	102.2	-13.67 ^{NS}
Gernika	179.9	263.3	7.85***	137.5	165.9	85.01***
Guindilla Ibarra	211.5	144.4	-6.31***	119.5	103.6	-47.58***
Jalapa F ₁	7.1	24.9	1.67**	2.4	17.4	44.86**
Jalapeno Candelaria	5.1	7.5	0.22 ^{NS}	2.3	5.3	8.86 ^{NS}
Jalapeno Espinalteco	8.0	2.8	-0.49 ^{NS}	2.3	0.7	-4.87 ^{NS}
Mojo Palmero	131.6	189.0	5.41***	104.7	128.3	70.65***
Numex 6-4	18.3	21.7	0.32 ^{NS}	12.3	14.5	6.50 ^{NS}
Numex Big Jim	110.3	112.9	0.24 ^{NS}	76.8	65.5	-33.82*
Numex Conquistador	28.7	27.2	-0.14 ^{NS}	13.7	9.3	-13.14 ^{NS}
Padron	164.4	181.3	1.59*	102.5	113.5	-14.14 ^{NS}
Pasilla	257.0	324.3	6.34***	93.3	76.0	60.39***
Petit Marsellais	0.0	0.0	0.00 ^{NS}	5.1	6.4	3.92 ^{NS}
Piquillo	138.1	136.9	-0.11 ^{NS}	72.1	71.6	-1.64 ^{NS}
Serrano Criollo	25.4	33.9	0.79 ^{NS}	10.9	13.8	8.43 ^{NS}
Serrano	102.5	111.7	0.87 ^{NS}	49.6	47.3	-6.77 ^{NS}
Mean	82.9	95.9		50.3	52.2	
<i>C. annuum</i> mean	69.9	80.3		42.4	43.8	
Other <i>Capsicum</i> species						
Aji dulce	11.8	10.6	-0.11 ^{NS}	6.8	5.6	-3.49 ^{NS}
BOL-37R	23.8	19.2	-0.43 ^{NS}	13.5	11.4	-6.49 ^{NS}
BOL-58	181.8	192.8	1.03 ^{NS}	146.8	141.3	-16.24 ^{NS}
BOL-144	30.5	33.7	0.31 ^{NS}	26.1	20.5	-16.65 ^{NS}
ECU-973	14.3	21.3	0.66 ^{NS}	7.5	11.6	12.10 ^{NS}
ECU-994	144.6	127.6	-1.60*	79.8	70.7	-27.24 ^{NS}
PI-152225	99.1	41.7	-5.41***	24.8	16.4	-24.92 ^{NS}
Other <i>Capsicum</i> mean	72.3	63.8		43.6	39.7	
Total mean	92.8 a ^a	103.4 a		57.6 a	57.9 a	
Environmental effect	-5.31	5.31		-0.17	0.17	
Standard error	21.99	22.24		11.11	11.23	

^{NS}, *, ** and *** indicate not significant for a probability $p > 0.05$ and significant for $p < 0.05$, 0.01 and 0.001 , respectively, according to the statistical F ratio.

^a Total means with different letters within each ripening stage indicate significant differences at $p < 0.05$.

(capsanthin and capsorubin) are synthesized from yellow and orange precursors, feeding back the new synthesis of yellow/orange carotenoids [50].

Total average was similar in both growing systems for both TC_R and $TC_{Y/O}$ confirming the nonsignificant effect of growing system detected in the ANOVA (Tables 2 and 5). Thus, TC_R total average was 93 and 103 $mg \cdot 100 g^{-1}$ for organic and conventional systems respectively, and around 58 $mg \cdot 100 g^{-1}$ for $TC_{Y/O}$ in both systems, and the same was found considering the different groups of peppers (Table 5). Moreover, in comparison to AAC and TP very few accessions showed significant differences for TC_R and $TC_{Y/O}$ between organic and conventional conditions, which explains the lack of significance of the genotype \times growing system interaction (Table 2). Thus, for TC_R only three accessions showed higher levels in organic conditions compared to conventional (ECU-994, Guindilla Ibarra and PI-152225), while the contrary was found in seven accessions (Table 5). The behavior in $TC_{Y/O}$ was similar with only two accessions significantly better under organic conditions (Guindilla Ibarra and Numex Big Jim) and five under conventional conditions (Ancho, Gernika, Jalapa F1, Mojo and Pasilla) (Table 5). This fact was previously reported by some authors [51,52], although other studies found significant differences due to growing conditions [32,34]. Moreover, it has been described that the content in carotenoids depended on genotype, soil type and grower-specific inputs as fertilizers and methods of pests control [53]. From our experiment, performed with a large diversity of varietal types, we can conclude that the factors that enhance in general AAC and TP under organic conditions do not have this effect in carotenoids. Probably the antioxidant nature of ascorbic acid and phenolics drives to increase their levels in plant tissues in response to free-radicals accumulation under more stressing-low input conditions of our organic trials. By contrast, the primary role of carotenoids as photoreceptors and photoprotectors did not provide any response.

Ripening process in AAC and TP under organic and conventional practices

Ripening process favoured the accumulation of AAC in fully ripe fruits. Thus, all the varieties showed higher AAC at fully ripe stage than at unripe stage (slope fully ripe/unripe > 1 , Fig 1). These findings agree with reports from other authors [19,25,54], although the large number of accessions used in our study showed a wide variation in

the magnitude of such increase, mainly depending on the genotype but also modified by growing conditions.

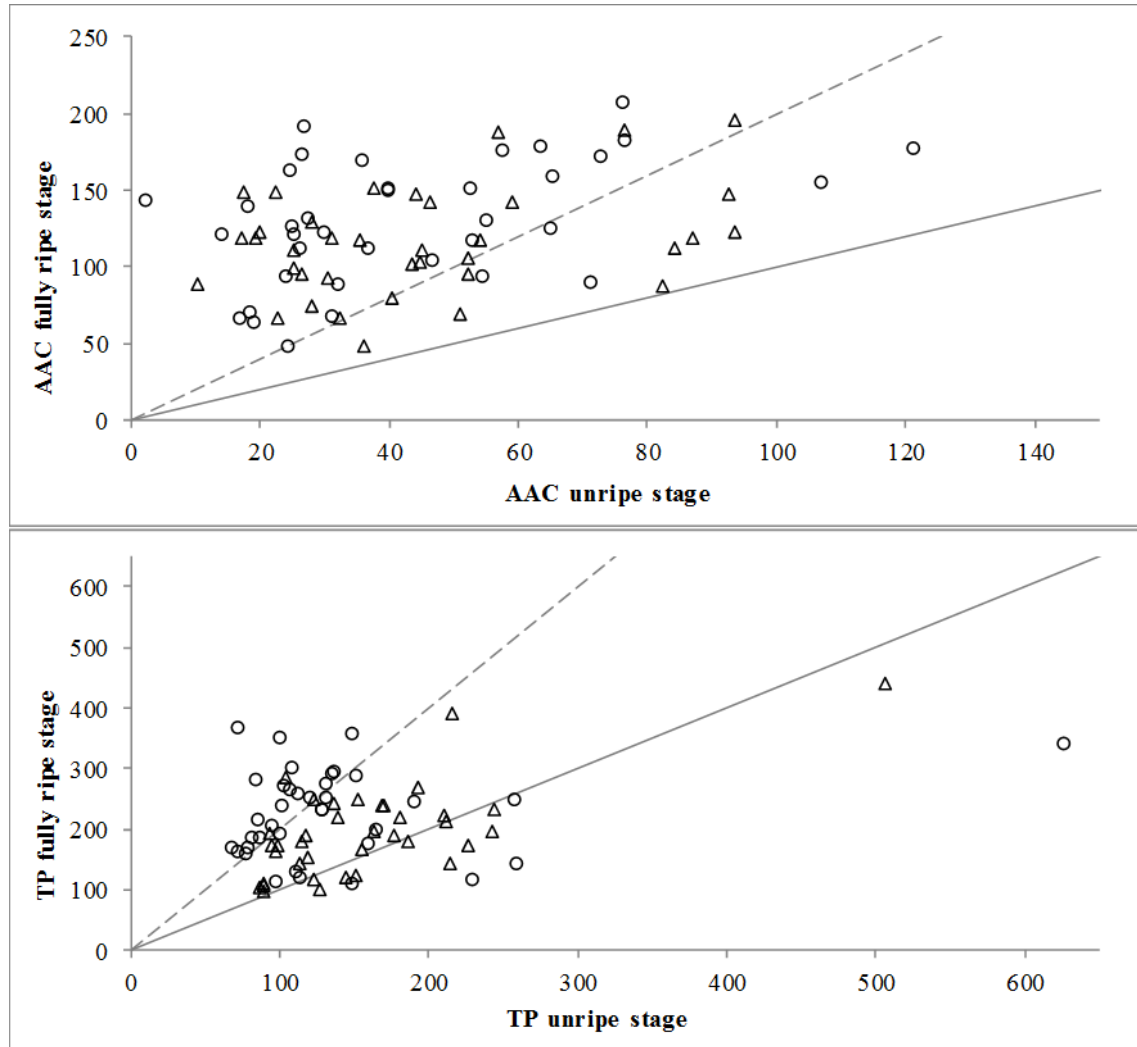


Fig 1. Comparative study of the content of ascorbic acid (AAC, upper, $\text{mg}\cdot 100\text{ g}^{-1}$ fresh weight) and total phenolics (TP, bottom, $\text{mg}\cdot 100\text{ g}^{-1}$ fresh weight), in organic (\circ) and conventional (Δ) growing systems. The oblique lines included in the graph represent slope 1 (continuous line, ratio fully ripe/unripe = 1, increase 0% with ripening) and slope 2 (discontinuous line, ratio TP fully ripe/TP unripe = 2, increase 100% with ripening).

In this regard, some accessions showed an increase in AAC during ripening comprised between 1% and 100% ($1 < \text{slope} \leq 2$), although in most accessions the ripening process increased AAC more than 100% ($\text{slope} > 2$) (Fig 1). In these last cases,

there was a range of increases with ripening and even some accessions showed levels at the fully ripe stage 4–8 fold from those at the unripe stage (Fig 1).

In comparison, organic conditions enabled higher increases in AAC than conventional conditions, and data from organic grouped mainly in the areas of higher slopes (Fig 1). This was in agreement with the results observed on Table 3, where AAC total means increased with ripening but at higher extent in organic, and also the increase of most accessions was higher under organic.

As observed for AAC, the accumulation of TP increased with the ripening process in general and in most genotypes (slope fully ripe/unripe ≥ 1 , Fig 1), although this effect was not so consistent and even some accessions, five in organic and ten in conventional, had lower values at the fully ripe stage (Fig 1). Our results agree with a review of other reports. Thus, the accumulation of phenolic compounds with ripening has been described but also the decrease and even depending on the cultivars [55–57].

The studied accessions showed different magnitudes of TP increase with ripening, as genotype \times ripening stage interaction showed in the ANOVA (Table 2) as can be observed in the range of slopes displayed in Fig 1. It should be also noted that the increase in TP with ripening could be modified by growing system conditions (i.e. growing system \times ripening stage interaction, Table 2). In this sense, within the organic growing system eleven accessions had slopes comprised between 1 and 2 and twenty-one accessions had slopes between 2 and 5 (Fig 1). By contrast, within the conventional system twenty-four accessions showed slopes comprised between 1 and 2, while only three accessions had slopes ranged between 2 and 3 (Fig 1). Thus, similarly to AAC, the organic growing system appeared to increase the accumulation of TP with the ripening process at a higher extent than conventional conditions.

These results suggest that, in general, organic conditions may strengthen the increase of AAC with the ripening process in a more intense way than conventional conditions. In this regard, the different behaviour detected between unripe and fully ripe fruits in terms of TP and AAC should be considered. Thus, the levels of both antioxidants in fully ripe fruits were higher (in general and in most accessions) in organic cultivation, while the contrary was true in unripe fruits. These findings suggest that some factors present in organic conditions may increase the accumulation of antioxidants in the fruits of most *Capsicum* genotypes, but mostly in fully ripe fruits. Perhaps, fruits during

ripening are more sensitive to factors from soils, like those from high fertilized conditions typical of conventional practices, in comparison to less fertilized (organic) conditions. In this regard, some studies [58–61] reported that high rates of specific mineral fertilization could lead to nutrient dilutions and interactions. Thus, conventional soil management could cause interactions that disturb the balance of soil nutrients, essential in the metabolic pathways of biosynthesis, which could be one of the reasons that leads to a lower accumulation of ascorbic acid and phenolics at the end of ripening.

Potential selections of materials for organic cultivation

Based on the results of our trials, a potential selection of plant material for organic cultivation would be possible considering high mean levels of bioactive factor, coefficient of regression, and varietal groups, as well as each ripening stage due to the importance of this factor for the commercial use of fruits.

Thus, within the unripe stage, *C. annuum* accessions such as Chimayo, Gernika, Jalapeno Candelaria, Mojo Palmero, Padro'n, Pasilla, Petit Marsellais and Serrano Criollo would be the best options as their sum of AAC and TP reaches 200–300 mg·100 g⁻¹, as well as Pimiento Valenciano among the fleshy bell peppers group (Fig 2). Also, many accessions from the exotic species like *C. chinense* Aji Dulce, ECU-973 and ECU-994, *C. baccatum* BOL-37R and particularly *C. frutescens* BOL-144 showed an outstanding performance, which offers an opportunity to these materials in new markets with the added value of their exotic appearance and levels of bioactive compounds under organic practices.

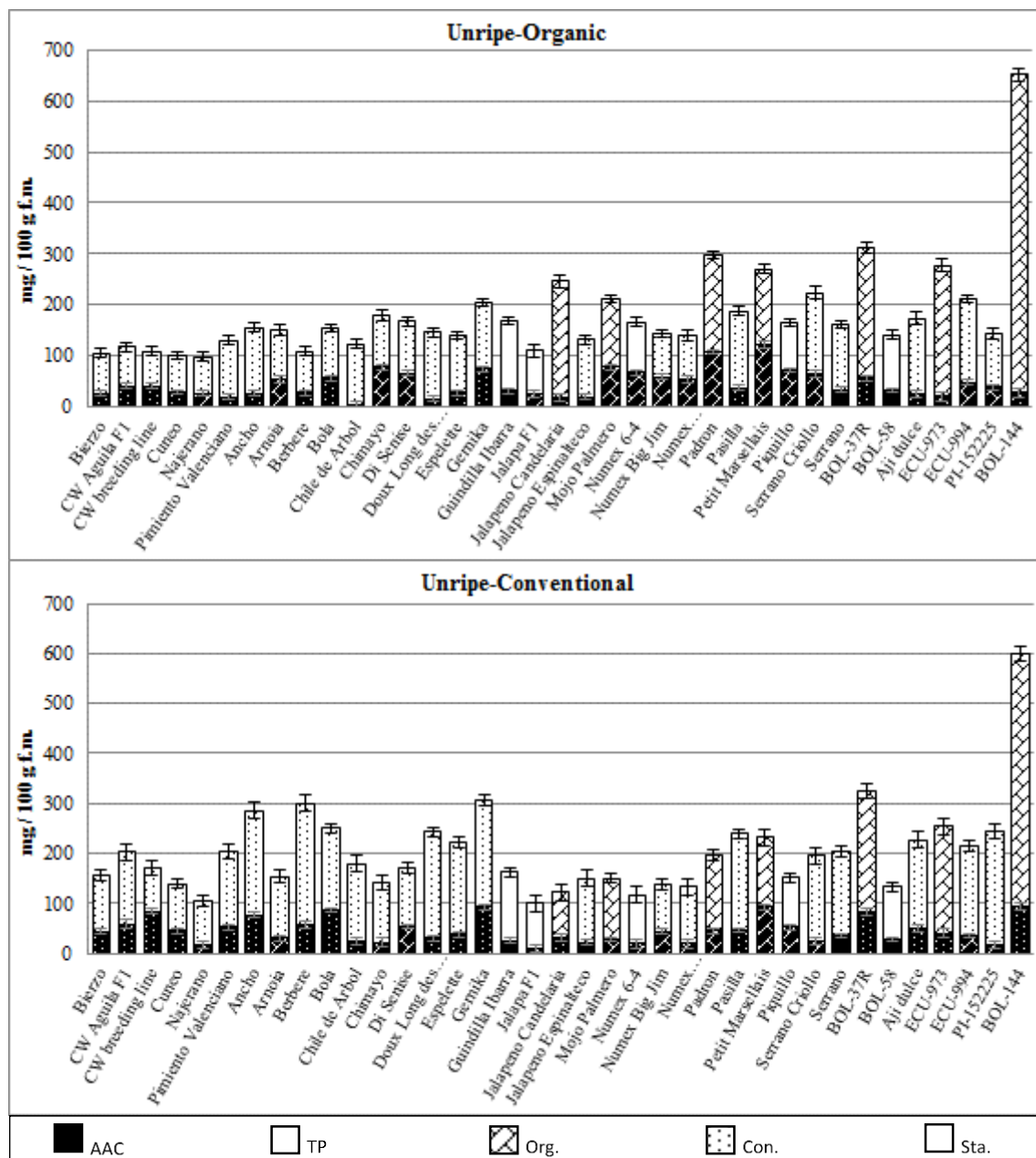


Fig 2. Comparison among accessions at the unripe stage considering ascorbic acid content (AAC) and total phenolics (TP) under organic (upper) and conventional (bottom) growing systems. Texture of columns, based on β parameter, indicates better response to organic (Org.), conventional (Con.) or stable behaviour (Sta.). Bars on the top of columns indicates standard error intervals.

Considering the fully ripe stage, several materials could be selected for organic cultivation. Thus, within *C. annuum* accessions like Bola, di Senise, Doux Long des Landes, Espelette, Gernika, Guindilla de Ibarra, Mojo Palmero, Numex 6–4, Numex Big Jim, Pasilla, Padron, Petit Marsellais and Piquillo, as well as Najerano, and even

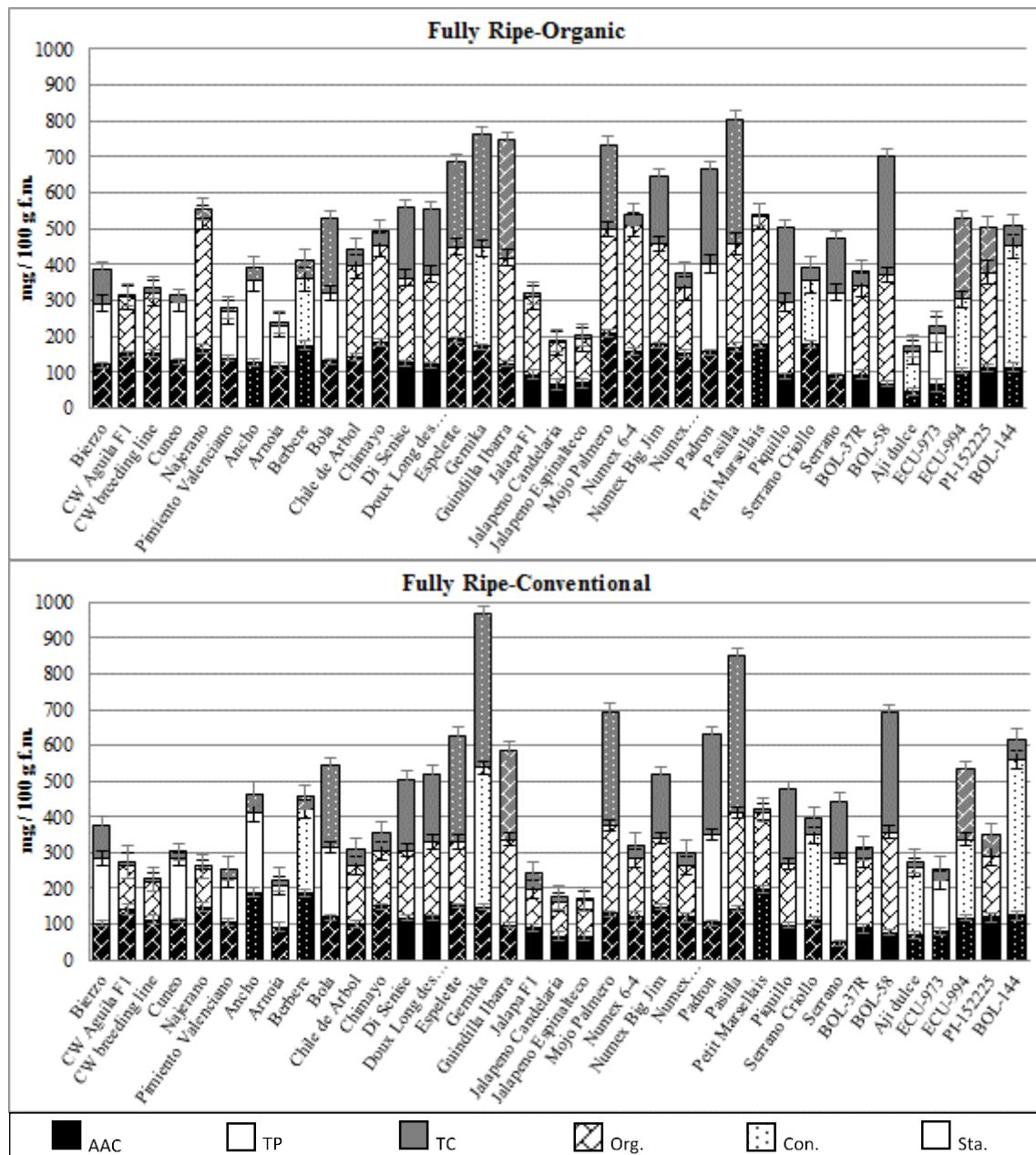


Fig 3. Comparison among accessions at the fully ripe stage considering ascorbic acid content (AAC), total phenolics (TP) and total carotenoids ($TC_R+TC_{Y/O}$) under organic (upper) and conventional (bottom) growing systems. Texture of columns, based on β parameter, indicates better response to organic (Org.), conventional (Con.) or stable behaviour (Sta.). Bars on the top of columns indicates standard error intervals.

Bierzo, among the bell peppers group, offered very high total levels of bioactive compounds ($500\text{--}800\text{ mg}\cdot 100\text{ g}^{-1}$) (Fig 3). Even more, *C. annuum* Chile de Arbol and Chimayo and *C. chinense* PI-152225 showed high levels of AAC and TP and Petit Marsellais, despite of very low carotenoids levels, is a good alternative among yellow/orange peppers. In addition, *C. baccatum* BOL-58, *C. chinense* ECU-994 and *C. frutescens* BOL-144 showed high total levels and could be selected among the exotic

species for a niche of exotic products within the organic market, especially BOL-58 and ECU-994, because of their particular aroma and flavour at the ripe stage as reported by [62].

Finally, most of the mentioned materials also showed a high performance in conventional conditions, which suggests a wide adaptation to other growing conditions, including different organic production units (Figs 2 and 3). Even more, several materials like Chimayo, Disenise, Gernika, Guindilla Ibarra, Mojo Palmero, Padron, Pasilla, Petit Marsellais, Piquillo, and the exotic *C. chinense* ECU-994 and *C. frutescens* BOL-144 offered remarkable levels of bioactive compounds regardless the ripening stage (Figs 2 and 3) and, therefore, its cultivation could be advised for producing high-quality fruits both unripe and fully ripe stages.

Conclusions

In conclusion, our findings enabled to assess the impact of factors like the genotype, the ripening stage and their interactions on the response to organic cultivation (compared to conventional) for the levels of the main bioactive compounds in peppers, founded on a comprehensive varietal diversity of *Capsicum*. A wide range of variation was found among the studied accessions, regardless the ripening stage and growing conditions. Also, fully ripe fruits were found considerably richer than unripe fruits in the studied bioactive factors, with the only exception of very few accessions in phenolics; and organic cultivation provided, as a whole, higher levels of ascorbic acid and phenolics at this stage. Moreover, the remarkable genotype \times environment interaction allowed the selection of several accessions with a remarkable performance under organic conditions at both ripening stages. By contrast the effects of growing conditions and the genotype \times growing conditions were nil on the levels of carotenoids, whose variation was mainly due to the genotype factor. The results will be very helpful for breeders and scientists aimed at breeding high-added vegetables for adaptation to organic production systems.

Acknowledgements

Authors thank seeds providers included in Table 1, like P.W. Bosland, S. Lanteri, François Jourdan, I. Ruiz de Galarreta and the different Regulatory Boards of the PDOs and GPIs included in this study. Authors also thank *LA UNIÓN* for the availability of experimental fields and the technical support from Manuel Figueroa, Rafael Hurtado, Antonio Muñoz and Ricard Ballester in the trials. Finally, the advice of Prof. Jaime Prohens in statistical procedures is also thanked.

Supporting information

S1 Fig. Diversity in fruit morphology in the studied collection of *Capsicum*: Accessions 1 (Bierzo) to 18 (Jalapa F1).

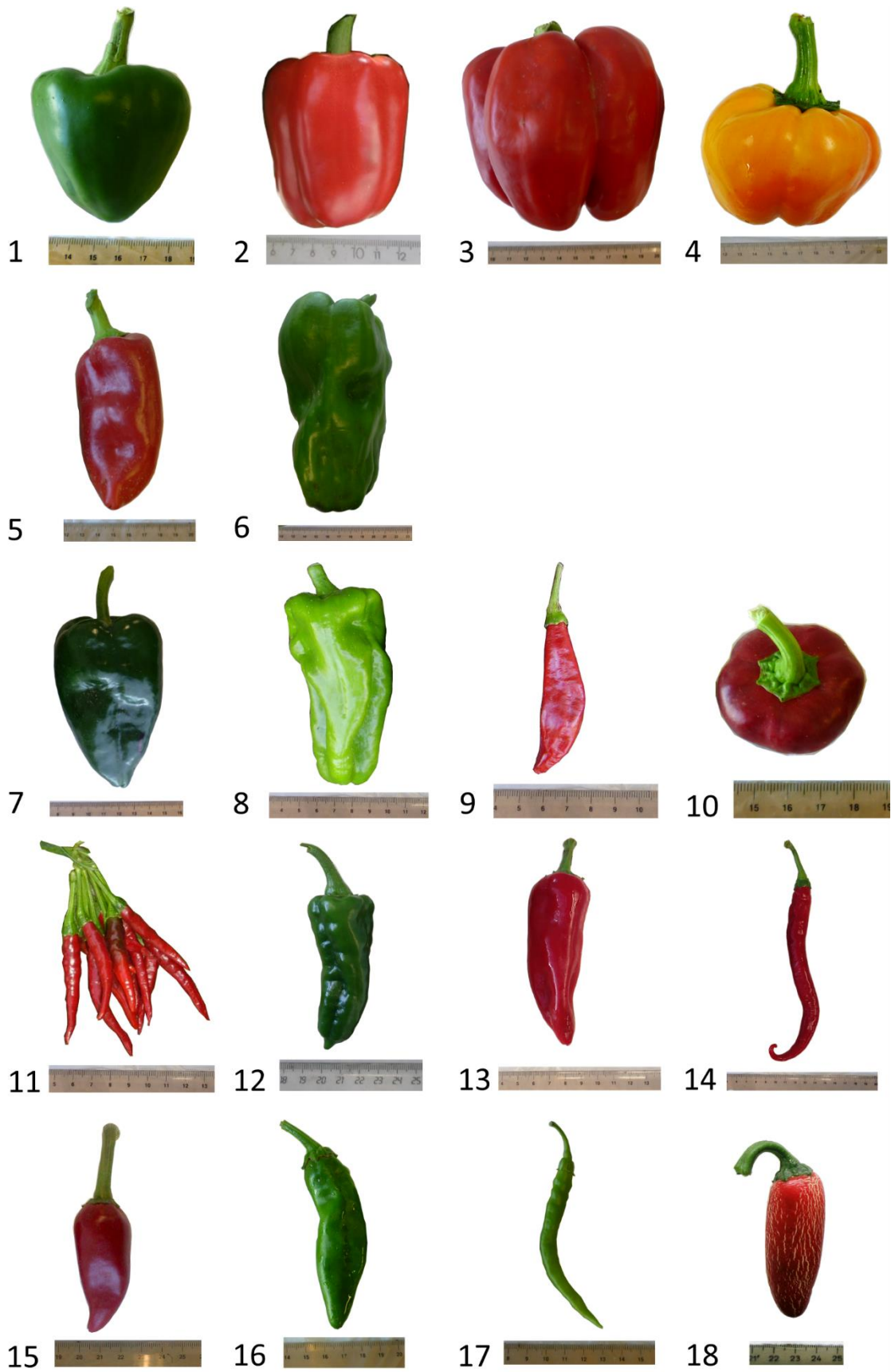
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0207888.s001> (TIF)

S2 Fig. Diversity in fruit morphology in the studied collection of *Capsicum*: Accessions 19 (Jalapeno Candelaria) to 37 (BOL-144).

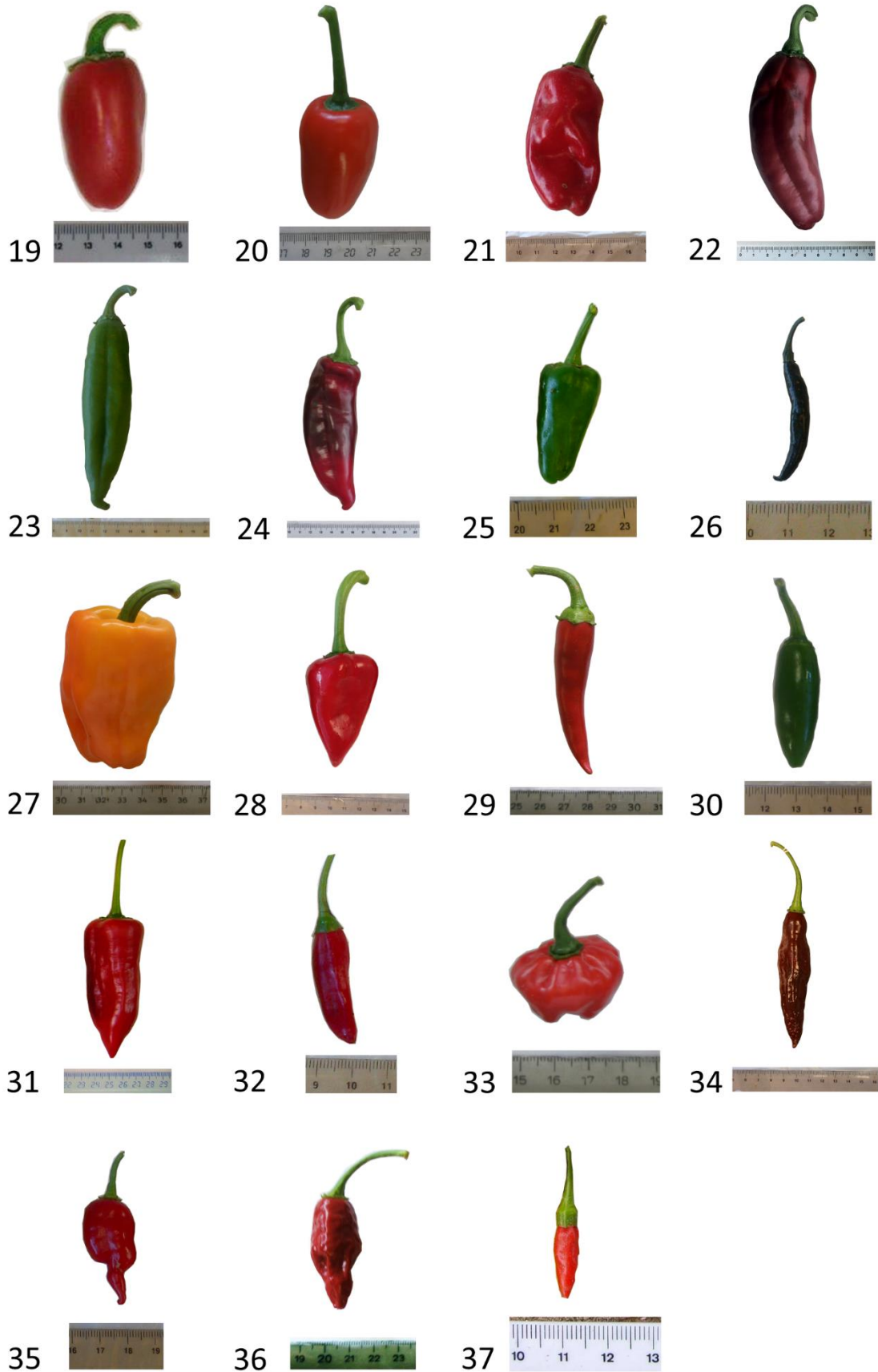
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0207888.s002> (TIF)

S1 Table. Basic soil analyses of both plots used in the experiment right before transplanting.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0207888.s003> (DOCX)



S1 Fig. Diversity in fruit morphology in the studied collection of *Capsicum*: Accessions 1 (Bierzo) to 18 (Jalapa F1).



S2 Fig. Diversity in fruit morphology in the studied collection of *Capsicum*: Accessions 19 (Jalapeño Candelaria) to 37 (BOL-144).

S1 Table. Basic soil analyses of both plots used in the experiment right before transplanting.

Parameter	Organic plot	Conventional plot
Soil texture	Sandy-clay loam	Sandy-clay loam
Available water capacity (% d.w.)	11.94	11.50
pH (H ₂ O-based)	8.14	8.21
EC (dS/cm)	0.363	0.341
CaCO ₃ (% d.w.)	11.88	11.11
N total (% d.w.)	0.10	0.10
Organic matter (% d.w.)	2.49	2.05
C/N ratio	11.45	12.29
P assimilable (ppm)	92.06	92.30
K (ppm)	694	714
Ca (ppm)	4851	4002
Mg (ppm)	451	446

References

1. d'Amour CB, Reitsma F, Baiocchi G, Barthel S, Güneralp B, Erb K-H, et al. Future urban land expansion and implications for global croplands. *Proc Natl Acad Sci.* 2017; 114(34):8939–44.
2. Seto KC, Güneralp B, Hutyra LR. Global forecasts of urban expansion to 2030 and direct impacts on biodiversity and carbon pools. *Proc Natl Acad Sci.* 2012; 109(40):16083–8.
3. Alexandratos N, Bruinsma J, others. World agriculture towards 2030/2050: the 2012 revision. 2012.
4. Foley JA, Ramankutty N, Brauman KA, Cassidy ES, Gerber JS, Johnston M, et al. Solutions for a cultivated planet. *Nature.* 2011; 478(7369):337.
5. FiBL-IFOAM. 2018. Available from: <https://www.fibl.org/en/media/media-archive/media-archive18/media-release18/article/bio-in-europa-legt-weiter-zu-biomarkt-waechst-zweistellig-bioflaeche-steigt-auf-fast-14-millionen-h.html>
6. Best H. Environmental concern and the adoption of organic agriculture. *Soc Nat Resour.* 2010; 23(5):451–68.
7. Boulay A. Organic Farming: A Solution to Agriculture Crisis Or A “New” Trend To Healthy Eating? An Overview of French And British Farmers. *Rev za Geogr Geogr.* 2010; 5(1):125–34.
8. Rodríguez-Burruezo A, Pereira-Dias L, Fita A. Pimiento. In: Ruiz de Galarreta JI, Prohens J, Tierno R, editors. *Las variedades locales en la mejora genética de plantas.* Vitoria-Gasteiz: Servicio Central de Publicaciones del Gobierno Vasco; 2016. p. 480.
9. FAOSTAT. 2017. Available from: <http://www.fao.org/faostat/en/#home>
10. DeWitt D, Bosland PW. *The Complete Chile Pepper Book: A Gardener's Guide to Choosing, Growing, Preserving, and Cooking.* Timber Press; 2009. p. 336.
11. Manzur JP, Fita A, Prohens J, Rodríguez-Burruezo A. Successful wide hybridization and introgression breeding in a diverse set of common peppers (*Capsicum annuum*) using different cultivated ají (*C. baccatum*) accessions as donor parents. *Niedz*

RP, editor. PLoS One. 2015; 10(12):e0144142.

12. González-Pérez S, Garcés-Claver A, Mallor C, Sáenz De Miera LE, Fayos O, Pomar F, et al. New insights into *Capsicum* spp relatedness and the diversification process of *Capsicum annuum* in Spain. He G, editor. PLoS One. 2014; 9(12):e116276.

13. Hill TA, Ashrafi H, Reyes-Chin-Wo S, Yao JQ, Stoffel K, Truco MJ, et al. Characterization of *Capsicum annuum* Genetic Diversity and Population Structure Based on Parallel Polymorphism Discovery with a 30K Unigene Pepper GeneChip. Zhang J, editor. PLoS One. 2013; 8(2):e56200.

14. Kumar S, Kumar R, Singh J. Cayenne/American pepper. In: Handbook of Herbs and Spices [Internet]. Woodhead Publishing; 2006. p. 299–312.

15. Pellegrini N, Serafini M, Colombi B, Del Rio D, Salvatore S, Bianchi M, et al. Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. J Nutr. 2003; 133(9):2812–9.

16. Zimmer AR, Leonardi B, Miron D, Schapoval E, de Oliveira JR, Gosmann G. Antioxidant and anti-inflammatory properties of *Capsicum baccatum*: from traditional use to scientific approach. J Ethnopharmacol. 2012; 139(1):228–33.

17. Morales-Soto A, Garcia-Salas P, Rodriguez-Perez C, Jimenez-Sanchez C, de la Luz Cadiz-Gurrea M, Segura-Carretero A, et al. Antioxidant capacity of 44 cultivars of fruits and vegetables grown in Andalusia (Spain). Food Res Int. 2014; 58:35–46.

18. Gallie DR. L-ascorbic acid: a multifunctional molecule supporting plant growth and development. Scientifica (Cairo). 2013.

19. Bosland PW, Votava EJ, Votava EM. Peppers: vegetable and spice capsicums. Vol. 22. Cabi. 2012.

20. Moreiras Tuni O, Carbajal Azcona A, Cabrera Forneiro L, Cuadrado C. Tablas de composición de alimentos : guía de prácticas. 18th ed. Ediciones Pirámide (Grupo Anaya S, editor. 2005 .

21. Taylor LP, Grotewold E. Flavonoids as developmental regulators. Curr Opin Plant Biol. 2005;8(3):317–23.

22. de Gea JC, Tomás-Barberán F. Polifenoles y salud. *Investig Cienc.* 2006;356:34–6.
23. Kris-Etherton PM, Lefevre M, Beecher GR, Gross MD, Keen CL, Etherton TD. Bioactive compounds in nutrition and health-research methodologies for establishing biological function: the antioxidant and anti-inflammatory effects of flavonoids on atherosclerosis. *Annu Rev Nutr.* 2004;24:511–38.
24. Spencer JPE. Flavonoids: modulators of brain function? *Br J Nutr.* 2008;99(E-S1):ES60--ES77.
25. Ghasemnezhad M, Sherafati M, Payvast GA. Variation in phenolic compounds, ascorbic acid and antioxidant activity of five coloured bell pepper (*Capsicum annum*) fruits at two different harvest times. *J Funct Foods.* 2011;3(1):44–9.
26. Khachik F, Goli MB, Beecher GR, Holden J, Lusby WR, Tenorio MD, et al. Effect of food preparation on qualitative and quantitative distribution of major carotenoid constituents of tomatoes and several green vegetables. *J Agric Food Chem.* 1992;40(3):390–8.
27. Zapata N, Bañón S, Cabrera P. El pimiento para pimenton. Mundi-Prensa; 1992. 240 p.
28. Van Den Berg H, Faulks R, Granado HF, Hirschberg J, Olmedilla B, Sandmann G, et al. The potential for the improvement of carotenoid levels in foods and the likely systemic effects. Vol. 80, *Journal of the Science of Food and Agriculture.* Wiley-Blackwell; 2000. p. 880–912.
29. Wall MM, Waddell CA, Bosland PW. Variation in β -carotene and total carotenoid content in fruits of *Capsicum*. *HortScience.* 2001;36(4):746–9.
30. Saini RK, Keum Y-S. Carotenoid extraction methods: A review of recent developments. *Food Chem.* 2018; 240:90–103.
31. Rodríguez-Burruezo A, González-Mas M del C, Nuez F. Carotenoid Composition and Vitamin A Value in Ají (*Capsicum baccatum* L.) and Rocoto (*C. pubescens* R. & P.), 2 Pepper Species from the Andean Region. *J Food Sci.* 2010;75(8):S446–53.

32. Hallmann E, Rembiałkowska E. Characterisation of antioxidant compounds in sweet bell pepper (*Capsicum annuum* L.) under organic and conventional growing systems. *J Sci Food Agric*. 2012; 92(12):2409–15.
33. Herencia JF, García-Galavís PA, Dorado JAR, Maqueda C. Comparison of nutritional quality of the crops grown in an organic and conventional fertilized soil. *Sci Hortic (Amsterdam)*. 2011; 129(4):882–8.
34. Pérez-López AJ, López-Nicolas JM, Núñez-Delicado E, Amor FM del, Carbonell-Barrachina ÁA. Effects of agricultural practices on color, carotenoids composition, and minerals contents of sweet peppers, cv. Almuden. *J Agric Food Chem*. 2007; 55(20):8158–64.
35. Rodríguez-Burruezo A, Prohens J, Raigón MD, Nuez F. Variation for bioactive compounds in ají (*Capsicum baccatum* L.) and rocoto (*C. pubescens* R. & p.) and implications for breeding. *Euphytica*. 2009; 170(1):169–81.
36. Plazas M, Prohens J, Cuñat AN, Vilanova S, Gramazio P, Herraiz FJ, et al. Reducing capacity, chlorogenic acid content and biological activity in a collection of scarlet (*Solanum aethiopicum*) and Gboma (*S. macrocarpon*) eggplants. *Int J Mol Sci*. 2014; 15(10):17221–41.
37. Prior RL, Wu X, Schaich K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. Vol. 53, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. American Chemical Society; 2005. p. 4290–302.
38. Hornero-Méndez D, Minguez-Mosquera MI. Rapid spectrophotometric determination of red and yellow isochromic carotenoid fractions in paprika and red pepper oleoresins. *J Agric Food Chem*. 2001; 49(8):3584–8.
39. Steel R, Torrie J. *Bioestadística: principios y procedimientos*. 2nd ed. McGraw-Hill, editor. México; 1996.
40. Kang MS. Using genotype-by-environment interaction for crop cultivar development. In: *Advances in agronomy*. Elsevier; 1997. p. 199–252.
41. Moreiras O, Carbajal A, Cabrera L, Varela G. *Tablas de composición de alimentos*. Pirámide; 2005.

42. Chassy AW, Bui L, Renaud ENC, Van Horn M, Mitchell AE. Three-year comparison of the content of antioxidant microconstituents and several quality characteristics in organic and conventionally managed tomatoes and bell peppers. *J Agric Food Chem.* 2006; 54(21):8244–52.
43. Pérez-López AJ, Del Amor FM, Serrano-Martínez A, Fortea MI, Núñez-Delicado E. Influence of agricultural practices on the quality of sweet pepper fruits as affected by the maturity stage. *J Sci Food Agric.* 2007; 87(11):2075–80.
44. Kaur C, Kapoor HC. Anti-oxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. *Int J Food Sci Technol.* 2002;37(2):153–61.
45. Sulaiman SF, Yusoff NAM, Eldeen IM, Seow EM, Sajak AAB, Ooi KL, et al. Correlation between total phenolic and mineral contents with antioxidant activity of eight Malaysian bananas (*Musa* sp.). *J Food Compos Anal.* 2011;24(1):1–10.
46. Abushita AA, Daood HG, Biacs PA. Change in carotenoids and antioxidant vitamins in tomato as a function of varietal and technological factors. *J Agric Food Chem.* 2000; 48(6):2075–81.
47. Saini RK, Nile SH, Park SW. Carotenoids from fruits and vegetables: chemistry, analysis, occurrence, bioavailability and biological activities. *Food Res Int.* 2015; 76:735–50.
48. Sun M, Temelli F. Supercritical carbon dioxide extraction of carotenoids from carrot using canola oil as a continuous co-solvent. *J Supercrit Fluids.* 2006; 37(3):397–408.
49. Borovsky Y, Paran I. Chlorophyll breakdown during pepper fruit ripening in the chlorophyll retainer mutation is impaired at the homolog of the senescence-inducible stay-green gene. *Theor Appl Genet.* 2008; 117(2):235–40.
50. Gómez-García M del R, Ochoa-Alejo N. Biochemistry and molecular Biology of carotenoid biosynthesis in chili peppers (*Capsicum* spp.). Vol. 14, *International Journal of Molecular Sciences*. Multidisciplinary Digital Publishing Institute; 2013. p. 19025–53.
51. Rossi F, Godani F, Bertuzzi T, Trevisan M, Ferrari F, Gatti S. Health-promoting

substances and heavy metal content in tomatoes grown with different farming techniques. *Eur J Nutr.* 2008; 47(5):266.

52. Stracke BA, Rüfer CE, Bub A, Briviba K, Seifert S, Kunz C, et al. Bioavailability and nutritional effects of carotenoids from organically and conventionally produced carrots in healthy men. *Br J Nutr.* 2008; 101(11):1664–72.

53. Barrett DM, Weakley C, Diaz J V, Watnik M. Qualitative and nutritional differences in processing tomatoes grown under commercial organic and conventional production systems. *J Food Sci.* 2007; 72(9):C441--C451.

54. Gnayfeed MH, Daood HG, Biacs PA, Alcaraz CF. Content of bioactive compounds in pungent spice red pepper (paprika) as affected by ripening and genotype. *J Sci Food Agric.* 2001; 81(15):1580–5.

55. Lee Y, Howard LR, Villalon B. Flavonoids and antioxidant activity of fresh pepper (*Capsicum annuum*) cultivars. *J Food Sci.* 1995; 60(3):473–6.

56. Howard LR, Talcott ST, Brenes CH, Villalon B. Changes in phytochemical and antioxidant activity of selected pepper cultivars (*Capsicum* species) as influenced by maturity. *J Agric Food Chem.* 2000; 48(5):1713–20.

57. Navarro JM, Flores P, Garrido C, Martinez V. Changes in the contents of antioxidant compounds in pepper fruits at different ripening stages, as affected by salinity. *Food Chem.* 2006; 96(1):66–73.

58. Jarrell WM, Beverly RB. The dilution effect in plant nutrition studies. *Adv Agron.* 1981; 34(C):197–224.

59. Marschner H. Mineral nutrition of higher plants. Cambridge Acad Press. 1995;889.

60. Alloway BJ. Soil factors associated with zinc deficiency in crops and humans. In: *Environmental Geochemistry and Health.* Springer Netherlands; 2009. p. 537–48.

61. Lehmann A, Veresoglou SD, Leifheit EF, Rillig MC. Arbuscular mycorrhizal influence on zinc nutrition in crop plants - A meta-analysis. *Soil Biol Biochem.* 2014; 69:123–31.

62. Kollmannsberger H, Rodríguez-Burruezo A, Nitz S, Nuez F. Volatile and capsaicinoid composition of ají (*Capsicum baccatum*) and rocoto (*Capsicum pubescens*), two Andean species of chile peppers. J Sci Food Agric. 2011; 91(9):1598–611.

Variation of flavonoids in a collection of peppers (*Capsicum* sp.) under organic and conventional cultivation: effect of the genotype, ripening stage and growing system

Ana M. Ribes-Moya¹, Ana M. Adalid¹, Maria D. Raigón¹, Pilar Hellín², Ana Fita¹, Adrián Rodríguez-Burruezo^{1*}.

¹Instituto de Conservación y Mejora de la Agrodiversidad Valenciana. Edificio 8E, acceso J. Universitat Politècnica de València. Camino de Vera s/n. 46022 Valencia, Spain

²Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario. C/ Mayor s/n. 30150 La Alberca (Murcia), Spain

* Corresponding author

E-mail: adrodbur@doctor.upv.es

Published: January 6, 2020

<https://doi.org/10.1002/jsfa.10245>

Abstract

BACKGROUND: In recent years, the acreage used for organic agriculture and the demand for organic fruit and vegetables have increased considerably. Given this scenario, landraces, such as *Capsicum* landraces, can provide valuable germplasm. *Capsicum* peppers are very interesting because of their high phenolic content, and particularly their flavonoid content, which provides a high added value. Moreover, the broad genetic diversity in local varieties expands the opportunities for adaptation to organic production and for exploiting genotype \times environment interactions to select peppers with the highest phenolic content.

RESULTS: In this work, the main flavonoids of peppers were exhaustively evaluated over 2 years in a wide collection of heirlooms, both unripe and fully ripe, under organic and conventional cultivation. The genotype and ripening stage contributed to a high degree to the variation in flavonoids. The growing system influenced this variation to a lesser extent. Luteolin and quercetin showed the highest contributions to total phenolic content (70% and $> 20\%$, respectively) at both ripening stages, while myricetin, apigenin, and kaempferol showed lower contributions. The average flavonoid content was higher in ripe fruits, and organic management significantly increased the accumulation of total flavonoids and luteolin. Positive correlations between flavonoids were found at both ripening stages, especially between main flavonoids luteolin and quercetin and between kaempferol and quercetin ($\rho > 0.7$).

CONCLUSION: Genotype \times environment interaction enabled the identification of accessions with high flavonoid content grown under organic conditions at both ripening stages, particularly total flavonoids and luteolin at the fully ripe stage. Our results reinforce the importance of a wide genetic variation and of considering different ripening stages and growing conditions for breeding high-quality peppers.

Keywords: HPLC; antioxidants; sustainable agriculture; quercetin; luteolin; kaempferol

Introduction

Human consumption habits are constantly changing as a result of social, historical, and / or environmental factors. Nowadays, the demand for products coming from sustainable production systems like organic agriculture is increasing. The organic cultivated area in Europe increased from 6.8 million hectares in 2005 to 13.5 million hectares in 2016 [1]. The main reasons for such trend are: (i) to prevent excessive phytosanitary treatments and fertilizers in order to decrease the impact on agroecology equilibriums and to contribute to a more sustainable use of resources; (ii) the assumption that organically produced fruits and vegetables are healthier and richer in nutraceutical compounds [2–5].

By contrast, plant breeding, particularly in vegetables, has traditionally been focused on conventional and highly intensive agricultural practices. There is thus a need for the adaptation and improvement of plant materials used in organic agriculture because most cultivars are modern F1 hybrids whose breeding process has been mainly carried out under high-inputs conditions. In this regard, traditional varieties (i.e. ecotypes, landraces, and heirlooms) can be considered very interesting plant resources that can be used as a starting point in organic breeding. They have been cultivated by generations of farmers and have evolved and adapted to the low-input conditions typical of traditional growing systems – particularly cultivars grown before the green revolution [6]. Moreover, in contrast to modern F1 materials, they may show several traits of interest like resistance to local diseases and higher nutritional and organoleptic qualities that are greatly appreciated by consumers (i.e. ‘taste of the past’) [7]. Furthermore, these plant resources display a huge genetic diversity, which is essential when attempting any breeding program, and promoting their use enables the conservation of agrobiodiversity and mitigates the genetic erosion of plant resources [8].

In this respect, *Capsicum* peppers represent a good case study. Native peppers from America (or chilies) are grown worldwide. They were introduced to Europe in the fifteenth century and then to Africa and Asia in the sixteenth century. Currently, the harvested area for both dry chilies and fresh peppers is about 4 million ha [9]. They encompass a wide range of varietal types and genotypes. Cultivated peppers belong to five species of the genus *Capsicum*: three from the *annuum* complex, which includes the most economically important species *C. annuum* (sweet and chili peppers, e.g. bell

types, jalapenos, serranos, anchos, pasillas, and many cayenne peppers), *C. chinense* (e.g. Bhut jolokia and Habanero) and *C. frutescens* (e.g. Tabasco), and other two species, mainly grown in the Andean region, *C. baccatum* (South American *ají*) and *C. pubescens* (rocoto in Andean countries or Manzano in Mexico) [10,11]. As a gateway to Europe, Spain became a source of diversity for *C. annuum* due to the large heterogeneity in its agroclimatic conditions, and its various culinary uses for the peppers, which gave rise to a plethora of ecotypes in all the regions of the peninsula and islands (Canary and Balearic). In fact, nowadays Spain has an extensive list of protected designations of origin (PDOs) and protected geographical indications (PGIs) – much larger than for other fruit [7,12].

The rapid increase in the popularity of peppers and their fast spread from America were due to their double use as vegetables and / or spices, and their usefulness at both the unripe and fully ripe stages [13–15]. Later, *Capsicum* fruits were found to have a high nutritional value due to their bioactive compound content, which included vitamins (A, B complex, C, and E), carotenoids, and, particularly, phenolic compounds [16–18].

Phenolic compounds are secondary metabolites that are produced naturally by plants. They have a range of functions related to plant development, structural integrity, colour, and sensory characteristics, as well as protection against predators, infections, and diseases [19–21]. Phenolic content may be influenced by genetic and agroclimatic factors [22–24]. The contribution of these bioactive compounds in the human diet is valued due to their scavenging-derived metabolites and antioxidant functions, such as anti-inflammatory, antiatherosclerotic, and antitumor properties, and their effects in combating diseases [25–27]. According to previous reports, the main group of phenolics in *Capsicum* pods with antioxidant properties are flavonoids. These have a structure of two phenyl rings and one heterocyclic ring (C6-C3-C6) [28]. Quercetin, luteolin, myricetin, kaempferol, and apigenin are the most common examples [29–31].

Objective

The objective of the present study was to assess the content of the main phenolic compounds in a comprehensive collection of varietal types of pepper and chili under

two growing conditions, organic and conventional management, and to examine the changes in the phenolics profile due to the fruit ripening in different years. As far as the authors are aware, this is the first exhaustive study on the effect of organic conditions, ripening stage, genotype, and their interactions on the accumulation of the main antioxidant phenolics in a broad collection of *Capsicum* varietal types and species.

Material and methods

Plant material

This work was developed with a collection of 14 *Capsicum* accessions including *C. annuum* (12), *C. chinense* (1), and *C. baccatum* (1). The collection encompassed a wide diversity of morphotypes and geographical origins, including ecotypes of PDOs and PGIs (Table 1; see also Appendix 1a and Appendix 1b).

Pepper cultivation

The trials were carried out during two consecutive growing seasons (2015 and 2016). Plants were grown under open field conditions in a spring-summer growing cycle, in both organic and conventional systems. Both plots were located in Sagunto (Valencia, Spain). The organic plot was within the protected area ‘Marxal dels Moros’ (UTM coordinates, X: 734494.88 and Y: 4390434.86) while the plot managed under conventional conditions was located close to this protected area (X: 732900.40 and Y: 4391754.37). In this way, agroclimatic and environmental characteristics (i.e. climate and soil texture) were similar in both plots. Organic and conventional plots were distributed in ridges, and plants were transplanted on the top of the ridges at a distance of 0.5m within each ridge and with 1mbetween ridges. Plants were irrigated by furrow irrigation three times per month during spring months and four times per month in summer months.

Table 1. List of accessions used, local name, origin and fruit traits (Appendices 1a and 1b).

Cultivar/accession	Origin	Colour	Mesocarp	Shape (Pochard type)	Length/width (mm)	Weight (g)
<i>C. annuum</i>						
1. Bierzo	Cons. Reg. PGI Pimiento Asado Bierzo. Carracedelo, Leon (Spain)	Red	Thick, fleshy	Conical/heart (P)	104/94	100-200
2. Bola	Cons. Reg. PDO Pimentón Murcia. Totana, Murcia (Spain)	Deep red	Thin, high dry matter	Round (N)	35/41	10-25
3. Espelette	Françoise Jourdan. Type PGI Piment d'Espelette. INRA Geves (France)	Deep red	Thin, high dry matter	Elongated (C3)	138/29	25-50
4. Gemika	S. Larregla. PGI Gemikako Piperra. NEIKER, Euskadi (Spain)	Deep red	Thin, high dry matter	Elongated (C2)	84/32	25-50
5. Guindilla Ibarra	S. Larregla. EUSKO-Quality Label. NEIKER, Euskadi (Spain)	Red	Thin, high dry matter	Very elongated (C1)	139/11	<10
6. Jalapeno M	Reimer Seeds (USA)	Red	Thick, fleshy	Elongated (B4)	65/31	10-25
7. Mojo Palmero	Reserva Mundial de la Biosfera. La Palma, Canarias (Spain)	Deep red	Thin, high dry matter	Elongated (C2)	56/21	10-25
8. Numex Big Jim	P.W. Bosland. NMSU, Las Cruces, New Mexico (USA)	Red	Medium	Elongated (C2)	215/34	50-200
9. Padron	Cons. Reg. PDO Pemento Herbón. Coruña/Pontevedra, Galicia (Spain)	Red	Thin, high dry matter	Elongated (B4)	65/26	<10
10. Piquillo	Cons. Reg. PDO Pimiento Piquillo de Lodosa. Lodosa, Navarra (Spain)	Deep red	Medium	Triangular (C4)	94/48	50-100
11. Pimiento Valenciano	COMAV Institute. Valencia (Spain)	Red	Thick, fleshy	(Bell) Elongated (B1)	162/73	>250
12. Serrano	Reimer's Seeds Co. Mexico	Red	Medium	Elongated (B4)	35/16	<10
<i>C. baccatum</i>						
13. BOL-58	Cochabamba. Cochabamba (Bolivia)	Deep red	Thin, high dry	Elongated	70/15	5-10
<i>C. chinense</i>						
14. ECU-994	Archidona, Napo (Ecuador)	Red	Thin, high dry matter	Triangular	42/15	5-10

In the soil of the organic plot and prior to our trials, a crop rotation every 4 years was applied, and, before each trial, sheep manure was applied as fertilizer (4 kgm⁻²). Treatments for pest control were not necessary in the organic plot because the micro-fauna balance was established after years of organic management in the ‘Marxal dels Moros’ area. Adventitious plants were controlled by hand clearing (once per month).

By contrast, conventional management included fertilization based on several inorganic products. Thus, a mix of nitrogen, phosphorus, and potassium (15–15-15; 50 g m⁻²; FERTIBERIA, Sagunto, Spain) was applied before transplanting, and after transplanting iron chelate (one application of 3 kg 1000 m⁻²; FERTIBERIA) and calcium nitrate (one application at 20 g L⁻¹ and two applications at 10 g L⁻¹; FERTIBERIA). Pests were controlled using abamectin (1.8%, EC; AFRASA, Valencia, Spain) and chlorpyrifos (48%, EC; AFRASA) as pesticides in combination with copper oxychloride (58.8% WP; AFRASA) as fungicide. Thus, chlorpyrifos (50 cc) was combined with copper oxychloride (100 cc) in 20 L of water (six times per season) and abamectin (30 cc) with copper oxychloride (100 cc) in 20 L of water (3 times per season). Adventitious plants were cleared manually once per month.

Design and preparation of samples

A random distribution model was chosen for the design of both plots. Ten plants per accession were distributed randomly in two blocks of five plants per plot. This experimental design was framed by a border of excess plants from transplanting. Fruits were harvested at both ripening stages to prepare unripe and fully ripe samples separately. Each sample was prepared with the fruits of two plants (one per block) and, therefore, 5 samples (n = 5) per combination of accession (14) × ripening stage (2) × growing conditions (2) were analyzed in both the 2015 and the 2016 trials; 30 g of fruit mesocarp of each sample was lyophilized in a Wizard 2.0 freeze dryer (VirTis, Warminster, PA, USA) and milled. The powder samples were then placed in sealed falcon tubes and stored in dry and dark conditions until the extractions and analyses of phenolics.

Analysis of phenolics

The extraction of phenolics was carried out as described by Plazas et al [32] with some modifications. A subsample of 100 mg of each lyophilized sample was placed in a 2 mL microcentrifuge tube with 1.5 mL of extraction solution (methanol/water 80:20 v/v; 0.1% BHT), mixed with vortex and incubated in an ultrasonic bath (Elmasonic s30, Elma Schmidbauer GmbH, Singen, Germany) at 30 °C for 1 h. The mixture was then centrifuged at 9500×g for 5 min and 750 µL was collected in a 2 mL threaded microcentrifuge tube. The extract solution was hydrolyzed with 3 mol L⁻¹ HCl at 95 °C in a thermoblock for 1 h (Thermoblock TD, Falc Instruments, Treviglio, Italy). The hydrolyzed sample was cooled to room temperature and stored at -80 °C until the analysis, then they were filtered through a 0.22 µm polytetrafluoroethylene (PTFE) membrane.

For the determination of the main flavonoids in *Capsicum*, a methodology based on that described by Bae et al. [29], with slight modifications, was used. The flavonoids were determined in their aglycon form after acid hydrolysis by high-performance liquid-chromatography (HPLC, 1220 Infinity LC, Agilent Technologies, Madrid, Spain) coupled to an UV detector. Flavonoids were separated using a Brisa LC²-C₁₈ column (3 µm, 150 × 4.6 mm) (Teknokroma, Barcelona, Spain), with 0.1% formic acid in water (A) and HPLC-grade methanol (B, Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA) as mobile phase and 0.8 mL·min⁻¹ of flow rate. Detection was performed at 360 nm and 10 µL of sample injection volume were used.

Total flavonoid content was calculated as the sum of the five flavonoid aglycons analyzed, and the results were presented in mg of each flavonoid per kg of fresh fruit and were plotted using ggplot2 package (2.2.1 version) [33]. Fresh weight was estimated according to the initial moisture content, which was estimated from the difference in weight of each sample before and after the process of freeze drying. Identification of flavonoids was carried out through comparison with retention times (Rt) of the external standards, quercetin (purity ≥95%, Rt: 7.99 s), luteolin (98%, Rt: 8.40 s), myricetin (96%, Rt: 6.82 s), kaempferol (97%, Rt: 8.98 s), and apigenin (95%, Rt: 9.20 s), purchased from Sigma-Aldrich (Sigma-Aldrich Spain). Calibration curves for quercetin (11.4–114.0 µg mL⁻¹), luteolin (11.8–117.6 µg mL⁻¹), myricetin (1.0–9.6

$\mu\text{g mL}^{-1}$), kaempferol (1.0–9.7 $\mu\text{g mL}^{-1}$), and apigenin (1.0–9.5 $\mu\text{g mL}^{-1}$) were performed three times.

Statistical analysis

Data were analysed using the *Statgraphics Centurion XVII* software (StatPoint Technologies, Inc; Warrenton, VA, USA) and a generalized linear model analysis of variance (GLM ANOVA) with transformed data ($\log x + 1$) was used.

For the general ANOVA, the linear model used was

$$X_{ijklm} = \mu + a_i + b_j + c_k + d_l + (\alpha \times \beta)_{ij} + (\alpha \times \gamma)_{ik} + (\beta \times \gamma)_{jk} + e_{ijkl(m)},$$

where X_{ijklm} is the value for fruit sample m of genotype i , growing system j , ripening stage k and year l ; μ is the general mean; a_i is the effect of genotype i ; b_j is the effect of growing system j ; c_k is the effect of ripening stage k ; d_l is the effect of year l ; $(\alpha \times \beta)_{ij}$ is the interaction between genotype i and growing system j ; $(\alpha \times \gamma)_{ik}$ is the interaction between genotype i and ripening stage k ; $(\beta \times \gamma)_{jk}$ is the interaction between growing system j and ripening stage k and $e_{ijkl(m)}$ is the error term, i.e. the effect of fruit sample m from the combination of genotype i , growing system j , ripening stage k and year l . Year interactions were not performed in GLM ANOVA due to its nature as a random factor.

The ANOVA was distinguished between unripe and fully ripe stages and the linear model used was

$$X_{ijkl} = \mu + a_i + b_j + c_k + (\alpha \times \beta)_{ij} + e_{ijk(l)},$$

where X_{ijkl} is the value in one specific ripening stage for fruit sample l of genotype i , growing system j and year k ; μ is the general mean; a_i is the effect of genotype i ; b_j is the effect of growing system j ; c_k is the effect of year k ; $(\alpha \times \beta)_{ij}$ is the interaction between genotype i and growing system j and $e_{ijk(l)}$ is the effect of fruit sample l from the combination of genotype i , growing system j and year k .

The means were calculated for each set of ten samples and regression analysis was used to study the genotype \times growing system interactions [34]. The regression coefficients (β) per genotype were calculated from the average contribution of each growing system and the formula

$$\beta_i = (\mu_{ij} - \mu_{ijk}) / (\text{environmental mean}) = (\mu_{ij} - \mu_{ijk}) / (\mu_j - \mu_{jk});$$

where β_i is the regression coefficient value for each specific trait and ripening stage for genotype i ; μ_{ij} is the mean of genotype i in growing system j ; μ_{ijk} is the mean of genotype i for both growing systems j and k , μ_j is the mean for all the genotypes in growing system j , μ_{jk} is the mean for all the genotypes in both growing systems j and k . The cases with β values that did not differ significantly from 0 were considered stable genotypes against the growing system effect [35].

Correlation between phenolics was studied using Spearman's rank coefficient ρ for the unripe stage ($n = 280$), fully ripe stage ($n = 279$), and the evolution of phenolics in ripening (ratios fully ripe/unripe, $n = 28$). The correlation between genotypes according to their composition in phenolics was studied through principal component analysis (PCA) and the heatmap graphical representation of data for both growing systems in unripe and fully ripe stage was studied using online software, ClustVis [36]. Original values were transformed by $\ln(x + 1)$ and singular value decomposition (SVD) with imputation was used in PCA.

Results and discussion

Effects of genotype, growing system, ripening stage, and interactions

The ANOVA analysis showed that the genotype (G) had the highest contribution to the observed variation with a significant effect for both total and individual flavonoids, except for myricetin and kaempferol (Table 2). To a lesser extent, the year effect also contributed significantly to the variation in total flavonoids and most individual flavonoids (except for myricetin), which confirms the importance of a multi-year design to decrease the environmental effect related to agroclimatic conditions from year to year, especially in open fields [37]. The ripening stage (R) also contributed significantly in all flavonoids, particularly in myricetin (Table 2), indicating changes in the content of phenolics due to the ripening process [38]. By contrast, the general effect of the growing system (E) was not significant, although significant $G \times E$ interaction was found for variation in total flavonoids ($P < 0.05$) and luteolin ($P < 0.01$), suggesting a different

behavior of the accessions depending on the growing system. Also, $G \times R$ interaction was significant for total and individual flavonoids. This fact and the high contribution of the ripening stage could be hiding the magnitude of the other factors to the observed variation and, therefore, specific ANOVA for each ripening stage were then performed separately (Table 2).

Table 2. General and specific ANOVA corresponding to each ripening stage for total flavonoids, luteolin, quercetin, myricetin, apigenin and kaempferol.

Effect	Total Flavonoids		Luteolin		Quercetin		Myricetin		Apigenin		Kaempferol	
	df ¹	MS ²	df	MS	df	MS	df	MS	df	MS	df	MS
General ANOVA												
Main effect												
Genotype (G)	13	12.12***	13	13.14***	13	26.39***	13	4.13***	13	6.07***	13	3.88***
Growing system (E)	1	0.06 ^{NS}	1	0.05 ^{NS}	1	0.47 ^{NS}	1	0.07 ^{NS}	1	0.00 ^{NS}	1	0.03 ^{NS}
Ripening stage (R)	1	1.48***	1	1.33***	1	1.06*	1	56.74***	1	1.83***	1	0.34*
Year	1	5.76***	1	4.42***	1	18.51***	1	0.00 ^{NS}	1	3.12***	1	5.48***
Interactions												
G x E	13	0.14*	13	0.18**	13	0.33 ^{NS}	13	0.19 ^{NS}	13	0.04 ^{NS}	13	0.08 ^{NS}
G x R	13	0.70***	13	0.61***	13	2.15***	13	1.92***	13	0.39***	13	0.18***
E x R	1	0.23 ^{NS}	1	0.22 ^{NS}	1	0.20 ^{NS}	1	0.02 ^{NS}	1	0.06 ^{NS}	1	1.20***
Error	515	0.08	515	0.07	515	0.23	515	0.35	515	0.05	515	0.06
Unripe stage ANOVA												
Main effect												
Genotype (G)	13	5.23***	13	5.63***	13	11.21***	13	4.42***	13	2.52***	13	1.91***
Growing system (E)	1	0.03 ^{NS}	1	0.03 ^{NS}	1	0.03 ^{NS}	1	0.01 ^{NS}	1	0.03 ^{NS}	1	0.79***
Year	1	1.94***	1	1.14***	1	7.35***	1	1.88*	1	2.87***	1	3.68***
Interactions												
G x E	13	0.07 ^{NS}	13	0.10 ^{NS}	13	0.21 ^{NS}	13	0.29 ^{NS}	13	0.10*	13	0.08 ^{NS}
Error	251	0.08	251	0.08	251	0.19	251	0.44	251	0.05	251	0.05
Fully ripe stage ANOVA												
Main effect												
Genotype (G)	13	7.59***	13	8.12***	13	17.33***	13	1.63***	13	3.94***	13	2.14***
Growing system (E)	1	0.27*	1	0.25*	1	0.66 ^{NS}	1	0.08 ^{NS}	1	0.04 ^{NS}	1	0.44*
Year	1	4.03***	1	3.65***	1	11.43***	1	2.10**	1	0.65***	1	1.96***
Interactions												
G x E	13	0.14*	13	0.17**	13	0.31 ^{NS}	13	0.18 ^{NS}	13	0.07 ^{NS}	13	0.06 ^{NS}
Error	250	0.07	250	0.06	250	0.28	250	0.25	250	0.04	250	0.07

¹degrees of freedom; ²mean square; ^{NS}, *, ** and *** indicate not significant for a probability $p > 0.05$ and significant for $p < 0.05$, 0.01 and 0.001, respectively, according to the statistical F ratio.

As found in the general ANOVA, the genotype effect was also significant and predominant in total flavonoids and individual flavonoids at both unripe and fully ripe stages, followed by the year effect (Table 2). By contrast to the general ANOVA the ANOVAs considering each ripening stage separately showed a significant contribution of the growing system and its interactions with the genotype in some flavonoids, especially at the fully ripe stage (Table 2). For that reason, the discussion of results in the next sections will be performed separately for each ripening stage.

Flavonoids in unripe fruits

The analysis of the main phenolic compounds at the unripe stage revealed remarkable differences among flavonoids and among varieties (Table 3). Luteolin and quercetin had on average the highest contribution to total flavonoids (around 70% and 25%, respectively) while myricetin, apigenin and kaempferol showed considerably lower levels ($\leq 5\%$ total, each) (Table 3). Moreover, a considerable variation within each compound was observed depending on genotype, and to a lesser extent depending on the growing system and $G \times E$ interaction, as detected in the ANOVA (Table 2). Thus, luteolin ranged between 29 and 220 mg kg^{-1} (for Jalapeño organic and Gernika conventional, respectively), quercetin between 2 and 72 mg kg^{-1} (for Jalapeno and Guindilla Ibarra both in organic, respectively), myricetin between 1.3 and 9 mg kg^{-1} (for ECU-994 organic and BOL-58 conventional, respectively), apigenin between 0.2 and 4 mg kg^{-1} (for Serrano organic and conventional and Guindilla Ibarra conventional, respectively) and kaempferol between 0.04 and 2.5 mg kg^{-1} (for ECU-994 organic and Guindilla Ibarra conventional, respectively. Table 3). In a previous work of Howard et al [39] these differences among phenolics in unripe *Capsicum* fruits were also detected with quercetin and luteolin ranging from 2 to 68 and from 6 to 44 mg kg^{-1} respectively. However, the average content of quercetin in that report was higher than luteolin, while the contrary was found in our study with a clear predominance of the mean luteolin content. This fact reveals that the use of genetic diversity is highly recommended to assess the behaviour of any crop.

Differences among genotypes, as found in the ANOVA (Table 2), were remarkable. Thus, genotypes with the highest total phenolic compounds in unripe stage were Bierzo, Gernika, Guindilla Ibarra, and Padron in both growing systems, Piquillo in the organic

Table 3. Total and individual flavonoids average content (mg kg⁻¹ FW, n=10) and regression coefficient (β), of a collection of pepper fruits at unripe stage, growing under organic (Org.) and conventional (Con.) conditions over two years.

Genotype	Total Flavonoids			Luteolin			Quercetin			Myricetin			Apigenin			Kaempferol		
	Org.	Con.	β^1	Org.	Con.	β	Org.	Con.	β	Org.	Con.	β	Org.	Con.	β	Org.	Con.	β
Bierzo	141.33	140.09	-0.66 ^{NS}	78.38	71.46	-2.64 ^{NS}	55.39	60.05	-4.20 ^{NS}	4.94	4.84	-0.84 ^{NS}	1.01	1.53	61.26 ^{NS}	1.61	2.21	2.54 ^{NS}
BOL-58	93.97	89.65	-2.32 ^{NS}	68.15	64.40	-1.43 ^{NS}	15.83	12.54	2.96 ^{NS}	6.64	8.95	21.15*	2.85	3.12	31.51 ^{NS}	0.50	0.64	0.57 ^{NS}
Bola	88.93	92.22	1.76 ^{NS}	65.96	73.90	3.03 ^{NS}	17.26	14.83	2.19 ^{NS}	2.89	1.63	-11.60 ^{NS}	2.59	1.52	-124.62 ^{NS}	0.22	0.35	0.53 ^{NS}
ECU-994	60.97	61.74	0.42 ^{NS}	40.21	38.31	-0.72 ^{NS}	15.99	18.02	-1.83 ^{NS}	1.31	1.94	5.73 ^{NS}	3.42	3.24	-20.42 ^{NS}	0.04	0.24	0.84 ^{NS}
Espelette	119.55	142.69	12.41***	86.34	108.14	8.31***	25.39	27.17	-1.61 ^{NS}	5.18	4.36	-7.54 ^{NS}	1.56	1.46	-11.44 ^{NS}	1.09	1.56	2.01 ^{NS}
Gernika	247.03	279.62	17.48***	186.84	220.53	12.84***	50.79	49.58	1.09 ^{NS}	6.12	6.13	0.11 ^{NS}	1.56	1.60	4.32 ^{NS}	1.72	1.80	0.30 ^{NS}
Guindilla Ibarra	287.14	287.18	0.02 ^{NS}	205.35	211.98	2.53 ^{NS}	72.27	64.48	7.01*	3.95	4.55	5.51 ^{NS}	3.39	3.71	37.34 ^{NS}	2.18	2.45	1.15 ^{NS}
Jalapeno M	37.67	38.79	0.60 ^{NS}	28.59	29.13	0.21 ^{NS}	2.03	2.15	-0.10 ^{NS}	5.20	5.49	2.65 ^{NS}	1.51	1.71	22.75 ^{NS}	0.32	0.31	-0.06 ^{NS}
Mojo Palmero	99.25	112.58	7.15*	73.82	85.69	4.53**	20.08	21.84	-1.59 ^{NS}	3.87	3.40	-4.30 ^{NS}	0.90	0.71	-22.05 ^{NS}	0.59	0.94	1.47 ^{NS}
Numex Big Jim	76.86	68.58	-4.44 ^{NS}	53.70	44.25	-3.60*	16.55	17.90	-1.21 ^{NS}	5.02	4.48	-4.93 ^{NS}	0.91	0.84	-7.35 ^{NS}	0.68	1.11	1.81 ^{NS}
Padron	135.86	144.21	4.48 ^{NS}	88.90	94.23	2.03 ^{NS}	39.04	40.63	-1.43 ^{NS}	5.37	6.15	7.05 ^{NS}	1.20	1.34	17.04 ^{NS}	1.35	1.87	2.17 ^{NS}
Piquillo	120.72	102.03	-10.02***	86.76	74.52	-4.67**	28.41	20.87	6.79*	3.30	4.37	9.83 ^{NS}	1.44	1.35	-10.50 ^{NS}	0.81	0.92	0.46 ^{NS}
Serrano	95.12	76.59	-9.94***	68.16	56.86	-4.31*	18.19	11.97	5.61 ^{NS}	7.25	6.63	-5.60 ^{NS}	0.19	0.19	0.12 ^{NS}	1.33	0.94	-1.66 ^{NS}
Valenciano	86.76	81.29	-2.93 ^{NS}	53.53	48.02	-2.10 ^{NS}	26.98	26.64	0.31 ^{NS}	4.37	4.02	-3.23 ^{NS}	0.90	1.21	36.06 ^{NS}	0.96	1.41	1.87 ^{NS}
System mean	120.80a	122.66a	-	84.62a	87.24a	-	28.87a	27.76a	-	4.67a	4.78a	-	1.67a	1.68a	-	0.96a	1.20b	-
Environmental effect	-0.93	0.93	-	-1.31	1.31	-	0.56	-0.56	-	-0.05	0.05	-	0.00	0.00	-	-0.12	0.12	-
Standard error	15.27	15.27	-	10.31	10.31	-	5.73	5.73	-	0.65	0.65	-	0.23	0.23	-	0.20	0.20	-

¹Significance levels according to the statistical F ratio: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$; NS, not significant ($p > 0.05$)

system, and Espelette in conventional growing system ($>120 \text{ mg kg}^{-1}$, Table 3). Mean values for luteolin ranged from 29 to 205 mg kg^{-1} in organic and from 29 to 221 in conventional, and several genotypes showed levels $>85 \text{ mg kg}^{-1}$ (Espelette, Gernika, Guindilla Ibarra and Padron in both systems, Piquillo in organic and Mojo Palmero in the conventional system) (Table 3). A remarkable range of variation was also found for quercetin, with mean values between 2 and 72 mg kg^{-1} in the organic system and between 2 and 64 mg kg^{-1} in the conventional system. Thus, Bierzo, Espelette, Gernika, Guindilla Ibarra, Padron, and Valenciano in both systems and Piquillo in the organic system, showed values $>25 \text{ mg kg}^{-1}$ (Table 3).

Finally, regarding minor flavonoids, myricetin levels ranged between 1 and 7 mg kg^{-1} and 2 and 9 mg kg^{-1} in the organic and conventional systems, respectively, with *C. baccatum* BOL-58, Gernika, Jalapeño, Padron, and Serrano showing levels $>5 \text{ mg kg}^{-1}$ (Table 3). Apigenin ranged from 0.2 to 3.4 mg kg^{-1} and from 0.2 to 3.7 mg kg^{-1} in the organic and conventional systems, respectively, with BOL-58, *C. chinense* ECU-994 and Guindilla Ibarra showing $\geq 3 \text{ mg kg}^{-1}$ in both systems (Table 3). Kaempferol mean values ranged between 0.04 and 2.18 mg kg^{-1} in the organic system and between 0.24 and 2.45 mg kg^{-1} in the conventional system, with Bierzo, Gernika, Guindilla Ibarra, and Padron $\geq 1.5 \text{ mg kg}^{-1}$ (Table 3).

These results indicate the wide variability available in terms of phenolic content depending on the genotype and suggest that there is a need to use comprehensive genetic pools to breed for nutritional quality. In fact, these findings, based on a considerable collection of varietal types, gave comparatively wider ranges of variation in unripe peppers than those from Howard et al [39] based on four *C. annuum* varieties and one *C. frutescens*, with quercetin plus luteolin values from 17 to 85 mg kg^{-1} FW. Another study, based on seven *C. annuum* cultivars and one *C. chinense* reported a range of variation between genotypes at the unripe stage for total flavonoids (luteolin, quercetin, myricetin, apigenin, and kaempferol) from 4 to 50 mg kg^{-1} FW [40]. Nevertheless, our genetic pool of 14 varieties gave ranges for the sum of both flavonoids much higher than the reports mentioned (30 to 275 mg kg^{-1}), which indicates the importance of working with a wide genetic pool for breeding and selection purposes.

Regarding genotype \times environment interaction, the main effect of the growing system was small as revealed in the ANOVA (Table 2). Total means in organic versus conventional systems were very similar in total flavonoids (121 versus 123 mg kg⁻¹) and most individual flavonoids, and only kaempferol showed significant differences (being slightly higher in the conventional system) (Table 3). Considering the regression coefficient β , most accessions showed stable behaviour, with similar mean values and non-significant β values comparing organic and conventional conditions (Table 3). Nonetheless, some genotypes showed significantly different responses depending on the growing system at the unripe stage. Thus, Piquillo and Serrano for total flavonoids, Guindilla Ibarra and Piquillo for quercetin and Numex Big Jim, Piquillo, and Serrano for luteolin showed significantly higher levels in the organic system, whereas Espelette, Gernika and Mojo Palmero had higher values for total flavonoids and luteolin and BOL-58 for myricetin in the conventional system (Table 3).

Flavonoids in fully ripe fruits

Measurements of flavonoids in fully ripe fruits revealed generally higher averages than those in unripe fruits (Table 4). As observed in unripe fruits, luteolin, quercetin and myricetin were the main flavonoids in fully ripe fruits (70%, 21% and 6% mg kg⁻¹ of total flavonoids, respectively, in both growing systems) (Table 4). The genotype effect detected in the ANOVA suggested wide ranges of variation within each compound. Thus, luteolin ranged between 33 and 270 mg kg⁻¹ (for ECU-994 in the organic system and Gernika in the conventional system, respectively); quercetin ranged from 2 to 79 mg kg⁻¹ (for Jalapeno and Gernika in the conventional system, respectively) and myricetin ranged between 6 and 17 mg kg⁻¹ (for Bola in the organic system and BOL-58 in the conventional system, respectively) (Table 4). Finally, apigenin ranged between 0.1 and 5.8 mg kg⁻¹ (for Serrano and BOL-58 in the organic system, respectively) and kaempferol ranged between 0.2 and 3.1 mg kg⁻¹ (for ECU-994 and Bierzo in the organic system, respectively) (Table 4).

In terms of total flavonoids, accessions BOL-58, Espelette, Gernika, Guindilla Ibarra, and Padron for both organic and conventional growing systems and Bierzo for the organic system showed the highest values (i.e. ≥ 150 mg kg⁻¹). For luteolin, the highest levels corresponded to Gernika, Guindilla Ibarra (>200 mg kg⁻¹), BOL-58, and

Table 4. Total and individual flavonoids average content (mg·kg⁻¹ FW, n=10) and regression coefficient (β), of a collection of pepper fruits at fully ripe stage, growing under organic (Org.) and conventional (Con.) conditions over two years.

Genotype	Total Flavonoids			Luteolin			Quercetin			Myricetin			Apigenin			Kaempferol		
	Org.	Con.	β^1	Org.	Con.	β	Org.	Con.	β	Org.	Con.	β	Org.	Con.	β	Org.	Con.	β
Bierzo	175.07	142.43	5.86***	84.81	70.29	3.26***	78.00	61.69	20.25***	6.35	6.17	-9.31 ^{NS}	2.78	2.06	6.16 ^{NS}	3.14	2.21	4.53 ^{NS}
BOL-58	219.24	159.04	10.81***	161.18	115.35	10.28***	35.57	21.86	17.02***	15.85	16.89	56.18 ^{NS}	5.75	4.43	11.33*	0.90	0.51	1.88 ^{NS}
Bola	88.54	97.26	-1.57 ^{NS}	67.80	72.13	-0.97 ^{NS}	12.72	15.55	-3.52 ^{NS}	5.86	7.06	64.71 ^{NS}	1.75	2.11	-3.09 ^{NS}	0.41	0.41	0.02 ^{NS}
ECU-994	57.11	64.67	-1.36 ^{NS}	32.58	39.15	-1.47 ^{NS}	13.24	14.50	-1.56 ^{NS}	7.91	7.95	2.16 ^{NS}	3.20	2.73	4.01 ^{NS}	0.19	0.35	-0.79 ^{NS}
Espelette	154.16	169.77	-2.80**	112.14	125.17	-2.92**	29.79	31.64	-2.29 ^{NS}	9.40	9.63	12.52 ^{NS}	1.72	2.04	-2.72 ^{NS}	1.10	1.29	-0.90 ^{NS}
Gernika	321.25	363.47	-7.58***	248.90	269.87	-4.71***	58.61	79.42	-25.84***	8.95	8.61	-18.46 ^{NS}	2.54	3.19	-5.58 ^{NS}	2.26	2.38	-0.58 ^{NS}
Guindilla Ibarra	336.99	313.97	4.14***	247.71	227.80	4.46***	73.59	73.44	0.19 ^{NS}	8.88	6.69	-118.46 ^{NS}	3.93	3.97	-0.35 ^{NS}	2.88	2.07	3.93 ^{NS}
Jalapeno M	65.37	44.81	3.69***	50.45	33.92	3.71***	3.75	1.79	2.43 ^{NS}	8.57	7.10	-79.38 ^{NS}	1.93	1.56	3.15 ^{NS}	0.67	0.43	1.16 ^{NS}
Mojo Palmero	131.82	143.73	-2.14*	91.56	104.31	-2.86**	29.18	27.01	2.69 ^{NS}	8.46	10.05	85.86 ^{NS}	1.25	1.30	-0.43 ^{NS}	1.37	1.06	1.52 ^{NS}
Numex Big Jim	70.54	56.73	2.48**	47.66	35.08	2.82**	13.45	13.51	-0.07 ^{NS}	7.47	6.47	-53.75 ^{NS}	1.18	0.91	2.29 ^{NS}	0.78	0.76	0.11 ^{NS}
Padron	155.80	148.73	1.27 ^{NS}	101.93	97.51	0.99 ^{NS}	41.94	39.06	3.58 ^{NS}	8.71	9.20	26.44 ^{NS}	1.36	1.40	-0.36 ^{NS}	1.85	1.56	1.37 ^{NS}
Piquillo	110.37	107.73	0.47 ^{NS}	79.18	78.08	0.25 ^{NS}	19.87	18.25	2.01 ^{NS}	8.69	8.83	7.12 ^{NS}	1.62	1.70	-0.66 ^{NS}	1.01	0.88	0.62 ^{NS}
Serrano	84.43	72.63	2.12*	62.97	55.36	1.71 ^{NS}	10.31	5.90	5.47 ^{NS}	10.08	10.65	30.55 ^{NS}	0.05	0.06	-0.07 ^{NS}	1.01	0.66	1.70 ^{NS}
Valenciano	51.44	56.13	-0.84 ^{NS}	34.87	39.00	-0.93 ^{NS}	8.69	9.04	-0.43 ^{NS}	6.32	6.70	20.51 ^{NS}	0.69	0.59	0.89 ^{NS}	0.87	0.81	0.32 ^{NS}
System mean	144.22b	138.65a	-	101.82b	97.36a	-	30.28a	29.48a	-	8.70a	8.71a	-	2.12a	2.00a	-	1.30b	1.10a	-
Environmental effect	2.78	-2.78	-	2.23	-2.23	-	0.40	-0.40	-	-0.01	0.01	-	0.06	-0.06	-	0.10	-0.10	-
Standard error	14.07	14.02	-	9.49	9.45	-	4.98	4.96	-	0.70	0.70	-	0.22	0.22	-	0.23	0.23	-

¹Significance levels according to the statistical F ratio: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$; NS, not significant ($p > 0.05$)

Espelette ($>100 \text{ mg.kg}^{-1}$), which showed these remarkable levels in both growing systems, as well as Bierzo and Piquillo among fleshy genotypes ($70\text{--}80 \text{ mg kg}^{-1}$) (Table 4). Regarding quercetin, the highest values in both growing systems were found in Bierzo, Gernika, and Guindilla Ibarra ($\geq 60 \text{ mg kg}^{-1}$). Variation in myricetin was relatively low as most accessions showed contents close to the system means (8.7 mg kg^{-1}) and only BOL-58 and Serrano had higher levels ($10\text{--}17 \text{ mg kg}^{-1}$) (Table 4). Finally, BOL-58, ECU-994, Gernika, and Guindilla Ibarra in both growing systems and Bierzo in organic had the highest levels in apigenin ($\geq 2.5 \text{ mg kg}^{-1}$), while the highest levels in kaempferol corresponded to Bierzo, Gernika and Guindilla Ibarra in both growing systems ($\geq 2 \text{ mg kg}^{-1}$) (Table 4). In comparison to other works, some genotypic variability in phenolics has been observed in fully ripe fruits of *Capsicum*. Thus, Bae et al. [40] reported ranges from 2 to 90 mg kg^{-1} for total flavonoids in habanero (*C. chinense*) and some *C. annuum* cultivars, while Ghasemnezhad et al. [41] reported values for quercetin from 37 to 118 mg kg^{-1} in *C. annuum* fruits. Furthermore, the maximum levels for fully ripe fruits reported by Bae et al. [40] for luteolin, quercetin, myricetin, apigenin, and kaempferol were 21, 31, 13, 3 and 6 mg kg^{-1} , respectively, whereas other authors studying only three bell peppers [42], reported 9, 33, 26, and 4 mg kg^{-1} of luteolin, quercetin, myricetin, and kaempferol, respectively. In comparison, and as found with unripe peppers, our study detected considerably higher values, reinforcing the utility of using as much genetic diversity as possible for quality breeding, regardless of the ripening stage.

The effect of the growing system was higher and significant in the fully ripe stage compared to the unripe stage, with the organic system mean reaching 144 mg kg^{-1} and 139 mg kg^{-1} in the conventional growing system (Table 4). Other previous works detected that accumulation of secondary metabolites as phenolics may be affected by differences between cultural practices like limited nitrogen supply, which is characteristic in organic cultivation, and which may favour the synthesis of flavonoids and could explain our results in fully ripe fruits [43,44]. Thus, the higher contribution of the growing system effect at the fully ripe stage may be due to a longer exposure of the plants to the stressful conditions of organic system during the development of fully ripe fruits, compared to the unripe stage. As found at the unripe stage, although to a greater extent, the β parameter for genotype \times environment interaction revealed both organic and conventional adapted genotypes. Six genotypes, Bierzo, BOL-58, Guindilla Ibarra,

Jalapeno, Numex Big Jim and Serrano, showed better behavior for the organic growing system considering total flavonoids and some individual compounds, such as luteolin. The organic growing system also improved individual phenolic content as quercetin (Bierzo and BOL-58) and apigenin (BOL-58). Espelette, Gernika, and Mojo Palmero had a better response in the conventional growing system regarding total flavonoids and individual compounds like luteolin and quercetin (only for Gernika) (Table 4).

Evolution of flavonoids with the ripening process

As detected in the ANOVA, the ripening stage contributed significantly and remarkably to the flavonoid content. Some authors have reported that unripe fruits may show higher levels than fully ripe fruits [39,41,45,46], while the contrary has been reported by others [47–49]. Probably, the scarce genetic diversity used in these works could be the reason for this discrepancy, which indicates the relevance of using highly variable germplasm collections for more robust studies to assess the effect of other factors on the accumulation of bioactive compounds.

Our findings, based on a comprehensive collection of *Capsicum* peppers, indicate that in general the ripening process increases the level of flavonoids, regardless of the growing system. Thus, on average and in both growing systems, total flavonoids and individual flavonoids were higher or similar in fully ripe fruits, with the only exception being the minor flavonoid kaempferol under conventional conditions (Figs 1–6). This was particularly remarkable in total flavonoids and the major flavonoid luteolin, whose total means increased with ripening by 20% and 13% in organic and conventional growing systems, respectively (Figs 1 and 2) and the minor flavonoid myricetin with a mean increase of 80% in both growing conditions (Fig. 4). These findings agree with a recent work that detected considerably higher levels of total phenolics through spectrophotometric methods in fully ripe fruits in a collection of 37 accessions [34].

This average trend was also found considering accessions separately. Thus, most accessions showed higher or similar flavonoid levels at the fully ripe stage compared with their corresponding unripe levels, although the increase in flavonoids with the ripening process differed among accessions (Figs 1–6). Thus, even some genotypes showed higher levels at the unripe stage, as a result of the significant genotype ×

ripening stage interaction (Table 2). These less common cases of decreases during ripening in peppers were also reported in other works [39,41,45].

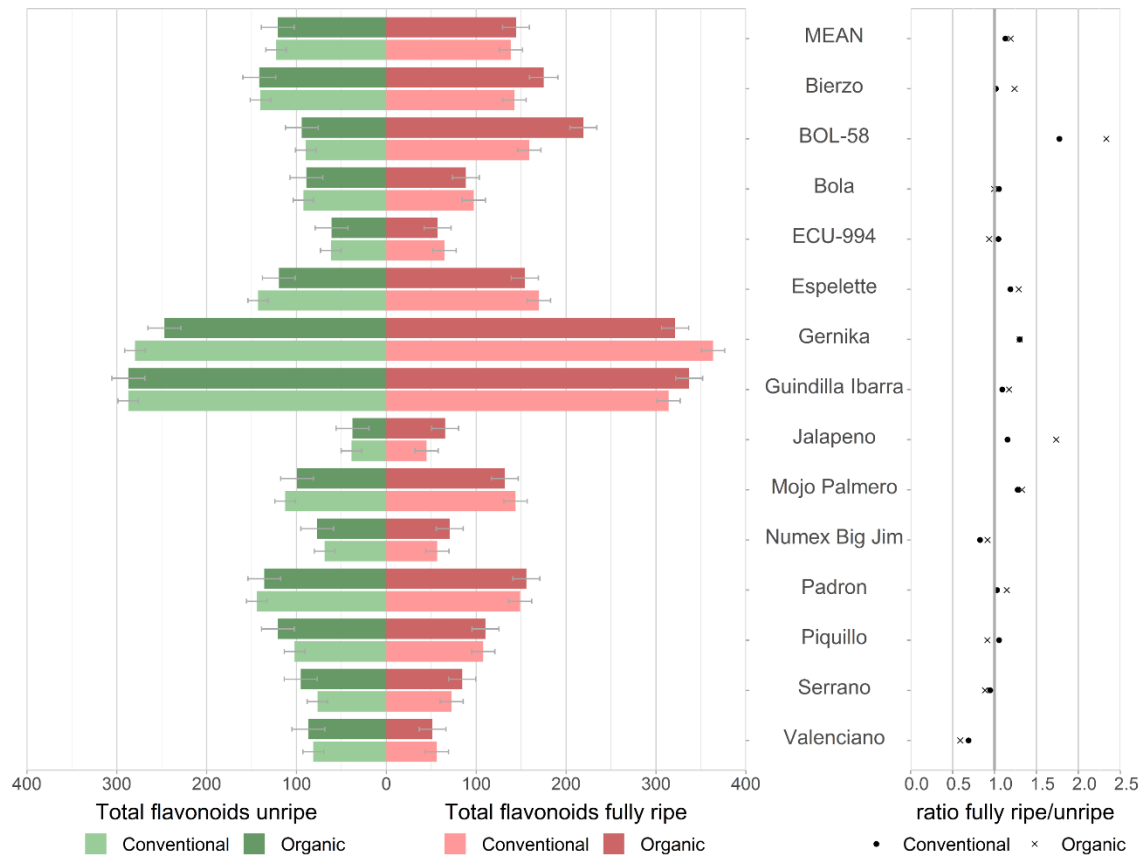


Figure 1. Comparative graphs of the average content (mg kg⁻¹ FW, n = 10) of total flavonoids at unripe (green) and fully ripe (red) stages for organic and conventional growing systems on each pepper accession. Point graphs signalize the proportion of compound evolution with ripening (ratio fully ripe/ unripe) for each genotype in the organic and conventional systems. A thicker grey line separates ratios that reflect an increase in the compound average with ripening (ratios to the right of the line) from those that show a decrease (ratios to the left of the line).

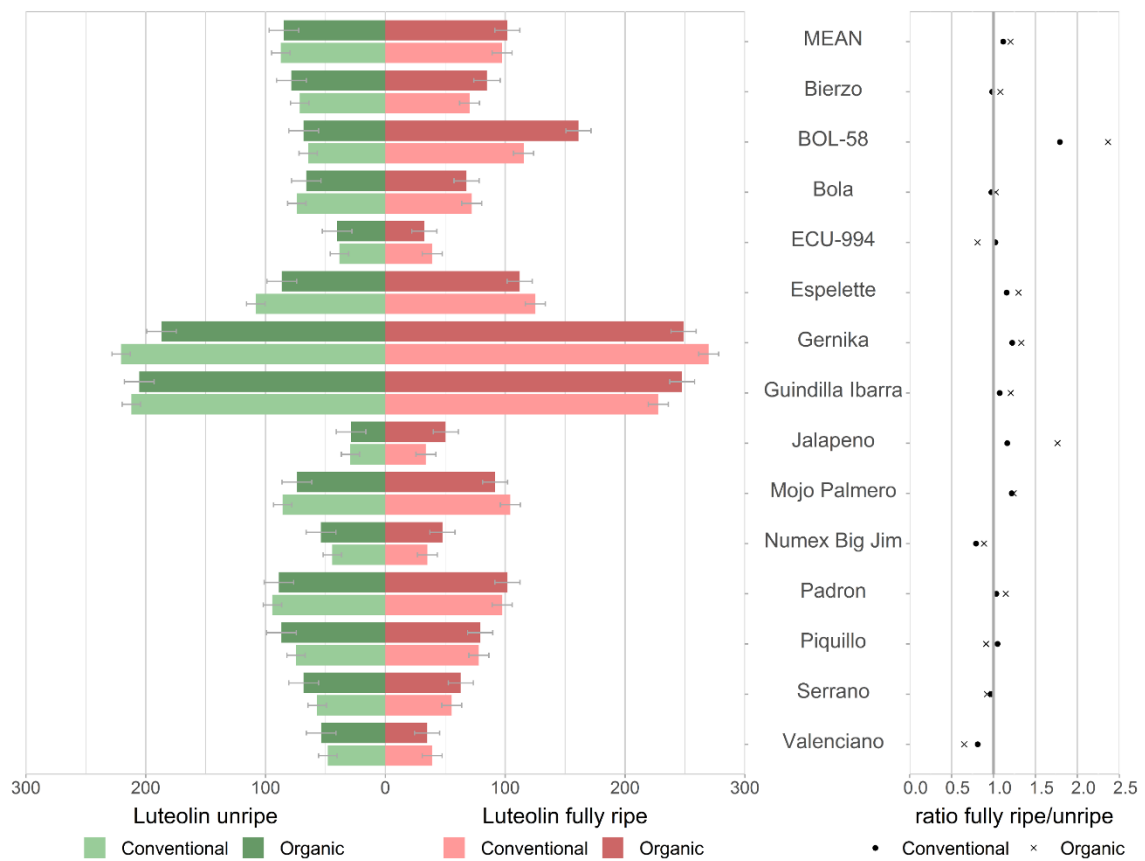


Figure 2. Comparative graphs of the average luteolin content (mg kg⁻¹ FW, n = 10) at unripe (green) and fully ripe stage fruits (red) for organic and conventional growing systems on each pepper accession. Point graphs show the proportion of compound evolution with ripening (ratio fully ripe / unripe) for each genotype in organic and conventional systems. A thicker grey line separates ratios that reflect an increase of compound average with ripening (ratios to the right of the line) from those that show a decrease (ratios to the left of the line).

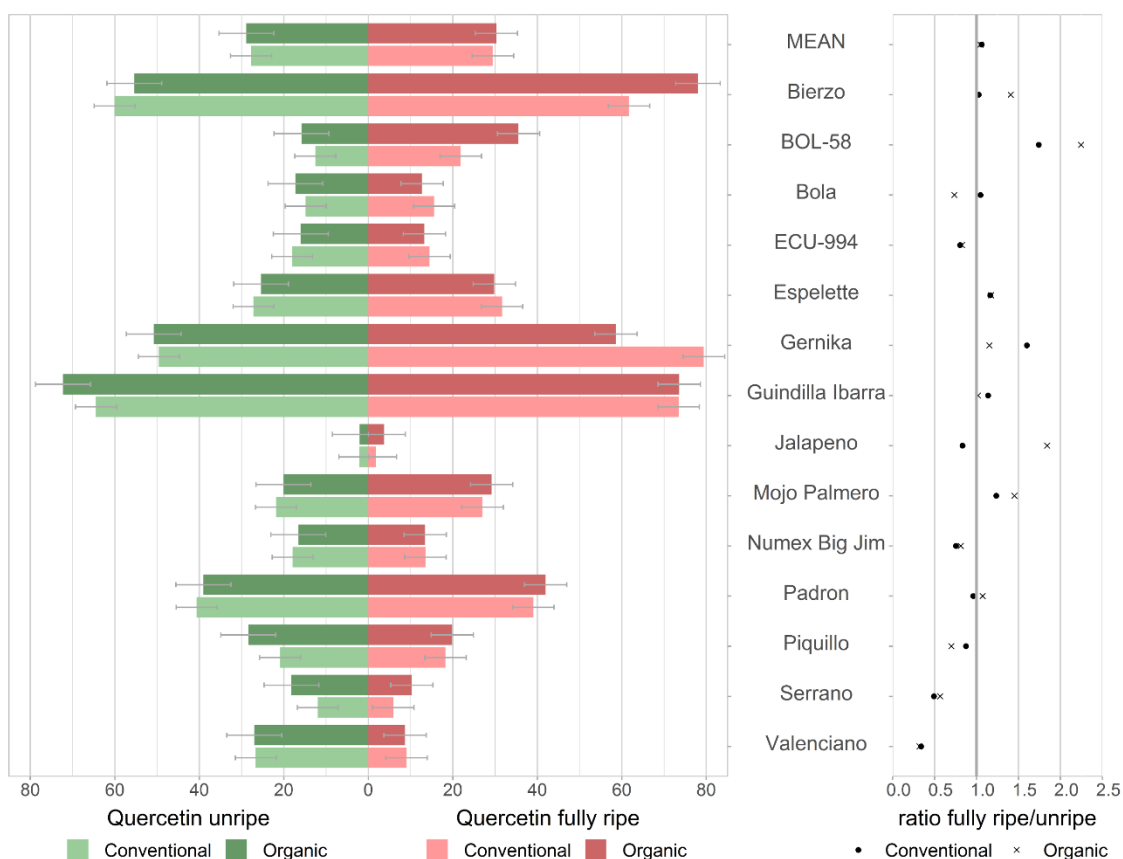


Figure 3. Comparative graphs of the average content (mg kg^{-1} FW, $n = 10$) of quercetin at unripe (green) and fully ripe stage fruits (red) for organic and conventional growing systems on each pepper accession. Point graphs show the proportion of compound evolution with ripening (ratio fully ripe/unripe) for each genotype in the organic and the conventional systems. A thicker grey line separates ratios that reflect an increase in the compound average with ripening (ratios to the right of the line) from those that show a decrease (ratios to the left of the line).

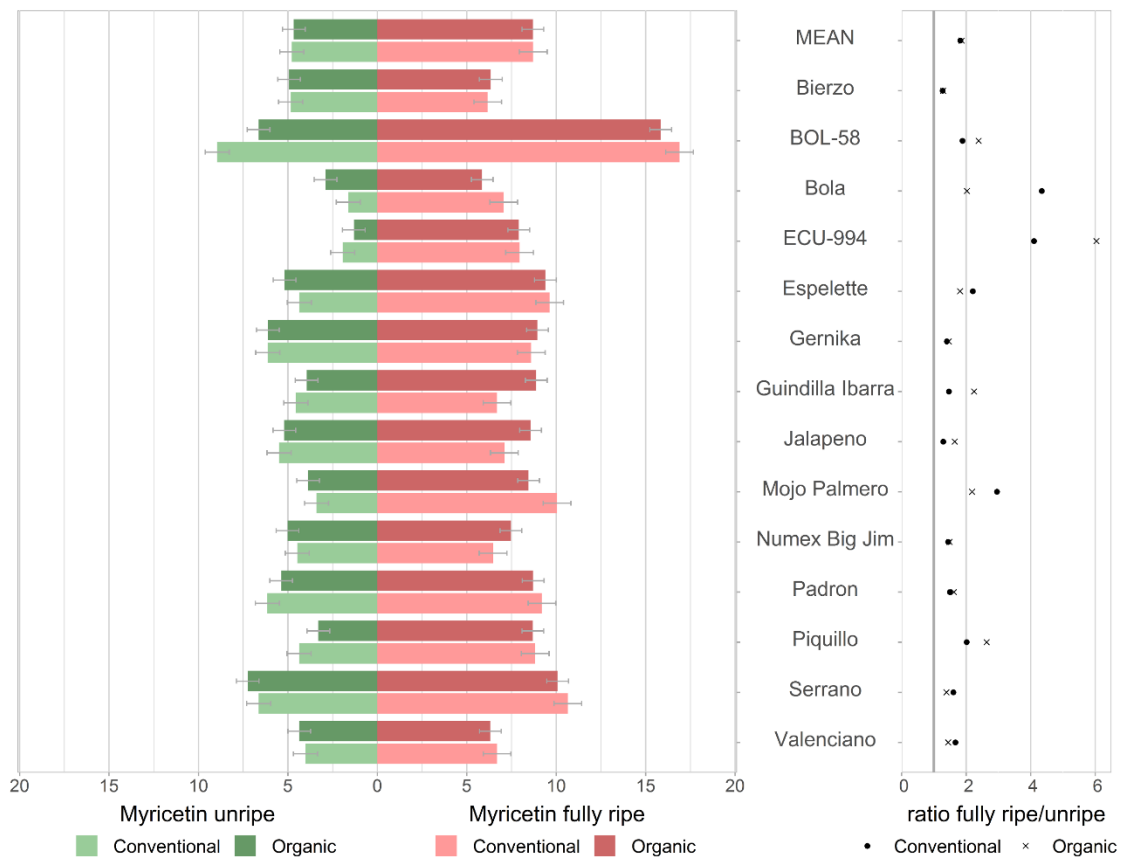


Figure 4. Comparative graphs showing the average content (mg kg⁻¹ FW, n = 10) of myricetin at the unripe (green) and fully ripe stage fruits (red) for organic and conventional growing systems and for each pepper accession. Point graphs show the proportion of compound evolution with ripening (ratio fully ripe / unripe) for each genotype in the organic and conventional systems. A thicker grey line separates ratios that reflect an increase of compound average with ripening (ratios to the right of the line) from those that show a decrease (ratios to the left of the line).

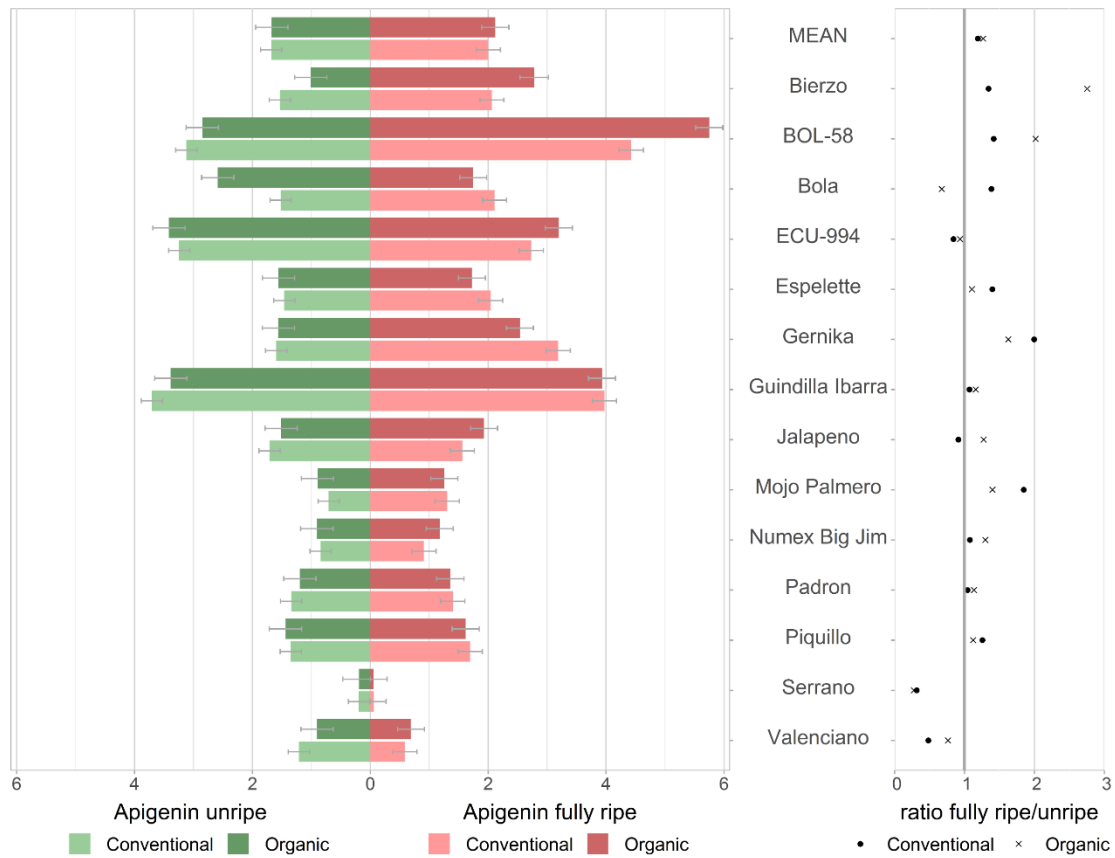


Figure 5. Comparative graphs of the average content (mg kg^{-1} FW, $n = 10$) of apigenin at unripe (green) and fully ripe stage (red) for organic and conventional growing systems and for each pepper accession. Point graphs show the proportion of compound evolution with ripening (ratio fully ripe/ unripe) for each genotype in organic and conventional system. A thicker grey line separates ratios that reflect an increase of compound average with ripening (ratios to the right of the line) from those that show a decrease (ratios to the left of the line).

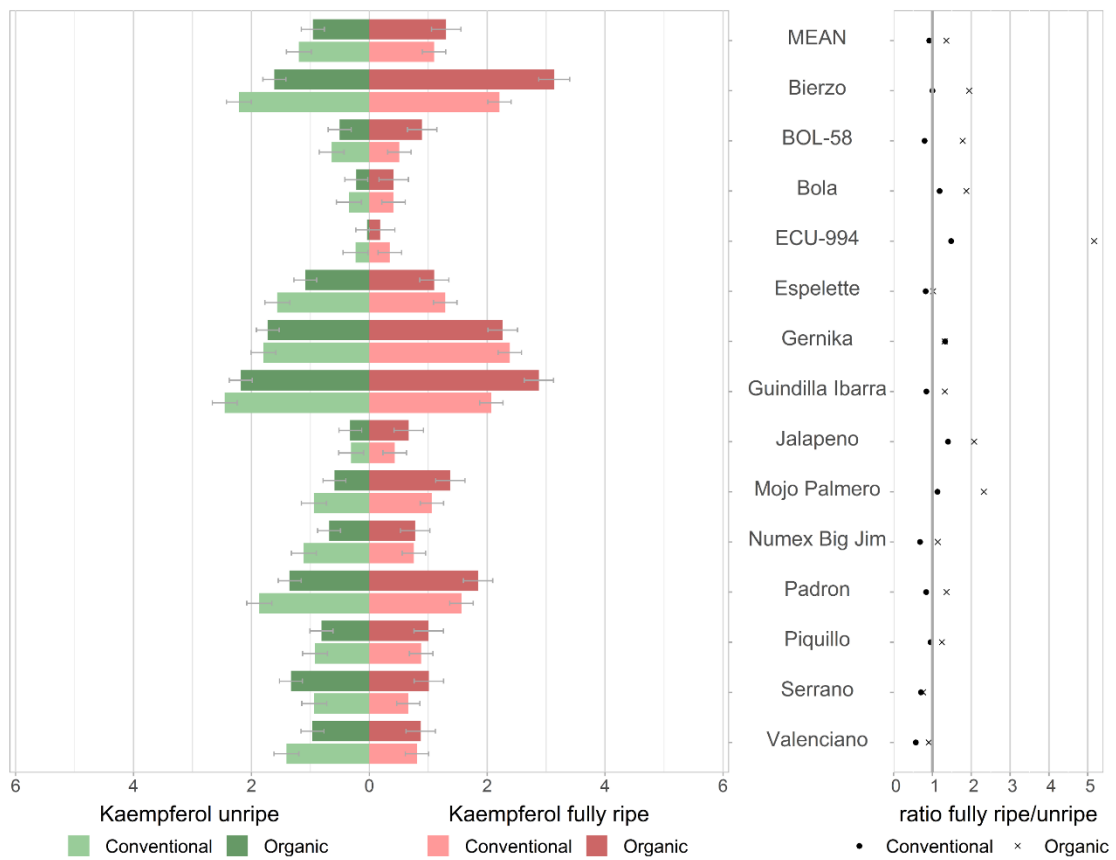


Figure 6. Comparative graphs of the average content (mg kg^{-1} FW, $n = 10$) of kaempferol at unripe (green) and fully ripe stage fruits (red) for organic and conventional growing systems on each pepper accession. Point graphs show the proportion of compound evolution with ripening (ratio fully ripe / unripe) for each genotype in the organic and conventional systems. A thicker grey line separates ratios that reflect an increase of compound average with ripening (ratios to the right of the line) from those that show a decrease (ratios to the left of the line).

The genotypes with the highest increases in flavonoid averages were BOL-58, Gernika, Jalapeno, and Mojo Palmero, which showed, in general, higher fully ripe / unripe ratios (Figs 1–6). Furthermore, myricetin levels in ECU-994 (both growing systems) and Bola (conventional) increased fourfold to fivefold with ripening (Fig. 4) and the same was found for kaempferol in ECU-994 (organic system) (Fig. 6). In contrast, a few exceptions like Serrano and Valenciano showed a decrease in most flavonoids (except myricetin) in both organic and conventional growing systems (Figs 1–6). Total flavonoids also decreased slightly in Numex Big Jim for both growing systems, and in ECU-994 and Piquillo for the organic growing system (Fig. 1).

The differences in the accumulation of flavonoids with ripening also depended on the flavonoid compound and this was particularly obvious in minor flavonoids. Thus, for luteolin as the main flavonoid, genotypes showed very similar increases to those observed in total flavonoids, with BOL-58 showing increases of 80% (conventional) or 140% (organic), and to a lesser extent Jalapeno with increases of 20% (conventional) or 75% (organic) and Espelette, Gernika, or Mojo Palmero with increases between 20% and 40%, while the rest of accessions showed increases of $\leq 20\%$ or no increases (Fig. 2). In the second main flavonoid, quercetin, the increases were more variable, from 70–140% (BOL-58) to 70% decrease (Valenciano) (Fig. 3). Myricetin was the flavonoid that increased with ripening in all the genotypes regardless of the growing system, with increases that ranged from 30% in Bierzo to genotypes like Bola (conventional system) or ECU-994 (organic system) with fourfold and sixfold increases, respectively (Fig. 4). Minor flavonoids apigenin and kaempferol displayed similar behavior to luteolin and quercetin, with general average contents in fully ripe fruits similar to or higher than unripe fruits (Figs 5 and 6).

The effect of the growing system could be detected according to general highest fully ripe/unripe ratios. On the whole, the organic growing system seemed to favour slightly the accumulation of total flavonoids and luteolin during the ripening process because the highest fully ripe/unripe ratios were detected in the organic system on average and in most accessions (Table 4, Figs 1 and 2). This was in agreement with previous works based on total phenolics and a range of *Capsicum* materials [34,50]. Finally, according to the ANOVA, a significant system \times ripening interaction was detected for kaempferol content (Table 2), which was due to significant differences between organic and conventional ripening ratios (Fig. 6). Thus, for kaempferol most genotypes grown under

conventional conditions showed fully ripe / unripe ratios ≤ 1 , while most genotypes grown in organic management showed ratios ≥ 1 (Fig. 6).

Correlation between phenolic compounds and similarities between accessions

The study of correlation for myricetin, quercetin, luteolin, kaempferol, and apigenin at the unripe and fully ripe stages showed different degrees of correlation among them (Fig. 7). The highest positive correlations were found between luteolin and quercetin, between kaempferol and quercetin, and between kaempferol and luteolin at both the unripe and the fully ripe stages, as well as between apigenin and quercetin and between apigenin and luteolin at the fully ripe stage (Spearman's coefficient ρ from 0.6 to 0.8). Furthermore, luteolin and myricetin in fully ripe fruits reached intermediate correlation values ($\rho = 0.5$, Fig. 7). Such positive correlations between flavonoids might be due to a concurrent accumulation because of shared transcriptional regulators of genes related to flavonoid biosynthesis, as suggested by Lim *et al.* [51].

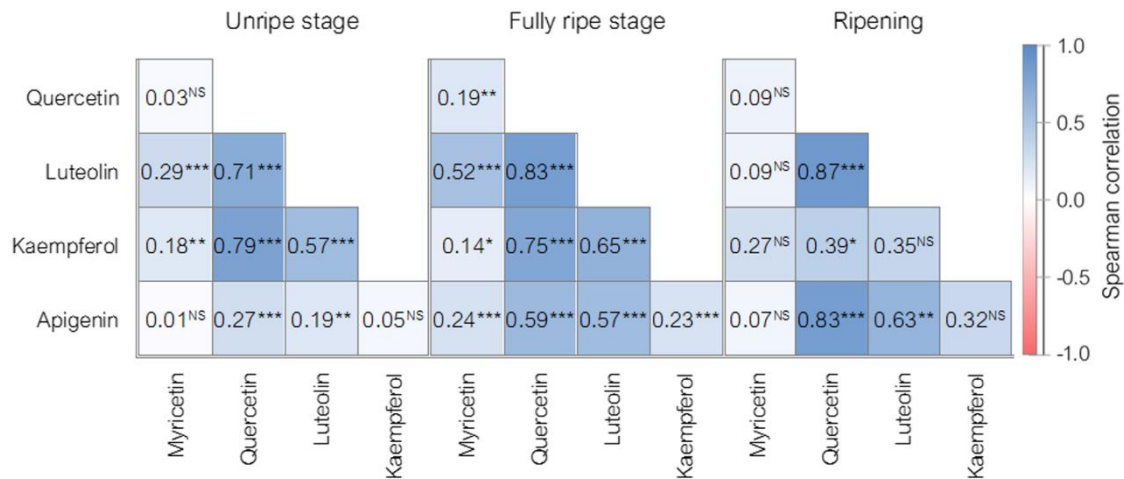


Figure 7. Spearman's rank correlation coefficient for phenolic compounds at unripe stage (n = 280), fully ripe stage (n = 280), and ripening (ratio fully ripe/unripe, n = 28). NS, *, ** and *** indicate no significant probability at $P > 0.05$, and probability that is significant for $P < 0.05$, < 0.01 and < 0.001 , respectively, according to the F ratio.

Finally, the correlation between phenolic accumulation and ripening was also analysed by correlating the fully ripe / unripe mean ratios of the genotypes (Fig. 7).

Highly significant and positive correlations were found between the ripening ratios of luteolin and quercetin, between apigenin and quercetin, and between apigenin and luteolin (ρ from 0.6 to 0.9, Fig. 7). These findings indicate similar changes of the mentioned flavonoids with the ripening process, which could be due to common factors in the metabolism of flavonoids during fruit development and ripening as reported by Moriguchi *et al.* in citrus [52]. These positive correlations would also allow indirect selection for phenolic compounds according to the values of other phenolic compounds, which is of particular interest in the case of the two main flavonoids luteolin and quercetin.

Principal component analysis (PCA) and the heatmaps allowed the relationship between genotypes to be visualized in terms of their flavonoid content for each growing system and ripening stage (Fig. 8). The wide variation and distribution of the genotypes in these graphical representations at each ripening stage confirmed the importance of the genotype factor previously detected with the ANOVA (Table 2).

Principal components 1 and 2 (PC1 and PC2) explained 52% and 28% of the total variance at the unripe stage, respectively, depending on the flavonoid content (Fig. 8). The loadings (eigenvectors) in PC1 for luteolin and quercetin, myricetin, and kaempferol contributed negatively (around -0.6), while the contrary was found for apigenin (data not shown). On the other side, PC2 showed positive loadings for luteolin, quercetin, and apigenin and negative loadings for myricetin and kaempferol with a high contribution of myricetin and apigenin (loadings around -0.6 and 0.7, respectively – Fig. 8). In this way, genotypes like Guindilla Ibarra and Gernika, with high contents in luteolin, quercetin and kaempferol, appeared in the negative side of PC1, while Bola, ECU-994 or Jalapeno, with remarkable contents of apigenin, appeared in the positive extreme of PC1, which is in agreement with the heatmap for the unripe stage (Figs 8 and 9). On the other hand, Bola, ECU-994 and Guindilla Ibarra were on the positive side of PC2, while Serrano peppers appeared on the negative side. Both the PCA and the heatmaps showed the general trend of pairing organic and conventional systems within each genotype, which reinforced the fact that the contribution of the growing system factor was considerably lower than that of the genotype and reflected the robustness of our approach.

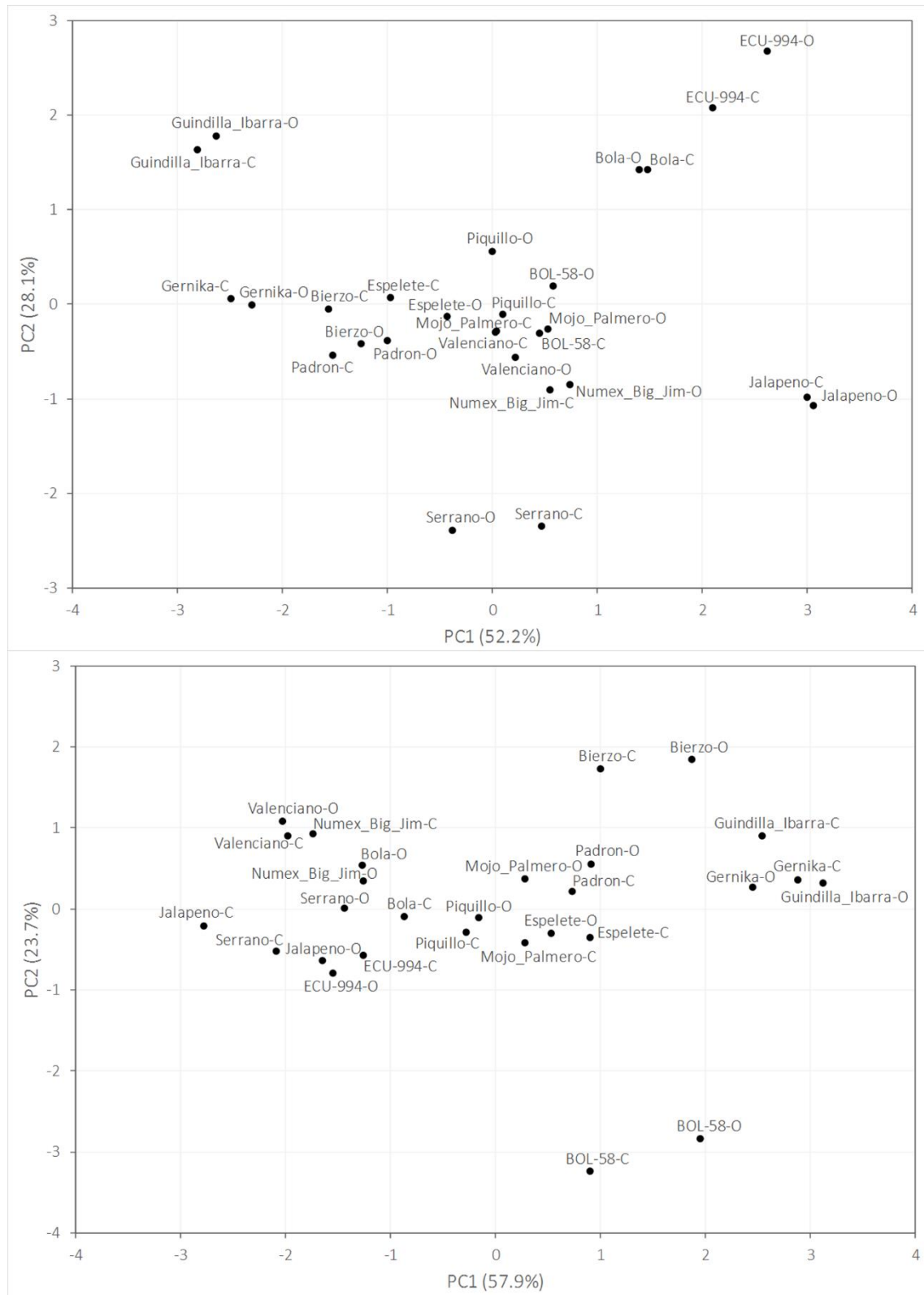


Figure 8. Principal component analysis representation for correlations between phenolic values for each genotype and growing system (organic: O, conventional: C) at unripe stage (above) and fully ripe stage (below). Original values are transformed according to $\ln(x + 1)$. Unit variance scaling is applied to rows; SVD with imputation was used to calculate principal components ($n = 28$ data points).

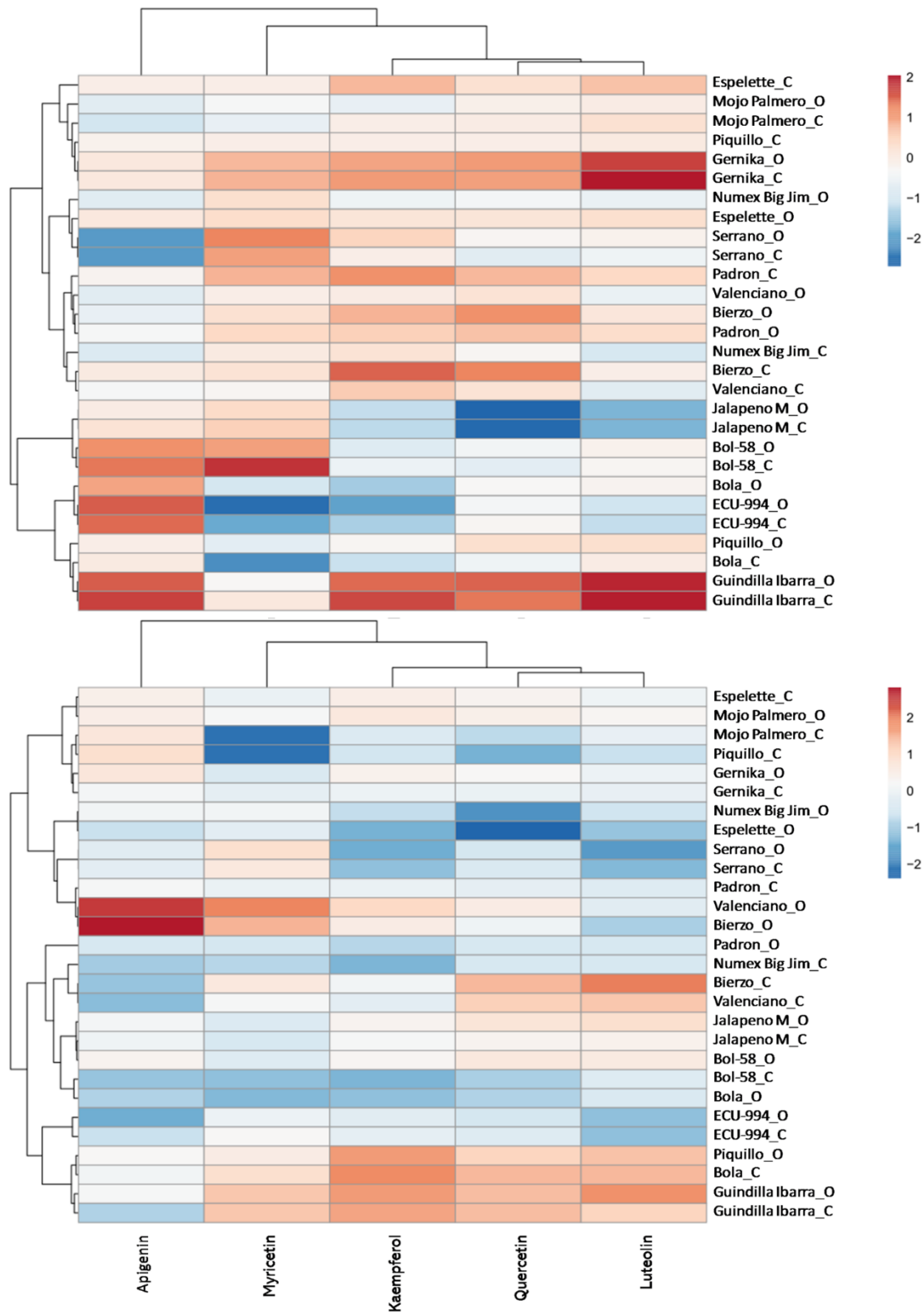


Figure 9. Heatmap representation for correlations between phenolic values for each genotype and growing system (organic: O, conventional: C) at unripe stage (above) and fully ripe stage (below). Original values are transformed according to $\ln(x + 1)$. Columns were centered; unit variance scaling was applied to columns; both rows and columns were clustered using correlation distance and average linkage (28 rows, five columns).

The PCA for the fully ripe stage showed a positive relationship between all the flavonoids in PC1 (58% of total variance), with a higher contribution of luteolin, quercetin, and kaempferol (around 0.5), and apigenin (around 0.4) (Fig. 8) (data not shown). For PC2 (24% of total variance) the positive loadings corresponded to quercetin and kaempferol whereas myricetin, which contributed the most to the variation (-0.8), luteolin, and apigenin showed negative loadings. In this regard, genotypes in positive extreme of PC1, Guindilla Ibarra, and Gernika, showed the highest luteolin, quercetin and kaempferol content. As in the unripe stage, in the fully ripe stage PCA and heatmap most genotypes were grouped together regardless of the growing system, which confirmed again the impact of the genetic factor (Figs 8 and 9).

Selectable materials

The selection of genotypes for organic growing systems could be possible according to both adaptation to the growing system and high phenolic compound content. Considering the genotypes with better behaviour at the unripe stage for the organic growing system (according to β), the *C. annuum* varieties Piquillo and Serrano showed larger differences in total phenolics compared to the conventional growing system (Table 3). For total phenolic content at the fully ripe stage, *C. annuum* genotypes Bierzo, Guindilla Ibarra, Jalapeno, Numex Big Jim, Serrano and *C. baccatum* BOL-58 also showed better behavior with organic cultivation (Table 4). Moreover, varieties for an organic growing system with high total phenolic compound content but no significant difference between the growing systems were *C. annuum* genotypes Bierzo, Espelette, Gernika, Guindilla Ibarra, and Padron at the unripe stage (above 119 mg kg⁻¹, Table 3, Fig. 1) and Espelette, Gernika, Mojo Palmero, and Padron at the fully ripe stage (above 131 mg kg⁻¹, Table 4, Fig. 1).

Conclusions

In conclusion, our findings made it possible to explain the contribution of genotype, ripening stage, and their interactions in different growing systems, organic and

conventional, to the main flavonoid content in a comprehensive collection of *Capsicum* peppers. Broad variation of flavonoids was found depending mainly on the genotype, the growing system, and the $G \times E$ interaction for each ripening stage. On the whole, apart from very few exceptions, in both ripening stages luteolin has the highest contribution to total flavonoids in peppers, followed by quercetin and myricetin, and to a lesser extent by apigenin and kaempferol. The ripening stage contributed remarkably to the flavonoid content. In general, the ripening process increased the level of flavonoids, and organic cultivation significantly favored the accumulation of total flavonoids and luteolin during ripening. Correlation between flavonoids was detected at both ripening stages, especially with regard to the main flavonoids, luteolin and quercetin, and quercetin and kaempferol, which would allow indirect positive selections. Genotype \times environment interaction would enable selection of accessions according to their high phenolic compound content with the organic growing system at the unripe and fully ripe stages. This study and its approach will provide useful information for research with high value-added vegetables and quality breeding programs.

Aknowledgements

This work has been funded by the Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA) project RTA2014-00041-C02-02, Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) funds. A.M. Ribes-Moya expresses her gratitude to the Universitat Politècnica de València (UPV) for her scholarship FPI-UPV-2017 (PAID-01-17). The authors also thank the farmers' association Unió de Llauradors i Ramaders (LA UNIÓ) for the arrangement and management of fields – specifically Manuel Figueroa, Rafael Hurtado, Ricard Ballester, and Antonio Muñoz, and seed providers P.W. Bosland, S. Lanteri, François Jourdan, Santiago Larregla, and the Regulatory Boards of the PDOs and PGIs included in this work. The authors are also grateful for the support of Professor Jaime Prohens with statistical methods.

Supporting information

Supporting Information_1a. Representative HPLC chromatograms of myricetin (A), quercetin (B), luteolin (C), kaempferol (D) and apigenin (E) calibration and extractions of varieties Bierzo, Bola, Espelette and Gernika at both unripe and fully ripe stage.

[jsfa10245-sup-0001-Supinfo3.tiff](#) TIFF image, 27.7 MB

Supporting Information_1b. Representative HPLC chromatograms of extractions of varieties Guindilla Ibarra, Jalapeno M, Mojo Palmero, Numex Big Jim and Padron at both unripe and fully ripe stage. Letters represent myricetin (A), quercetin (B), luteolin (C), kaempferol (D) and apigenin (E).

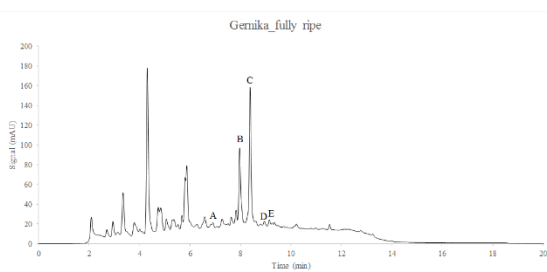
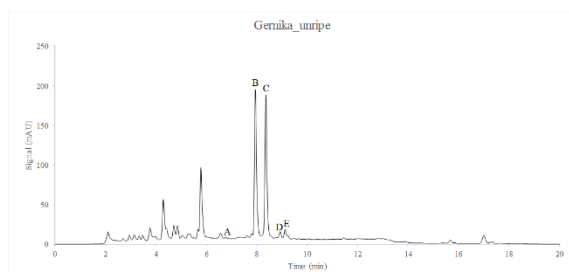
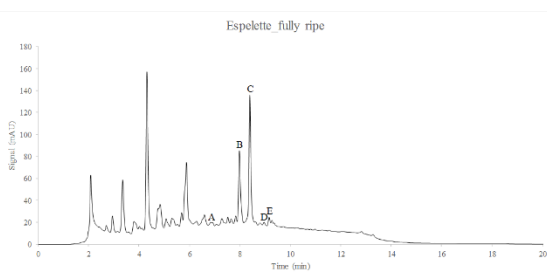
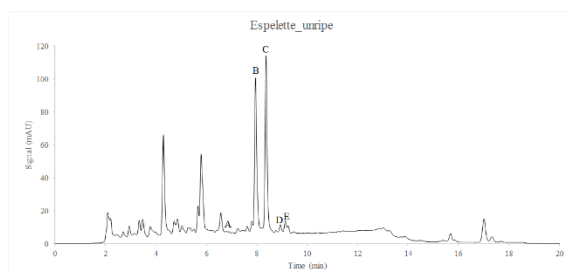
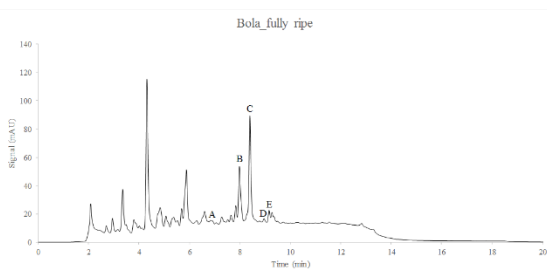
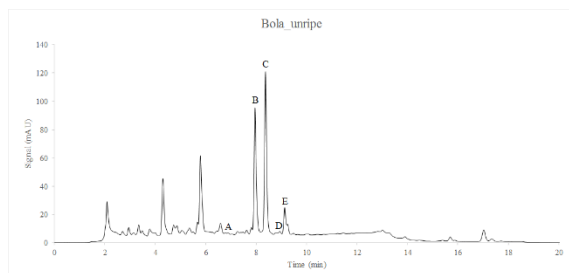
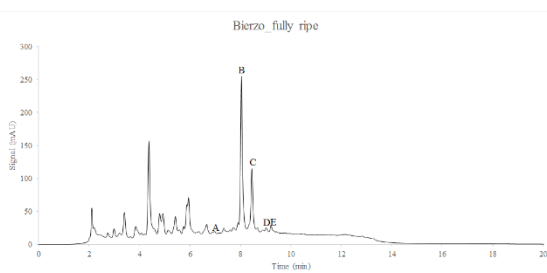
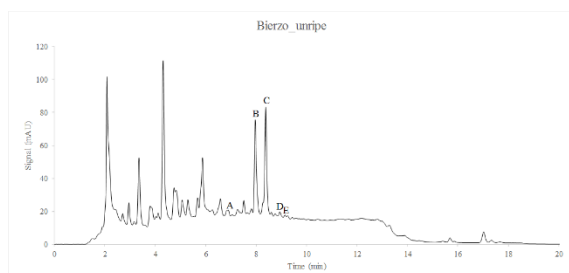
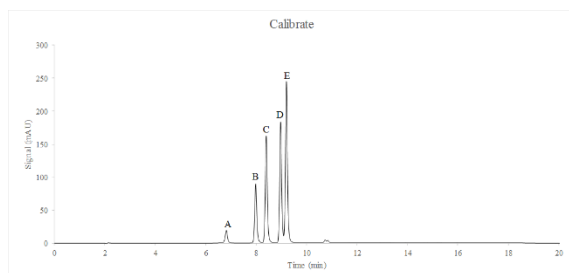
[jsfa10245-sup-0001-Supinfo4.tiff](#) TIFF image, 27.7 MB

Supporting Information_1c. Representative HPLC chromatograms of extractions of varieties Piquillo, Pimiento Valenciano, Serrano, Bol-58 and ECU-994 at both unripe and fully ripe stage. Letters represent myricetin (A), quercetin (B), luteolin (C), kaempferol (D) and apigenin (E).

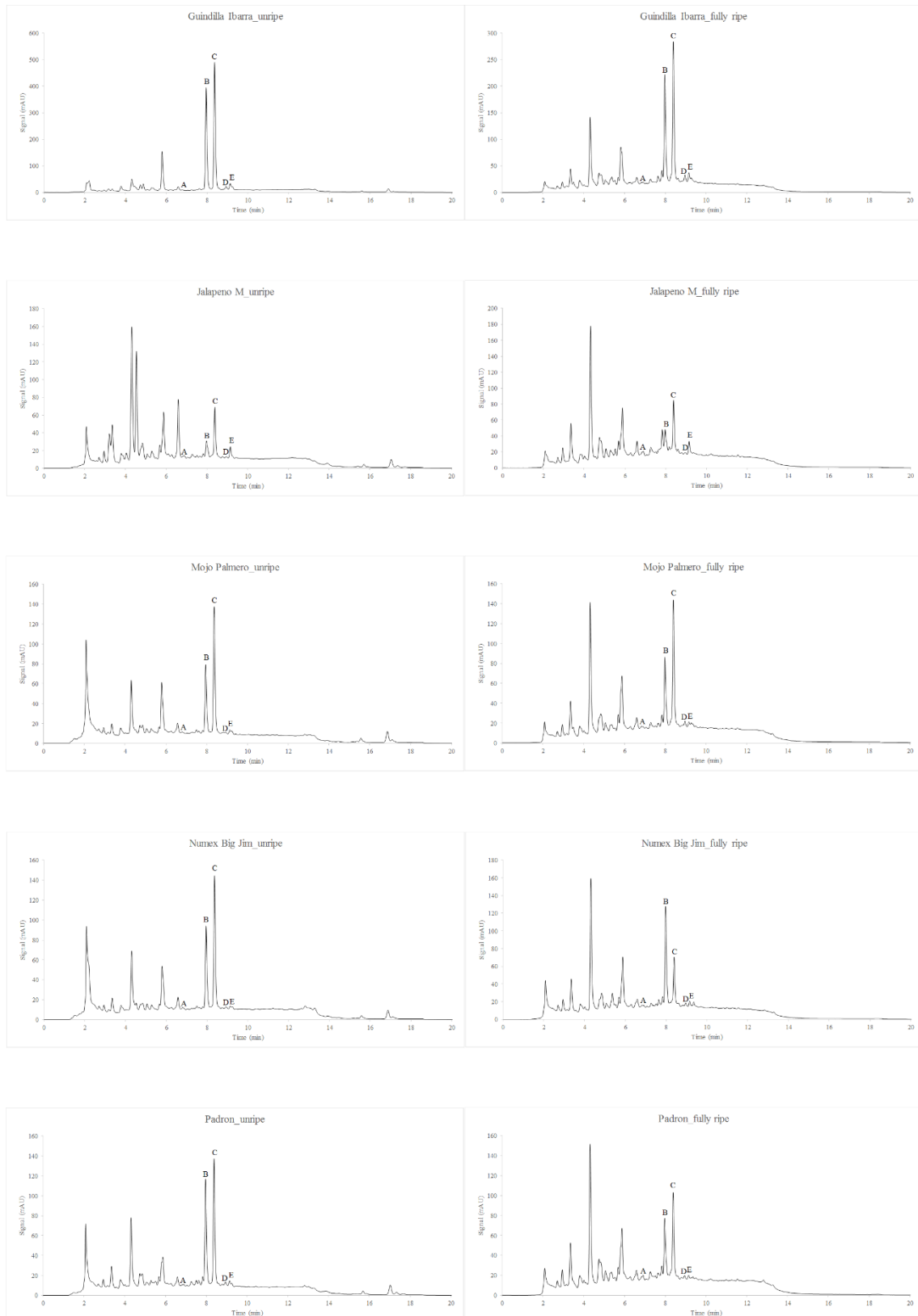
[jsfa10245-sup-0001-Supinfo5.tiff](#) TIFF image, 27.7 MB

Appendix 1a. Images of fruits at unripe and fully ripe stage: 1 – Bierzo; 2 – Bola; 3 – Espelette; 4 – Gernika; 5 –Guindilla Ibarra; 6 – Jalapeno M; 7 – Mojo Palmero; 8 – Numex Big Jim. Rulers at the bottom are in centimeters (marks between two numbers indicate 1 cm).

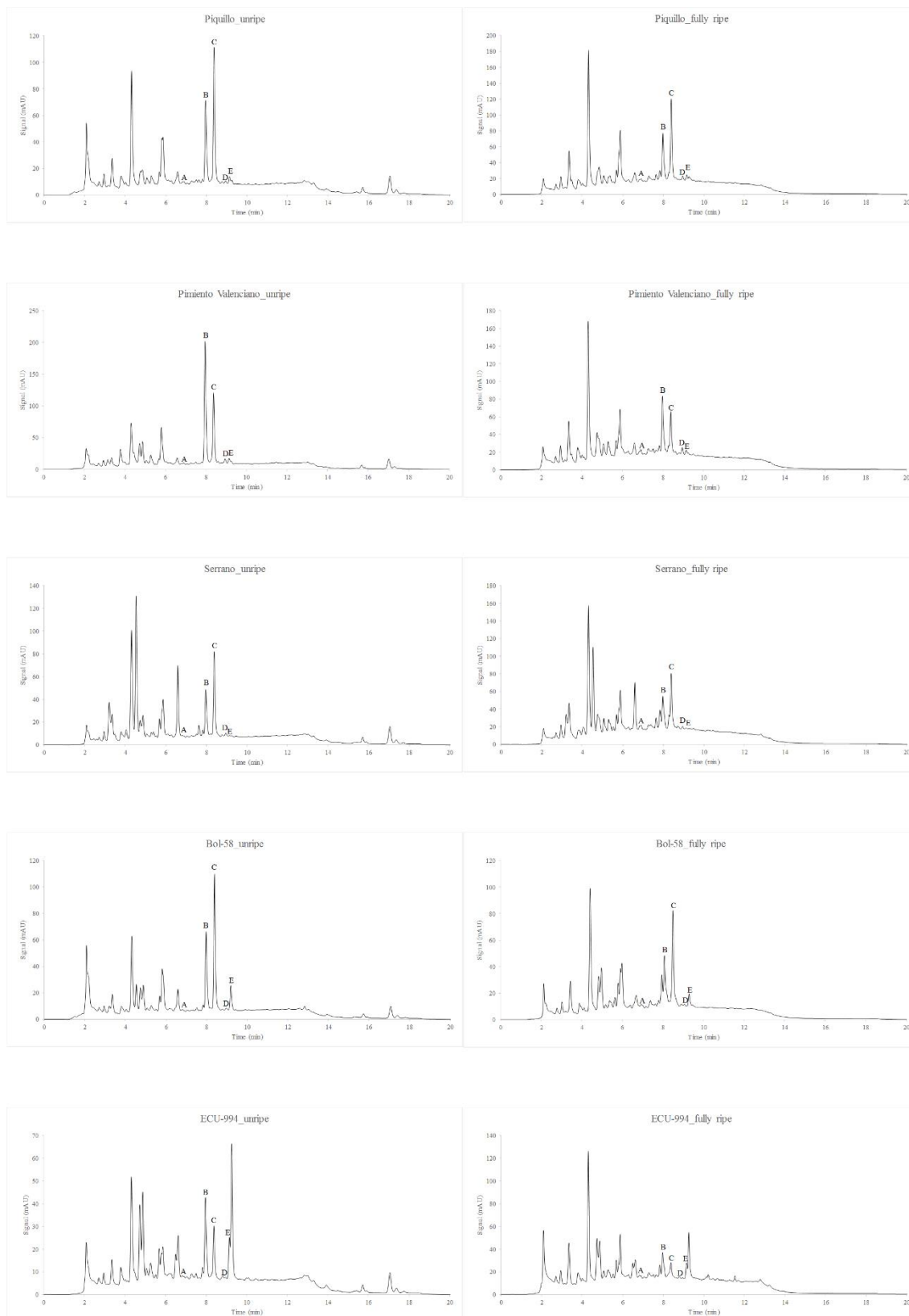
Appendix 1b: Images of fruits at unripe and fully ripe stage: 9 – Padron; 10 – Piquillo; 11 – Pimiento Valenciano; 12 – Serrano; 13 – BOL-58; 14 – ECU-994. Rulers at the bottom are in centimeters (marks between two numbers indicate 1 cm).



Supporting Information_1a. Representative HPLC chromatograms of myricetin (A), quercetin (B), luteolin (C), kaempferol (D) and apigenin (E) calibration and extractions of varieties Bierzo, Bola, Espelette and Gernika at both unripe and fully ripe stage.



Supporting Information_1b. Representative HPLC chromatograms of extractions of varieties Guindilla Ibarra, Jalapeno M, Mojo Palmero and Numex Big Jim at both unripe and fully ripe stage. Letters represent myricetin (A), quercetin (B), luteolin (C), kaempferol (D) and apigenin (E).



Supporting Information_1c. Representative HPLC chromatograms of extractions of varieties Padron, Piquillo, Pimiento Valenciano, Serrano, Bol-58 and ECU-994 at both unripe and fully ripe stage. Letters represent myricetin (A), quercetin (B), luteolin (C), kaempferol (D) and apigenin (E).



1. Bierzo

2. Bola



3. Espelette

4. Gernika



5. Guindilla Ibarra

6. Jalapeno M



7. Mojo Palmero

8. Numex Big Jim

Appendix 1a. Images of fruits at unripe and fully ripe stage: 1-Bierzo; 2-Bola; 3-Espelette; 4-Gernika; 5-Guindilla Ibarra; 6-Jalapeno M; 7-Mojo Palmero; 8-Numex Big Jim. Rulers at the bottom are in centimetres (marks between two numbers indicate 1 cm).



9. Padron

10. Piquillo



11. Pimiento Valenciano

12. Serrano



13. BOL-58

14. ECU-994

Appendix 1b: Images of fruits at unripe and fully ripe stage: 9-Padron; 10-Piquillo; 11-Pimiento Valenciano; 12-Serrano; 13-BOL-58; 14-ECU-994. Rulers at the bottom are in centimetres (marks between two numbers indicate 1 cm).

References

1. Willer H, *European organic market grew by double digits and organic area reached 13.5 million hectares in 2016* [Online]. FiBL-Media release (2018). Available: <https://www.fibl.org/en/media/media-archive/media-archive18/media-release18/article/bio-in-europa-legt-weiter-zu-biomarkt-waechst-zweistellig-bioflaeche-steigt-auf-fast-14-millionen-h.html> [8 August 2019]
2. Rahmann G, Biodiversity and Organic Farming: What do we know? *Agric For Res* **3**(61):189–208 (2011).
3. Mateo-Sagasta J, Marjani S, Turrall H (eds). *More people, more food, worse water?: A global review of water pollution from agriculture*. Rome, Italy; Colombo, Sri Lanka: FAO and IWMI (2018).
4. Bengtsson J, Ahnström J, Weibull A-C. The effects of organic agriculture on biodiversity and abundance: a meta-analysis. *J Appl Ecol* **42**(2):261–9 (2005)
5. Hunter D, Foster M, McArthur JO, Ojha R, Petocz P, Samman S. Evaluation of the Micronutrient Composition of Plant Foods Produced by Organic and Conventional Agricultural Methods. *Crit Rev Food Sci Nutr* **51**(6):571–82. (2011)
6. Carrillo JM. Erosión genética y reemplazo de variedades tradicionales, in *Las variedades locales en la mejora genética de plantas*, ed. by Ruiz de Galarreta JI, Prohens J and Tierno R. Servicio Central de Publicaciones del Gobierno Vasco, Vitoria-Gasteiz, pp. 29-41 (2016).
7. Rodríguez-Burruezo A, Pereira-Dias L, Fita A. Pimiento, in *Las variedades locales en la mejora genética de plantas*, ed. by Ruiz de Galarreta JI, Prohens J and Tierno R. Servicio Central de Publicaciones del Gobierno Vasco, Vitoria-Gasteiz, pp. 405-426 (2016).
8. Fita A, Rodríguez-Burruezo A, Boscaiu M, Prohens J, Vicente O, Breeding and Domesticating Crops Adapted to Drought and Salinity: A New Paradigm for Increasing Food Production. *Front Plant Sci* **6**:978 (2015)
9. FAOSTAT data [Online]. FAOSTAT (2019). Available: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> [17 January 2019]

10. DeWitt D, Bosland PW (eds). *The Complete Chile Pepper Book: A Gardener's Guide to Choosing, Growing, Preserving, and Cooking*. Timber Press, Portland, Oregon (2009)
11. Milla A. Capsicum de capsia, cápsula: el pimiento in *Compendios de Horticultura: Pimientos*, ed. by Namesny A. Ediciones de Horticultura, Reus, pp. 21-31 (1996)
12. *Denominaciones de Origen e Indicaciones Geográficas Protegidas*. [Online]. MAPAMA. (2019). Available: <https://www.mapa.gob.es/es/alimentacion/temas/calidad-agroalimentaria/calidad-diferenciada/dop/default.aspx> [6 February 2019]
13. Hill TA, Ashrafi H, Reyes-Chin-Wo S, Yao JQ, Stoffel K, Truco MJ, et al. Characterization of *Capsicum annuum* Genetic Diversity and Population Structure Based on Parallel Polymorphism Discovery with a 30K Unigene Pepper GeneChip. *PLoS One* **8**(2):e56200 (2013)
14. Kumar S, Kumar R and Singh J, Cayenne/American pepper, in *Handbook of Herbs and Spices*, ed. by Peter KV. Woodhead Publishing, Cambridge, England, pp. 299-312 (2006)
15. Bosland PW, Votava EJ, Votava EM (eds). *Peppers: vegetable and spice capsicums*, 2nd edn, Crop Production Science in Horticulture **22**. CABI, Wallingford, UK (2012)
16. Pellegrini N, Serafini M, Colombi B, Del Rio D, Salvatore S, Bianchi M, et al. Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different *in vitro* assays. *J Nutr* **133**(9):2812–9 (2003)
17. Zimmer AR, Leonardi B, Miron D, Schapoval E, de Oliveira JR, Gosmann G, Antioxidant and anti-inflammatory properties of *Capsicum baccatum*: from traditional use to scientific approach. *J Ethnopharmacol* **139**(1):228–33 (2012)
18. Morales-Soto A, García-Salas P, Rodríguez-Pérez C, Jiménez-Sánchez C, de la Luz Cádiz-Gurrea M, Segura-Carretero A, et al. Antioxidant capacity of 44 cultivars of fruits and vegetables grown in Andalusia (Spain). *Food Res Int* **58**:35–46 (2014)

19. Bhattacharya A, Sood P, Citovsky V, The roles of plant phenolics in defence and communication during Agrobacterium and Rhizobium infection. *Mol Plant Pathol* **11**(5):705-19 (2010)
20. Blum U, Shafer SR, Lehman ME, Critical Reviews in Plant Sciences Evidence for Inhibitory Allelopathic Interactions Involving Phenolic Acids in Field Soils: Concepts vs an Experimental Model Evidence for Inhibitory Allelopathic Interactions Involving Phenolic Acids in Field Soils. *Plant Sci* **18**(5):673–693 (1999)
21. Alasalvar C, Grigor JM, Zhang D, Quantick PC, Shahidi F, Comparison of volatiles, phenolics, sugars, antioxidant vitamins, and sensory quality of different colored carrot varieties. *J Agric Food Chem* **49**(3):1410–6 (2001)
22. Romero N, Saavedra J, Tapia F, Sepúlveda B, Aparicio R, Influence of agroclimatic parameters on phenolic and volatile compounds of Chilean virgin olive oils and characterization based on geographical origin, cultivar and ripening stage. *J Sci Food Agric* **96**(2):583–92 (2016)
23. Ferrer-Gallego R, Hernández-Hierro JM, Rivas-Gonzalo JC, Escribano-Bailón MT, Influence of climatic conditions on the phenolic composition of *Vitis vinifera* L. cv. Graciano. *Anal Chim Acta* **732**:73–7 (2012)
24. Tomás-Barberán FA, Espín JC, Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. *J Sci Food Agric* **81**(9):853-76 (2001)
25. Sun J, Chu YF, Wu X, Liu RH, Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits. *J Agric Food Chem* **50**(25):7449–54 (2002)
26. Sala A, Recio M del C, Giner RM, Máñez S, Tournier H, Schinella G, et al. Anti-inflammatory and antioxidant properties of *Helichrysum italicum*. *J Pharm Pharmacol* **54**(3):365–71 (2002)
27. Cai Y, Luo Q, Sun M, Corke H, Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sci* **74**(17):2157–84 (2004)
28. Wojdyło A, Oszmiański J, Czemerys R, Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chem* **105**(3):940–9 (2007)

29. Bae H, Jayaprakasha GK, Jifon J, Patil BS, Extraction efficiency and validation of an HPLC method for flavonoid analysis in peppers. *Food Chem* **130**(3):751–8 (2012)
30. Jeong WY, Jin JS, Cho YA, Lee JH, Park S, Jeong SW, et al, Determination of polyphenols in three *Capsicum annuum* L. (bell pepper) varieties using high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry: Their contribution to overall antioxidant and anticancer activity. *J Sep Sci* **34**(21):2967–74 (2011)
31. Materska M, Bioactive phenolics of fresh and freeze-dried sweet and semi-spicy pepper fruits (*Capsicum annuum* L.). *J Funct Foods* **7**:269–77 (2014)
32. Plazas M, Prohens J, Cuñat AN, Vilanova S, Gramazio P, Herraiz FJ, et al. Reducing capacity, chlorogenic acid content and biological activity in a collection of scarlet (*Solanum aethiopicum*) and Gboma (*S. macrocarpon*) eggplants. *Int J Mol Sci* **15**(10):17221–41 (2014)
33. Wickham H, ggplot2. *Wiley Interdiscip Rev Comput Stat* **3**(2):180–5 (2011)
34. Ribes-Moya AM, Raigón MD, Moreno-Peris E, Fita A, Rodríguez-Burruezo A, Response to organic cultivation of heirloom *Capsicum* peppers: Variation in the level of bioactive compounds and effect of ripening. *PLoS One* **13**(11):e0207888 (2018)
35. Rodríguez-Burruezo A, Prohens J, Nuez F, Genetic analysis of quantitative traits in pepino (*Solanum muricatum*) in two growing seasons. *J Am Soc Hortic Sci* **127**(2):271–8 (2002)
36. Metsalu T, Vilo J, ClustVis: A web tool for visualizing clustering of multivariate data using Principal Component Analysis and heatmap. *Nucleic Acids Res* **43**(W1):W566–70 (2015)
37. Kang MS, Using genotype-by-environment interaction for crop cultivar development, in *Advances in agronomy*, ed. by Sparks DL. Academic Press, San Diego, London, Boston, New York, Sydney, Tokyo, Toronto, **62**:199-252 (1997)
38. Bhandari SR, Jung BD, Baek HY, Lee YS, Ripening-dependent changes in phytonutrients and antioxidant activity of red pepper (*Capsicum annuum* L.) fruits cultivated under open-field conditions. *HortScience* **48**(10):1275–82 (2013)
39. Howard LR, Talcott ST, Brenes CH, Villalon B, Changes in phytochemical and

antioxidant activity of selected pepper cultivars (*Capsicum* species) as influenced by maturity. *J Agric Food Chem* **48**(5):1713–20 (2000)

40. Bae H, Jayaprakasha GK, Crosby K, Yoo KS, Leskovar DI, Jifon J, et al. Ascorbic acid, capsaicinoid, and flavonoid aglycone concentrations as a function of fruit maturity stage in greenhouse-grown peppers. *J Food Compos Anal* **33**(2):195–202 (2014)

41. Ghasemnezhad M, Sherafati M, Payvast GA, Variation in phenolic compounds, ascorbic acid and antioxidant activity of five coloured bell pepper (*Capsicum annum*) fruits at two different harvest times. *J Funct Foods* **3**(1):44–9 (2011)

42. Hallmann E, Rembiałkowska E, Characterisation of antioxidant compounds in sweet bell pepper (*Capsicum annum* L.) under organic and conventional growing systems. *J Sci Food Agric* **92**(12):2409–15 (2012)

43. Sliemstada R, Verheulb M, Review of flavonoids and other phenolics from fruits of different tomato (*lycopersicon esculentum* mill.) cultivars. *J Sci Food Agric* **89**: 1255–70 (2009)

44. Mitchell AE, Hong Y-J, Koh E, Barrett DM, Bryant DE, Denison RF, et al. Ten-Year Comparison of the Influence of Organic and Conventional Crop Management Practices on the Content of Flavonoids in Tomatoes. *J Agric Food Chem* **55**(15):6154-9 (2007)

45. Navarro JM, Flores P, Garrido C, Martinez V, Changes in the contents of antioxidant compounds in pepper fruits at different ripening stages, as affected by salinity. *Food Chem* **96**(1):66–73 (2006)

46. Martí MC, Camejo D, Vallejo F, Romojaro F, Bacarizo S, Palma JM, et al. Influence of Fruit Ripening Stage and Harvest Period on the Antioxidant Content of Sweet Pepper Cultivars. *Plant Foods Hum Nutr* **66**(4):416–23 (2011)

47. Lee Y, Howard LR, Villalon B, Flavonoids and antioxidant activity of fresh pepper (*Capsicum annum*) cultivars. *J Food Sci* **60**(3):473–6 (1995)

48. Shaha RK, Rahman S, Asrul A, Bioactive compounds in chilli peppers (*Capsicum annum* L.) at various ripening (green, yellow and red) stages. *Ann Biol Res*

4(8):27–34 (2013)

49. Serrano M, Zapata PJ, Castillo S, Guillén F, Martínez-Romero D, Valero D, Antioxidant and nutritive constituents during sweet pepper development and ripening are enhanced by nitrophenolate treatments. *Food Chem* **118**(3):497–503 (2010)
50. Pérez-López AJ, Del Amor FM, Serrano-Martínez A, Fortea MI, Núñez-Delicado E, Influence of agricultural practices on the quality of sweet pepper fruits as affected by the maturity stage. *J Sci Food Agric* **87**(11):2075–80 (2007)
51. Lim SH, Ha S-H, Kim JK, Chu SM, Lee SY, Cho HS, et al. Variation and Correlation Analysis of Flavonoids and Carotenoids in Korean Pigmented Rice (*Oryza sativa* L.) Cultivars. *J Agric Food Chem* **58**(24):12804–9 (2010)
52. Moriguchi T, Kita M, Tomono Y, Endo-Inagaki T, Omura M, Gene expression in flavonoid biosynthesis: Correlation with flavonoid accumulation in developing citrus fruit. *Physiol Plant* **111**(1):66–74 (2001)

**CAPÍTULO 2: CALIDAD ORGANOLÉPTICA EN EL CULTIVO DE
PIMIENTO BAJO CONDICIONES DE CULTIVO ECOLÓGICO**

Effect of organic farming and fruit ripening in the volatile composition of *Capsicum* peppers analysed by headspace/solid phase micro-extraction.

Ana M. Ribes-Moya, Maria D. Raigón, Adrián Rodríguez-Burruezo*.

Instituto COMAV. Building 8E, access J. Universitat Politècnica de València, Valencia,
Spain

* Corresponding author

E-mail: adrodbur@upvnet.upv.es

Abstract

Sustainable production systems as organic farming are increasing in demand due to current environmental problems. In this regard, traditional varieties or landraces are a good alternative for these systems, since they are plant germplasm with a rich gene pool adapted to different areas and with interesting quality traits such as organoleptic characteristics. In this regard, there is a plethora of *Capsicum* landraces of peppers, which are vegetables with very high socioeconomic importance and high nutritional properties, as well as diverse organoleptic characteristics, which enables many culinary applications. In this study, the volatile composition of fruits from a comprehensive collection of *Capsicum* landraces, grown under both organic and conventional conditions, was evaluated at both commercial ripening stages, for two years. The genotype and the ripening process had in general high significant contribution to the variation of the volatile composition, while the growing system had significant effect only in some chemical groups and individual compounds. A total of 124 and 122 volatiles were found at unripe and fully ripe stages, respectively, with remarkable quantitative and qualitative differences. In general, esters, alkanes and sesquiterpenes were the most abundant groups, while aldehydes, furans and lactones were the minor groups. The accessions ECU-994 and BOL-144 showed the highest values for total volatiles at both ripening stages, while the lowest amounts were found in Bola, Jalapeno M and BOL-58 at the unripe stage, and Piquillo at the fully ripe stage. Both quantitative and qualitative differences were widely found among the accessions. Changes in the volatile profile with the ripening process were very diverse and depended on the genotype. The growing system showed also remarkable quantitative and qualitative differences at both ripening stages and during ripening process, which suggested that organic growing system could benefit the accumulation of many volatile compounds at both unripe and fully ripe stages.

Key words: HS-SPME, sustainable agriculture, aroma, flavour, traditional varieties, environmental interaction.

Introduction

Current environmental problems are leading to search for more sustainable production systems. In the case of agriculture, the trend is an environmentally friendly management through a decrease in phytosanitary products use. The concerns about phytosanitary use have several causes, by one hand, the conservation of natural fauna of the ecosystems and on the other hand, the possible human health risks associated with these agrochemicals [1,2]. For these reasons, consumption habits are evolving towards a higher demand for organic products. Consequently, there has been an important increase in the world farmland for organic production from $43 \cdot 10^6$ ha in 2013 to $70 \cdot 10^6$ ha in 2017 [3].

In this regard, traditional varieties (i.e. ecotypes, heirlooms and landraces) encompass a very interesting plant germplasm for this kind of farming systems. These varieties have been grown in local and specific conditions for decades and they have been adapted to different areas. Furthermore, they usually show quality traits such as organoleptic characteristics, that confer them an extra added value [4]. Moreover, these varieties comprise a source of genetic resources of potential use for breeding programs, specifically for adaptation to organic production [5,6].

Capsicum peppers are vegetables with high interest, not only for their economic importance, with about $4 \cdot 10^6$ ha of world harvested area [7], but also for their versatility. Native chilli peppers were introduced to Europe since the 15th century through Spain and to Africa and Asia by the Portuguese in the 16th century, and since then they have been grown worldwide giving place to a plethora of varietal types and ecotypes from many secondary centres of diversity. Genus *Capsicum* encompasses five cultivated species with a large diversity: the three-species *annuum* complex, i.e. *C. annuum* L. (e.g. blocky, serrano, piquillo, jalapeno, ancho, numex, pasilla, topepo, chile de arbol), *C. chinense* Jacq. (e.g. habanero, Jolokia, Scotch Bonnet, ají limo) and *C. frutescens* L. (e.g. tabasco, pipi de mono, malagueta), profusely grown in America and abroad and the other two taxons, limited to the Andean region, *C. baccatum* var. *pendulum* (Willd.) Eshbugh (e.g. aji amarillo) and *C. pubescens* Ruiz & Pav. (e.g. aji rocoto, chile manzano) [8]. In this frame, thanks to its wide agroclimatic heterogeneity, Spain became an important centre of diversity for *C. annuum*, including many landraces with protected designations of origin (PDOs) and protected geographical indications

(PGIs) [9]. Such amount of diversity of this genus has given rise to multiple uses, such as colouring and flavour industrial agents, or consumed in the form of dried or fresh fruits or in sauces [10,11]. Moreover, their high nutritional properties due to the content in antioxidant compounds, in addition to their organoleptic qualities, have promoted a range of culinary uses of pepper fruits in their two commercial ripening stages (green and red/yellow) [8,12–14].

Also, *Capsicum* peppers show a considerable varietal diversity in terms of organoleptic characteristics, which are related to their pungency level, due to capsaicinoids content, but also to their fruit aroma diversity, ranging from fruity, sweet and floral to green, earthy and woody notes [15]. Thus, each variety shows a unique aroma due to its specific combination (both qualitative and quantitative) of volatiles, which also may change with the ripening process [16]. Thus, it is of special importance to know the aromatic profile of specific varieties and cultivars, specially the PDOs and PGIs, in order to guarantee the authenticity and to prevent possible frauds [17]. Furthermore, it has been described in other crops that quality traits are highly dependent on environmental conditions and management practices [18–20]. In this regard, organic management has been reported to change the fruit composition in terms of nutritional quality [21–24]. However, the information on the impact of organic growing conditions in the volatile composition of vegetables, including *Capsicum* fruits, compared to conventional management is very low or nil.

Objective

The objective of the present study was to assess the effect of the genotype, the farming system (organic vs. conventional), the ripening stage (unripe and fully ripe) and their interactions on the volatile composition of a comprehensive collection of *Capsicum* landraces. The genetic diversity studied, together with ripening and management conditions, greatly expand the current knowledge on the volatile profile in *Capsicum* fruits and the factors which can affect it.

Material and methods

Plant materials

A collection of 11 *Capsicum* heirlooms and ecotypes was used, encompassing eight accessions from *C. annuum*, one from *C. baccatum*, one from *C. chinense* and one from *C. frutescens*. These materials were local varieties from different regions, including several PDOs and PGIs and encompassing a remarkable varietal diversity (Table 1. Appendix 1a and 1b).

Cultivation

Plants were grown in open field trials for two spring-summer growing seasons (2015 and 2016) in a comparative study which involve both organic and conventional managements. The plots were located in Sagunto (Valencia, Spain), the organic was inside the protected area of “Marxal dels Moros” (UTM coordinates, X: 734494.88 and Y: 4390434.86) and the conventional plot was near this area to provide similar environmental conditions (X: 732900.40 and Y: 4391754.37). Plants were distributed following a planting frame with 1 m between ridges and 0.5 m between plants within ridge. Surface irrigation by furrows was used, with a frequency of three times per month until the end of June and during September and October and four times per month in July and August.

A four-year rotation crop system was used in the organic plot before the trials and the soil was fertilized with sheep manure ($4 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-2}$) at the beginning of the season. Ecological balance in the organic plot area was adjusted so that pest control treatments were not necessary. Fertilization in the conventional plot consisted of one application of a mixture of nitrogen, phosphorus and potassium (15-15-15; 50 g m^{-2}) before transplanting, and calcium nitrate (one dose of 20 g L^{-1} and two dose of 10 g L^{-1}) and iron chelate (one dose of 3 kg ha^{-1}) after transplanting. Also, in the conventional plot, fungicide copper oxychloride (58.8%, WP) was used in addition to pesticides abamectin (1.8%, EC) and chlorpyrifos (48%, EC). The treatments consisted of three applications of abamectin (30 mL) with copper oxychloride (100 mL) in 20 L of water and six applications of chlorpyrifos (50 mL) with copper oxychloride (100 mL) in 20 L of water. Manual control of adventitious plants was carried out monthly at both organic and conventional plots.

Table 1. Origin and fruit traits of *Capsicum* accessions used (Appendix 1a and 1b).

Cultivar/accession	Origin	Colour	Mesocarp	Shape (Pochard type)	Length/width (mm)	Weight (g)
<i>C. annuum</i>						
1. Bola	Cons. Reg. PDO Pimentón Murcia. Totana, Murcia (Spain)	Deep red	Thin, high dry matter	Round (N)	35/41	10-25
2. Doux Long des Landes	Françoise Jourdan. INRA Geves (France)	Red	Medium	Very elongated (C1)	156/23	25-75
3. Guindilla Ibarra	S. Larregla. EUSKO-Quality Label. NEIKER, Euskadi (Spain)	Red	Thin, high dry matter	Very elongated (C1)	139/11	<10
4. Jalapeno M	Reimer Seeds (USA)	Red	Thick, fleshy	Elongated (B4)	65/31	10-25
5. Mojo Palmero	Reserva Mundial de la Biosfera. La Palma, Canarias (Spain)	Deep red	Thin, high dry matter	Elongated (C2)	56/21	10-25
6. Numex Big Jim	P.W. Bosland. NMSU, Las Cruces, New Mexico (USA)	Red	Medium	Elongated (C2)	215/34	50-200
7. Piquillo	Cons. Reg. PDO Pimiento Piquillo de Lodosa. Lodosa, Navarra (Spain)	Deep red	Medium	Triangular (C4)	94/48	50-100
8. Serrano	Reimer´s Seeds Co. Mexico	Red	Medium	Elongated (B4)	35/16	<10
<i>C. baccatum</i>						
9. BOL-58	Cochabamba. Cochabamba (Bolivia)	Deep red	Thin, high dry	Elongated	70/15	5-10
<i>C. chinense</i>						
10. ECU-994	Archidona, Napo (Ecuador)	Red	Thin, high dry matter	Triangular	42/15	5-10
<i>C. frutescens</i>						
11. BOL-144	Yapacani. Santa Cruz (Bolivia)	Red	Thin, high dry matter	Very elongated	26/6	1-3

Sample preparation

Plants within plots were distributed according to a random model of 2 blocks of 3 plants each per accession. Fruits were harvested at the two commercial ripening stages of peppers: unripe and fully ripe. Each sample was prepared with the fruits from two plants, one per block, and therefore each sample included fruits from both blocks. Thus, in both trials (2015 and 2016), a combination of three samples ($n=3$) per accession (11) \times growing system (2) \times ripening stage (2) were analysed. Samples were stored in sealed bags at 5 °C until the analysis.

Extraction and analysis of volatiles

Headspace/solid phase microextraction (HS/SPME) was used for the extractions of the volatile fraction according to the methodology of Moreno et al. (2012) [25]. For the analysis, 2 g of fresh fruit mesocarp per sample were cut into 2×2 mm pieces and then put into a 20 mL sealed headspace vial, which was pre-incubated at 40 °C for 30 min. After that, 40 min of extraction at 40 °C was carried out, using a SPME fibre Divinylbenzene/Carboxen/Polydimethylsiloxane (DVB/CAR/PDMS, 50/30 μm) (Supelco, Bellefonte, PA, USA) which was introduced into the vial headspace and adsorbed the volatiles. Then, the thermal desorption of the fibre was performed in the splitless mode at 250 °C for 30 s in the gas chromatograph injection port. The SPME fibre was reconditioned before the first analysis (270 °C, 1h) and between analysis (250 °C, 30 min) to avoid cross contamination among samples.

The analysis of volatiles was performed using a 6890 N Network Agilent gas chromatograph coupled by a Life-T-effluent (1:1) to a 5973 Inert Mass Selective detector (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA). A silica capillary column (stationary phase: 5% phenyl, 95% dimethylpolysiloxane; 30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm) was used and helium was employed as carrier gas (1 mL \cdot min $^{-1}$). The column temperature was programmed to start at 40 °C for 1 min followed by an increase of 5 °C \cdot min $^{-1}$ until 200 °C, with 1 min hold-time, and then increased to 250 °C at a rate of 15 °C min $^{-1}$ with 3 min hold-time (transfer line at 220 °C). Electron impact (EI) mode was used for the MS detection (70 eV ionization energy, 225 °C) and scanning mode for the acquisition (35-350 amu, mass range m/z).

MSD ChemStation D.02.00.275 (Agilent Technologies) was used to perform chromatograms and mass spectra. For the identification of volatile compounds, a comparison of their mass spectra and GC retention time with reference commercial standards was carried out (RS. Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, USA), or tentatively by comparison of mass spectrum (MS) with the NIST Mass Spectral library (MS Search 2.0) according to other bibliographic data or data from our own research library. For quantification, total ion current chromatogram (TIC) was employed to integrate the peak area of each compound similarly to other previous works [15,26].

Statistics

To analyse data the generalized linear model analysis of variance (GLM ANOVA) was used through *Statgraphics Centurion XVII* software (StatPoint Technologies, Inc; Warrenton, Virginia, USA) to study the effects of genotype (G), ripening stage (R), growing system (E), year (Y) and their interactions. This analysis was used for the analysis of chemical groups at both ripening stages together and considering unripe and fully ripe stages separately as well. The analysis of variance was used for each volatile compound at each ripening stage with the two years data in order to increase statistical robustness, and differences between growing systems were studied through Duncan's multiple range test ($n=6$, $P < 0.95\%$). Previous $\log(x+2)$ transformation of data was performed given its non-parametric nature.

Heatmaps were used to study the correlation between accessions according to the main volatiles in i) unripe stage, ii) fully ripe stage and iii) fully ripe/unripe ratios (i.e. ripening ratios) using online software ClustVis [27]. The original values for unripe and fully ripe heatmaps were transformed by $\log(x+2)$. Heatmap for ripening ratios was performed from $(\text{fully ripe compound} + 1) / (\text{unripe compound} + 1)$, for each compound average in both organic and conventional growing systems.

Results and discussion

Analysis of variation

The general ANOVA showed a high contribution of the genotype (G) and the ripening stage (R) effects to the content of volatile compounds (Table 2). G was significant in all the chemical groups and R for most of them while G×R interaction was also significant in all the groups, with the only exception of phenol derivatives. These results suggested a different volatile profile among the genotypes and according to the ripening process. The effect of the growing system (E) was not significant for most groups, although the groups of aldehydes, furans and lipoxygenase cleavage products showed a significant E effect, especially in furans (Table 2). These general results may indicate a different behaviour of individual compounds in response to each growing system within chemical groups. The effect of the year (Y) was significant in five chemical groups (esters, ketones and methylketones, monoterpenes, norcatenoids and sesquiterpenes) confirming the need to repeat these evaluations in at least two years to achieve more robust estimates.

Given the importance of the R effect, specific ANOVAS for each ripening stage were performed to prevent hiding the contribution of the other effects (Table 3). As observed in the general ANOVA, the G effect was in general highly significant in both unripe and fully ripe stages, while the effect of the E differed with the ripening stage. Thus, at the unripe stage, the ANOVA revealed a significant E effect for furans and lipoxygenase cleavage products, while at the fully ripe stage it was significant for aldehydes and alkanes and highly significant for furans, showing a higher contribution than the G effect, and even the G×E interaction was also significant for furans. As found in the general ANOVA, the year effect was significant in many cases (Table 3). Thus, at the unripe stage the year contributed significantly to the levels in esters and furans, while at the fully ripe stage its contribution increased and was significant for eight chemical groups (alcohols, esters, ketones and methylketones, lactones, monoterpenes, monoterpenoids, norcatenoids and sesquiterpenes) (Table 3). Therefore, all the above mentioned results suggest differences between the volatile composition of different pepper fruits and significant changes with the ripening process. Moreover, variations according to the growing system could be also found.

Table 2. Mean squares of general ANOVA for the total mean content of volatile chemical groups. Letters correspond to main effects genotype (G), ripening stage (R), growing system (E), year (Y) and their interactions.

Group	G	R	E	Y	G×R	G×E	R×E	Error (df ¹)	
Alcohols	220.2***	2301.4***	17.4 ^{NS}	53.4 ^{NS}	198.5***	4.0 ^{NS}	3.8 ^{NS}	14.9 (2605)	
Aldehydes	200.0***	5913.1***	31.1*	0.7 ^{NS}	145.1***	4.9 ^{NS}	3.9 ^{NS}	5.7 (229)	
Alkanes	4429.7***	439.2**	128.1 ^{NS}	67.3 ^{NS}	154.2***	32.1 ^{NS}	56.0 ^{NS}	42.6 (5509)	
Alkenes	955.2***	121.0 ^{NS}	32.6 ^{NS}	6.0 ^{NS}	72.1*	3.6 ^{NS}	2.2 ^{NS}	39.1 (1549)	
Carboxylic acids	714.8***	26.4 ^{NS}	80.2 ^{NS}	10.5 ^{NS}	138.8***	23.4 ^{NS}	10.0 ^{NS}	30.1 (1813)	
Esters	8379.0***	4260.3***	50.0 ^{NS}	371.7***	449.6***	17.3 ^{NS}	33.8 ^{NS}	29.8 (4981)	
Furans	177.9***	6285.0***	340.7***	3.3 ^{NS}	152.0***	53.9***	29.6 ^{NS}	15.9 (229)	
Ketones and methylketones	104.2***	783.9***	71.6 ^{NS}	151.1**	41.8*	5.4 ^{NS}	4.3 ^{NS}	21.9 (1813)	
Lactones	490.8***	246.3***	0.3 ^{NS}	2.3 ^{NS}	115.1***	0.2 ^{NS}	0.1 ^{NS}	2.7 (229)	
Lipoxygenase cleavage products	614.3***	12507.5***	216.3**	61.9 ^{NS}	484.0***	28.6 ^{NS}	45.1 ^{NS}	29.6 (3395)	
Monoterpenes	744.2***	6485.7***	12.5 ^{NS}	416.5**	992.8***	21.9 ^{NS}	26.2 ^{NS}	39.6 (2075)	
Monoterpenoids	714.7***	289.6***	59.4 ^{NS}	79.5 ^{NS}	221.6***	9.1 ^{NS}	0.1 ^{NS}	24.3 (1021)	
Nitrogen and sulfur compounds	408.0***	3352.1***	17.0 ^{NS}	13.0 ^{NS}	213.3***	9.4 ^{NS}	23.7 ^{NS}	34.1 (493)	
Norcatenoids	914.3***	72.3 ^{NS}	82.7 ^{NS}	125.7*	112.1***	9.6 ^{NS}	1.2 ^{NS}	25.4 (1021)	
Phenol derivatives	117.7*	12.4 ^{NS}	17.8 ^{NS}	4.2 ^{NS}	93.9 ^{NS}	13.5 ^{NS}	0.3 ^{NS}	58.4 (493)	
Sesquiterpenes	2101.0***	914.8***	0.3 ^{NS}	804.8***	237.5***	5.0 ^{NS}	0.5 ^{NS}	44.3 (6036)	
Sesquiterpenoids	566.2***	41.2 ^{NS}	3.2 ^{NS}	10.1 ^{NS}	87.6**	6.9 ^{NS}	47.0 ^{NS}	35.1 (1549)	
	df ²	10	1	1	1	10	10	1	-

¹degrees of freedom of the error factor; ²degrees of freedom of the corresponding effect; ^{NS}, *, ** and *** indicate not significant for a probability p > 0.05 and significant for p < 0.05, 0.01 and 0.001, respectively, according to the statistical F ratio.

Table 3. Mean squares of unripe and fully ripe stages ANOVAs for the total mean content of volatile chemical groups. Letters correspond to main effects genotype (G), growing system (E), year (Y) and their interactions.

Group	<i>Unripe</i>					<i>Fully ripe</i>					
	G	E	Y	G×E	Error (df ¹)	G	E	Y	G×E	Error (df)	
Alcohols	392.4***	18.8 ^{NS}	4.4 ^{NS}	9.2 ^{NS}	23.2 (1297)	26.3***	2.5 ^{NS}	67.9**	3.1 ^{NS}	6.6 (1297)	
Aldehydes	319.0***	6.5 ^{NS}	18.1 ^{NS}	3.3 ^{NS}	4.9 (109)	26.1***	28.4*	9.2 ^{NS}	7.1 ^{NS}	6.5 (109)	
Alkanes	2810.0***	7.3 ^{NS}	9.7 ^{NS}	11.0 ^{NS}	43.3 (2749)	1773.9***	176.7*	72.2 ^{NS}	37.1 ^{NS}	42.1 (2749)	
Alkenes	678.9***	9.0 ^{NS}	2.8 ^{NS}	4.8 ^{NS}	41.0 (769)	348.3***	25.8 ^{NS}	3.2 ^{NS}	7.9 ^{NS}	37.6 (769)	
Carboxylic acids	540.6***	16.8 ^{NS}	13.9 ^{NS}	14.6 ^{NS}	30.3 (901)	313.0***	73.5 ^{NS}	68.8 ^{NS}	21.8 ^{NS}	30.1 (901)	
Esters	5371.9***	0.8 ^{NS}	161.4*	14.0 ^{NS}	32.9 (2485)	3456.7***	83.0 ^{NS}	212.1**	35.2 ^{NS}	26.6 (2485)	
Furans	66.1***	84.7*	77.5*	14.9 ^{NS}	16.7 (109)	263.7***	285.5***	38.8 ^{NS}	90.8***	11.0 (109)	
Ketones and methylketones	87.0***	55.6 ^{NS}	47.9 ^{NS}	5.3 ^{NS}	28.3 (901)	59.0***	20.3 ^{NS}	109.4**	4.7 ^{NS}	15.7 (901)	
Lactones	414.8***	0.0 ^{NS}	1.6 ^{NS}	0.3 ^{NS}	2.5 (109)	191.1***	0.5 ^{NS}	11.6*	1.3 ^{NS}	2.8 (109)	
Lipoxygenase cleavage products	837.6***	229.4*	59.8 ^{NS}	17.7 ^{NS}	42.3 (1691)	260.5***	32.0 ^{NS}	11.5 ^{NS}	21.1 ^{NS}	17.1 (1693)	
Monoterpenes	1431.4***	37.5 ^{NS}	59.7 ^{NS}	21.4 ^{NS}	41.2 (1033)	306.5***	1.2 ^{NS}	446.9***	21.2 ^{NS}	38.1 (1031)	
Monoterpenoids	508.3***	27.8 ^{NS}	9.7 ^{NS}	12.0 ^{NS}	28.9 (505)	428.0***	31.7 ^{NS}	90.3*	19.1 ^{NS}	19.8 (505)	
Nitrogen and sulfur compounds	507.5***	40.5 ^{NS}	0.4 ^{NS}	14.8 ^{NS}	21.2 (241)	113.8*	0.3 ^{NS}	19.9 ^{NS}	3.6 ^{NS}	48.2 (241)	
Norcatenoids	659.2***	32.1 ^{NS}	0.2 ^{NS}	12.8 ^{NS}	25.6 (505)	367.3***	51.7 ^{NS}	267.4**	14.0 ^{NS}	25.0 (505)	
Phenol derivatives	77.0 ^{NS}	6.7 ^{NS}	2.4 ^{NS}	1.1 ^{NS}	70.5 (241)	134.6**	11.3 ^{NS}	1.8 ^{NS}	20.9 ^{NS}	48.6 (241)	
Sesquiterpenes	1097.8***	0.8 ^{NS}	180.3 ^{NS}	5.3 ^{NS}	47.3 (3013)	1240.6***	0.0 ^{NS}	712.6***	7.2 ^{NS}	41.4 (3012)	
Sesquiterpenoids	293.4***	12.9 ^{NS}	18.7 ^{NS}	2.0 ^{NS}	37.9 (769)	360.3***	37.4 ^{NS}	0.0 ^{NS}	11.9 ^{NS}	32.8 (769)	
	df ²	10	1	1	10	-	10	1	1	10	-

¹degrees of freedom of the error factor; ²degrees of freedom of the corresponding effect; ^{NS}, *, ** and *** indicate not significant for a probability p > 0.05 and significant for p < 0.05, 0.01 and 0.001, respectively, according to the statistical F ratio.

Volatile composition at the unripe stage

A total of 124 volatile compounds were found among the 11 pepper accessions at the unripe stage, grouped in 17 chemical families with quantitative and qualitative differences (Tables 4 and 5. Supporting Information_areas). The most abundant groups according to GC peak area units were esters, alkanes, sesquiterpenes, monoterpenes and alkenes, whereas aldehydes and lactones were the minor groups. At the individual level a wide range of qualitative variability was also detected, with compounds like tetradecane (Alka7), hexadecane (Alka12), 2-pentylfuran (Fur1), methyl salicylate (Phe2) and copaene (Snes4), which were present in all pepper accessions, while other compounds were only found in one accession as 1-tetradecene (Alke1) in *Guindilla*, α -gurjunene (Snes12) and dihydro- β -ionone (Snoid2) in *ECU-994* and globulol (Snoid3) in *BOL-144* (Supporting Information_areas).

Consequently, the volatile profile among pepper accessions was also very diverse at both quantitative and qualitative levels as indicated by the ANOVA according to the genotype effect (Tables 2, 3 and 5). Thus, quantitatively the accessions *ECU-994*, *BOL-144* and *Serrano* at the unripe stage showed the highest values for total volatiles, with $4200-6000 \times 10^6$, $2750-3600 \times 10^6$ and $1700-1800 \times 10^6$ GC peak area units, respectively, while accessions *Bola*, *Jalapeno M* and *BOL-58* showed values lower than 500×10^6 (Table 5). Considering the different groups of compounds, the highest values for total means corresponded to alcohols, alkanes, ketones and methylketones and phenol derivatives in *BOL-144*; alkenes, esters, norcatenoids, sesquiterpenes and sesquiterpenoids in *ECU-994*; carboxylic acids and lipoxygenase cleavage products in *BOL-58*; furans and nitrogen and sulfur compounds in *Jalapeno*; monoterpenes in *Piquillo* and monoterpenoids in *Bola* (Table 5). Aldehydes were only detected in *Piquillo*, *BOL-58* and specially in *Serrano*, while lactones only in *Serrano*, *ECU-994* and *BOL-144* (Table 5).

Qualitative differences for chemical groups were also found among the accessions. Thus, according to the group with the highest total area in each variety, varieties *Doux Long des Landes*, *Guindilla Ibarra*, *Jalapeno*, *Mojo Palmero*, *Numex* and *Piquillo* showed predominant values for monoterpenes (which provide herbal and green aroma); *Bola* for sesquiterpenes (woody odour); *Serrano* for alkanes (waxy aroma); *BOL-58* for lipoxygenase cleavage products (fatty and oily odours) and *ECU-994* and *BOL-144* for

Table 4: List of volatile compounds names, abbreviation (Abb.), retention index (RI), identification method (RS: reference commercial standard, MS: comparison of mass spectrum with NIST library and bibliographic data) and aroma [28,29].

Volatile compound	Abb.	RI	Id.	Aroma	Volatile compound	Abb.	RI	Id.	Aroma
<i>Alcohols</i>					<i>Lactones</i>				
4-methyl-1-pentanol	Alc1	796	MS	-	2-nonanone	Ket4	1052	MS	fruity, sweet, fresh, cheesy
1-hexanol	Alc2	860	RS	herbal, oily, fruity,	4-oxoisophorone	Ket5	1268	MS	musty, woody, sweet, tea
(Z)-3-hexenol	Alc3	868	MS	green, fresh, pungent	jasmone	Ket6	1338	MS	floral, woody, herbal
(E)-2-octen-1-ol	Alc4	1067	MS	green, citrus, fatty	oxacyclotetradecan-2-one	Ket7	1904	MS	-
2-nonanol	Alc5	1078	RS	waxy, green, citrus, fruity	<i>Lipoxygenase cleavage products</i>				
2-phenylethanol	Alc6	1136	RS	floral, sweet, honey	hexanal	Lip1	806	RS	green, fresh, fatty, fruity
4-terpineol	Alc7	1137	MS	spicy, woody, earthy	(E)-2-hexenal	Lip2	814	MS	green, sweet, bitter, fruity
1-nonanol	Alc8	1159	RS	floral, fresh, oily	2-octenal	Lip3	1013	MS	fatty, green, herbal
2-nonen-1-ol	Alc9	1167	MS	fatty, sweet, melon	nonanal	Lip4	1104	RS	aldehydic, waxy, rose
2,6-nonadienol	Alc10	1175	MS	green	(E)-2-nonenal	Lip5	1112	MS	fatty, green, waxy, melon
<i>Aldehydes</i>					2,6-nonadienal	Lip6	1120	MS	green, violet, leaf
2-phenylacetaldehyde	Ald1	1081	RS	green, sweet, floral	(E,E)-2,4-nonadienal	Lip7	1120	MS	fatty, waxy, green, violet
<i>Alkanes</i>					decanal	Lip8	1204	RS	aldehydic, sweet, waxy
dodecane	Alka1	1214	MS	-	2,4-decadienal	Lip9	1220	MS	fatty, sweet, fresh
2-methyldodecane	Alka2	1249	MS	-	tetradecanal	Lip10	1601	MS	fatty, waxy, musk, citrus
tridecane	Alka3	1313	MS	-	pentadecanal	Lip11	1701	MS	fresh, waxy
2,6,10-trimethyldodecane	Alka4	1320	MS	-	hexadecanal	Lip12	1800	MS	cardboard
2-methyltridecane	Alka5	1349	MS	-	octadecanal	Lip13	1999	MS	oily
3-methyltridecane	Alka6	1349	MS	-	<i>Monoterpenes</i>				
tetradecane	Alka7	1413	MS	waxy	tricyclene	Mnes1	729	MS	-
2-methyltetradecane	Alka8	1448	MS	-	camphene	Mnes2	943	RS	woody, herbal, pine
pentadecane	Alka9	1512	MS	waxy	ocimene	Mnes3	976	RS	sweet, herbal
2-methylpentadecane	Alka10	1548	MS	-	(Z)- β -ocimene	Mnes4	976	MS	floral, sweet, herbal, warm
3-methylpentadecane	Alka11	1548	MS	-	(E,Z)-alloocimene	Mnes5	993	MS	-
hexadecane	Alka12	1612	MS	-	limonene	Mnes6	1018	RS	citrus, herbal, terpenic
2-methylhexadecane	Alka13	1647	MS	-	terpinolene	Mnes7	1052	MS	herbal, woody, sweet, pine
heptadecane	Alka14	1712	MS	-	methyl geranate	Mnes8	1252	MS	waxy, green, fruity, floral
2-methylheptadecane	Alka15	1746	MS	-	<i>Monoterpenoids</i>				
3-methylheptadecane	Alka16	1746	MS	-	eucalyptol	Mnoid1	1059	RS	herbal, eucalyptus
octadecane	Alka17	1810	MS	-	linalool	Mnoid2	1082	RS	floral, citrus, sweet
nonadecane	Alka18	1910	MS	bland	verbenone	Mnoid3	1119	MS	menthol, celery
2-methylnonadecane	Alka19	1945	MS	-	terpineol	Mnoid4	1143	RS	pine, woody, floral, citrus
icosane	Alka20	2009	MS	waxy	<i>Nitrogen and sulfur compounds</i>				
hencosane	Alka21	2109	MS	waxy	2-isobutyl-3-methoxypyrazine	Nit1	1204	RS	green, bell pepper, pea
<i>Alkenes</i>					2-sec-Butyl-3-methoxypyrazine	Nit2	1204	MS	green, bell pepper, pea
1-tetradecene	Alke1	1403	MS	-	<i>Norcatenoids</i>				
3-tetradecene	Alke2	1421	MS	-	β -cyclocitral	Nor1	1204	MS	tropical, herbal, sweet
2-methyl-1-tetradecene	Alke3	1479	MS	-	geranylacetone	Nor2	1424	RS	tropical, floral, fresh
(Z)-8-hexadecene	Alke4	1620	MS	-	α -ionone	Nor3	1429	RS	tropical, floral, sweet
2-methyl-Z-7-hexadecene	Alke5	1655	MS	-	β -ionone	Nor4	1457	RS	fruity, floral, sweet
2-methyl-1-hexadecene	Alke6	1678	MS	-	<i>Phenol derivatives</i>				
<i>Carboxylic acids</i>					guaiacol	Phe1	1090	MS	phenolic, spicy, vanilla
hexanoic acid	Car1	974	RS	fatty, cheesy	methyl salicylate	Phe2	1281	RS	minty, sweet, camphor
2-hexenoic acid	Car2	982	MS	-	<i>Sesquiterpenes</i>				
methyl benzoate	Car3	1060	MS	phenolic, almond, floral	(+)-cyclosativene	Snes1	1125	MS	-
octanoic acid	Car4	1173	MS	fatty, waxy, oily, cheesy	longicyclene	Snes2	1184	MS	-
nonanoic acid	Car5	1272	RS	waxy, dirty, cheesy	ylangene	Snes3	1221	MS	-
methyl 2-aminobenzoate	Car6	1372	MS	fruity, floral	copaene	Snes4	1221	MS	woody, spicy, honey
pentadecyl acetate	Car7	1878	MS	-	β -cubebene	Snes5	1339	MS	citrus, fruity, radish
<i>Esters</i>					α -cubebene	Snes6	1344	MS	herbal, waxy
3-methylbutyl methylbutanoate	3-Est1	1054	MS	fruity, sweet, green	longifolene-(V4)	Snes7	1387	MS	-
methyl 2-methylbutanoate	Est2	1118	MS	fruity, apple, tropical	β -elemene	Snes8	1398	MS	herbal, waxy, fresh
pentyl 2-methylbutanoate	Est3	1118	MS	fruity, apple, fresh	longifolene	Snes9	1398	MS	woody, sweet, rose
pentyl 3-methylbutanoate	Est4	1118	RS	fruity, green, apple	α -cedrene	Snes10	1403	MS	woody, sweet, fresh
hexyl 2-methylpropanoate	Est5	1183	RS	fruity, green, sweet, waxy	thujopsene	Snes11	1416	MS	woody
hexyl butanoate	Est6	1218	MS	fruity, green, waxy, spicy	α -gurjunene	Snes12	1419	MS	woody, balsamic
hexyl 2-methylbutanoate	Est7	1218	MS	-	(E)- α -bergamotene	Snes13	1430	MS	woody, warm, tea
pentyl 4-methylpentanoate	Est8	1218	RS	fruity, sweet, green	γ -muurolene	Snes14	1435	MS	woody, herbal, spicy
hexyl 3-methylbutanoate	Est9	1218	MS	fruity, sweet, green, floral	γ -cadinene	Snes15	1435	MS	woody, herbal
heptyl 2-methylpropanoate	Est10	1226	MS	fruity, tropical, green	β -cadinene	Snes16	1440	MS	woody, green
(Z)-3-hexenyl isovalerate	Est11	1267	MS	-	(Z)- β -farnesene	Snes17	1440	MS	green, citrus
hexyl 3-methylbut-2-enoate	Est12	1282	MS	fruity, green, oily, brandy	α -muurolene	Snes18	1440	MS	woody
hexyl pentanoate	Est13	1290	MS	fruity, green, winey	δ -cadinene	Snes19	1469	MS	woody, herbal, dry
(E)-2-hexenyl valerate	Est14	1381	MS	fruity, apple, green	caryophyllene	Snes20	1494	RS	woody, sweet, spicy
heptyl pentanoate	Est15	1381	MS	fruity, green, herbal	α -himachalene	Snes21	1494	MS	-
hexyl hexanoate	Est16	1389	MS	fruity, green, waxy	germacrene D	Snes22	1515	MS	woody, spicy
(Z)-3-hexenyl hexanoate	Est17	1516	MS	fruity, floral, oily	β -himachalene	Snes23	1528	MS	-
3-methylbutyl nonanoate	Est18	1615	MS	fruity, sweet, waxy	<i>Sesquiterpenoids</i>				
3-methylbutyl decanoate	Est19	1779	MS	-	α -longipinene	Snoid1	1403	MS	-
hexyl decanoate	Est19	1779	MS	-	dihydro- β -ionone	Snoid2	1449	MS	woody, earthy, amber
<i>Furans</i>					globulol	Snoid3	1530	MS	floral, rose
2-pentylfuran	Fur1	1040	RS	fruity, green, earthy	nerolidol	Snoid4	1564	RS	floral, green, waxy
<i>Ketones and methylketones</i>					dendrolasin	Snoid5	1607	MS	-
(E,E)-2,4-heptadienal	Ket1	921	MS	fatty, green, oily	bisabolol	Snoid6	1625	MS	floral, balsamic, peppery
3-octanone	Ket2	952	MS	fresh, herbal					
acetophenone	Ket3	1029	RS	floral, sweet, pungent					

Table 5. GC peak area total mean values (n=6, ×10⁶) of the main volatile groups of the accessions in organic (Org.) and conventional (Con.) growing systems at the unripe stage.

Group	Bola		Doux Long des Landes		Guindilla Ibarra		Jalapeno M		Mojo Palmero		Numex Big Jim		Piquillo		Serrano		BOL-58		ECU-994		BOL-144	
	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.
Alcohols	2.56 cd	3.23 cd	8.38 ab	9.01 ab	- a	- a	1.22 cd	0.39 bc	3.08 cd	9.40 d	9.80 cd	5.24 bcd	5.93 cd	7.02 cd	- a	- a	11.39 ab	22.97 ab	- a	- a	23.59 cd	12.36 bcd
Aldehydes	- a	- a	- a	- a	- a	- a	- a	- a	- a	- a	- a	- a	0.14 b	0.10 b	8.69 d	1.96 c	0.53 cd	0.49 cd	- a	- a	- a	- a
Alkanes	64.71 de	92.11 de	155.51 de	118.08 de	118.76 defg	160.46 efg	43.22 d	71.87 cd	130.47 fg	171.53 fg	34.46 b	27.90 bc	9.58 bc	7.73 b	1091.58 h	1109.48 h	1.61 a	1.76 a	592.23 defg	394.46 def	677.71 g	539.78 fg
Alkenes	- a	- a	34.02 bcde	31.52 bcde	21.88 defg	23.70 def	5.74 abc	21.71 abc	58.77 efg	77.70 efg	13.35 bcd	11.06 bcd	2.40 abc	0.19 ab	144.78 cde	133.09 cde	- a	- a	518.97 g	373.62 fg	299.22 cdef	251.02 cde
Carboxylic acids	4.07 defg	3.99 cde	- a	- a	4.47 fg	7.01 defg	2.06 abc	4.79 abc	5.00 cdef	2.47 bcd	3.67 cdef	3.54 cdef	0.36 abc	0.42 abc	10.09 efg	7.01 defg	13.53 g	27.66 g	- a	0.91 a	3.81 cdef	2.47 abc
Esters	49.96 e	66.50 de	37.46 ab	38.79 ab	18.58 e	25.08 e	7.92 bc	28.82 cd	18.60 cde	33.97 cde	46.67 de	30.66 de	6.59 ab	0.26 a	182.27 f	246.83 f	- a	- a	3373.73 g	2319.76 g	1864.13 g	1399.85 g
Furans	15.63 d	14.98 bcd	10.93 cd	11.28 cd	9.08 cd	5.39 bcd	17.74 d	12.34 d	10.46 cd	11.72 d	7.97 cd	6.76 cd	13.66 d	11.30 cd	8.77 cd	11.88 bcd	12.17 bcd	9.29 abcd	1.28 ab	2.36 abc	1.01 bcd	0.21 a
Ketones and methylketones	1.48 abc	1.14 abc	0.91 ab	0.76 ab	1.15 abc	0.70 ab	0.68 ab	0.25 a	1.54 c	1.56 bc	0.87 abc	0.32 ab	1.94 abc	1.55 abc	3.9 bc	3.33 abc	0.69 ab	1.74 ab	13.44 ab	3.64 ab	21.50 bc	21.08 bc
Lactones	- a	- a	- a	- a	- a	- a	- a	- a	- a	- a	- a	- a	- a	- a	0.49 b	0.91 b	- a	- a	2.77 c	1.41 c	1.40 c	1.08 c
Lipoxygenase cleavage products	29.84 fgh	32.92 fgh	37.29 defg	25.61 cdef	7.02 bcde	9.63 bc	17.42 cdef	4.62 bcd	32.19 fgh	33.62 fgh	51.73 h	47.79 fgh	27.16 fgh	25.59 efg	35.13 fgh	36.54 cdef	79.3 h	163.37 gh	1.39 a	0.49 a	10.06 ab	10.92 ab
Monoterpenes	75.16 def	64.79 def	273.14 ef	285.15 ef	267.31 de	215.31 cde	63.28 f	66.51 de	241.16 bcde	272.82 bcde	391.81 bcd	320.71 bcd	425.75 bcde	319.07 bcde	60.87 ef	97.20 def	37.82 b	29.26 bc	37.98 a	18.34 a	- a	- a
Monoterpenoids	7.46 d	6.29 d	7.99 abc	5.45 ab	2.05 ab	1.63 ab	7.64 d	3.71 c	2.21 bc	2.58 bc	4.74 abc	3.38 abc	5.04 bc	6.18 bc	7.77 bc	6.97 bc	- a	- a	- a	- a	- a	- a
Nitrogen and sulfur compounds	19.51 d	26.02 d	27.31 d	26.84 d	11.58 d	8.86 d	34.49 d	26.07 d	15.02 d	13.90 d	16.75 d	14.55 d	25.59 cd	19.35 cd	25.34 d	19.44 d	11.67 bc	12.87 bc	8.57 bc	10.15 b	- a	- a
Norcatenoids	- a	- a	0.51 ab	0.11 ab	- a	- a	2.75 de	1.45 c	0.15 ab	0.13 ab	- a	- a	0.79 bc	0.80 bc	0.54 ab	0.30 ab	0.59 ab	0.30 ab	169.23 e	71.74 e	12.02 cd	8.30 cd
Phenol derivatives	30.70 a	32.28 a	38.06 a	26.50 a	57.79 a	29.92 a	50.76 a	32.57 a	40.47 a	42.11 a	41.98 a	36.74 a	41.37 a	48.7 a	41.48 a	43.31 a	61.89 a	58.41 a	52.63 a	88.60 a	95.13 a	84.07 a
Sesquiterpenes	94.80 bc	100.62 bc	106.34 bc	110.25 c	62.80 c	106.98 c	26.21 c	43.62 c	42.79 c	68.69 c	116.25 bc	83.97 bc	20.29 b	21.52 b	76.55 bc	82.66 bc	1.20 a	0.96 a	1164.73 d	878.81 d	537.52 c	411.12 c
Sesquiterpenoids	11.92 e	11.86 de	17.30 abc	14.95 abcd	12.29 bcde	23.52 cde	0.97 ab	3.02 ab	5.03 abc	7.91 abc	19.13 bcde	10.81 bcde	1.35 ab	1.55 ab	12.56 abcde	13.49 bcde	0.29 a	1.12 a	37.64 de	32.11 e	7.19 abc	6.33 abc
Total volatiles	407.78 abcd	456.74 bcde	755.14 f	704.30 ef	594.75 def	618.18 def	282.10 ab	321.74 ab	606.93 def	750.11 f	759.17 f	603.43 def	587.93 def	471.33 cdef	1710.81 g	1814.40 g	232.69 a	330.20 abc	5974.61 j	4196.41 ij	3554.29 hi	2748.59 gh

Letters in the same row indicate significant differences according to Duncan test ($P < 0.05$).

esters (fruity and tropical aroma) (Table 5). In the same way for individual compounds (Supporting Information_areas), ocimene (Mnes3) and methyl salicylate (Phe2) were predominant in *Bola*, *Doux Long*, *Guindilla*, *Jalapeno*, *Mojo Palmero*, *Numex* and *Piquillo* in addition to Phe2 in *BOL-58*, 2-methyltetradecane (Alka8) in *Bola*, *Doux Long*, *Guindilla*, *Mojo Palmero*, *Serrano*, *ECU-994* and *BOL-144* and 2-methyltridecane (Alka5) in *Guindilla*, *Jalapeno*, *Mojo Palmero*, *Serrano* and *BOL-144* (Supporting Information_areas). Furthermore, hexyl hexanoate (Est15), 2-isobutyl-3-methoxypyrazine (Nit1) and copaene (Snes4) were predominant in *Bola*, 2-methyl-1-tetradecene (Alke3) and hexyl hexanoate (Est15) in *Doux Long*, 2-pentylfuran (Fur1), 2-isobutyl-3-methoxypyrazine (Nit1) and copaene (Snes4) in *Jalapeno*, 2-methyl-1-tetradecene (Alke3) in *Mojo Palmero*, hexyl hexanoate (Est15), (E)-2-nonenal (Lip5), longifolene-(V4) (Snes7) and alpha-himachalene (Snes21) in *Numex* and 2-pentylfuran (Fur1), (E,Z)-alloocimene (Mnes5), 2-isobutyl-3-methoxypyrazine (Nit1) and copaene (Snes4) in *Piquillo*. In *Serrano* were predominant the alkanes pentadecane (Alka9), 2-methylpentadecane (Alka10), hexadecane (Alka12) and heptadecane (Alka14), the alkene 2-methyl-1-tetradecene (Alke3) and the ester hexyl 2-methylbutanoate (Est6). Hexanal (Lip1) and (E)-2-hexenal (Lip2) were relatively high in *BOL-58*. In *ECU-994* and *BOL-144* the most abundant compounds were 2-methyl-1-tetradecene (Alke3), esters hexyl 2-methylbutanoate (Est6), hexyl 3-methylbutanoate (Est8), hexyl pentanoate (Est12) and hexyl hexanoate (Est15) and the sesquiterpene longifolene-(V4) (Snes7). Finally, (E)-2-hexenyl valerate (Est13), alpha-cubebene (Snes6), Germadecrene D (Snes22) reached remarkable levels in *ECU-994* (Supporting Information_areas).

The analysis of correlation through heatmap graphic clearly grouped *Capsicum annuum* accessions in one main cluster and *C. baccatum*, *C. chinense* and *C. frutescens* in the other cluster (Figure 1). Thus, on the whole the unripe volatile profile agrees with the phylogenetic relationships at the species level, as suggested by Rodríguez-Burruezo et al. [30]. According to the main relative quantities of volatile groups, monoterpenes had generally a high contribution in *C. annuum* accessions, with herbal and green aromas; while lipoxygenase cleavage products stood out in *C. baccatum* accession *BOL-58*, with fatty/herbal/fruity scents; and esters had a higher contribution in the exotic accessions *ECU-994* and *BOL-144*, belonging to *C. chinense* and *C. frutescens* species, respectively, with characteristic fruity/sweet aromas.

The ANOVA of chemical families revealed that the growing system effect was significant in some groups (Tables 2 and 3), with higher volatile levels in the organic growing system which suggests that differences between individual compounds could be found. This fact was confirmed by the heatmap of volatile compounds at the unripe stage that allowed to appreciate several differences between growing systems (also analysed with Duncan's test) (Figure 1) (Supporting Information_areas). Thus, a total of 70 cases of volatile compounds with higher significant levels in the organic growing system were found in at least one accession, while by contrast only 18 cases with higher values in the conventional growing system were found (Supporting Information_areas). Furthermore, we also found that in 53 volatiles most of accessions showed significantly higher levels in the organic growing system, while in 14 compounds most accessions showed higher levels in conventional. In addition, in the accessions *Bola*, *Guindilla Ibarra*, *Jalapeno*, *Piquillo*, *Serrano*, *BOL-58*, *ECU-994* and *BOL-144* were predominant the compounds with significant higher levels in the organic growing system, while only in the accessions *Doux Long des Landes*, *Mojo Palmero* and *Numex Big Jim* were predominant the volatiles with higher levels in conventional management (Figure 1) (Supporting Information_areas). Thus, the results suggested that the organic growing system could increase the accumulation of volatile compounds at the unripe stage in comparison to conventional growing conditions. This fact benefits the plants attending the high relevance of volatile compounds as plant metabolites related with plant growth, protection structural components, antifungal activities, insect repellent and insecticide actions as well as attraction of biocontrol agents and nematode control [31–39]. Other work that studied the effect of organic farming described a higher quality in the aroma composition of mandarin juice in the organic growing system [40].

Finally, a few compounds were only found in one growing system. Thus, hexyl decanoate (Est19) in *Piquillo*, which is an attracting pheromone for bees and a metabolite related with nitrogen fertilizer compensation [41–44] and beta-elemene (Snes8) in *BOL-58*, related with antitumoral actions [45] were only detected in the organic growing system. Besides, wax structural component dodecane (Alka1) in *Guindilla Ibarra* and pentadecyl acetate (Car7) in *ECU-994* which has insect pheromonal activities [46], were detected only in the conventional management.

Volatile composition at the fully ripe stage

A total of 122 main volatile compounds were found in our collection of fully ripe fruits, with remarkable quantitative and qualitative differences as previously found at the unripe stage (Table 6. Supporting Information_areas). The levels of chemical families were very diverse, ranging from values higher than 1200×10^6 GC peak area units in esters, alkanes and sesquiterpenes, to values $\leq 15 \times 10^6$ in monoterpenoids, ketones and methylketones, aldehydes, furans and lactones (Table 6). The wide variability at individual volatiles revealed compounds with a high presence in the accessions studied like 2-phenylacetaldehyde (Ald1), ocimene (Mnes3), methyl salicylate (Phe2) or several alkanes, that were detected in all the varieties, while other compounds were only detected in one variety, as 4-methyl-1-pentanol (Alc1) in *BOL-144*, 4-terpineol (Alc7) in *Bola*, 1-nonanol (Alc8) in *Jalapeno*, 2-nonen-1-ol (Alc9) and 2,6-nonadienol (Alc10) in *Numex*, 1-tetradecene (Alke1) in *Doux Long* and 2,4-decadienal (Lip9) in *Mojo Palmero* (Supporting Information_areas).

The range for total volatiles was also very wide, from *Piquillo* with less than 30×10^6 GC peak area units to *BOL-144* and *ECU-994* with more than 850 and 3300×10^6 , respectively (Table 6). Regarding each accession, alkanes, alkenes, esters, ketones and methylketones, norcatenoids, phenol derivatives, sesquiterpenes and sesquiterpenoids had the highest values in *ECU-994*, alcohols had the highest levels in *BOL-144*, aldehydes in *Doux Long*, carboxylic acids in *Guindilla Ibarra*, lipoxygenase cleavage products in *BOL-58*, monoterpenes in *Numex Big Jim* and nitrogen and sulfur compounds in *Jalapeno* and *Serrano*. Groups of furans only were detected in the accessions *Guindilla Ibarra*, *Serrano*, *BOL-58* in both systems and *Jalapeno* in organic growing system and lactones were showed in *Serrano* and *ECU-994* (Table 6).

Considering the relative contribution of each chemical group to the different accessions, it was found that monoterpenes (herbal and green aroma) were highly relevant for the volatile fraction of *Doux Long des Landes* and *Numex Big Jim*; sesquiterpenes (woody aroma) for *Bola* and *Piquillo*; alkanes (waxy odour) for *Guindilla Ibarra*, *Jalapeno*, *Mojo Palmero* and *Serrano*; lipoxygenase cleavage products (fatty and oily odours) for *BOL-58* and esters (tropical and fruity aroma) for *ECU-994* and *BOL-144* (Table 6). According to individual compounds for each variety, alkanes 2-methyltridecane (Alka 5) and 2-methyltetradecane (Alka8) were predominant

Table 6. GC peak area total mean values (n=6, ×10⁶) of the main volatile groups of the accessions in organic (Org.) and conventional (Con.) growing systems at the fully ripe stage.

Group	Bola		Doux Long des Landes		Guindilla Ibarra		Jalapeno M		Mojo Palmero		Numex Big Jim		Piquillo		Serrano		BOL-58		ECU-994		BOL-144	
	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.
Alcohols	0.11 abc	0.04 abc	0.50 abc	0.32 abc	0.69 ab	0.76 ab	0.06 abc	0.20 abc	- a	- a	0.40 abc	- a	- a	- a	1.28 abc	0.65 ab	5.17 abc	10.01 abc	- a	- a	18.36 bc	23.18 c
Aldehydes	0.74 bcd	0.32 ab	1.70 bcd	2.83 cd	1.49 bcd	1.24 bcd	2.72 bcd	1.83 bcd	0.67 bcd	0.78 bcd	0.44 bcd	0.16 a	0.40 bcd	0.38 bcd	3.54 d	1.87 bcd	0.83 bcd	0.72 bcd	0.53 abc	0.42 a	0.96 bcd	0.56 bcd
Alkanes	15.36 def	36.85 cd	19.15 cde	24.32 def	83.89 efg	156.44 fg	243.60 def	131.04 bcd	155.11 g	81.10 efg	33.23 bc	16.06 ab	5.73 bc	2.27 a	397.36 h	279.62 h	3.98 a	3.50 a	489.83 g	723.44 g	178.17 efg	205.71 efg
Alkenes	0.23 abcd	0.26 abc	3.91 defg	4.01 bcdefg	7.85 fg	16.52 fg	48.89 cdefg	6.76 abcde	29.86 g	11.55 fg	12.97 bcdefg	4.09 abcdef	0.84 abc	0.05 ab	41.82 efg	32.04 defg	- a	- a	393.57 efg	525.23 efg	81.54 efg	97.60 efg
Carboxylic acids	2.30 bcdef	0.99 abcd	1.69 ab	5.44 abcd	9.22 fg	17.10 fg	- a	- a	13.22 defg	7.19 cdefg	3.41 defg	1.73 abcd	0.66 abc	0.94 abcde	8.56 g	6.58 efg	8.58 g	8.51 fg	3.44 cdefg	4.16 bcdefg	1.88 fg	0.97 fg
Esters	3.90 ab	8.20 ab	- a	- a	6.59 e	20.11 e	81.87 e	70.42 e	0.81 bcd	1.71 abc	197.49 f	31.44 de	0.02 a	0.02 a	19.59 e	15.83 cde	2.57 ab	4.09 ab	1140.70 g	1344.21 g	356.01 g	317.64 g
Furans	1.90 e	- a	- a	- a	2.14 e	4.28 de	2.14 e	- a	- a	- a	- a	- a	- a	- a	1.01 bc	11.52 bcd	0.99 cde	0.42 b	- a	- a	- a	- a
Ketones and methylketones	0.39 cd	0.29 abcd	0.11 abc	0.45 abcd	0.21 abcd	0.29 abcd	0.79 abcd	1.90 abcd	0.30 cd	0.59 bcd	1.38 abcd	0.13 ab	- a	- a	0.44 d	0.26 abcd	0.37 ab	0.18 ab	6.71 bcd	13.72 bcd	1.00 abcd	0.82 abcd
Lactones	- a	- a	- a	- a	- a	- a	- a	- a	- a	- a	- a	- a	- a	- a	0.11 b	0.06 a	- a	- a	0.91 c	1.84 c	- a	- a
Lipoxygenase cleavage products	- a	- a	4.06 ef	7.61 f	2.54 de	1.86 de	2.64 abc	0.24 ab	2.69 ef	1.58 bcd	12.35 cde	0.12 abc	- a	- a	4.05 abc	3.87 abc	72.88 de	72.21 de	0.65 abc	1.70 abc	14.33 abc	8.55 abc
Monoterpenes	3.34 abcde	5.38 abcde	15.39 abcd	35.65 def	6.90 bcdef	16.59 cdef	12.82 abc	3.16 abc	4.01 abc	4.68 ab	330.41 ef	92.31 def	3.62 abc	4.54 abc	3.29 abcde	1.32 abc	3.92 abcd	4.91 abcd	6.02 a	13.44 a	30.96 f	32.08 f
Monoterpenoids	4.56 g	2.67 fg	2.54 def	3.03 efg	0.38 ab	0.47 ab	- a	- a	0.27 abc	0.30 abc	6.34 bcd	5.62 bcd	0.96 cd	0.01 a	2.41 def	0.83 de	- a	- a	- a	- a	- a	- a
Nitrogen and sulfur compounds	7.35 b	3.67 b	0.65 ab	2.26 b	2.04 b	3.06 ab	15.40 b	17.49 b	3.99 b	3.59 b	2.62 b	3.01 b	0.88 ab	1.31 ab	12.92 b	10.12 b	2.96 b	2.66 b	- a	- a	0.72 ab	0.58 ab
Norcatenoids	0.16 a	0.03 a	0.21 a	0.15 a	0.11 a	0.09 a	0.13 a	0.08 a	0.22 ab	0.11 a	22.13 ab	0.67 a	0.09 a	0.07 a	0.15 a	0.06 a	0.25 a	0.22 a	75.87 c	89.33 c	1.86 b	1.91 b
Phenol derivatives	6.34 abc	2.90 abc	0.56 a	1.97 a	3.37 abc	4.02 abc	9.95 abc	31.76 abc	9.11 abc	2.88 abc	13.38 abc	3.88 abc	7.45 abc	1.01 abc	26.25 bc	45.35 abc	10.82 c	19.70 c	33.72 abc	92.66 abc	5.53 abc	6.64 abc
Sesquiterpenes	24.67 bcd	28.87 bc	14.54 bc	26.29 bcd	34.18 ef	55.32 ef	106.13 de	93.75 cde	13.11 ab	23.39 b	70.16 bcd	67.26 bcd	11.83 ab	11.12 ab	18.65 b	13.96 b	7.67 a	4.32 a	681.10 g	961.94 g	136.72 fg	167.84 fg
Sesquiterpenoids	2.22 bcde	3.86 bc	0.95 abc	1.48 bcd	6.78 bcd	9.65 bc	15.66 bc	10.37 ab	1.27 bc	1.62 bcd	12.81 e	12.52 cde	- a	- a	3.80 bcde	3.24 bcd	- a	- a	35.76 e	42.50 de	5.60 bcde	7.24 bcde
Total volatiles	73.55 ab	94.33 ab	65.97 ab	115.81 bc	168.38 bcde	307.80 cdef	542.80 bcde	368.98 cdef	234.64 cdef	141.06 bcde	719.53 defg	238.99 cdef	32.49 a	21.72 a	545.24 fg	427.18 efg	121.00 bcd	131.46 bcde	2868.80 h	3814.59 h	833.64 g	871.32 g

Letters in the same row indicate significant differences according to Duncan test ($P < 0.05$).

in *Doux Long*, *Guindilla*, *Jalapeno*, *Mojo*, *Serrano* and *BOL-144*, in addition to *Bola* and *ECU-994* for Alka8 (Supporting Information_areas). Other alkanes that highlighted were tetradecane (Alka7) in *Piquillo*, for variety *Serrano* pentadecane (Alka9), 2-methylpentadecane (Alka10), hexadecane (Alka12) and heptadecane (Alka14) in addition to Alka10 in *Guindilla* and *Jalapeno* and Alka14 in *Jalapeno* for organic growing system. Alkene 2-methyl-1-tetradecene (Alke3) showed proportionally higher values in *Guindilla*, *Serrano*, *ECU-994*, *BOL-144* and in *Jalapeno* and *Mojo* for the organic growing system, hexanoic acid (Car1) in *BOL-58*, pentadecyl acetate (Car7) in *Guindilla*, ester hexyl 2-methylbutanoate (Est6) in *Jalapeno*, *ECU-994* and *BOL-144* and *Numex* in the organic growing system, hexyl 3-methylbutanoate (Est8) in *ECU-994*, (Z)-3-hexenyl isovalerate (Est10) in *Numex* for the organic, hexyl pentanoate (Est12) in *Jalapeno* and *BOL-144*, hexyl hexanoate (Est15) in *Bola* and *ECU-994* and *Numex* organic, hexanal (Lip1) in *BOL-58*, (E)-2-hexenal (Lip2) in *Doux Long* and *BOL-58*, monoterpene ocimene (Mnes3) in *Doux Long*, *Numex*, *Piquillo*, 2-isobutyl-3-methoxypyrazine (Nit1) in *Bola* and *Jalapeno*, methyl salicylate (Phe2) in *Bola*, *Jalapeno* for the convencional, *Piquillo* for organic, *Serrano* and *BOL-58* and finally, sesquiterpenes copaene (Snes4) in *Bola*, *Doux Long*, *Guindilla*, *Jalapeno*, *Mojo* and *Piquillo*, alpha-cubebene (Snes6) in *ECU-994*, longifolene-(V4) (Snes7) in *Jalapeno*, *ECU-994* and *BOL-144*, beta-elemene (Snes8) in *Piquillo* and germacrene D (Snes22) in *ECU-994* (Supporting Information_areas).

The correlation between accessions according to the volatile profile at fully ripe stage showed *C. annuum* accessions grouped together and in the other hand the rest of *Capsicum* species (Figure 2). This fact was also observed at unripe stage confirming the influence of phylogenetic origin for the volatile profile, as suggested by Rodríguez-Burruezo et al. [30], also in fully ripe fruits. Moreover, the distribution of *Capsicum* varieties based on the volatile profile is in agreement with a previous report on phylogenetic relationships based on SNPs [47], which suggest a strong correlation between the DNA-based evolutionary relationships and the metabolomic (volatiles-based) composition. Thus, as well as for the unripe stage, lipoxygenase cleavage products had a higher contribution to the relative volatile composition in *C. baccatum*, with fatty/herbal/fruity aroma; and esters were higher in *C. chinense* and *C. frutescens* species, with fruity/sweet scents. By other hand, alkanes and sesquiterpenes had generally a higher contribution in *C. annuum* fully ripe accessions, with waxy and

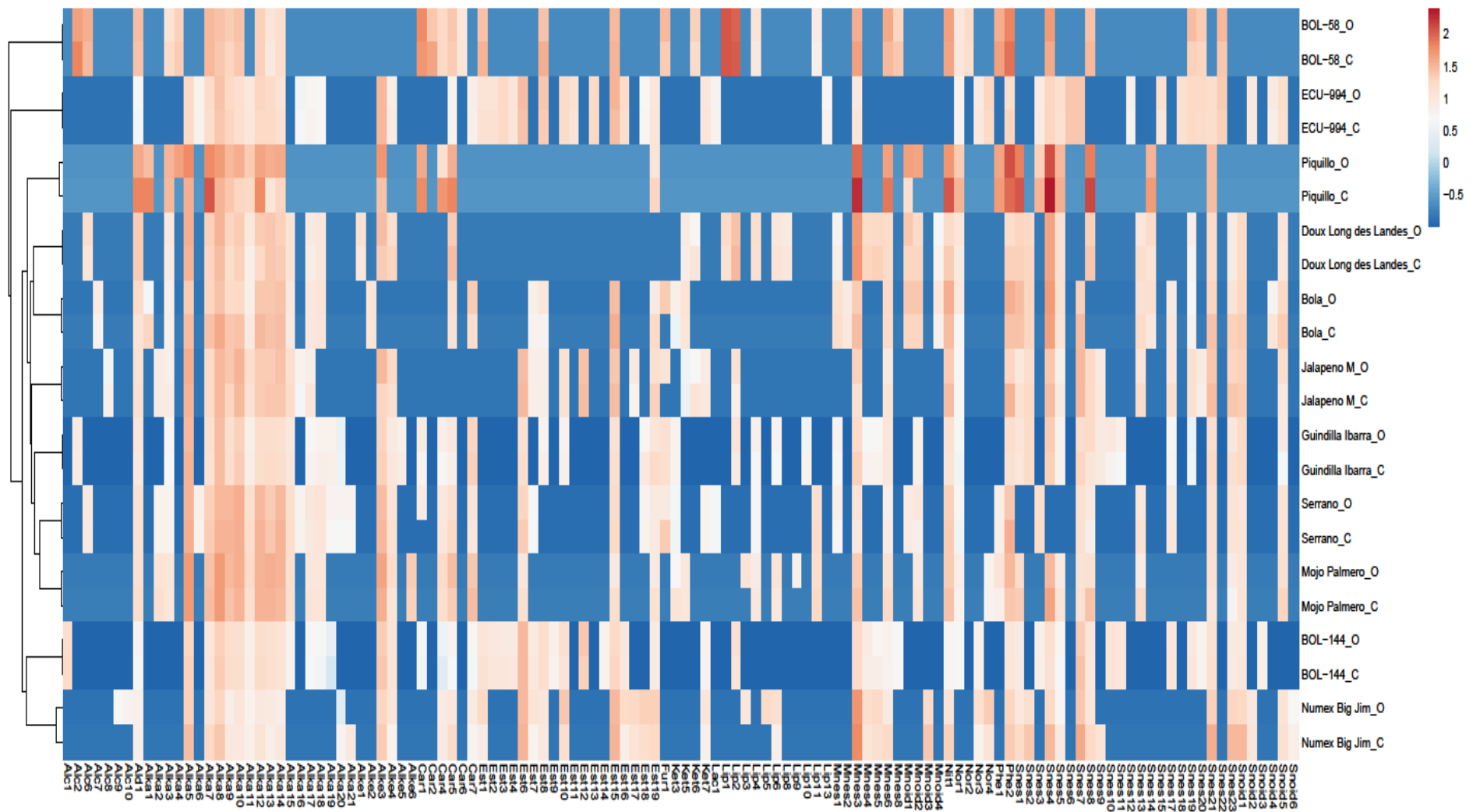


Figure 2. Heatmap for correlations between volatile compounds for each genotype and growing system (organic: O, conventional: C) at fully ripe stage. Original values were transformed according to $\log(x + 2)$. Rows were centered; unit variance scaling was applied to rows; rows are clustered using correlation distance and average linkage (122 rows, 22 columns).

<https://drive.google.com/file/d/1YY-kfmQuBguL9aZVFydf1bJxJ4pVDWLJ/view?usp=sharing>

woody/sweet aromas, however a more heterogeneous behaviour was found in this larger group of accessions. This distribution of relative quantities is in agreement with other volatile work in fully ripe pepper fruits [30].

As found at the unripe stage, differences between growing systems could be detected at the fully ripe stage, with a higher accumulation of volatile compounds in organic growing system (Figure 2) (Supporting Information_areas). Thus, a total of 63 cases (i.e. combination of accession and volatile) of volatile compounds with higher significant values in organic growing system were detected, while only 34 cases with higher levels under conventional growing system were found (Supporting Information_areas). Moreover, we found that most *Capsicum* accessions showed significantly higher levels in the organic growing system in 48 volatiles, while the opposite situation was found in 26 compounds (i.e. most accessions showed higher levels in conventional). Furthermore, seven accessions showed a higher number of volatiles with higher levels in organic, being *Bola*, *Jalapeno*, *Mojo Palmero*, *Numex Big Jim*, *Piquillo*, *Serrano* and *BOL-144*, while in a lower number of accessions, i.e. *Doux Long*, *Guindilla*, *BOL-58* and *ECU-994*, the number of volatiles with higher levels in conventional was higher (Figure 2) (Supporting Information_areas).

Finally, attending compounds showed in the organic growing system but not in the conventional at fully ripe stage, 2-nonen-1-ol (Alc9) and 2,6-nonadienol (Alc10) were detected in *Numex Big Jim*, 2,6,10-trimethyldodecane (Alka4) in *Piquillo*, hexanoic acid (Car1) in *Serrano*, 2-pentylfuran (Fur1) in *Bola* and *Jalapeno*, 2-octenal (Lip3) and 2,4-decadienal (Lip9) in *Mojo Palmero* and 2-octenal (Lip3) and (E)-2-nonenal (Lip5) in *Numex Big Jim*. On the other hand, hencicosane (Alka21) and longifolene (Snes9) in *Numex Big Jim* were only detected in the conventional system at fully ripe stage. All these results revealed that organic growing system could benefit the accumulation of volatile compounds in *Capsicum* fruits at fully ripe stage. As it was observed for unripe stage, this fact is an advantage for plants growing in the organic system since volatile compounds play several important roles. For instance, alkanes as plant metabolites are wax structural components that protect plants against pests and are related with host recognition of biocontrol agents [31], hexanoic acid (Car1) have pesticide action [34], 2-pentylfuran (Fur1) is a metabolite that promote plant growth [32,33], 2-octenal (Lip3) is an antifungal agent [35], (E)-2-nonenal (Lip5) acts like insect repellent and

insecticide [36,37] and 2,4-decadienal (Lip9) have a role as nematode control agent [38].

Evolution of the volatile fraction with ripening

The volatile profile of *Capsicum* fruits evolved dramatically with the ripening process, which was shown in the heatmap of the ripening ratios, i.e. fully ripe levels/unripe levels (Figure 3). On the whole, the levels in many compounds decreased with the ripening process in most accessions analysed, with the only exception of *Jalapeno M* and *BOL-58*, which had a similar number of compounds that increased or decreased with ripening (Figure 3). In addition, the varieties *Doux Long des Landes*, *Jalapeno M*, *Numex Big Jim*, *BOL-58* and *BOL-144* showed the higher number of ripening ratios >1 (i.e. the compound increased with ripening) (Figure 3). The general trend with the ripening process, considering the relative contribution of each chemical group to the different accessions, was the reduction of monoterpenes and monoterpenoids, with characteristic herbal and green aromas and the relative increase of others chemical groups with heterogeneous combinations of fruity/floral/sweet/woody/waxy aromas; as sesquiterpenes in *Piquillo*, with woody/fruity scent; or alkanes in *Guindilla Ibarra*, *Jalapeno* and *Mojo Palmero*, with waxy aroma (Figure 3). The replacement of monoterpenes by other groups of volatiles during ripening process has also been described in other works with the exotic species *C. frutescens*, *C. chinense* and *C. baccatum* [17,48].

Changes on volatiles during ripening were very diverse and differed among accessions, although, some similarities were also found. In general, alcohols decreased at the fully ripe stage in fruits of *Bola*, *Jalapeno*, *Mojo Palmero*, *Numex Big Jim*, *Piquillo* and *BOL-144*, although an increase was found for Alc2 in *Guindilla Ibarra* and Alc6 for *Doux Long*, *Serrano* and *BOL-58*, with fruity and floral aroma. The aldehyde Ald1 considerably increased with ripening, except for *Piquillo*, *Serrano* and *BOL-58*, where it showed similar levels at both stages. On the whole, total alkanes and alkenes, with waxy and oily aroma, had similar or lower values at the fully ripe stage, except for *BOL-58*, where alkanes increased. Attending individual cases for alkanes, increases were noticed for Alka1 and Alke2 in *Bola*, Alka3 and Alke1 in *Doux Long*, Alka6 in

ECU-994, Alka20 in *Guindilla* and *Numex*, in addition to Alka21 in *Numex*, Alka2, Alka16 and Alka4 in *Jalapeno* and Alka4 in *Piquillo*. The behaviour for carboxylic acids, with fatty and oily scents, was quite heterogeneous since accessions *Doux Long*, *ECU-994*, *Piquillo* and *BOL-144* showed a general increase with ripening, while *Bola* and *Jalapeno* showed a general decrease, and the rest of accessions did not show a significant trend. Total esters remained with similar values or diminished for most accessions, except for *Jalapeno* and *BOL-58* where increased. Other increases in individual esters were found for hexyl decanoate (Est19) in *Guindilla Ibarra* and 3-methylbutyl 3-methylbutanoate (Est1), pentyl 4-methylpentanoate (Est7), 3-methylbutyl nonanoate (Est17) and 3-methylbutyl decanoate (Est18) in *Numex Big Jim*, these with fruity and tropical aroma. 2-pentylfuran (Fur1, fruity-green aroma) decreased with the ripening process and oxacyclohexadecan-2-one (Lac1, mush-powdery scent) remained with similar values for *ECU-994* and it was reduced for *Serrano* and *BOL-144*. A general trend to remain or diminish was noticed for ketones and methylketones in *Guindilla*, *Numex*, *Piquillo*, *ECU-994* and *BOL-144* while increases were also detected for floral and sweet aroma ketones like acetophenone (Ket3) in *Bola* and *Serrano*, 4-oxoisophorone (Ket5) in *Bola*, *Doux Long*, *Jalapeno* and *Mojo Palmero*, jasmone (Ket6) in *Doux Long*, *Jalapeno* and *BOL-58* and oxacyclotetradecan-2-one (Ket7) in *Jalapeno*. Lipooxygenase cleavage products also were generally reduced or maintained, with general green and fatty aroma, except the increases for aldehydic, floral and sweet aroma compounds like nonanal (Lip4), 2,6-nonadienal (Lip6) and decanal (Lip8) in *Doux Long* in addition to nonanal (Lip4) in *Guindilla* and *Serrano* and pentadecanal (Lip11) in *Mojo Palmero* and *BOL-58*. Monoterpenes and monoterpenoids, with herbal and floral aroma, clearly augmented in *BOL-144* and decreased in *Jalapeno* while they were maintained and reduced in the rest of accessions, except for increases for eucalyptol (Mnoid1, herbal and fresh scent) in *Bola*, *Doux Long*, *Piquillo* and *Serrano* and terpineol (Mnoid4, pine and floral aroma) in *Doux Long*. Typical green bell pepper aroma 2-isobutyl-3-methoxypyrazine (Nit1) remained with similar values with ripening for *Jalapeno* and *Serrano* and it was reduced for the rest of accessions, except *BOL-144*, where it increased, while 2-sec-Butyl-3-methoxypyrazine (Nit2) decreased with ripening. Norcatenoids generally augmented in *Bola*, *Guindilla*, *Mojo Palmero*, *Numex* and *BOL-58*, with tropical and sweet scents, while α -ionone (Nor3) in *Jalapeno* and *BOL-144* and β -ionone (Nor4) in *Jalapeno*, *Piquillo* and *BOL-58* decreased. Phenol derivatives generally decreased, however, guaiacol (Phe1, spicy and vanilla aroma) for

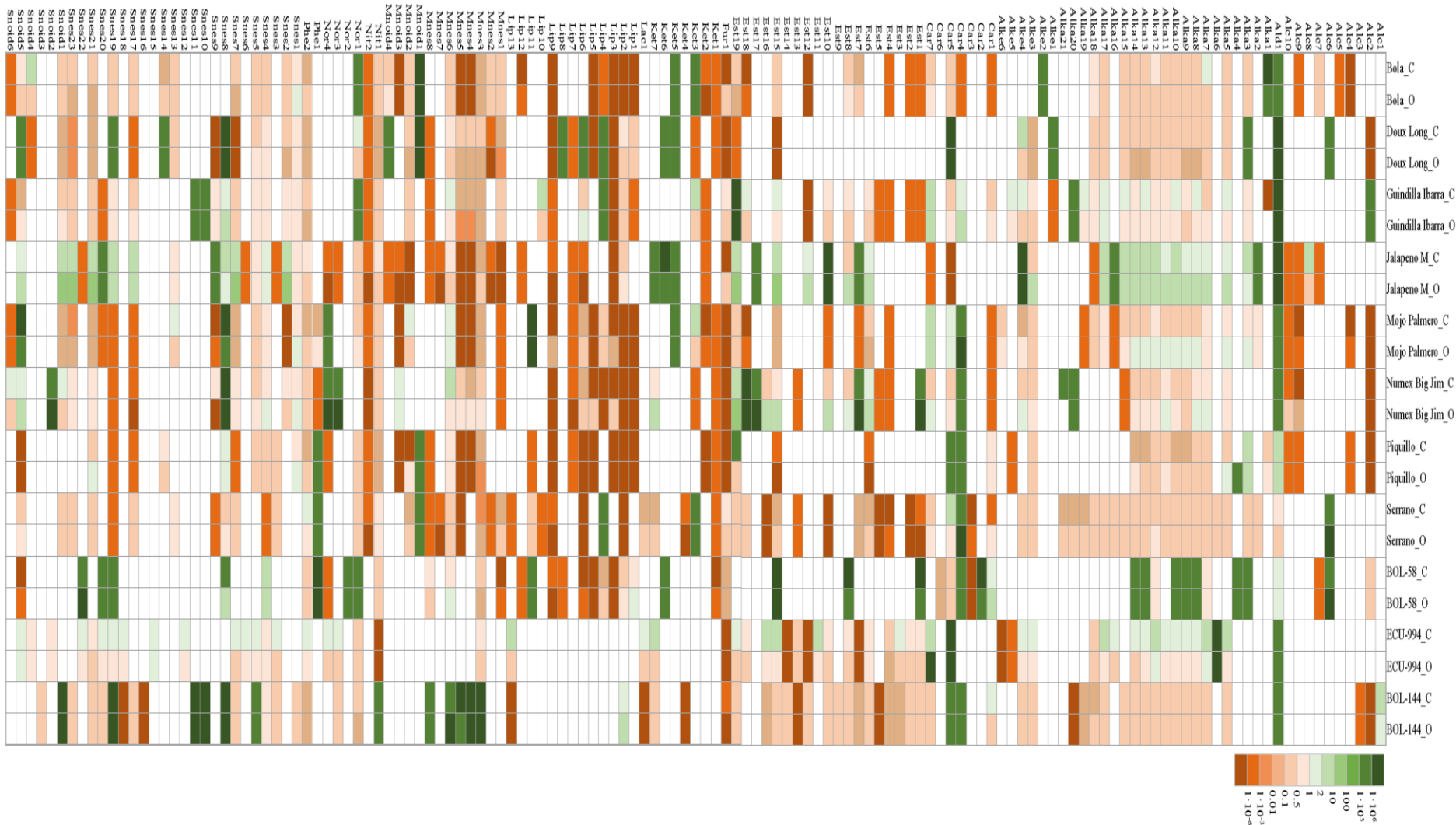


Figure 3. Heatmap for correlations between ripening ratios of volatile compounds for each genotype and growing system (organic: O, conventional: C). Columns were centered; unit variance scaling was applied to columns; both rows and columns were clustered using correlation distance and average linkage (135 rows, 22 columns). https://drive.google.com/file/d/1bA3fUaYn5uw2I6nqF_OjSvrhLPAY3Bpz/view?usp=sharing

Piquillo, *Serrano* and *BOL-58* increased. Sesquiterpenes and sesquiterpenoids showed also a tendency to maintain similar values with ripening for *ECU-994*, while in *Bola*, *Guindilla Ibarra*, *Mojo Palmero*, *Numex Big Jim*, *Piquillo*, *Serrano* were reduced and in *BOL-58* the values increased and *Doux Long*, *Jalapeno* and *BOL-144* had a diverse behaviour, as well as their aroma profile, with aromas from woody, fresh and spicy to sweet and floral scents (Figure 3). Other studies in one accession of *Capsicum frutescens* fruits and one cultivar of *C. annuum* also detected qualitative and quantitative changes between ripening stages [49,50]. The high variability of the changes in the volatile profile during ripening process depending on the fruit accession reinforces the importance of expanding the genetic component in this kind of studies.

System \times ripening interaction was also observed since some differences between growing systems could be found with ripening process, both quantitatively and qualitatively. Thus, in the organic growing system the varieties *Jalapeno M*, *Mojo Palmero*, *Numex Big Jim*, *Piquillo* and *Serrano* showed more volatile compounds that increased with ripening and with higher ripening ratios, while this fact was observed in the conventional system for *Doux Long des Landes*, *Guindilla Ibarra* and *ECU-994* (Figure 3). The rest of the varieties showed similar changes with ripening process.

Attending to qualitative differences between growing systems, changes during ripening that resulted in the presence or absence of volatile compounds were also detected. According to cases where the organic growing system seemed to increase the accumulation of volatiles, 2,6,10-trimethyldodecane (Alka4) appeared with the ripening process in *Piquillo*-organic but not in the conventional system, hexyl decanoate (Est19) appeared in the conventional system with ripening while in the organic system was at both stages, 2-nonen-1-ol (Alc9), 2,6-nonadienol (Alc10), 2-octenal (Lip3) and (E)-2-nonenal (Lip5) disappeared in *Numex*-conventional at the fully ripe stage, in addition to 2-octenal (Lip3) and 2,4-decadienal (Lip9) in *Mojo Palmero*-conventional, hexanoic acid (Car1) in *Serrano*-conventional, 2-pentylfuran (Fur1) in *Bola*-conventional and *Jalapeno*-conventional and linalool (Mnoid2) in *Piquillo*-conventional (Figure 3). On the other hand, the conventional system had four events where volatile presence was favoured, being dodecane (Alka1) in *Guindilla Ibarra* which only disappeared with ripening at the conventional system because was not detected in the organic system, heneicosane (Alka21) in *Numex Big Jim* only appeared with ripening in the conventional

system, pentadecyl acetate (Car7) in *ECU-994* was detected in the organic system at the fully ripe stage but not at the unripe stage and longifolene (Snes9) in *Numex Big Jim* that disappeared in the organic system with ripening (Figure 3). Comparing that ripening events/changes, we found twelve cases where organic growing system favoured the presence of volatile compounds *versus* four cases for conventional system. Additionally, attending quantitative differences through ripening ratios, explained in the previous paragraph, five varieties were generally favoured by organic growing system *versus* three varieties for conventional system. These quantitative and qualitative differences suggested that organic growing management strengthened the accumulation of volatile compounds with the ripening process. The interaction of organic growing system with ripening process and its influence in the volatile profile has not yet been studied for pepper. However, it has been described for nutritional quality a higher accumulation in organic red peppers [24,51]. These nutritional compounds have antioxidant activities and protect the plants against environmental and biological agents, therefore it should be expected a higher accumulation of volatiles with protective roles.

Conclusions

In conclusion, our study explained the effect of the genotype, farming system, ripening stage, and their interactions on the volatile composition of a wide collection of *Capsicum* peppers. The volatile profile was very diverse depending mainly on the genetic factor and the ripening stage, although the growing conditions also contributed significantly to several volatiles and even some chemical groups. Thus, both quantitative and qualitative differences were found among the volatile profile of the pepper fruits. The number of volatile compounds with significant higher levels in organic system was considerably higher than those found in conventional conditions, which suggests that organic growing conditions may increase the accumulation of several volatiles at both ripening stages. Changes in the volatile profile with the ripening process were also obvious and very diverse depending on the genotype and organic farming seemed to strength the accumulation. This study provides exhaustive information about the volatile profile of a comprehensive collection of *Capsicum* landraces in the organic growing system, which will be very useful for searching and breeding programs as well as for the control of authenticity of plant germplasm.

Acknowledgements

This work has been partly funded by the INIA project RTA2014-00041-C02-02 and PID2019-110221RR-C32 (Ministerio Ciencia e Innovación Agencia Estatal de Investigación) FEDER funds. A.M. Ribes-Moya express her gratitude to the Universitat Politècnica de València (UPV) for her FPI scholarship (PAID-01-17).

Supporting information

Appendix 1a. Images of fruits at unripe and fully ripe stage: Bola; Doux Long des Landes, Guindilla Ibarra, Jalapeno M, Mojo Palmero and Numex Big Jim. Rulers at the bottom are in centimetres (marks between two numbers indicate 1 cm).

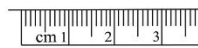
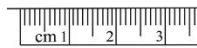
Appendix 1b. Images of fruits at unripe and fully ripe stage: Piquillo, Serrano, BOL-58, ECU-994, BOL-144. Rulers at the bottom are in centimetres (marks between two numbers indicate 1 cm).

Supporting Information_1a. Representative gas chromatograms of extractions of accessions, Bola, Doux Long des Lanes, GuindillaIbarra, Jalapeno M, Mojo Palmero and Numex Big Jim at both unripe and fully ripe stage.

Supporting Information_1b. Representative gas chromatograms of extractions of accessions Piquillo, Serrano, BOL-58, ECU-994 and BOL-144 at both unripe and fully ripe stage.

Supporting Information_areas_1a. GC peak area mean values ($n=6, \times 10^6$) of the main volatile compounds of the accessions in organic (Org.) and conventional (Con.) growing systems at unripe stage.

Supporting Information_areas_1b. GC peak area mean values ($n=6, \times 10^6$) of the main volatile compounds of the accessions in organic (Org.) and conventional (Con.) growing systems at fully ripe stage.



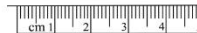
Bola



Doux Long des Landes



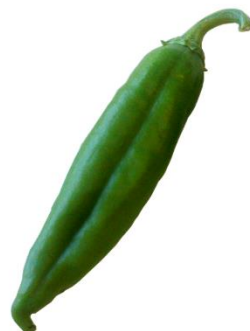
Guindilla Ibarra



Jalapeno M

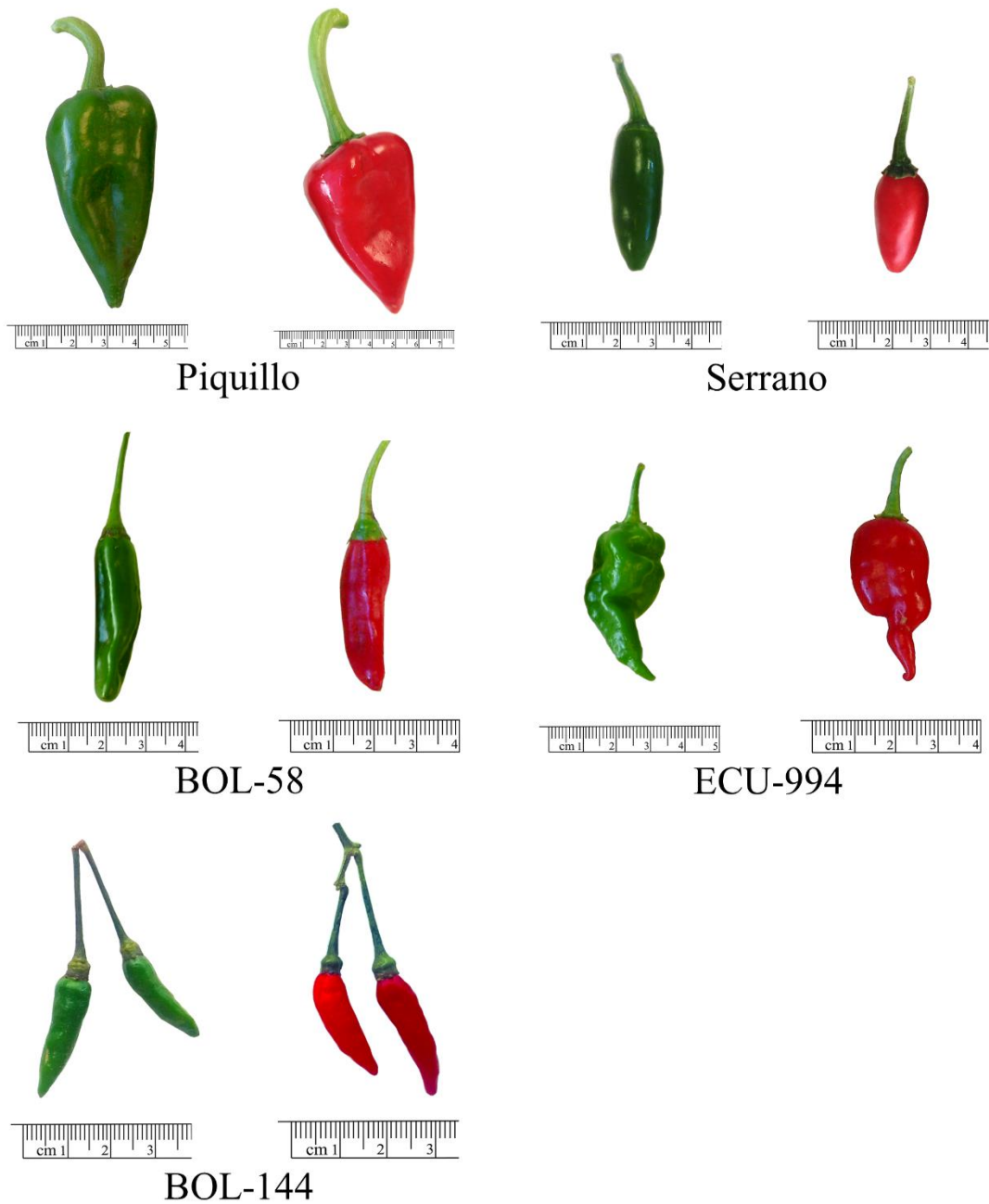


Mojo Palmero

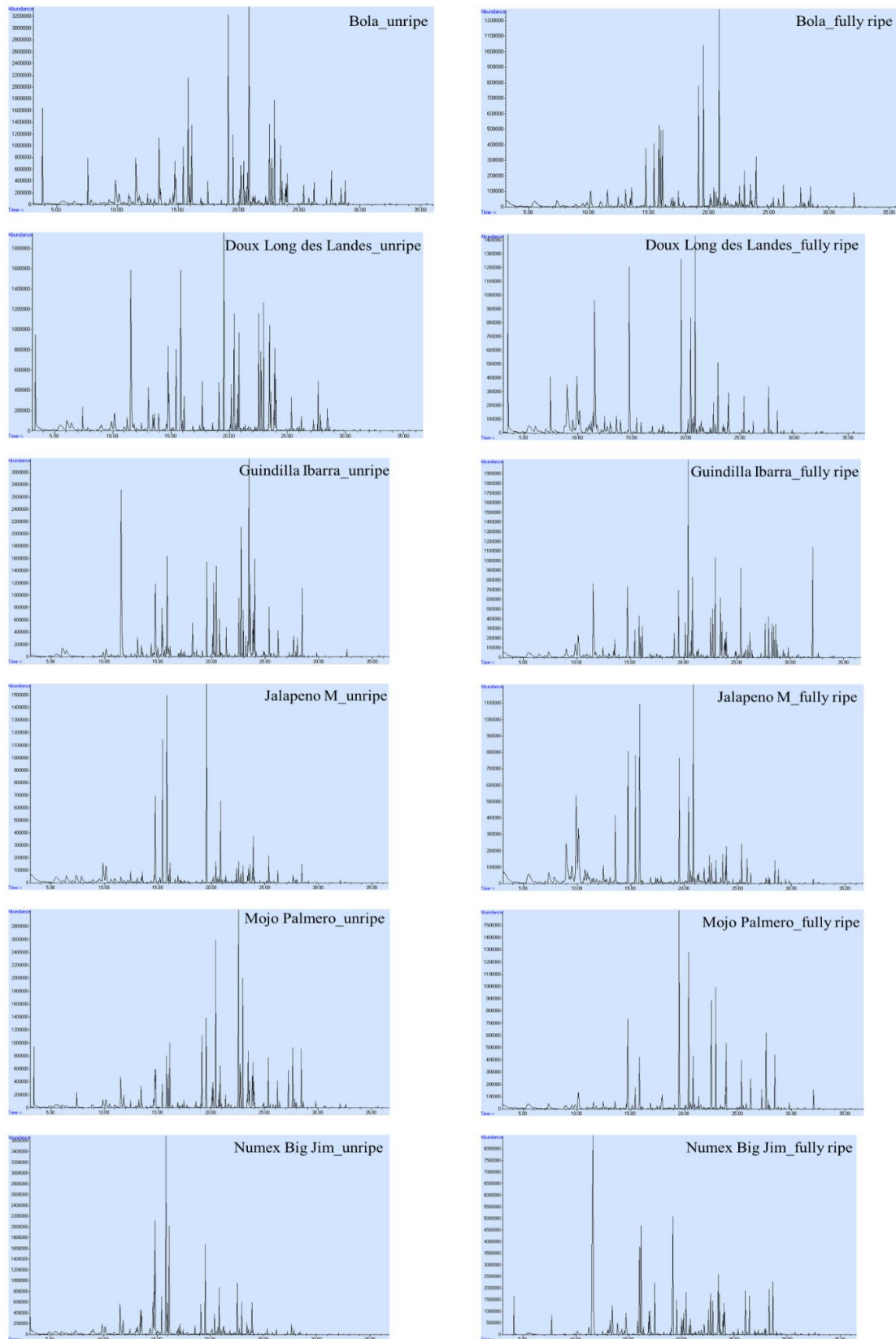


Numex Big Jim

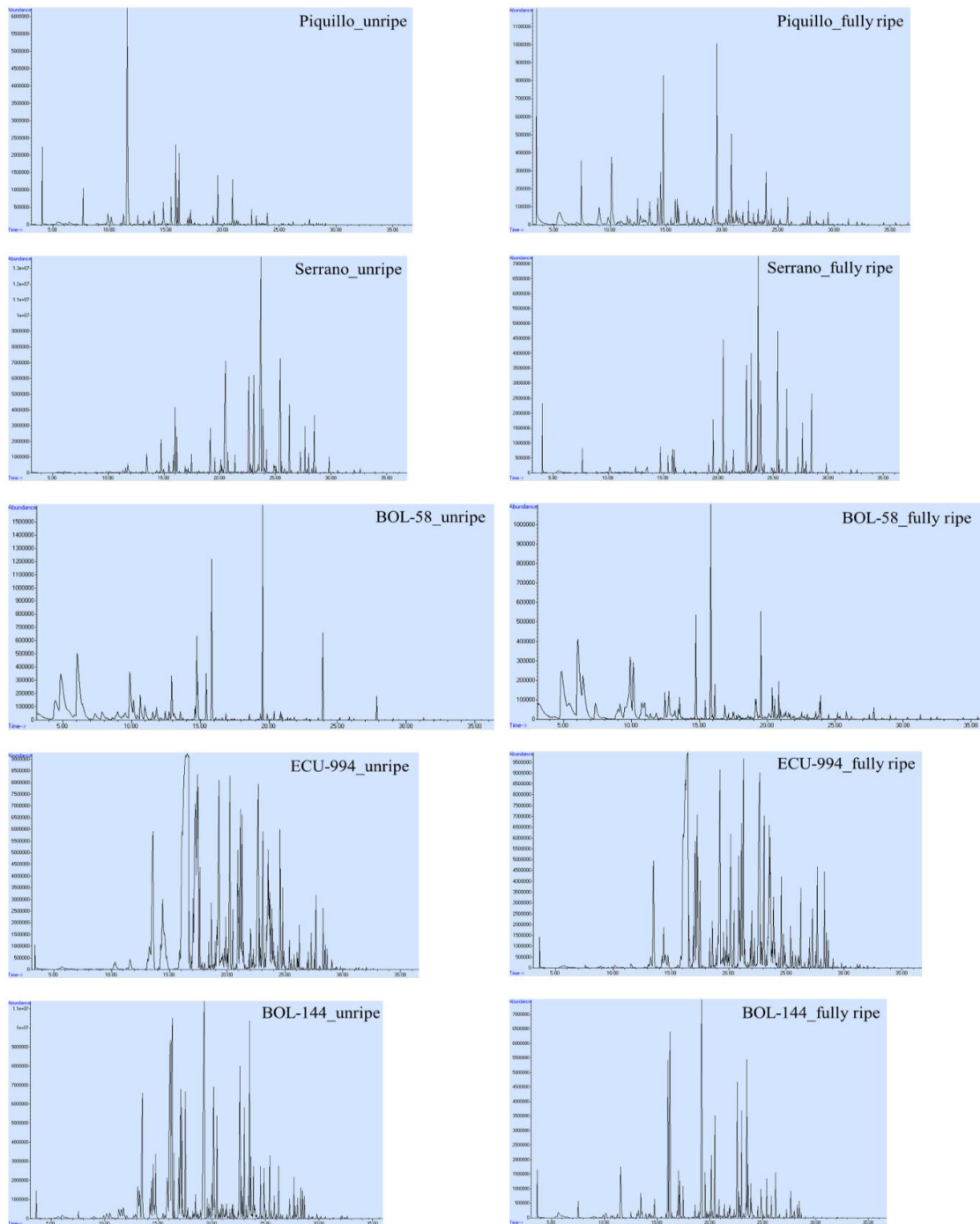
Appendix 1a. Images of fruits at unripe and fully ripe stage: Bola; Doux Long des Landes, Guindilla Ibarra, Jalapeno M, Mojo Palmero and Numex Big Jim. Rulers at the bottom are in centimetres (marks between two numbers indicate 1 cm).



Appendix 1b. Images of fruits at unripe and fully ripe stage: Piquillo, Serrano, BOL-58, ECU-994, BOL-144. Rulers at the bottom are in centimetres (marks between two numbers indicate 1 cm).



Supporting Information 1a. Representative gas chromatograms of extractions of accessions, Bola, Doux Long des Landes, GuindillaIbarra, Jalapeno M, Mojo Palmero and Numex Big Jim at both unripe and fully ripe stage.



Supporting Information_1b. Representative gas chromatograms of extractions of accessions Piquillo, Serrano, BOL-58, ECU-994 and BOL-144 at both unripe and fully ripe stage.

Supporting Information_areas_1a. table continuation (2/12).

Volatile compound	Abb. ¹	Bola		Doux Long des Landes		Guindilla Ibarra		Jalapeno M		Mojo Palmero		Numex Big Jim		Piquillo		Serrano		BOL-58		ECU-994		BOL-144	
		Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.
<i>Aldehydes</i>																							
2-phenylacetaldehyde	Ald1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.142	0.101	8.688	1.963	0.533	0.487	-	-	-	-
		a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	b	b	d	c	cd	cd	a	a	a	a
<i>Alkanes</i>																							
dodecane	Alka1	-	-	-	-	-	4.016	-	-	-	-	-	-	0.284	1.071	-	-	-	-	-	-	-	-
		a	a	a	a	a	b	a	a	a	a	a	a	b	c	a	a	a	a	a	a	a	a
2-methyldodecane	Alka2	-	-	-	-	-	-	-	-	0.757	0.911	-	-	-	-	2.036	1.748	-	-	-	-	-	-
		a	a	a	a	a	a	a	a	b	b	a	a	a	a	c	c	a	a	a	a	a	a
tridecane	Alka3	0.180	0.181	-	-	0.190	0.302	0.167	0.077	0.333	0.345	-	-	0.075	0.024	1.174	0.944	-	-	-	-	-	-
		ef	cd	a	a	ef	ef	de	bc	ef	ef	a	a	cd	ab	f	ef	a	a	a	a	a	a
2,6,10-trimethyldodecane	Alka4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2-methyltridecane	Alka5	10.067	14.313	25.855	28.653	46.319	56.131	10.962	24.339	32.572	44.362	16.892	9.313	0.667	0.354	257.228	214.769	-	-	61.949	35.107	157.471	120.235
		de	de	defg	defgh	defgh	efgh	d	def	defgh	defgh	de	de	c	b	h	h	a	a	efgh	defgh	gh	fgh
3-methyltridecane	Alka6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.247	1.202	-	-	-	-	-	-
		a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	b	b	a	a	a	a	a	a
tetradecane	Alka7	3.074	2.931	4.991	4.153	4.086	9.671	2.651	3.159	6.153	6.307	1.668	3.618	2.646	2.675	33.317	32.671	1.052	1.306	29.130	15.719	18.808	14.415
		bcdef	ab	cdef	bcdef	cdef	cdef	bcdef	bcdef	cdef	cdef	bcd	bcdef	bcdef	bcde	f	f	abc	a	f	def	ef	cdef
2-methyltetradecane	Alka8	19.811	30.890	48.213	33.342	27.607	37.303	5.808	14.390	37.779	48.196	8.217	7.873	1.668	0.331	162.154	157.218	-	-	231.080	163.312	168.088	135.495
		def	efg	fghi	fghi	fgh	fghi	cd	def	fghij	fghij	cde	def	c	b	ij	ij	a	a	j	hij	ij	ghij
pentadecane	Alka9	3.762	6.885	12.466	7.850	6.522	9.646	4.918	4.344	6.801	8.103	1.996	1.391	0.444	0.362	145.083	172.534	-	-	86.481	52.204	67.023	53.000
		def	efgh	efgh	efgh	efgh	efgh	cde	efg	efgh	efgh	cde	cd	c	b	gh	h	a	a	fgh	fgh	fgh	fgh
2-methylpentadecane	Alka10	3.901	6.574	10.938	9.680	16.415	15.350	8.024	10.275	8.916	14.014	2.102	1.432	0.670	0.694	209.620	199.935	-	-	23.268	16.714	73.600	62.755
		cd	cd	cde	cde	cde	cde	cd	bc	cde	cde	b	bc	b	b	e	e	a	a	cde	cde	de	de

Supporting Information_areas_1a. table continuation (4/12).

Volatile compound	Abb. ¹	Bola		Doux Long des Landes		Guindilla Ibarra		Jalapeno M		Mojo Palmero		Numex Big Jim		Piquillo		Serrano		BOL-58		ECU-994		BOL-144	
		Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.
3-tetradecene	Alke2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2-methyl-1-tetradecene	Alke3	-	-	32.393	30.993	19.022	21.312	5.736	21.715	50.264	64.275	11.861	10.839	2.207	0.187	130.718	119.721	-	-	476.280	344.112	273.249	230.132
	a	a	defgh	defghi	defg	defg	d	def	efghij	efghij	d	de	c	b	fghij	fghij	a	a	j	ij	hij	ghij	
(Z)-8-hexadecene	Alke4	-	-	1.627	0.527	1.872	1.524	-	-	1.904	3.212	1.487	0.220	-	-	14.067	13.373	-	-	4.404	2.934	25.968	20.891
	a	a	bcd	bc	bcd	cde	a	a	cde	cde	b	b	a	a	e	e	a	a	e	de	e	e	
2-methyl-Z-7-hexadecene	Alke5	-	-	-	-	0.680	0.618	-	-	-	-	-	-	0.191	0.003	-	-	-	-	0.514	0.105	-	-
	a	a	a	a	b	b	a	a	a	a	a	a	bc	a	a	a	a	a	a	c	b	a	a
2-methyl-1-hexadecene	Alke6	-	-	-	-	-	-	-	-	6.600	10.217	-	-	-	-	-	-	-	-	37.774	26.473	-	-
	a	a	a	a	a	a	a	a	a	b	b	a	a	a	a	a	a	a	a	d	c	a	a
<i>Carboxylic acids</i>																							
hexanoic acid	Car1	0.463	0.774	-	-	1.218	1.033	-	-	0.278	0.114	0.262	0.486	0.358	0.417	1.070	0.712	2.290	4.345	-	-	1.051	0.233
		abc	abc	a	a	de	e	a	a	bcd	ab	bcd	cde	abcd	cde	e	cde	e	e	a	a	e	bcd
2-hexenoic acid	Car2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
methyl benzoate	Car3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.636	1.033	8.080	19.990	-	-	-	-
	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	b	c	c	a	a	a	a
octanoic acid	Car4	0.279	0.149	-	-	0.191	0.172	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	c	b	a	a	c	b	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a
nonanoic acid	Car5	1.177	1.061	-	-	1.240	2.145	1.414	3.840	4.006	1.153	2.711	2.827	-	-	4.802	2.193	2.256	2.027	-	-	-	-
	b	b	a	a	b	b	b	b	b	b	b	b	b	a	a	b	b	b	b	a	a	a	a
methyl 2-aminobenzoate	Car6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.904	1.299	-	-	-	-
	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	b	b	a	a	a	a
pentadecyl acetate	Car7	2.153	2.007	-	-	1.823	3.656	0.650	0.948	0.716	1.202	0.695	0.228	-	-	3.584	3.067	-	-	-	0.915	2.763	2.241
	cd	abc	a	a	bcd	bcd	abc	abc	bcd	bcd	abc	ab	a	a	d	d	a	a	a	abc	d	cd	

Supporting Information_areas_1a. table continuation (5/12).

Volatile compound	Abb. ¹	Bola		Doux Long des Landes		Guindilla Ibarra		Jalapeno M		Mojo Palmero		Numex Big Jim		Piquillo		Serrano		BOL-58		ECU-994		BOL-144	
		Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.
<i>Esters</i>																							
3-methylbutyl 3-methylbutanoate	Est1	0.684	0.689	-	-	0.331	0.356	-	-	-	-	-	-	-	-	1.465	0.694	-	-	51.034	31.730	57.908	50.948
		b	b	a	a	b	b	a	a	a	a	a	a	a	a	bc	b	a	a	d	d	cd	d
pentyl 2-methylbutanoate	Est2	0.481	0.339	-	-	0.070	0.131	-	-	-	-	-	-	-	-	1.982	2.665	-	-	44.167	22.326	29.493	24.808
		c	c	a	a	b	b	a	a	a	a	a	a	a	a	c	cd	a	a	e	de	e	de
pentyl 3-methylbutanoate	Est3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	157.725	76.676	71.495	56.880
		a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	d	c	c	b
hexyl 2-methylpropanoate	Est4	0.357	0.254	-	-	0.346	0.469	-	-	0.232	0.170	0.060	0.227	-	-	0.594	1.619	-	-	121.446	65.603	75.552	67.873
		cd	b	a	a	cd	cd	a	a	cd	c	a	a	a	a	cd	d	a	a	e	e	e	e
hexyl butanoate	Est5	-	-	-	-	0.105	0.879	-	-	-	-	0.369	0.168	-	-	1.311	1.517	-	-	-	-	5.016	9.801
		a	a	a	a	cd	bc	a	a	a	a	ab	a	a	a	d	d	a	a	a	a	bc	d
hexyl 2-methylbutanoate	Est6	-	-	-	-	4.817	7.823	4.327	13.050	6.158	4.816	13.470	9.645	4.239	0.246	111.645	151.250	-	-	421.173	508.701	653.279	484.727
		a	a	a	a	cde	def	c	def	cde	cd	cd	def	cd	b	efg	fg	a	a	g	g	g	g
pentyl 4-methylpentanoate	Est7	0.379	0.499	-	-	-	-	-	-	0.204	0.131	-	-	-	-	1.916	1.509	-	-	26.622	18.217	76.236	56.861
		b	b	a	a	a	a	a	a	b	b	a	a	a	a	c	c	a	a	c	c	c	c
hexyl 3-methylbutanoate	Est8	0.340	0.282	-	-	0.982	1.000	0.144	0.810	-	-	0.879	1.120	-	-	-	-	-	-	550.009	385.348	132.125	105.649
		b	b	a	a	b	b	b	b	a	a	b	b	a	a	a	a	a	a	c	c	c	c
heptyl 2-methylpropanoate	Est9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	9.953	7.286
		a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	c	b
(Z)-3-hexenyl isovalerate	Est10	-	-	-	-	1.124	0.634	-	-	0.520	0.407	6.409	2.827	-	-	7.621	18.279	-	-	140.572	90.706	78.678	64.722
		a	a	a	a	b	b	a	a	bc	bc	cd	def	a	a	cde	def	a	a	f	f	f	ef
hexyl 3-methylbut-2-enoate	Est11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	23.791	9.129	-	-
		a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	c	b	a	a

Supporting Information_areas_1a. table continuation (6/12).

Volatile compound	Abb. ¹	Bola		Doux Long des Landes		Guindilla Ibarra		Jalapeno M		Mojo Palmero		Numex Big Jim		Piquillo		Serrano		BOL-58		ECU-994		BOL-144	
		Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.
hexyl pentanoate	Est12	12.339	11.842	-	-	6.638	7.957	2.703	9.457	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1076.840	696.678	293.300	193.598
		c	c	a	a	c	c	b	c	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	e	e	d	d
(E)-2-hexenyl valerate	Est13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.727	0.668	-	-	0.720	0.832	-	-	160.069	160.351	1.591	5.425
		a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	bc	c	a	a	bc	bc	a	a	d	d	b	c
heptyl pentanoate	Est14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	59.952	26.402	6.279	5.519
		a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	e	d	c	b
hexyl hexanoate	Est15	32.773	49.402	36.900	38.370	3.325	4.725	0.590	4.483	10.008	22.522	21.349	14.809	2.189	0.012	47.682	60.492	-	-	484.659	201.562	268.701	195.687
		defg	defg	def	defg	de	cd	b	de	def	def	def	defg	bc	a	efg	efg	a	a	g	fg	fg	fg
(Z)-3-hexenyl hexanoate	Est16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2.116	0.863	-	-	2.698	3.001	-	-	35.731	16.058	79.563	50.368
		a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	b	b	a	a	c	c	a	a	d	cd	d	d
3-methylbutyl nonanoate	Est17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3-methylbutyl decanoate	Est18	0.831	1.190	-	-	0.840	1.109	-	-	0.638	2.220	-	-	-	-	1.661	1.734	-	-	2.303	1.339	-	-
		b	b	a	a	b	c	a	a	b	b	a	a	a	a	c	c	a	a	c	c	a	a
hexyl decanoate	Est19	1.774	2.006	0.562	0.417	-	-	0.159	1.018	0.839	3.705	1.292	0.337	0.160	-	2.976	3.239	-	-	17.638	8.937	24.965	19.694
		cdefgh	cdefgh	cdef	bcd	a	a	bc	bcd	cdefg	defgh	bcde	cdef	ab	a	efgh	efgh	a	a	gh	fgh	h	gh
<i>Furans</i>																							
2-pentylfuran	Fur1	15.628	14.982	10.933	11.284	9.075	5.389	17.740	12.338	10.464	11.717	7.967	6.757	13.660	11.300	8.775	11.876	12.166	9.293	1.285	2.355	1.013	0.212
		d	bcd	cd	cd	cd	bcd	d	d	cd	d	cd	cd	d	cd	cd	bcd	bcd	abcd	ab	abc	bcd	a
<i>Ketones and methylketones</i>																							
(E,E)-2,4-heptadienal	Ket1	0.108	0.190	0.617	0.216	-	-	-	-	0.257	0.250	0.087	0.059	0.258	0.480	0.353	0.114	0.689	1.738	-	-	-	-
		cde	cdef	efg	efg	a	a	a	a	efg	defg	bcd	abc	defg	efg	abc	ab	fg	g	a	a	a	a
3-octanone	Ket2	1.370	0.954	-	-	0.600	0.580	0.676	0.249	0.890	1.171	-	-	1.677	1.073	-	-	-	-	-	-	-	-
		d	cd	a	a	cd	cd	d	b	d	d	a	a	d	c	a	a	a	a	a	a	a	a

Supporting Information_areas_1a. table continuation (7/12).

Volatile compound	Abb. ¹	Bola		Doux Long des Landes		Guindilla Ibarra		Jalapeno M		Mojo Palmero		Numex Big Jim		Piquillo		Serrano		BOL-58		ECU-994		BOL-144		
		Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	
acetophenone	Ket3	-	-	0.297	0.543	0.548	0.119	-	-	0.394	0.137	0.178	0.064	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		a	a	ab	abc	d	abc	a	a	d	bc	c	abc	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a
2-nonanone	Ket4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2.218	0.267	-	-	-	-	14.131	15.946	
		a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	b	b	a	a	a	a	c	c	
4-oxoisophorone	Ket5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
jasmone	Ket6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
oxacyclotetradecan-2-one	Ket7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.607	0.196	-	-	1.324	2.951	-	-	13.440	3.643	7.366	5.136	
		a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	b	b	a	a	c	c	a	a	c	c	c	c	
<i>Lactones</i>																								
oxacyclohexadecan-2-one	Lac1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.491	0.912	-	-	2.770	1.415	1.404	1.078	
		a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	b	b	a	a	c	c	c	c	
<i>Lipoxygenase cleavage products</i>																								
hexanal	Lip1	2.662	2.836	6.100	2.788	0.818	0.465	-	-	3.692	2.471	3.135	2.280	1.375	2.543	-	-	26.802	70.358	-	-	-	-	
		de	de	de	de	b	b	a	a	de	bcd	cde	bc	cde	bcd	a	a	e	e	a	a	a	a	
(E)-2-hexenal	Lip2	3.306	2.559	18.778	7.891	3.929	5.673	5.101	1.382	2.792	5.739	8.762	3.843	3.499	5.363	6.126	2.805	40.010	79.555	-	-	5.938	8.183	
		bcde	bcde	cde	cde	bcde	b	bcde	bc	bcde	bcd	bcde	b	bcd	bcde	bcde	bcd	de	e	a	a	cde	cde	
2-octenal	Lip3	10.618	9.720	2.891	4.463	1.416	2.037	5.271	1.331	9.520	3.418	3.292	4.404	2.949	6.414	-	-	4.838	3.936	-	-	-	-	
		c	c	bc	bc	bc	bc	c	b	c	bc	c	bc	c	bc	a	a	c	c	a	a	a	a	
nonanal	Lip4	0.192	0.443	-	-	-	-	-	-	1.265	1.012	1.578	1.835	-	-	-	-	0.344	1.080	-	-	-	-	
		ab	bc	a	a	a	a	a	a	bcd	bcd	d	bcd	a	a	a	a	bc	cd	a	a	a	a	
(E)-2-nonenal	Lip5	10.413	12.133	7.032	8.014	-	-	-	-	9.035	12.946	21.933	22.150	14.951	7.073	-	-	4.474	5.906	-	-	-	-	
		c	c	bc	b	a	a	a	a	b	b	c	bc	bc	bc	a	a	c	c	a	a	a	a	
2,6-nonadienal	Lip6	-	-	-	-	0.202	0.684	4.394	0.840	3.188	6.058	9.785	10.372	2.271	1.934	2.456	1.440	0.943	1.493	-	-	-	-	
		a	a	a	a	a	a	cd	b	cd	cd	d	cd	cd	cd	cd	c	cd	cd	a	a	a	a	

Supporting Information_areas_1a. table continuation (8/12).

Volatile compound	Abb. ¹	Bola		Doux Long des Landes		Guindilla Ibarra		Jalapeno M		Mojo Palmero		Numex Big Jim		Piquillo		Serrano		BOL-58		ECU-994		BOL-144	
		Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.
(E,E)-2,4-nonadienal	Lip7	-	-	0.409	0.232	-	-	0.313	0.037	0.162	0.209	1.150	0.510	0.149	0.285	-	-	-	-	-	-	-	-
		a	a	b	bc	a	a	bc	a	b	bc	c	b	bc	bc	a	a	a	a	a	a	a	a
decanal	Lip8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.381	0.129	-	-	-	-
		a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	c	b	a	a	a	a
2,4-decadienal	Lip9	2.381	2.268	2.083	2.220	0.495	0.696	1.371	0.573	2.536	1.762	2.094	2.395	1.758	1.882	2.031	0.770	1.005	0.901	-	-	-	-
		d	d	d	d	cd	bc	d	bc	d	d	d	d	d	b	d	bc	d	d	a	a	a	a
tetradecanal	Lip10	-	-	-	-	0.159	0.073	-	-	-	-	-	-	-	-	0.863	0.842	-	-	-	-	-	-
		a	a	a	a	b	b	a	a	a	a	a	a	a	a	c	c	a	a	a	a	a	a
pentadecanal	Lip11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.207	0.098	23.052	29.737	-	-	-	-	-	-
		a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	b	b	c	c	a	a	a	a	a	a
hexadecanal	Lip12	0.264	2.963	-	-	-	-	0.973	0.454	-	-	-	-	-	-	-	-	0.503	0.014	-	-	-	-
		c	bc	a	a	a	a	bc	bc	a	a	a	a	a	a	a	a	b	a	a	a	a	a
octadecanal	Lip13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.601	0.944	-	-	1.395	0.487	4.120	2.735
		a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	c	cd	a	a	cd	b	e	de
<i>Monoterpenes</i>																							
tricyclene	Mnes1	3.292	3.501	4.676	2.120	0.517	0.696	9.584	3.106	0.189	0.496	0.029	0.230	-	-	3.201	3.310	0.286	1.479	-	-	-	-
		ef	ef	ef	ef	cd	def	f	ef	cd	de	abc	ab	a	a	ef	ef	bcd	d	a	a	a	a
camphene	Mnes2	1.000	0.913	1.030	0.451	-	-	1.819	0.538	-	-	-	-	-	-	0.565	0.450	-	-	-	-	-	-
		de	cd	c	bc	a	a	e	bc	a	a	a	a	a	a	c	b	a	a	a	a	a	a
ocimene	Mnes3	62.395	52.464	239.850	249.506	238.741	200.761	42.418	56.282	227.230	257.963	370.578	305.221	394.569	301.821	51.977	87.608	34.786	24.781	37.977	18.339	-	-
		defg	cdef	h	gh	h	fgh	bcd	bc	efgh	h	h	h	h	h	h	cde	cdef	bcd	b	cd	bcd	a
(Z)-β-ocimene	Mnes4	2.063	1.775	11.303	13.628	11.853	5.559	1.630	2.057	5.589	5.710	7.816	5.307	12.501	7.142	-	-	-	-	-	-	-	-
		c	c	c	c	c	c	c	b	c	c	c	c	c	c	c	a	a	a	a	a	a	a
(E,Z)-alloocimene	Mnes5	2.687	2.112	14.396	17.804	13.864	7.008	1.941	2.816	7.473	7.511	12.425	9.178	17.400	9.251	2.057	3.602	-	-	-	-	-	-
		cde	bcd	fg	fg	fg	defg	bc	b	def	efg	fg	efg	g	fg	bc	bcd	a	a	a	a	a	a

Supporting Information_areas_1a. table continuation (10/12).

Volatile compound	Abb. ¹	Bola		Doux Long des Landes		Guindilla Ibarra		Jalapeno M		Mojo Palmero		Numex Big Jim		Piquillo		Serrano		BOL-58		ECU-994		BOL-144	
		Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.
α -ionone	Nor3	-	-	-	-	-	-	0.366	0.242	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10.443	6.263	8.407	6.195
		a	a	a	a	a	a	c	b	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	d	d	d
β -ionone	Nor4	-	-	-	-	-	-	1.736	0.859	-	-	-	-	0.519	0.540	-	-	0.589	0.296	149.453	62.177	-	-
		a	a	a	a	a	a	cd	b	a	a	a	a	cd	c	a	a	c	cd	e	d	a	a
<i>Phenol derivatives</i>																							
guaiacol	Phe1	-	-	-	-	-	-	-	-	0.687	0.819	0.304	0.106	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		a	a	a	a	a	a	a	a	a	c	c	b	ab	a	a	a	a	a	a	a	a	a
methyl salicylate	Phe2	30.702	32.281	38.058	26.501	57.786	29.923	50.763	32.570	39.783	41.286	41.674	36.636	41.373	48.705	41.476	43.312	61.892	58.413	52.633	88.603	95.126	84.068
		ab	ab	abc	ab	abc	a	abc	ab	abc	abc	abc	ab	a	abc	a	abc	abc	abc	abc	abc	bc	c
<i>Sesquiterpenes</i>																							
(+) -cyclosativene	Snes1	3.032	4.140	1.689	2.812	1.430	2.168	1.089	1.779	1.288	2.555	0.742	1.941	1.291	1.587	-	-	-	-	-	-	8.539	7.990
		d	d	bcd	cd	bcd	cd	bc	bcd	bcd	cd	b	bcd	bc	bcd	a	a	a	a	a	a	a	e
longicyclene	Snes2	5.434	7.022	11.271	9.887	9.006	12.516	0.395	0.844	3.383	4.837	8.321	5.667	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		cd	cd	cd	cd	cd	d	b	b	cd	cd	c	cd	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a
ylangene	Snes3	-	-	-	-	-	-	0.068	0.987	-	-	-	-	0.228	0.229	25.783	26.701	-	-	7.764	5.210	7.113	4.963
		a	a	a	a	a	a	b	c	a	a	a	a	c	c	d	d	a	a	d	d	d	d
copaene	Snes4	36.426	46.967	10.801	23.896	14.147	16.722	13.332	17.631	14.099	22.743	5.629	17.727	15.252	16.787	0.989	0.954	0.879	0.961	136.631	105.290	17.806	15.873
		d	d	bc	bcd	bcd	bcd	bcd	bcd	bcd	cd	b	bcd	bcd	bcd	bcd	a	a	a	a	e	e	cd
β -cubebene	Snes5	1.446	1.928	0.533	1.069	0.499	0.565	0.446	0.637	0.424	0.747	0.261	0.683	0.492	0.518	-	-	-	-	29.364	22.250	-	-
		d	d	bc	cd	bcd	b	bcd	bcd	bcd	bcd	bcd	bcd	bcd	bcd	bcd	a	a	a	a	e	e	a
α -cubebene	Snes6	-	-	-	-	-	-	0.562	0.287	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	241.367	186.658	-	-
		a	a	a	a	a	a	ab	b	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	c	c	a	a
longifolene-(V4)	Snes7	24.993	17.379	34.233	29.814	15.062	32.141	0.674	6.811	9.545	15.853	45.910	26.270	0.512	0.129	11.679	13.035	-	-	287.446	230.199	370.071	265.629
		de	de	efg	efg	ef	efg	d	de	e	e	ef	ef	c	b	ef	ef	a	a	g	fg	g	fg
β -elemene	Snes8	-	-	-	-	1.201	1.516	5.017	1.474	-	-	-	-	1.592	1.712	1.952	1.733	0.322	-	-	-	-	-
		a	a	a	a	bcd	ab	cd	bcd	a	a	a	a	bcd	cd	cd	d	bc	a	a	a	a	a

Supporting Information_areas_1a. table continuation (11/12).

Volatile compound	Abb. ¹	Bola		Doux Long des Landes		Guindilla Ibarra		Jalapeno M		Mojo Palmero		Numex Big Jim		Piquillo		Serrano		BOL-58		ECU-994		BOL-144	
		Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.
longifolene	Snes9	-	-	1.667	1.317	1.199	1.707	-	-	0.770	1.551	1.147	0.767	-	-	0.918	0.779	-	-	-	-	-	-
		a	a	c	c	c	c	a	a	bc	c	b	b	a	a	b	b	a	a	a	a	a	a
α -cedrene	Snes10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
thujopsene	Snes11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
α -gurjunene	Snes12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2.344	1.655	-	-
		a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	c	b	a
(E)- α -bergamotene	Snes13	1.526	2.247	1.473	1.735	-	-	2.590	4.299	1.304	0.956	-	-	-	-	1.972	2.716	-	-	-	-	-	-
		c	c	b	c	a	a	c	c	bc	b	a	a	a	a	c	c	a	a	a	a	a	a
γ -muurolene	Snes14	1.498	2.105	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.643	0.352	-	-	-	-	-	-	-	-
		b	b	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	c	c	a	a	a	a	a	a	a	a
γ -cadinene	Snes15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	16.153	8.474	-	-
		a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	c	b	a
β -cadinene	Snes16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	21.967	28.531
		a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	b
(Z)- β -farnesene	Snes17	0.443	0.526	0.741	0.848	0.256	0.674	0.349	0.884	0.218	0.277	1.425	0.881	0.063	0.048	6.104	6.094	-	-	-	-	26.107	19.629
		de	de	def	def	cde	def	bcd	cd	cde	de	cd	de	b	bc	efg	efg	a	a	a	a	g	fg
α -muurolene	Snes18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	33.388	20.367	8.942	10.663
		a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	d	c	b
δ -cadinene	Snes19	0.140	0.173	-	-	0.056	0.134	0.582	0.630	0.085	0.104	0.197	0.172	0.107	0.038	0.371	0.412	-	-	96.996	59.538	-	-
		bcd	bcd	a	a	abc	ab	d	de	bcd	bcd	ab	bcd	ab	abc	de	cd	a	a	f	ef	a	a
caryophyllene	Snes20	-	-	-	-	0.343	0.301	-	-	0.128	0.215	-	-	-	-	-	-	-	-	77.089	59.492	5.396	7.720
		a	a	a	a	c	b	a	a	b	b	a	a	a	a	a	a	a	a	a	d	d	d

Supporting Information_areas_1a. table continuation (12/12).

Volatile compound	Abb. ¹	Bola		Doux Long des Landes		Guindilla Ibarra		Jalapeno M		Mojo Palmero		Numex Big Jim		Piquillo		Serrano		BOL-58		ECU-994		BOL-144	
		Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.
α -himachalene	Snes21	12.338	11.024	25.135	21.708	11.653	24.495	0.625	4.175	7.318	11.381	31.102	17.506	0.105	0.115	14.961	16.730	-	-	62.163	47.352	57.907	40.696
		d	def	ef	ef	def	ef	d	de	def	def	def	def	c	b	ef	ef	a	a	f	f	f	ef
germacrene D	Snes22	-	-	-	-	-	-	0.210	0.494	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	174.025	132.322	-	-
		a	a	a	a	a	a	b	b	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	c	c	a	a
β -himachalene	Snes23	7.519	7.105	18.802	17.158	7.951	14.035	0.269	2.687	4.223	7.472	21.512	12.355	-	-	11.822	13.502	-	-	-	-	13.670	9.426
		cd	bc	d	d	cd	d	b	b	cd	cd	cd	cd	a	a	d	d	a	a	a	a	d	d
<i>Sesquiterpenoids</i>																							
α -longipinene	Snoid1	8.891	9.124	17.269	14.802	11.527	21.255	0.296	2.524	5.013	7.767	18.057	10.232	-	-	8.379	8.288	-	-	-	-	-	-
		c	c	c	c	c	c	a	b	c	c	c	c	a	a	c	c	a	a	a	a	a	a
dihydro- β -ionone	Snoid2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8.871	7.628	-	-
		a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	c	b	a	a
globulol	Snoid3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7.188	6.326
		a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	c	b
nerolidol	Snoid4	0.140	0.105	0.029	0.151	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4.188	4.793	-	-
		cd	bc	b	bc	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	cd	d	a	a
dendrolasin	Snoid5	2.728	2.504	-	-	0.703	2.127	0.670	0.498	-	-	0.720	0.483	1.347	1.554	4.184	5.205	0.290	1.117	24.584	19.686	-	-
		cd	cd	a	a	bcd	bcd	bc	b	a	a	b	bcd	bcd	cd	bcd	d	bc	b	d	d	a	a
bisabolol	Snoid6	0.157	0.125	-	-	0.061	0.134	-	-	0.014	0.148	0.353	0.092	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		bc	bc	a	a	bc	c	a	a	ab	bc	c	bc	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a
<i>Total</i>		407.779	456.736	755.145	704.305	594.748	618.179	282.098	321.736	606.928	750.114	759.168	603.431	587.927	471.329	1710.811	1814.401	232.686	330.196	5974.613	4196.408	3554.286	2748.590
		abcd	bcde	f	ef	def	def	ab	ab	def	f	f	def	def	cdef	g	g	a	abc	j	ij	hi	gh

Supporting Information_areas_1b. table continuation (2/12).

Volatile compound	Abb. ¹	Bola		Doux Long des Landes		Guindilla Ibarra		Jalapeno M		Mojo Palmero		Numex Big Jim		Piquillo		Serrano		BOL-58		ECU-994		BOL-144	
		Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.
<i>Aldehydes</i>																							
2-phenylacetaldehyde	Ald1	0.736	0.324	1.696	2.830	1.486	1.237	2.724	1.833	0.666	0.779	0.444	0.162	0.397	0.379	3.540	1.871	0.834	0.725	0.527	0.415	0.962	0.564
		bcd	ab	bcd	cd	bcd	bcd	bcd	bcd	bcd	bcd	bcd	a	bcd	bcd	d	bcd	bcd	bcd	abc	a	bcd	bcd
<i>Alkanes</i>																							
dodecane	Alka1	0.017	1.148	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.173	0.387	-	-	-	-	-	-	-	-
		a	b	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	bc	c	a	a	a	a	a	a	a	a
2-methyldodecane	Alka2	-	-	-	-	-	-	0.616	0.340	0.607	0.592	-	-	-	-	0.382	0.224	-	-	-	-	-	
		a	a	a	a	a	a	b	ab	c	c	a	a	a	a	c	c	a	a	a	a	a	a
tridecane	Alka3	0.061	0.065	0.131	0.127	0.161	0.185	0.317	0.366	0.393	0.227	-	-	0.226	0.060	0.361	0.224	0.079	0.171	-	-	-	-
		bc	ab	ef	cdef	ef	ef	def	f	f	f	a	a	f	cdef	f	f	bcde	bcd	a	a	a	a
2,6,10-trimethyldodecane	Alka4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.593	-	-	-	0.337	0.409	-	-	-	-
		a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	b	a	a	a	b	b	a	a	a	a
2-methyltridecane	Alka5	1.648	4.247	5.354	7.259	32.215	65.920	65.662	33.072	42.914	23.470	14.929	7.179	1.087	0.092	63.132	47.015	-	-	58.082	75.388	47.242	57.021
		cd	bc	defg	defg	fg	fg	defg	cd	fg	efg	defg	cde	cdef	b	fg	fg	a	a	fg	g	fg	fg
3-methyltridecane	Alka6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.399	0.213	-	-	1.183	1.801	-	-
		a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	c	b	a	a	d	e	a	a
tetradecane	Alka7	1.118	2.940	1.214	1.593	2.630	3.390	5.671	3.210	5.514	4.794	1.855	2.096	1.241	1.241	13.407	11.126	1.002	0.945	43.496	50.199	5.280	6.231
		abc	abc	abc	abc	abc	ab	abc	a	cd	bcd	abc	abc	abc	abc	cd	cd	abc	abc	d	d	cd	cd
2-methyltetradecane	Alka8	2.928	9.969	4.312	4.785	23.318	40.048	43.793	24.326	40.410	19.837	11.122	4.572	0.655	0.079	56.337	40.491	0.733	0.500	185.880	269.706	50.390	61.002
		bcde	bcd	bcde	bcde	de	de	cde	abc	de	de	bcde	bcd	ab	a	de	de	a	a	e	e	de	de
pentadecane	Alka9	0.729	2.770	1.051	0.807	2.713	5.780	19.625	5.917	8.934	3.262	0.606	0.334	0.196	0.035	51.282	36.846	0.459	0.321	56.964	98.492	15.514	17.163
		cdefgh	bcdefg	bcdefg	abcde	cdefgh	efgh	abcdef	abcdef	fgh	defgh	abcd	ab	abc	a	gh	gh	abcd	ab	h	h	fgh	fgh
2-methylpentadecane	Alka10	0.972	2.865	1.606	2.059	10.170	18.139	49.770	23.349	14.062	6.873	1.787	0.294	0.320	0.020	77.116	51.622	0.737	0.606	19.309	28.579	15.519	18.024
		def	bcde	def	def	def	ef	def	bcd	ef	def	cdef	abc	ab	a	f	f	ab	bcd	f	f	ef	ef

Supporting Information_areas_1b. table continuation (4/12).

Volatile compound	Abb. ¹	Bola		Doux Long des Landes		Guindilla Ibarra		Jalapeno M		Mojo Palmero		Numex Big Jim		Piquillo		Serrano		BOL-58		ECU-994		BOL-144	
		Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.
3-tetradecene	Alke2	0.226	0.263	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		b	b	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a
2-methyl-1-tetradecene	Alke3	-	-	3.093	2.328	6.739	13.901	42.430	4.848	24.771	9.526	10.870	3.997	0.842	0.047	39.355	29.992	-	-	390.939	521.381	72.830	89.671
		a	a	cd	cd	cd	cde	cd	b	cdef	cde	cd	c	b	b	cdef	cdef	a	a	ef	f	def	def
(Z)-8-hexadecene	Alke4	-	-	0.503	1.435	0.747	1.756	6.459	1.907	1.118	0.251	2.100	0.096	-	-	2.469	2.046	-	-	2.629	3.853	8.706	7.931
		a	a	abc	ab	def	f	def	bcd	ef	cde	def	bcd	a	a	f	f	a	a	f	f	f	f
2-methyl-Z-7-hexadecene	Alke5	-	-	-	-	0.365	0.860	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		a	a	a	a	b	b	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a
2-methyl-1-hexadecene	Alke6	-	-	-	-	-	-	-	-	3.972	1.772	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		a	a	a	a	a	a	a	a	c	b	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a
<i>Carboxylic acids</i>																							
hexanoic acid	Car1	-	-	-	-	0.759	0.334	-	-	-	-	-	-	0.344	0.306	0.678	-	7.072	5.299	-	-	0.318	0.253
		a	a	a	a	abc	abc	a	a	a	a	a	a	abc	ab	bc	a	e	de	a	a	cd	bc
2-hexenoic acid	Car2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.556	2.476	-	-	-	-
		a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	b	c	a	a	a	a
methyl benzoate	Car3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
octanoic acid	Car4	-	-	-	-	0.398	0.226	-	-	1.565	0.726	0.706	0.250	0.027	0.228	1.125	0.956	0.258	0.236	-	-	0.123	0.041
		a	a	a	a	cd	bcd	a	a	bcd	abc	cd	abc	ab	abc	d	cd	cd	abc	a	a	abc	ab
nonanoic acid	Car5	0.564	0.410	1.694	5.439	0.887	0.669	-	-	6.687	2.196	1.704	1.407	0.292	0.407	4.368	4.660	0.631	0.440	1.190	1.838	0.862	0.380
		cd	abcd	abcd	bcd	bcd	bcd	a	a	abcd	abcd	d	abc	ab	abcd	cd	cd	cd	cd	d	cd	cd	cd
methyl 2-aminobenzoate	Car6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.058	0.061	-	-	-	-
		a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a
pentadecyl acetate	Car7	1.740	0.576	-	-	7.178	15.869	-	-	4.964	4.268	1.001	0.072	-	-	2.385	0.963	-	-	2.250	2.318	0.575	0.294
		de	ab	a	a	cd	e	a	a	de	de	bc	a	a	a	de	de	a	a	de	de	de	de

Supporting Information_areas_1b. table continuation (5/12).

Volatile compound	Abb. ¹	Bola		Doux Long des Landes		Guindilla Ibarra		Jalapeno M		Mojo Palmero		Numex Big Jim		Piquillo		Serrano		BOL-58		ECU-994		BOL-144	
		Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.
<i>Esters</i>																							
3-methylbutyl 3-methylbutanoate	Est1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8.312	0.172	-	-	-	-	0.697	1.249	13.120	26.302	7.020	10.593
		a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	c	ab	a	a	a	a	bc	ab	d	d	d
pentyl 2-methylbutanoate	Est2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	12.417	21.609	4.186	4.646
		a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	c	d	b
pentyl 3-methylbutanoate	Est3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	51.912	84.187	3.337	4.545
		a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	c	d	b
hexyl 2-methylpropanoate	Est4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10.741	15.557	2.738	3.451
		a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	c	b	c
hexyl butanoate	Est5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
hexyl 2-methylbutanoate	Est6	-	-	-	-	2.157	5.580	33.739	25.472	0.317	0.530	51.973	12.125	-	-	12.006	10.183	-	-	314.537	292.069	176.782	169.544
		a	a	a	a	bcde	bcde	cde	cde	bcd	b	defg	bc	a	a	defg	cdef	a	a	h	efgh	gh	fgh
pentyl 4-methylpentanoate	Est7	0.068	0.039	-	-	-	-	0.374	0.275	-	-	2.695	0.105	-	-	0.175	0.091	-	-	-	-	2.767	3.647
		a	a	a	a	a	a	ab	ab	a	a	b	a	a	a	c	ab	a	a	a	a	c	c
hexyl 3-methylbutanoate	Est8	0.180	0.041	-	-	0.276	0.588	0.384	0.279	-	-	1.732	0.321	-	-	-	-	0.739	1.554	141.907	198.158	17.517	19.582
		abc	ab	a	a	efg	efgh	cde	bcd	a	a	fgh	def	a	a	a	a	cde	abc	i	i	hi	ghi
heptyl 2-methylpropanoate	Est9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.386	1.099
		a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	c
(Z)-3-hexenyl isovalerate	Est10	-	-	-	-	0.259	0.466	2.342	1.702	-	-	24.714	1.168	-	-	-	-	-	-	38.034	57.693	13.129	7.666
		a	a	a	a	abc	abc	abc	bc	a	a	c	ab	a	a	a	a	a	a	d	d	d	d
hexyl 3-methylbut-2-enoate	Est11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	15.260	19.088	-	-
		a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	b	c	a	a

Supporting Information_areas_1b. table continuation (6/12).

Volatile compound	Abb. ¹	Bola		Doux Long des Landes		Guindilla Ibarra		Jalapeno M		Mojo Palmero		Numex Big Jim		Piquillo		Serrano		BOL-58		ECU-994		BOL-144		
		Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	
hexyl pentanoate	Est12	-	-	-	-	-	-	22.496	18.028	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	84.720	48.048
		a	a	a	a	a	a	b	b	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	c	c
(E)-2-hexenyl valerate	Est13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	35.953	73.606	-	-
		a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	b	c	a	a
heptyl pentanoate	Est14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.983	0.981
		a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	c	b
hexyl hexanoate	Est15	3.526	7.142	-	-	2.181	5.269	18.569	18.209	0.282	0.697	60.140	13.717	-	-	6.262	4.702	1.134	1.289	463.702	491.208	33.577	36.927	
		bc	ab	a	a	cdefgh	defgh	bcde	bcd	bcdefg	bcdefg	efgh	bcdef	a	a	efgh	defgh	ab	ab	h	fgh	gh	fgh	
(Z)-3-hexenyl hexanoate	Est16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6.920	0.157	-	-	-	-	-	-	34.880	50.030	4.698	4.032	
		a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	b	a	a	a	a	a	a	a	cd	d	cd	c	
3-methylbutyl nonanoate	Est17	-	-	-	-	-	-	0.987	0.175	-	-	8.689	0.634	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		a	a	a	a	a	a	b	ab	a	a	b	b	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	
3-methylbutyl decanoate	Est18	-	-	-	-	0.188	1.243	-	-	-	-	15.003	1.202	-	-	0.282	0.218	-	-	0.560	0.999	-	-	
		a	a	a	a	bc	c	a	a	a	a	c	b	a	a	b	b	a	a	b	c	a	a	
hexyl decanoate	Est19	0.126	0.983	-	-	1.528	6.964	2.985	6.282	0.215	0.483	17.311	1.835	0.019	0.022	0.861	0.634	-	-	7.679	13.700	3.171	2.883	
		abc	bcd	a	a	fgh	efgh	cdefg	cde	defgh	cdef	h	bcd	ab	ab	efgh	efgh	a	a	h	h	gh	gh	
<i>Furans</i>																								
2-pentylfuran	Fur1	1.902	-	-	-	2.137	4.281	2.136	-	-	-	-	-	-	-	1.012	11.519	0.994	0.421	-	-	-	-	
		e	a	a	a	e	de	e	a	a	a	a	a	a	a	bc	bcd	cde	b	a	a	a	a	
<i>Ketones and methylketones</i>																								
(E,E)-2,4-heptadienal	Ket1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
3-octanone	Ket2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

Supporting Information_areas_1b. table continuation (8/12).

Volatile compound	Abb. ¹	Bola		Doux Long des Landes		Guindilla Ibarra		Jalapeno M		Mojo Palmero		Numex Big Jim		Piquillo		Serrano		BOL-58		ECU-994		BOL-144	
		Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.
(E,E)-2,4-nonadienal	Lip7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
decanal	Lip8	-	-	0.112	0.247	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		a	a	b	c	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a
2,4-decadienal	Lip9	-	-	-	-	-	-	-	-	0.101	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		a	a	a	a	a	a	a	a	b	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a
tetradecanal	Lip10	-	-	-	-	0.064	0.403	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		a	a	a	a	b	c	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a
pentadecanal	Lip11	-	-	-	-	-	-	-	-	1.254	1.215	-	-	-	-	3.824	3.736	0.026	0.019	-	-	-	-
		a	a	a	a	a	a	a	a	c	bc	a	a	a	a	b	b	a	a	a	a	a	a
hexadecanal	Lip12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
octadecanal	Lip13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.645	1.701	-	-
		a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	b	c	a	a
<i>Monoterpenes</i>																							
tricyclene	Mnes1	0.351	0.651	0.035	0.099	0.204	0.197	-	-	-	-	-	-	-	-	0.500	0.137	-	-	-	-	-	-
		bc	bc	ab	bc	bc	bc	a	a	a	a	a	a	a	a	c	bc	a	a	a	a	a	a
camphene	Mnes2	0.138	0.161	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		b	ab	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a
ocimene	Mnes3	1.961	3.681	13.223	30.846	5.129	13.860	12.118	2.021	3.256	3.475	314.369	88.996	3.035	3.982	2.269	0.751	1.733	3.257	6.019	13.435	26.496	27.038
		bc	bc	a	bc	bc	bc	bc	b	bc	a	c	bc	bc	bc	bc	a	bc	bc	bc	bc	bc	bc
(Z)- β -ocimene	Mnes4	-	-	0.695	1.714	0.097	0.306	-	-	-	-	5.622	0.529	-	-	-	-	-	-	-	-	2.453	1.858
		a	a	ab	cd	ab	bc	a	a	a	a	d	d	a	a	a	a	a	a	a	a	d	d
(E,Z)-alloocimene	Mnes5	-	-	0.760	1.934	0.138	0.445	-	-	-	-	9.473	0.996	-	-	-	-	-	-	-	-	0.577	1.786
		a	a	b	cd	bc	bc	a	a	a	a	e	de	a	a	a	a	a	a	a	a	de	de

Supporting Information_areas_1b. table continuation (9/12).

Volatile compound	Abb. ¹	Bola		Doux Long des Landes		Guindilla Ibarra		Jalapeno M		Mojo Palmero		Numex Big Jim		Piquillo		Serrano		BOL-58		ECU-994		BOL-144	
		Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.
limonene	Mnes6	0.888	0.882	0.673	1.059	1.337	1.787	0.703	1.141	0.757	1.203	0.950	1.788	0.589	0.560	0.521	0.437	1.860	1.085	-	-	1.094	0.871
		bc	bc	bc	bc	bc	bc	b	bc	bc	bc	bc	c	bc	bc	bc	bc	bc	bc	a	a	bc	bc
terpinolene	Mnes7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
methyl geranate	Mnes8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.328	0.565	-	-	0.343	0.527
		a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	b	b	a	a	b	b
<i>Monoterpenoids</i>																							
eucalyptol	Mnoid1	2.245	1.269	1.851	1.440	-	-	-	-	-	-	-	-	0.503	0.011	0.806	0.491	-	-	-	-	-	-
		d	bc	d	cd	a	a	a	a	a	a	a	a	bcd	a	bcd	b	a	a	a	a	a	a
linalool	Mnoid2	2.124	1.332	0.672	1.529	0.375	0.474	-	-	0.265	0.301	-	-	0.459	-	1.602	0.335	-	-	-	-	-	-
		d	d	bcd	bcd	ab	ab	a	a	bc	bc	a	a	ab	a	cd	bcd	a	a	a	a	a	a
verbenone	Mnoid3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6.336	5.625	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	b	b	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a
terpineol	Mnoid4	0.185	0.073	0.016	0.060	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		c	bc	a	b	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a
<i>Nitrogen and sulfur compounds</i>																							
2-isobutyl-3-methoxypyrazine	Nit1	7.353	3.666	0.652	2.263	2.036	3.064	15.403	17.487	3.994	3.589	2.623	3.008	0.878	1.308	12.924	10.118	2.956	2.660	-	-	0.723	0.578
		def	cdef	b	cde	cdef	cde	f	f	def	cdef	cdef	cdef	cd	cde	f	ef	cdef	cdef	a	a	cde	c
2-sec-Butyl-3-methoxypyrazine	Nit2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Norcatenoids</i>																							
β-cyclocitral	Nor1	0.157	0.026	0.207	0.150	0.108	0.087	0.125	0.077	0.143	0.060	-	-	0.092	0.070	0.152	0.058	0.042	0.053	1.171	1.438	0.344	0.422
		cdefgh	abc	gh	fgh	bcdef	bcdef	efgh	efgh	fgh	bede	a	a	defgh	efgh	fgh	bcdefg	ab	abcd	h	gh	gh	gh
geranylacetone	Nor2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.206	0.164	-	-	-	-
		a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	b	b	a	a	a	a

Supporting Information_areas_1b. table continuation (10/12).

Volatile compound	Abb. ¹	Bola		Doux Long des Landes		Guindilla Ibarra		Jalapeno M		Mojo Palmero		Numex Big Jim		Piquillo		Serrano		BOL-58		ECU-994		BOL-144	
		Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.
α -ionone	Nor3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4.213	0.090	-	-	-	-	-	-	4.447	8.078	1.511	1.490
		a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	b	a	a	a	a	a	a	a	c	c	c
β -ionone	Nor4	-	-	-	-	-	-	-	-	0.078	0.046	17.913	0.576	-	-	-	-	-	-	70.252	79.817	-	-
		a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	bc	ab	c	ab	a	a	a	a	a	d	d	a
<i>Phenol derivatives</i>																							
guaiacol	Phe1	-	-	-	-	-	-	-	-	0.516	0.070	-	-	0.434	0.180	0.598	0.366	1.590	3.145	-	-	-	-
		a	a	a	a	a	a	a	a	a	cd	ab	a	a	cd	bc	cd	cd	c	d	a	a	a
methyl salicylate	Phe2	6.336	2.897	0.565	1.970	3.375	4.019	9.951	31.755	8.589	2.809	13.377	3.882	7.018	0.831	25.656	44.989	9.233	16.550	33.721	92.658	5.529	6.644
		bcde	bcde	a	ab	bcde	abc	defgh	fghi	bcd	abc	cde	bcd	defg	ab	fghi	hi	defgh	efghi	ghi	i	cde	cdef
<i>Sesquiterpenes</i>																							
(+) -cyclosativene	Snes1	3.398	3.136	0.960	1.833	1.400	1.784	0.985	1.578	1.530	2.366	1.070	1.659	1.906	1.351	-	-	-	-	-	-	2.582	2.750
		d	d	bcd	bcd	bcd	bcd	bc	b	bcd	cd	cd	cd	cd	bcd	cd	a	a	a	a	a	a	cd
longicyclene	Snes2	1.135	1.239	0.711	1.616	4.977	6.808	4.304	4.461	-	-	4.120	4.864	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		bcd	b	b	bc	cd	d	b	bcd	a	a	bcd	bcd	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a
ylangene	Snes3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.084	0.071	4.930	4.616	-	-	3.516	5.437	1.598	1.781
		a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	b	c	d	d	a	a	d	d	d	d
copaene	Snes4	15.712	14.587	9.722	16.416	11.854	15.901	18.032	18.343	9.063	15.714	9.407	11.021	7.542	7.402	-	-	4.391	2.140	76.052	99.286	13.206	11.802
		c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	a	a	b	b	d	d	c
β -cubebene	Snes5	0.366	0.314	0.318	0.521	0.261	0.371	0.341	0.478	0.199	0.366	0.227	0.233	0.211	0.089	-	-	-	-	20.228	25.890	0.592	0.376
		bc	bcd	bcd	bcd	cde	bcde	cde	de	b	de	bcd	bcd	bcd	bcd	a	a	a	a	e	e	de	bcd
α -cubebene	Snes6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	150.502	220.414	-	-
		a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	b	c	a
longifolene-(V4)	Snes7	1.554	3.710	-	-	3.698	11.933	39.474	25.992	0.606	0.423	24.555	20.643	-	-	3.301	2.023	-	-	141.670	236.982	77.753	103.609
		cd	b	a	a	def	defg	cd	bc	cd	cd	defg	cd	a	a	def	cde	a	a	fg	g	efg	efg
β -elemene	Snes8	-	-	1.250	3.387	4.938	2.208	7.327	3.679	0.683	3.217	2.158	2.166	1.638	1.981	1.308	0.334	0.735	0.976	-	-	6.010	5.112
		a	a	bc	bc	bc	bc	bc	c	bc	c	c	bc	c	bc	bc	bc	b	bc	bc	a	a	c

Supporting Information_areas_1b. table continuation (11/12).

Volatile compound	Abb. ¹	Bola		Doux Long des Landes		Guindilla Ibarra		Jalapeno M		Mojo Palmero		Numex Big Jim		Piquillo		Serrano		BOL-58		ECU-994		BOL-144		
		Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	
longifolene	Snes9	-	-	-	-	0.647	0.959	0.779	0.601	-	-	-	0.569	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		a	a	a	a	c	c	b	b	a	a	a	b	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a
α -cedrene	Snes10	-	-	-	-	0.889	0.332	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6.539	5.856
		a	a	a	a	c	b	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	d	d
thujopsene	Snes11	-	-	-	-	0.381	0.147	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5.385	5.315
		a	a	a	a	c	b	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	d	d
α -gurjunene	Snes12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.699	2.138	-	-	
		a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	b	c	a	a	
(E)- α -bergamotene	Snes13	0.425	0.842	0.181	0.785	-	-	2.118	3.022	0.166	0.982	-	-	-	-	1.597	1.775	-	-	-	-	-	-	
		de	cd	b	c	a	a	de	e	cde	de	a	a	a	a	de	de	a	a	a	a	a	a	a
γ -muurolene	Snes14	0.458	0.184	0.593	0.438	-	-	-	-	-	-	-	-	0.264	0.179	-	-	-	-	-	-	-	-	
		bc	b	d	cd	a	a	a	a	a	a	a	a	d	d	a	a	a	a	a	a	a	a	a
γ -cadinene	Snes15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	25.109	14.973	-	-	
		a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	b	b	a	a	
β -cadinene	Snes16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
(Z)- β -farnesene	Snes17	0.132	0.185	-	-	0.131	0.270	1.251	2.199	-	-	-	-	-	-	1.043	0.875	-	-	-	-	4.648	5.990	
		bc	b	a	a	def	defg	cde	bcd	a	a	a	a	a	a	efg	efg	a	a	a	a	g	fg	
α -muurolene	Snes18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	17.552	24.620	-	-	
		a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	b	c	a	a	
δ -cadinene	Snes19	0.029	0.055	0.077	0.046	0.037	0.096	2.910	1.899	-	-	-	-	-	-	-	-	0.959	0.345	49.936	71.718	4.052	6.399	
		ab	bc	bc	bc	a	a	cd	cd	a	a	a	a	a	a	a	a	ab	bc	e	e	de	de	
caryophyllene	Snes20	-	-	-	-	-	-	0.737	0.268	-	-	-	-	-	-	-	-	0.498	0.299	50.010	63.279	1.006	1.151	
		a	a	a	a	a	a	b	b	a	a	a	a	a	a	a	a	a	b	d	d	c	c	

Supporting Information_areas_1b. table continuation (12/12).

Volatile compound	Abb. ¹	Bola		Doux Long des Landes		Guindilla Ibarra		Jalapeno M		Mojo Palmero		Numex Big Jim		Piquillo		Serrano		BOL-58		ECU-994		BOL-144	
		Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.	Org.	Con.
α -himachalene	Snes21	1.134	3.026	0.628	1.084	3.758	9.687	17.887	18.534	0.684	0.272	16.753	16.774	0.181	0.048	3.919	2.704	-	-	26.686	46.017	10.280	14.338
		efgh	defg	efgh	efgh	fgh	gh	fgh	def	cde	bcd	fgh	fgh	abc	ab	fgh	fgh	a	a	h	h	gh	h
germacrene D	Snes22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.091	0.557	118.142	151.188	-	-
		a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	b	b	c	c	a	a
β -himachalene	Snes23	0.321	1.593	0.097	0.164	1.213	4.827	9.987	12.693	0.174	0.049	11.872	9.327	-	-	2.553	1.635	-	-	-	-	3.068	3.364
		bcd	abc	abc	abc	de	e	bcd	bcd	ab	ab	e	cde	a	a	e	de	a	a	a	a	de	e
<i>Sesquiterpenoids</i>																							
α -longipinene	Snoid1	1.184	1.828	0.725	1.203	6.088	9.506	11.023	9.851	0.413	0.366	8.948	11.183	-	-	1.466	1.376	-	-	-	-	4.281	5.710
		d	ab	cd	cd	d	d	cd	bc	bc	cd	d	d	a	a	d	d	a	a	a	a	d	d
dihydro- β -ionone	Snoid2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.219	0.499	-	-	-	-	-	-	5.635	7.544	-	-
		a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	c	b	a	a	a	a	a	a	d	d	a	a
globulol	Snoid3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.317	1.528
		a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	b
nerolidol	Snoid4	0.045	0.237	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3.717	3.809	-	-
		ab	b	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	d	c	a	a
dendrolasin	Snoid5	0.994	1.790	0.226	0.277	0.690	0.146	4.636	0.521	0.862	1.249	2.474	0.718	-	-	2.336	1.864	-	-	26.406	31.149	-	-
		cd	cd	b	c	c	b	c	b	cd	cd	cd	cd	a	a	cd	c	a	a	d	d	a	a
bisabolol	Snoid6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.173	0.118	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	b	b	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a
<i>Total</i>		73.553	94.330	65.967	115.813	168.379	307.805	542.800	368.984	234.640	141.062	719.531	238.989	32.486	21.720	545.243	427.185	121.002	131.459	2868.803	3814.586	833.643	871.324
		ab	ab	ab	bc	bcde	cdef	bcde	cdef	bcde	defg	cdef	bcde	a	a	fg	efg	bcd	bcde	h	h	g	g

References

1. Mahmood I, Imadi SR, Shazadi K, Gul A, Hakeem KR. Effects of pesticides on environment. *Plant, Soil Microbes Vol. 1 Implic. Crop Sci.*, Springer International Publishing; 2016, p. 253–69.
2. Rahmann G. Biodiversity and Organic Farming: What do we know? *Agric For Res* 2011;3:189–208.
3. FiBL. FiBL Statistics - European and global organic farming statistics 2019. <https://statistics.fibl.org/> (accessed October 11, 2019).
4. Jarvis DI, Hodgkin T, Sthapit BR, Fadda C, Lopez-Noriega I. An Heuristic framework for identifying multiple ways of supporting the conservation and use of traditional crop varieties within the agricultural production system. *CRC Crit Rev Plant Sci* 2011;30:125–76.
5. Carrillo JM. Erosión genética y reemplazo de variedades tradicionales. In: Ruiz de Galarreta JJ, Prohens J, Tierno R, editors. *Las variedades locales en la Mejor. genética plantas*, Vitoria-Gasteiz: Eusko Jaurlaritzaren Argitalpen Zerbitzu Nagustia; 2016, p. 29–41.
6. Rodríguez-Burruezo A, Pereira-Dias L, Fita A. Pimiento. In: Ruiz de Galarreta JJ, Prohens J, Tierno R, editors. *Las variedades locales en la Mejor. genética plantas*, Vitoria-Gasteiz: Servicio Central de Publicaciones del Gobierno Vasco; 2016, p. 480.
7. FAOSTAT. FAOSTAT data 2020. <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC> (accessed February 7, 2020).
8. DeWitt D, Bosland PW. *The Complete Chile Pepper Book: A Gardener's Guide to Choosing, Growing, Preserving, and Cooking* 2009:336.
9. MAPA. Denominaciones de Origen e Indicaciones Geográficas Protegidas. MAPAMA 2019. <https://www.mapa.gob.es/es/alimentacion/temas/calidad-agroalimentaria/calidad-diferenciada/dop/default.aspx> (accessed February 29, 2020).
10. Russo VM. *Peppers: Botany, Production and Uses*. Wallingford (UK): CAB International; 2012.
11. Krishna De A. *Capsicum*, The genus *Capsicum*. London: CRC Press. Taylor & Francis; 2003.
12. Tundis R, Loizzo MR, Menichini F, Bonesi M, Conforti F, Statti G, et al.

- Comparative Study on the Chemical Composition, Antioxidant Properties and Hypoglycaemic Activities of Two *Capsicum annuum* L. Cultivars (*Acuminatum* small and *Cerasiferum*). *Plant Foods Hum Nutr* 2011;66:261–9.
13. Campos MRS, Gómez KR, Ordoñez YM, Ancona DB. Polyphenols, Ascorbic Acid and Carotenoids Contents and Antioxidant Properties of Habanero Pepper (*Capsicum chinense*) Fruit. *Food Nutr Sci* 2013;04:47–54.
 14. Guzmán I, Bosland PW. Sensory properties of chile pepper heat – and its importance to food quality and cultural preference. *Appetite* 2017;117:186–90.
 15. Kollmannsberger H, Rodríguez-Burruezo A, Nitz S, Nuez F. Volatile and capsaicinoid composition of ají (*Capsicum baccatum*) and rocoto (*Capsicum pubescens*), two Andean species of chile peppers. *J Sci Food Agric* 2011;91:1598–611.
 16. Moreno-Peris E, Cortés-Olmos C, Díez-Díaz M, González-Mas MC, de Luis-Margarit A, Fita A, et al. Hybridization in peppers (*Capsicum* spp.) to improve the volatile composition in fully ripe fruits: The effects of parent combinations and fruit tissues. *Agronomy* 2020;10:751.
 17. Bogusz Junior S, Março PH, Valderrama P, Damasceno FC, Aranda MS, Zini CA, et al. Analysis of volatile compounds in *Capsicum* spp. by headspace solid-phase microextraction and GC × GC-TOFMS. *Anal Methods* 2015;7:521–9.
 18. Rohilla R, Singh VP, Singh US, Singh RK, Khush GS. Crop husbandry and environmental factors affecting aroma and other quality traits. *Aromat. rices*, Oxford & IBH Pub. Co; 2000, p. 201–16.
 19. Robinson AL. *Environmental Influences on Grape Aroma Potential*. Murdoch University, 2011.
 20. Mendez-Costabel MP, Wilkinson KL, Bastian SEP, Jordans C, McCarthy M, Ford CM, et al. Effect of increased irrigation and additional nitrogen fertilisation on the concentration of green aroma compounds in *Vitis vinifera* L. Merlot fruit and wine. *Aust J Grape Wine Res* 2014;20:80–90.
 21. Pérez-López AJ, López-Nicolas JM, Núñez-Delicado E, Amor FM del, Carbonell-Barrachina ÁA. Effects of agricultural practices on color, carotenoids composition, and minerals contents of sweet peppers, cv. Almuden. *J Agric Food Chem* 2007;55:8158–64.
 22. Hallmann E, Rembialkowska E. Characterisation of antioxidant compounds in sweet bell pepper (*Capsicum annuum* L.) under organic and conventional growing

- systems. *J Sci Food Agric* 2012;92:2409–15.
23. Ribes-Moya AM, Adalid AM, Raigón MD, Hellín P, Fita A, Rodríguez-Burruezo A. Variation in flavonoids in a collection of peppers (*Capsicum* sp.) under organic and conventional cultivation: effect of the genotype, ripening stage, and growing system. *J Sci Food Agric* 2020;jsfa.10245.
 24. Ribes-Moya AM, Raigón MD, Moreno-Peris E, Fita A, Rodríguez-Burruezo A. Response to organic cultivation of heirloom *Capsicum* peppers: Variation in the level of bioactive compounds and effect of ripening. *PLoS One* 2018;13:e0207888.
 25. Moreno E, Fita A, González-Mas MC, Rodríguez-Burruezo A. HS-SPME study of the volatile fraction of *Capsicum* accessions and hybrids in different parts of the fruit. *Sci Hortic (Amsterdam)* 2012;135:87–97.
 26. González-Mas MC, Rambla JL, Alamar MC, Gutiérrez A, Granell A. Comparative Analysis of the Volatile Fraction of Fruit Juice from Different Citrus Species. *PLoS One* 2011;6:e22016.
 27. Metsalu T, Vilo J. ClustVis: A web tool for visualizing clustering of multivariate data using Principal Component Analysis and heatmap. *Nucleic Acids Res* 2015;43:W566–70.
 28. NIH. National Library of Medicine. National Center of Biotechnology Information. PubChem. 2020. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> (accessed July 14, 2020).
 29. The Good Scents Company. The Good Scents Company Information System. 2018. <http://www.thegoodscentscompany.com/index.html> (accessed July 14, 2020).
 30. Rodríguez-Burruezo A, Kollmannsberger H, González-Mas MC, Nitz S, Fernando N. HS-SPME comparative analysis of genotypic diversity in the volatile fraction and aroma-contributing compounds of capsicum fruits from the *annuum-chinense-frutescens* complex. *J Agric Food Chem* 2010;58:4388–400.
 31. Das S, Koner A, Barik A. A beetle biocontrol agent of rice-field weeds recognizes its host plants by surface wax long-chain alkanes and free fatty acids. *Chemoecology* 2019;29:155–70.
 32. Zou C, Li Z, Yu D. *Bacillus megaterium* strain XTBG34 promotes plant growth by producing 2-pentylfuran. *J Microbiol* 2010;48:460–6.
 33. Jiang CH, Xie YS, Zhu K, Wang N, Li ZJ, Yu GJ, et al. Volatile organic

- compounds emitted by *Bacillus* sp. JC03 promote plant growth through the action of auxin and strigolactone. *Plant Growth Regul* 2019;87:317–28.
34. Rajan M, Chandran V, Shahena S, Mathew L. Controlled Release Pesticides as a Route to Sustainable Crop Production. *Control. Release Pestic. Sustain. Agric.*, Springer International Publishing; 2020, p. 111–25.
 35. Bolívar-Anillo HJ, Garrido C, Collado IG. Endophytic microorganisms for biocontrol of the phytopathogenic fungus *Botrytis cinerea*. *Phytochem Rev* 2019:1–20.
 36. Chamberlain DA, Wilson G, Ryan MF. trans-2-Nonenal insect repellent, insecticide, and flavor compound in carrot roots, cell suspensions, and “hairy” root cultures. *J Chem Ecol* 1991;17:615–24.
 37. Subba A, Bharati M, Rai P, Saha D. Phytochemical composition of *Heracleum nepalense* D. Don fruit extracts and its activity against the larvae of *Aedes albopictus* (Diptera: *Culicidae*). *Int J Trop Insect Sci* 2020:1–11.
 38. Ntalli N, Oplos C, Michailidis M, Thanasenaris A, Kontea D, Caboni P, et al. Strong synergistic activity and egg hatch inhibition by (E,E)-2,4-decadienal and (E)-2-decenal in Meloidogyne species. *J Pest Sci (2004)* 2016;89:565–79.
 39. López-Gresa MP, Payá C, Ozáez M, Rodrigo I, Conejero V, Klee H, et al. A new role for green leaf volatile esters in tomato stomatal defense against *pseudomonas syringe* pv. tomato. *Front Plant Sci* 2018;9:1855.
 40. Pérez-López AJ, López-Nicolás JM, Carbonell-Barrachina AA. Effects of organic farming on minerals contents and aroma composition of Clemenules mandarin juice. *Eur Food Res Technol* 2007;225:255–60.
 41. Jarau S, Schulz CM, Hrnčir M, Francke W, Zucchi R, Barth FG, et al. Hexyl decanoate, the first trail pheromone compound identified in a stingless bee, *Trigona recursa*. *J Chem Ecol* 2006;32:1555–64.
 42. Breed MD, Stiller TM, Blum MS, Page RE. Honeybee nestmate recognition: Effects of queen fecal pheromones. *J Chem Ecol* 1992;18:1633–40.
 43. Barth FG, Hrnčir M, Jarau S. Signals and cues in the recruitment behavior of stingless bees (*Meliponini*). *J Comp Physiol A Neuroethol Sensory, Neural, Behav Physiol* 2008;194:313–27.
 44. Shen T, Xiong Q, Zhong L, Shi X, Cao C, He H, et al. Analysis of main metabolisms during nitrogen deficiency and compensation in rice. *Acta Physiol Plant* 2019;41:68.

45. Zhang R, Tian A, Zhang H, Zhou Z, Yu H, Chen L. Amelioration of Experimental Autoimmune Encephalomyelitis by β -elemene Treatment is Associated with Th17 and Treg Cell Balance. *J Mol Neurosci* 2011;44:31–40.
46. Hilker M, Bläske V, Kobs C, Dippel C. Kairomonal effects of sawfly sex pheromones on egg parasitoids. *J Chem Ecol* 2000;26:2591–601.
47. Pereira-Dias L, Vilanova S, Fita A, Prohens J, Rodríguez-Burruezo A. Genetic diversity, population structure, and relationships in a collection of pepper (*Capsicum* spp.) landraces from the Spanish centre of diversity revealed by genotyping-by-sequencing (GBS). *Hortic Res* 2019;6:54.
48. Pino J, Sauri-Duch E, Marbot R. Changes in volatile compounds of Habanero chile pepper (*Capsicum chinense* Jack. cv. Habanero) at two ripening stages. *Food Chem* 2006;94:394–8.
49. Liu R, Xiong K, Chao-Luo Y, Ze-Dai X, Min-Liu Z, Tong-Xue W. Changes in volatile compounds of a native Chinese chilli pepper (*Capsicum frutescens* var) during ripening. *Int J Food Sci Technol* 2009;44:2470–5.
50. Mazida MM, Salleh MM, Osman H. Analysis of volatile aroma compounds of fresh chilli (*Capsicum annum*) during stages of maturity using solid phase microextraction (SPME). *J Food Compos Anal* 2005;18:427–37.
51. Pérez-López AJ, Del Amor FM, Serrano-Martínez A, Fortea MI, Núñez-Delicado E. Influence of agricultural practices on the quality of sweet pepper fruits as affected by the maturity stage. *J Sci Food Agric* 2007;87:2075–80.

**CAPÍTULO 3: ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA EN EL CULTIVO
DE PIMIENTO BAJO CONDICIONES DE CULTIVO ECOLÓGICO**



XXVII Jornadas Técnicas de SEAE.

VI Congreso Valenciano de Agricultura Ecológica.

Estudio preliminar de la actividad enzimática fosfatasa alcalina y catalasa en cultivos ecológico y convencional de ecotipos de pimiento (*Capsicum* sp.)

Ana M. Ribes-Moya, Iván I. Morales-Manzo, Cindy Aguilar-Medina, M^a Dolores Raigón, Adrián Rodríguez-Burruezo

Instituto COMAV, Universitat Politècnica de València, Camino Vera s/n, CP 46022, Valencia.

Palabras clave: fertilidad, selección, suelo, variedades tradicionales.

Tipo de participación: comunicación oral

XXVII Jornadas Técnicas de SEAE

VI Congreso Valenciano de Agricultura Ecológica“Agroecología frente al Cambio Climático y otros retos del Siglo XXI” Resúmenes. p. 244–254

3-4 octubre 2019 - UPV - Campus de Gandia (Valencia)

ISBN:978-84-946563-9-2

Resumen

Las prácticas agrícolas modifican la composición biológica, bioquímica y la fertilidad de los suelos, influyendo en la productividad de los cultivos. La medida de la actividad enzimática es una manera indirecta de determinar la fertilidad del suelo. El objetivo de este estudio ha sido determinar la influencia del sistema de cultivo y el factor genético en la actividad enzimática en cultivo de pimiento.

Se midió la actividad fosfatasa alcalina (espectrofotometría) y la actividad catalasa (colorimetría) en un cultivo de 24 variedades locales de pimiento y ají *Capsicum* sp. bajo prácticas de cultivo ecológico y convencional durante la primavera-verano de 2015 y 2016 (Sagunto, Valencia). Se realizaron cuatro tipos muestreo: al inicio, mitad y final de cultivo y en rizosfera.

El sistema de cultivo contribuyó en mayor medida a la variación observada, siendo significativo y mayor para ambas actividades enzimáticas en fase intermedia y cultivo convencional. Se observaron diferencias entre genotipos predominando en fosfatasa alcalina para el caso del cultivo ecológico Chile de árbol, Arnoia y ECU-994 para mitad, final de cultivo y rizosfera, respectivamente. Para catalasa en el caso de este mismo sistema destacaron las variedades Chile de árbol en fase intermedia y Ancho a final de cultivo entre plantas y en rizosfera. La actividad enzimática resultó superior a mitad del ciclo de cultivo con un descenso más pronunciado al final de cultivo para la fosfatasa alcalina y más ligero para la catalasa. Finalmente, la interacción genotipo×sistema permitiría seleccionar variedades con mejor comportamiento al sistema de cultivo ecológico.

Introducción

La fertilidad del suelo es la cualidad de éste para sustentar la vida vegetal y depende de diversos factores químicos, físicos y biológicos interdependientes [1], como la disponibilidad de nutrientes para las plantas, la capacidad de retención de agua, y la estructura del suelo influyente en el desarrollo de las raíces. Las prácticas agrícolas modifican estas características y como consecuencia, tienen una repercusión en la fertilidad del terreno. La agricultura ecológica persigue aumentar la fertilidad de los suelos como uno de los objetivos principales. A diferencia de la agricultura convencional, basada en la aplicación de fertilizantes solubles en cada nuevo cultivo, el manejo ecológico aborda este objetivo a través de una construcción de suelos fértiles y mantenimiento a largo plazo. Por ello es necesario la búsqueda de alternativas que no sólo repongan los nutrientes utilizados por las plantas del cultivo, sino que también tengan en cuenta la mejora de las características físicas y biológicas influyentes en la fertilidad. Una práctica común en cultivos ecológicos es la incorporación de materia orgánica mediante la aplicación de residuos de la producción, ya sean de origen animal y/o vegetal, permitiendo a su vez su reciclaje y por tanto, la disminución de residuos efectivos [2].

La medida de la fertilidad implica, por tanto, analizar múltiples parámetros de calidad y salud del suelo para integrarlos y hacer un análisis más amplio de la situación general. Dada la dificultad de dichos procedimientos, otra posibilidad sería la selección de factores específicos y su evaluación a lo largo del tiempo [3]. En agricultura, la actividad de las enzimas involucradas en los ciclos de los nutrientes del suelo ha sido uno de los indicadores empleados para ello junto con otros indicadores biológicos [4]. La liberación enzimática por secreción o lisis celular es un proceso constante por parte de los organismos vivos como las raíces de las plantas, siendo una pequeña parte la que queda estable después de procesos de desnaturalización, inactivación o degradación [3]. Un ejemplo es el grupo de enzimas fosfatasas alcalinas, dentro del amplio grupo de las fosfatasas, que catalizan la hidrólisis de compuestos orgánicos fosforados a formas inorgánicas utilizables por las plantas [5]. Estas enzimas se originan mayoritariamente en las raíces de las plantas, hongos y microorganismos del suelo y pueden ser un buen indicador de la mineralización potencial del fósforo orgánico y la actividad biológica del suelo. Dicha actividad enzimática tiene relación con las condiciones del suelo y la vegetación, viéndose influenciada por cambios en el manejo del cultivo y fluctuaciones

estacionales de temperatura y humedad [6]. Las catalasas son otro ejemplo de enzimas importantes ya que degradan el H_2O_2 generado por procesos metabólicos de los organismos vivos. Están relacionadas con el mantenimiento del balance redox durante condiciones de estrés oxidativo y el estrés ambiental tiene influencia en la intensidad de su actividad [7].

Objetivo

El objetivo del presente estudio ha sido la evaluación de la influencia del sistema de cultivo (ecológico y convencional) y del factor genético, así como sus interacciones, en la actividad enzimática fosfatasa alcalina y catalasa del suelo como medida indirecta de la fertilidad. Como factor genético se escogió el cultivo del pimiento (*Capsicum* sp.) dada la amplia diversidad de variedades locales disponibles y su importancia tanto en nuestro país como a nivel mundial [8].

Material y métodos

Material vegetal

Se evaluó una colección de 24 variedades locales de pimiento y ají *Capsicum* sp. incluyendo *C. annuum* (19), *C. chinense* (2), *C. baccatum* (2) y *C. frutescens* (1) (Tabla 1).

Tabla 1. Material vegetal utilizado y procedencia.

Variedad	Origen
<i>Capsicum annuum</i>	
Ancho	Puebla (Méjico)
Arnoia	PGI Pemento da Arnoia. Ourense, Galicia
Bierzo	Cons. Reg. PGI Pimiento Asado Bierzo. Carracedelo, León
Bola	Cons. Reg. PDO Pimentón Murcia. Totana, Murcia
Chile de árbol	Reimer's Seeds Co. (Méjico)
Cuneo	S. Lanteri. Torino, Piedmont (Italia)
Di Senise	S. Lanteri. PGI Peperone di Senise. Senise, Potenza (Italia)
Doux Long des Landes	Françoise Jourdan. INRA Geves (Francia)
Espellette	Françoise Jourdan. Type PGI Piment d'Espellette. INRA Geves (Francia)
Gernika	I. Ruiz de Galarreta. PGI Gernikako Piperra. NEIKER, Euskadi
Guindilla Ibarra	I. Ruiz de Galarreta. EUSKO-Quality Label. NEIKER, Euskadi
Mojo Palmero	Reserva Mundial de la Biosfera. La Palma, Islas Canarias
Najerano	Cons. Reg. PGI Pimiento Riojano. Logroño, La Rioja
Numex 6-4	P.W. Bosland. NMSU, Las Cruces, Nuevo Méjico (EE. UU.)
Numex Conquistador	P.W. Bosland. NMSU, Las Cruces, Nuevo Méjico (EE. UU.)
Padrón	Cons. Reg. PDO Pemento Herbón. Coruña/Pontevedra, Galicia
Pasilla	Reimer's Seeds Co. (Méjico)
Petit Marsellais	Françoise Jourdan. INRA Geves (Francia)
Piquillo	Cons. Reg. PDO Pimiento Piquillo de Lodosa. Lodosa, Navarra
<i>Capsicum baccatum</i>	
BOL-37R	Sillane. Chuquisaca (Bolivia)
BOL-58	Cochabamba. Cochabamba (Bolivia)
<i>Capsicum chinense</i>	
Ají Dulce	Caracas (Venezuela)
ECU-994	Archidona, Napo (Ecuador)
<i>Capsicum frutescens</i>	
BOL-144	Yapacani. Santa Cruz (Bolivia)

Cultivo

Los ensayos se realizaron al aire libre durante la estación de primavera-verano de 2015 y 2016, bajo manejo de cultivo ecológico y convencional en colaboración con la *Unió de Llauradors y Ramaders (LA UNIÓN)*. Las parcelas estaban situadas en Sagunto (Valencia), la ecológica en el área protegida de "Marxal dels Moros" (UTM, X:734494.88; Y: 4390434.86) y la parcela convencional se ubicó cerca de la zona (UTM, X: 732911.94; Y:391747.42) para mantener unas condiciones medioambientales similares. Ambas parcelas tuvieron un marco de plantación de 0.5×1 m y se realizaron riegos por inundación (3 veces por mes en primavera y 4 en verano). El terreno ecológico contaba con un historial de rotaciones cada cuatro años y antes del ensayo se aplicó un tratamiento con estiércol de oveja (4 kg/m²). Se realizó control manual de malas hierbas mensualmente y no fueron necesarios tratamientos contra plagas ya que el balance ecológico de la fauna estaba en equilibrio. El cultivo convencional tuvo una fertilización basada en una mezcla de nitrógeno, fósforo y potasio (15-15-15, 50 g/m², aplicado antes del cultivo), quelato de hierro (3 kg/ha, después del cultivo) y nitrato cálcico (1 aplicación de 20 g/L y 2 de 10 g/L, después del cultivo). Como pesticidas se

utilizaron abamectina (1.8%, EC) y clorpirifos (48%, EC) junto con el fungicida oxiclورو de cobre (58.8%, WP). Se realizaron tres aplicaciones de una mezcla de abamectina (30 mL) con oxiclورو de cobre (100 mL) en 20 L de agua y seis tratamientos de una mezcla de clorpirifos (50 mL) con oxiclورو de cobre (100 mL) en 20 L de agua. El control de malas hierbas fue manual con una frecuencia mensual.

Diseño experimental y muestreo

Se aplicó un modelo de distribución al azar con un reparto aleatorio de cada variedad en ocho plantas distribuidas en dos bloques de cuatro plantas por parcela. Hubo cuatro tipos de muestreos por sistema de cultivo: al inicio, mitad y final de cultivo y de rizosfera, tomando las muestras a 20-30 cm de profundidad y retirando la capa superficial de 5 cm. Al “inicio de cultivo”, antes del trasplante, se tomaron ocho muestras repartidas aleatoriamente por la parcela. En el momento de cosecha de madurez comercial en fruto verde, se realizó el muestreo denominado “mitad de cultivo”, recogiendo por cada variedad cuatro muestras de suelo entre plantas de la misma variedad. A final de cosecha tuvo lugar el muestreo de “final de cultivo”, en los mismos puntos de recogida del muestreo de mitad de cultivo. El muestreo de la “rizosfera” se hizo recogiendo cuatro muestras de suelo en contacto directo con las raíces. Este diseño se aplicó a cada parcela y en cada año de ensayo. Las muestras se conservaron a 4-5 °C hasta su análisis.

Análisis de la actividad fosfatasa alcalina

La actividad fosfatasa alcalina se analizó según el método propuesto por Tabatabai y Bermner con modificaciones [9], que consiste en la determinación espectrofotométrica del *p*-nitrofenol liberado durante la incubación de suelo con una disolución tamponada de *p*-nitrofenilfosfato. Se mezclaron 0.5 g de muestra de suelo húmedo con 0.2 mL de tolueno, 4 mL de MUB (pH=11) y 1 mL de *p*-nitrofenilfosfato (pH=11) y se incubaron durante una hora a 37°C. A continuación, se detuvo la reacción con 1mL de CaCl₂ (0.5 M) y 4 mL de NaOH (0.5 M). Finalmente, se filtró la muestra y midió la absorbancia en el espectrofotómetro ($\lambda=400$ nm). Se determinó la cantidad de *p*-nitrofenol por comparación con una curva patrón y se calculó la actividad enzimática según la

fórmula: $AE = C \times V \times Pm^{-1} \times G^{-1} \times T^{-1}$; donde AE = actividad fosfomonoesterasa ($\mu\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1}$); C = cantidad de *p*-nitrofenol (μg); V = factor de dilución (en caso de diluir las muestras); Pm = peso molecular del *p*-nitrofenol (139); G = factor relativo a la cantidad de suelo seco; T = factor relativo al tiempo de incubación.

Análisis de la actividad catalasa

Para la actividad catalasa se siguió el método de Johnson y Temple [10], basado en el consumo de H_2O_2 para liberar H_2O y O_2 por acción de la enzima catalasa. Para ello se mide el H_2O_2 residual mediante una valoración con permanganato con formación de oxígeno según la fórmula: $5 \text{H}_2\text{O}_2 + 2 \text{MnO}_4^- + 6 \text{H}^+ \rightarrow 5 \text{O}_2 + 2 \text{Mn}^{2+} + 8 \text{H}_2\text{O}$. Se agitaron 0,5 g de muestra de suelo húmedo con 40 mL de agua destilada durante 30 minutos (Tr, 200-225 rpm), luego se añadieron 5 mL de H_2O_2 (1:100) y se continuó agitando durante 10 minutos. Se detuvo la reacción con la adición de 5 mL de H_2SO_4 (1.5 M) y se filtró. Finalmente, se tomó una alícuota de 25 mL del extracto filtrado y se valoró mediante reacción colorimétrica con KMnO_4 (0.005 M). Se prepararon blancos sin suelo con 40 mL de agua destilada, 5 mL de H_2O_2 (1:100) y 5 mL de H_2SO_4 (1.5 M), obteniendo una disolución de H_2O_2 8.8 mM. La actividad catalasa se calculó mediante la expresión: $AE = (BG - S) \times N \times 0.5 \times V \times T \times G^{-1}$, donde AE = Actividad catalasa ($\text{mmoles g}^{-1} \text{h}^{-1}$); BG = cantidad de KMnO_4 gastado en la valoración del blanco (mL); S = cantidad de KMnO_4 gastado en la valoración de las muestras (mL); N = normalidad exacta del KMnO_4 ; 0.5 = valor constante que procede del cálculo para conocer los mg de H_2O_2 que reaccionan con el KMnO_4 y del cálculo para obtener la cantidad de H_2O_2 en mmoles; V = factor de dilución; T = factor de tiempo; G = factor relativo a la cantidad de suelo.

Análisis estadístico

Los datos se analizaron mediante el software *Statgraphics Centurion XVII* (StatPoint Technologies, Inc; Warrenton, Virginia, EE. UU.). Para cada variable actividad enzimática se realizó un análisis de la varianza (ANOVA, con transformación $\log(x+1)$), estudiando los efectos de la variedad, sistema de cultivo y sus interacciones. Se realizaron pruebas de contrastes múltiples según Duncan, con un nivel de confianza del 95%.

Resultados y discusión

Efecto de la variedad, sistema de cultivo y su interacción

El análisis de la varianza (ANOVA) reveló al factor sistema de cultivo (S) generalmente como el de mayor contribución en la variación observada, siendo significativo para el muestreo entre plantas a mitad de cultivo para ambas actividades enzimáticas y no significativo en el resto de los casos (Tabla 2). El factor variedad (V) ocupó en general segundo lugar en la contribución de la variación, siendo únicamente significativo para la actividad fosfatasa alcalina a mitad de cultivo. Por otro lado, V resultó el factor predominante para la actividad enzimática catalasa a final de cultivo, aunque no significativo. Finalmente, las interacciones V×S en general contribuyeron en menor medida a la variación de la actividad enzimática, excepto para la catalasa-final, donde contribuye en segundo lugar a la variación observada, después del factor V.

Tabla 2. ANOVA para el valor medio de la actividad de la fosfatasa alcalina y catalasa en los muestreos entre plantas a mitad y final de cultivo y en rizosfera.

Factor	Mitad		Final		Rizosfera	
	g.l. ¹	C.M. ²	g.l.	C.M.	g.l.	C.M.
<i>Fosfatasa alcalina</i>						
Factores principales						
Variedad (V)	23	0.0922*	23	0.4609 ^{NS}	23	0.4707 ^{NS}
Sistema (S)	1	0.5712***	1	1.1579 ^{NS}	1	0.8869 ^{NS}
Interacciones						
V×S	23	0.0758 ^{NS}	23	0.1751 ^{NS}	23	0.2794 ^{NS}
Error	335	0.0554	340	0.4143	400	0.4891
<i>Catalasa</i>						
Factores principales						
Variedad (V)	23	0.0061 ^{NS}	23	0.0034 ^{NS}	23	0.0020 ^{NS}
Sistema (S)	1	0.0679***	1	0.0009 ^{NS}	1	0.0026 ^{NS}
Interacciones						
V×S	23	0.0033 ^{NS}	23	0.0021 ^{NS}	23	0.0008 ^{NS}
Error	335	0.0056	342	0.0034	397	0.0014

¹ grados de libertad; ² cuadrado medio;

^{NS}, *, **, *** indican no significativo para una probabilidad p>0.05 y significativo para p<0.05, p<0.01 y p<0.001 según el estadístico F.

Actividad fosfatasa alcalina

Como reflejó el ANOVA para la fosfatasa alcalina, la diferencia entre las medias del sistema de cultivo en fase intermedia fue ligeramente superior en el cultivo convencional (297 vs 321 $\mu\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1}$), mientras que para la fase final de cultivo y la actividad en rizosfera las medias de los sistemas fueron similares (Tabla 3). Los rangos de variación según variedad fueron amplios. La actividad fosfatasa en tiempo intermedio estuvo comprendida entre 247 y 389 μmol para Petit Marsellais-ecológico y Mojo Palmero-convencional, respectivamente; en fase final varió entre 62 y 218 μmol para Cuneo-ecológico y BOL-58-convencional; y de manera similar en rizosfera entre 62 y 210 μmol para Ancho-convencional y BOL-58-ecológico. De esta manera, se pudo resaltar variedades con mayor contenido en actividad enzimática para cada condición de muestreo. Los genotipos con mayor actividad en fase intermedia fueron Chile de árbol y Ancho en cultivo ecológico y Mojo Palmero y Numex 6-4 en cultivo convencional; en fase final Espelette, BOL-58 y Chile de árbol en cultivo convencional y Arnoia en cultivo ecológico; en rizosfera BOL-58 y ECU-994 en cultivo ecológico y BOL-37R y Bierzo en cultivo convencional (Tabla 3).

Las medias de la actividad fosfatasa al inicio del cultivo fueron de 232 $\mu\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1}$ para el sistema de cultivo ecológico y 237 $\mu\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1}$ para el cultivo convencional (diferencias no significativas) (Fig.1). Estos valores fueron superados durante el tiempo de cultivo en fase intermedia para todos los genotipos, con valores medios para sistema alrededor de 310 μmol y aumentando la diferencia entre sistemas de cultivo. Sin embargo, el contenido en actividad enzimática se redujo al final del ciclo del cultivo en ambos sistemas tanto en suelo entre plantas como en suelo de rizosfera, con valores inferiores a los del inicio de cultivo. La media para la actividad en la rizosfera para el cultivo ecológico fue mayor comparada con el muestreo a final de ciclo entre plantas. Sin embargo, el sistema convencional registró el caso opuesto. A final de ciclo, la variación genotípica para la actividad fosfatasa en interacción con el sistema se pudo apreciar, con genotipos con valores de actividad enzimática superior en rizosfera vs final entre plantas, como, por ejemplo, BOL-58 y ECU-994 y Espelette en ecológico y Arnoia, BOL-37R y Pasilla en convencional, con tendencia opuesta en el otro sistema de cultivo (Fig. 1).

Tabla 3. Valor medio de la actividad de la fosfatasa alcalina ($\mu\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1}$) por variedad en cada condición de muestreo en cultivo ecológico (Eco.) y convencional (Conv.).

Variedad	Mitad		Final		Rizosfera	
	Eco. ¹	Conv.	Eco.	Conv.	Eco.	Conv.
<i>Capsicum annuum</i>						
Ancho	370.40 _{bcd}	302.94 _{abcd}	71.35 _{abc}	63.90 _{ab}	85.67 _{abc}	61.54 _a
Arnoia	256.79 _{abcd}	290.35 _{abcd}	207.64 _{abcd}	183.54 _{abcd}	180.86 _{abcd}	192.77 _{abcd}
Bierzo	306.93 _{abcd}	340.08 _{abcd}	174.28 _{abcd}	198.68 _{abcd}	177.45 _{abcd}	219.16 _{abcd}
Bola	296.70 _{abcd}	347.26 _{abcd}	146.89 _{abcd}	200.16 _{abcd}	186.20 _{abcd}	183.99 _{abcd}
Chile de árbol	372.22 _d	323.84 _{abcd}	79.45 _{abcd}	207.57 _{abcd}	98.24 _{abcd}	189.77 _{abcd}
Cuneo	352.70 _{abcd}	261.94 _{abcd}	61.47 _a	101.62 _{abcd}	92.24 _{abcd}	73.57 _{ab}
Di Senise	264.42 _{abcd}	302.65 _{abcd}	178.33 _{abcd}	208.44 _{abcd}	176.52 _{abcd}	195.46 _{abcd}
Doux Long des Landes	266.49 _{abcd}	282.53 _{abcd}	180.23 _{abcd}	185.92 _{abcd}	155.32 _{abcd}	152.10 _{abcd}
Espelette	263.06 _{abcd}	292.87 _{abcd}	148.90 _{abcd}	212.30 _d	172.68 _{abcd}	194.44 _{abcd}
Gernika	304.93 _{abcd}	291.37 _{abcd}	201.71 _{abcd}	199.98 _{abcd}	153.68 _{abcd}	196.71 _{abcd}
Guindilla Ibarra	261.63 _{abc}	290.80 _{abcd}	153.69 _{abcd}	189.54 _{abcd}	170.31 _{abcd}	194.97 _{abcd}
Mojo Palmero	275.48 _{abcd}	388.93 _{cd}	161.80 _{abcd}	161.52 _{abcd}	175.46 _{abcd}	157.78 _{abcd}
Najerano	270.22 _{abcd}	366.00 _{abcd}	154.37 _{abcd}	171.36 _{abcd}	172.78 _{abcd}	135.01 _{abcd}
Numex 6-4	251.38 _{ab}	373.04 _{abcd}	166.74 _{abcd}	195.60 _{abcd}	157.81 _{abcd}	204.64 _{abcd}
Numex Conquistador	299.97 _{abcd}	341.76 _{abcd}	178.23 _{abcd}	188.35 _{abcd}	158.05 _{abcd}	171.12 _{abcd}
Padrón	273.24 _{abcd}	331.78 _{abcd}	186.19 _{abcd}	170.71 _{abcd}	187.33 _{abcd}	138.68 _{abcd}
Pasilla	316.55 _{abcd}	308.27 _{abcd}	184.62 _{abcd}	177.55 _{abcd}	157.07 _{abcd}	192.08 _{abcd}
Petit Marsellais	246.62 _a	312.52 _{abcd}	138.00 _{abcd}	198.21 _{abcd}	119.77 _{abcd}	173.35 _{abcd}
Piquillo	330.17 _{abcd}	309.56 _{abcd}	190.72 _{abcd}	179.59 _{abcd}	195.12 _{bcd}	143.62 _{abcd}
<i>Otros Capsicum</i>						
BOL-37R	295.15 _{abcd}	316.45 _{abcd}	178.95 _{abcd}	197.79 _{bcd}	155.95 _{abcd}	233.74 _{abcd}
BOL-58	297.36 _{abcd}	317.40 _{abcd}	170.72 _{abcd}	217.99 _{cd}	209.63 _d	198.90 _{abcd}
Ají Dulce	274.93 _{abcd}	301.84 _{abcd}	189.98 _{abcd}	149.50 _{abcd}	170.35 _{abcd}	135.38 _{abcd}
ECU-994	328.23 _{abcd}	350.55 _{abcd}	178.84 _{abcd}	187.58 _{abcd}	207.27 _{cd}	155.11 _{abcd}
BOL-144	359.84 _{abcd}	348.92 _{abcd}	76.94 _{abcd}	157.74 _{abcd}	91.58 _{abcd}	137.36 _{abcd}
Media sistema	297.31 _A	320.57 _B	156.67 _A	179.38 _A	158.64 _A	167.97 _A
Error estándar	5.53	5.20	7.92	7.47	8.39	7.94

¹ a, b, c, d, A, B letras diferentes entre parejas de columnas Eco. Conv., implican diferencias significativas entre medias para cada condición (mitad, final, rizosfera) por comparación múltiple de Duncan ($p < 0.05$).



Figura 1. Gráfico comparativo de la actividad fosfatasa alcalina ($\mu\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1}$) en cada condición de muestreo (inicio, mitad, final y rizosfera) según sistema de cultivo para cada variedad.

La tendencia promedio de valores superiores en rizosfera a final de cultivo comparado con zona sin raíces (entre plantas) para el cultivo ecológico puede darse como consecuencia de las rizodeposiciones o exudaciones de las raíces y coincide con los trabajos de [11–13], con mayor actividad enzimática en la rizosfera que en suelo libre de raíces, dependiendo de la actividad microbiana, la liberación enzimática por parte de las raíces o la lisis celular radicular.

El aumento de la actividad enzimática en la fase intermedia de cultivo coincide con una mayor producción en planta de fruto y, como consecuencia, una mayor demanda productiva de derivados fotosintéticos. De esta manera, la liberación al suelo de exudados de la fotosíntesis y otros derivados metabólicos suponen una fuente de carbono fácilmente disponible para los microorganismos del suelo [14–16]. Por otro lado, el aumento de actividad en promedio en la fase intermedia para el cultivo convencional puede estar relacionado con la aplicación del insecticida clorpirifos, alterando a modo de estímulo la actividad de los microorganismos del suelo que actúan en la degradación del producto. En cambio, la considerable disminución de la actividad enzimática en ambos sistemas en la fase final del cultivo no coincide con otros trabajos [17]. Este hecho podría explicarse como consecuencia de ser suelos de cultivo, con actividad fosfatasa dinámica según manejo, etapa fenológica y especies vegetales utilizadas [17–20] y las condiciones meteorológicas, ya que la pluviometría contribuye a la solubilización del fósforo disminuyendo su disponibilidad y la por tanto, la actividad fosfatasa [21]. También se ha reportado una disminución de la actividad enzimática con el descenso de la temperatura [22]. Estas condiciones climáticas de aumento de precipitaciones y época más fría se dieron a final de ciclo de cultivo (octubre-noviembre).

Actividad catalasa

La actividad catalasa al igual que la fosfatasa alcalina mostró mayores diferencias entre medias por sistema de cultivo en la fase intermedia con mayor contenido en el cultivo convencional (0.137 vs 0.171 mmol g⁻¹ h⁻¹) y medias similares por cultivo al final de ciclo tanto en el muestreo entre plantas como en rizosfera (Tabla 4). La variación entre genotipos también fue apreciable con valores a mitad de cultivo entre

0.087 mmol y 0.257 mmol en Numex 6-4-ecológico y Ancho-convencional, respectivamente; a final de ciclo entre 0.089 mmol y 0.198 mmol y en rizosfera entre 0.103 mmol y 0.172 mmol ambas en Najerano y Ancho ecológico. Así, para fase intermedia de cultivo predominó la actividad enzimática en la variedad Ancho en ambos cultivos además de Chile de árbol y BOL-144 en ecológico; para la fase final y rizosfera destacaron igualmente Ancho y BOL-144 en ecológico junto con Cuneo convencional, además de Chile de árbol en el sistema ecológico y muestreo entre plantas en fase final y Padrón en sistema ecológico y rizosfera (Tabla 4).

La actividad catalasa durante el ciclo de cultivo fue mayor en ambos sistemas respecto a las medidas del contenido inicial de 0.0728 mmol y 0.0769 mmol para el sistema ecológico y convencional, respectivamente (Fig. 2). Como ocurría para la actividad fosfatasa, en la fase intermedia de cultivo se dan los mayores valores medios por sistema disminuyendo a final de cultivo ligeramente en el sistema ecológico y en mayor medida en el sistema convencional. Al contrario de lo sucedido para la actividad fosfatasa, la media de actividad catalasa en la zona de la rizosfera para final de ciclo en sistema ecológico fue ligeramente menor que la de final entre plantas, mientras que el caso opuesto se pudo apreciar en el sistema convencional (Fig. 2).

Tabla 4. Valor medio de la actividad de la catalasa ($\text{mmol g}^{-1} \text{h}^{-1}$) por variedad en cada condición de muestreo en cultivo ecológico (Eco.) y convencional (Conv.).

Variedad	Mitad		Final		Rizosfera	
	Eco. ¹	Conv.	Eco.	Conv.	Eco.	Conv.
<i>Capsicum annuum</i>						
Ancho	0.2202 _{bcd}	0.2572 _d	0.1975 _d	0.1732 _{abcd}	0.1721 _d	0.1442 _{abcd}
Arnoia	0.1335 _{abcd}	0.1602 _{abcd}	0.1512 _{abcd}	0.1102 _{abcd}	0.1124 _{abcd}	0.1244 _{abcd}
Bierzo	0.1279 _{abcd}	0.1397 _{abcd}	0.0968 _{abc}	0.1247 _{abcd}	0.1226 _{abcd}	0.1234 _{abcd}
Bola	0.1393 _{abcd}	0.1486 _{abcd}	0.1373 _{abcd}	0.1498 _{abcd}	0.1249 _{abcd}	0.1207 _{abcd}
Chile de árbol	0.2331 _{cd}	0.1494 _{abcd}	0.1771 _{abcd}	0.1396 _{abcd}	0.1372 _{abcd}	0.1237 _{abcd}
Cuneo	0.1813 _{abcd}	0.2023 _{abcd}	0.1719 _{abcd}	0.1846 _{cd}	0.1607 _{cd}	0.1703 _{abcd}
Di Senise	0.1135 _{abcd}	0.1708 _{abcd}	0.1147 _{abcd}	0.1362 _{abcd}	0.1088 _{abc}	0.1139 _{abcd}
Doux Long des Landes	0.1181 _{abcd}	0.1504 _{abcd}	0.0963 _{ab}	0.1319 _{abcd}	0.1244 _{abcd}	0.1406 _{abcd}
Espelette	0.1499 _{abcd}	0.1888 _{abcd}	0.1190 _{abcd}	0.1287 _{abcd}	0.1056 _{ab}	0.1331 _{abcd}
Gernika	0.1407 _{abcd}	0.1783 _{abcd}	0.1376 _{abcd}	0.1260 _{abcd}	0.1173 _{abcd}	0.1327 _{abcd}
Guindilla Ibarra	0.1316 _{abcd}	0.1891 _{abcd}	0.124 _{abcd}	0.1223 _{abcd}	0.1253 _{abcd}	0.1166 _{abcd}
Mojo Palmero	0.1287 _{abcd}	0.1621 _{abcd}	0.1208 _{abcd}	0.1162 _{abcd}	0.1170 _{abcd}	0.1437 _{abcd}
Najerano	0.1053 _{abcd}	0.1706 _{abcd}	0.0885 _a	0.127 _{abcd}	0.1033 _a	0.1334 _{abcd}
Numex 6-4	0.0865 _a	0.1368 _{abcd}	0.1414 _{abcd}	0.1219 _{abcd}	0.1249 _{abcd}	0.1342 _{abcd}
Numex Conquistador	0.1440 _{abcd}	0.1352 _{abcd}	0.1353 _{abcd}	0.1147 _{abcd}	0.1254 _{abcd}	0.1396 _{abcd}
Padrón	0.1466 _{abcd}	0.1660 _{abcd}	0.1369 _{abcd}	0.1458 _{abcd}	0.1626 _{bcd}	0.1310 _{abcd}
Pasilla	0.0957 _{abc}	0.1795 _{abcd}	0.1347 _{abcd}	0.1107 _{abcd}	0.1294 _{abcd}	0.1344 _{abcd}
Petit Marsellais	0.1194 _{abcd}	0.1714 _{abcd}	0.1362 _{abcd}	0.1064 _{abcd}	0.1270 _{abcd}	0.1393 _{abcd}
Piquillo	0.1301 _{abcd}	0.1818 _{abcd}	0.1472 _{abcd}	0.1347 _{abcd}	0.1253 _{abcd}	0.1383 _{abcd}
<i>Otros Capsicum</i>						
BOL-37R	0.1321 _{abcd}	0.1639 _{abcd}	0.1636 _{abcd}	0.1121 _{abcd}	0.1183 _{abcd}	0.1113 _{abcd}
BOL-58	0.1037 _{abcd}	0.1697 _{abcd}	0.1108 _{abcd}	0.1464 _{abcd}	0.1202 _{abcd}	0.1367 _{abcd}
Ají Dulce	0.1177 _{abcd}	0.1744 _{abcd}	0.1496 _{abcd}	0.1298 _{abcd}	0.1157 _{abcd}	0.1363 _{abcd}
ECU-994	0.0898 _{ab}	0.1616 _{abcd}	0.1090 _{abcd}	0.1232 _{abcd}	0.1251 _{abcd}	0.1378 _{abcd}
BOL-144	0.2068 _{abcd}	0.1903 _{abcd}	0.1783 _{bcd}	0.1405 _{abcd}	0.1615 _{abcd}	0.1476 _{abcd}
Media sistema	0.1373 _A	0.1707 _B	0.1365 _A	0.1315 _A	0.1278 _A	0.1336 _A
Error estándar	0.0069	0.0064	0.0051	0.0049	0.0030	0.0029

¹ a, b, c, d, A, B letras diferentes entre parejas de columnas Eco. Conv., implican diferencias significativas entre medias para cada condición (mitad, final, rizosfera) por comparación múltiple de Duncan ($p < 0.05$).



Figura 2. Gráfico comparativo de la actividad catalasa (mmol g⁻¹ h⁻¹) en cada condición de muestreo (inicio, mitad, final y rizosfera) según sistema de cultivo para cada variedad.

Esta variación a final de cultivo también se registró a nivel de $V \times S$, con variedades con mayor nivel de actividad catalasa en rizosfera vs suelo sin raíz según sistema de cultivo, ejemplo: Bierzo, BOL-58 y Padrón en ecológico y Ají dulce, BOL-144, Mojo Palmero y Petit Marsellais en convencional; con tendencia contraria en el sistema opuesto. Finalmente, el cultivo ecológico favoreció el aumento de actividad catalasa en nueve variedades en la fase final de cultivo, destacando Arnoia, Numex 6-4, Piquillo, BOL-37-R y Ají Dulce, en cambio, sólo la variedad Bola en cultivo convencional superó los niveles de la fase intermedia (Fig. 2). Según Guangming *et al.* [23] en sistemas agrícolas con mayor aporte de materia orgánica se espera mayor actividad enzimática catalasa ya que ésta cataliza la transformación del peróxido asociado a la materia orgánica del suelo y formado en la respiración de los organismos aerobios.

La superioridad general del contenido en catalasa para ambos sistemas después del trasplante del cultivo puede explicarse según lo sugerido por García *et al.* [24], donde se indica cómo mejoran la capacidad en la retención de agua en el suelo y las características de fertilidad como consecuencia de la presencia de vegetación al aportar protección física y materia orgánica. Además, la mayor actividad catalasa en fase intermedia comparada con el resto de las condiciones de cultivo puede tener una consecuencia climática al ser meses de cultivo más calurosos (julio-agosto), tal y como se vio para la actividad fosfatasa. En estos meses puede haber momentos de insuficiencia hídrica e incremento de la salinidad del suelo propiciándose condiciones que aumentan el estrés oxidativo del cual protege la actividad catalasa [25,26].

En concordancia a lo detectado para la actividad fosfatasa alcalina, la mayor actividad catalasa en fase intermedia del cultivo en el sistema convencional pudo haberse debido al estímulo de la aplicación del fertilizante clorpirifos. El trabajo de Shiyin *et al.* [27] reveló un aumento progresivo de la actividad catalasa en suelo incubado con aplicación previa de este insecticida, con actividades máximas a los quince días de incubación y mayores a concentraciones superiores del producto y la posterior disminución de los niveles con la degradación del producto. La síntesis de enzima se atribuyó a la necesidad de la hidrólisis del pesticida por parte de la materia orgánica del suelo como mecanismo de respuesta adaptativa de las comunidades microbianas, sin embargo, desde el enfoque eco-toxicológico mayores concentraciones de pesticidas alteran el medio ambiente del suelo y afectan al desarrollo de la planta como consecuencia de la acumulación de productos de la hidrólisis del pesticida. Por

otro lado, las condiciones de estrés oxidativo en el cultivo, producido como consecuencia de épocas más calurosas y con menos aporte hídrico (propias en la fase intermedia del cultivo) podrían haberse visto amortiguadas en el cultivo ecológico, más resiliente a cambios meteorológicos al promoverse el cuidado de la estructura, composición fisicoquímica y biológica. De esta manera, el estrés oxidativo afectaría más al sistema convencional disparándose así la actividad catalasa a modo de protección [28]. Otro hecho a considerar en la aplicación en el sistema convencional de oxiclورو de cobre como fungicida, ya que el cobre libre como catión inhibe la actividad catalasa cuando se concentra en el suelo [29].

Conclusiones

Para concluir, la interacción genotipo \times sistema permitiría seleccionar variedades con valores superiores de actividad enzimática fosfatasa alcalina y catalasa en el sistema de cultivo ecológico. De esta manera, se podrían seleccionar para cultivo ecológico y según la actividad fosfatasa alcalina Chile de árbol, Arnoia y ECU-994 para mitad, final de cultivo y rizosfera, respectivamente y según la actividad catalasa las variedades Chile de árbol en fase intermedia y Ancho a final de cultivo entre plantas y en rizosfera.

Referencias

1. Céspedes C, Ovalle C, Hirzel J. Agricultura orgánica principios y prácticas de producción. Boletín INIA 2005;131.
2. Céspedes C. Manejo de la fertilidad del suelo. Man. Prod. Fram. orgánica, vol. 208, Boletín INIA; 2010.
3. Montejo Martínez M, Torres López CP, Martínez Toledo Á, Tenorio López JA, Cruz Colín, María del Rocío Ramos Morales FR, Cuevas Díaz M del C. Técnicas para el análisis de la actividad enzimática en suelos. In: Cuevas Díaz M del C, Espinosa Reyes G, Ilizaliturri Hernández CA, Mendoza Cantú A, editors.

- Métodos ecotoxicológicos para la evaluación suelos Contam. con hidrocarburos, 2012, p. 19–46.
4. García-Ruiz R, Ochoa V, Hinojosa MB, Carreira JA. Suitability of enzyme activities for the monitoring of soil quality improvement in organic agricultural systems. *Soil Biol Biochem* 2008;40:2137–45.
 5. Nannipieri P, Giagnoni L, Landi L, Renella G. Role of Phosphatase Enzymes in Soil. In: Bünemann E, Oberson A, Frossard E, editors. Phosphorus action. *Soil Biol.* vol 26, Berlin, Heidelberg: Springer; 2011, p. 215–43.
 6. Krämer S, Green DM. Acid and alkaline phosphatase dynamics and their relationship to soil microclimate in a semiarid woodland. *Soil Biol Biochem* 2000;32:179–88.
 7. Sharma P, Jha AB, Dubey RS, Pessarakli M. Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions. *J Bot* 2012;2012:1–26.
 8. FAOSTAT. FAOSTAT data 2019. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> (accessed January 17, 2019).
 9. Tabatabai MA, Bremner JM. Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil Biol Biochem* 1969;1:301–7.
 10. Johnson JL, Temple KL. Some Variables Affecting the Measurement of “Catalase Activity” in Soil. *Soil Sci Soc Am J* 1964;28:207–9.
 11. Jones DL, Nguyen C, Finlay RD. Carbon flow in the rhizosphere: Carbon trading at the soil-root interface. *Plant Soil* 2009;321:5–33.
 12. Marinari S, Moscatelli C, Grego S. Enzymes at plant-soil interface. *Enzym. Agric. Sci.* 1st ed., Foster City: OMICS Group eBooks; 2014, p. 94–109.
 13. Razavi BS, Zarebanadkouki M, Blagodatskaya E, Kuzyakov Y. Rhizosphere shape of lentil and maize: Spatial distribution of enzyme activities. *Soil Biol Biochem* 2016;96:229–37.

14. Oburger E, Gruber B, Schindlegger Y, Schenkeveld WDC, Hann S, Kraemer SM, et al. Root exudation of phytosiderophores from soil-grown wheat. *New Phytol* 2014;203:1161–74.
15. Meena VS, Maurya BR, Verma JP. Does a rhizospheric microorganism enhance K⁺ availability in agricultural soils? *Microbiol Res* 2014;169:337–47.
16. Kumar A, Maurya BR, Raghuwanshi R, Meena VS, Tofazzal Islam M. Co-inoculation with *Enterobacter* and *Rhizobacteria* on Yield and Nutrient Uptake by Wheat (*Triticum aestivum* L.) in the Alluvial Soil Under Indo-Gangetic Plain of India. *J Plant Growth Regul* 2017;36:608–17.
17. Fita A, Martínez M, Guijarro C, Rodríguez-Burruezo A, Raigón M. Efecto de la variedad y manejo del cultivo en la actividad enzimática del suelo. XI Congr. SEAE “Agricultura ecológica Fam., Álava: 2014, p. 509–16.
18. Narvaez Castillo MC. Evaluación de actividad de fosfatasas y deshidrogenasas por efecto de la aplicación de vinazas en suelos cultivados con maíz dulce *Zea mays* L. 2008.
19. Vallejo Rendón C. Influencia de la gestión de un residuo de una cubierta verde de *Lolium multiflorum* en la dinámica microbiana edáfica. 2011.
20. Henríquez C, Uribe L, Valenciano A, Nogales R. Actividad enzimática del suelo-deshidrogenasa, β-glucosidasa, fosfatasa y ureasa-bajo diferentes cultivos. *Agron Costarric* 2014;38:43–54.
21. Ramírez LCC, Galvez ZYA, Burbano VEM. Solubilización de fosfatos: una función microbiana importante en el desarrollo vegetal. *Nov Publicación En Ciencias Biomédicas* 2014;12:67–79.
22. Criquet S, Ferre E, Farnet AM, Le Petit J. Annual dynamics of phosphatase activities in an evergreen oak litter: Influence of biotic and abiotic factors. *Soil Biol Biochem* 2004;36:1111–8.
23. Guangming L, Xuechen Z, Xiuping W, Hongbo S, Jingsong Y, Xiangping W. Soil enzymes as indicators of saline soil fertility under various soil amendments.

- Agric Ecosyst Environ 2017;237:274–9.
24. García C, Hernández T, Costa F. Microbial activity in soils under mediterranean environmental conditions. *Soil Biol Biochem* 1994;26:1185–91.
 25. Willekens H, Chamnongpol S, Davey M, Schraudner M, Langebartels C, Van Montagu M, et al. Catalase is a sink for H₂O₂ and is indispensable for stress defence in C₃ plants. *EMBO J* 1997;16:4806–16.
 26. Mhamdi A, Queval G, Chaouch S, Vanderauwera S, Van Breusegem F, Noctor G. Catalase function in plants: A focus on *Arabidopsis* mutants as stress-mimic models. *J Exp Bot* 2010;61:4197–220.
 27. Shiyin L, Lixiao N, Panying P, Cheng S, Liansheng W. Effects of Pesticides and Their Hydrolysates on Catalase Activity in Soil. *Bull Environ Contam Toxicol* 2004;72:600–6.
 28. Samuel AD, Domuța C, Ciobanu C, Șandor M. Field management effects on soil enzyme activities. *Rom Agric Res* 2008:61–8.
 29. Wyszowska J, Kucharski M, Kucharski J, Borowik A. Activity of dehydrogenases catalase and urease in copper polluted soil. *J Elem* 2009;14:605–17.

Discusión general

En la presente tesis se ha estudiado la calidad nutricional y organoléptica del cultivo del pimiento (*Capsicum* sp.) en los dos estados de madurez comercial (verde y maduro) y bajo diferentes prácticas culturales (sistemas ecológico y convencional). De esta manera, se han analizado los principales compuestos nutricionales de los frutos de pimiento: el ácido ascórbico, los compuestos fenólicos y los carotenoides; así como la composición de la fracción volátil de los frutos, y se ha estudiado su variación en una amplia colección varietal según el estado de madurez, el sistema de cultivo y sus interacciones. Adicionalmente, también se ha estudiado la fertilidad biológica del suelo a través de las actividades enzimática fosfatasa alcalina y catalasa en interacción con el cultivo de diversas variedades de pimiento y bajo los sistemas de cultivo convencional y ecológico.

1. Análisis estadístico para parámetros de calidad nutricional, calidad organoléptica y fertilidad biológica del suelo

De acuerdo con los estudios estadísticos realizados, todos los caracteres de calidad nutricional analizados experimentaron cambios significativos en sus niveles según el año de ensayo, mientras que en el caso de los compuestos volátiles el efecto del año tuvo una mayor contribución en el estado maduro. Esa significación estadística confirma la importancia de la repetición experimental en varios años, especialmente en ensayos al aire libre [223].

El estado de madurez contribuyó de forma predominante y en general altamente significativa a la variación en todos los compuestos nutricionales y la mayoría de los compuestos volátiles, lo cual podría enmascarar la magnitud del efecto genotipo, sistema de cultivo y sus interacciones, por lo que se procedió a estudiar en profundidad el resto de los factores para cada estado de madurez por separado. Así, el análisis estadístico tanto para el estado inmaduro como para el maduro reveló una contribución significativa del factor genotípico o varietal a la variación para todos los compuestos nutricionales estudiados (ácido ascórbico, fenoles totales, flavonoides individuales y carotenoides) y para los compuestos volátiles (excepto para el grupo de derivados

fenólicos en estado inmaduro). Asimismo, pero en menor proporción, el sistema de cultivo también contribuyó significativamente a las diferencias observadas en el contenido de ácido ascórbico en estado maduro, y de fenoles totales y flavonoides individuales en ambos estados, mientras que para los carotenoides el efecto del sistema de cultivo no tuvo una contribución significativa a la variación observada. En el caso de los compuestos volátiles para el estado inmaduro, el factor sistema de cultivo fue significativo en los grupos de los furanos y los productos de escisión lipoxigenasa, mientras que para el estado maduro fue significativo en los grupos de los aldehídos, los alcanos y especialmente en los furanos.

Por otro lado, el estudio del contenido en actividad enzimática (fosfatasa alcalina y catalasa) reveló una mayor contribución por parte del sistema de cultivo a la variación observada, respecto al factor genotipo, siendo significativo para ambas actividades enzimáticas, en la fase intermedia del cultivo. El factor genotipo únicamente resultó significativo para la fosfatasa alcalina en fase intermedia.

Finalmente, la interacción genotipo \times ambiente (G \times E, i.e. genotipo \times sistema de cultivo) fue significativa para el ácido ascórbico y los fenoles totales en ambos estados de madurez y para algunos flavonoides individuales, especialmente en el estado maduro, lo cual indica respuestas diferentes para cada sistema de cultivo según la variedad o accesión. En el caso de los carotenoides y los compuestos volátiles esta interacción generalmente no resultó significativa. Todo lo observado indica que la contribución significativa del sistema de cultivo y su interacción con el genotipo favorecerían la mejora y selección específica de variedades de pimiento y otros *Capsicum* para producción ecológica en la mayoría de los caracteres de calidad nutricional, fundamentalmente antioxidantes como el ácido ascórbico y los compuestos fenólicos.

2. Contenido en compuestos nutricionales y perfil volátil según el genotipo, el sistema de cultivo y el estado de maduración

2.1 Contenido en ácido ascórbico (CAA), fenoles totales (FT), flavonoides individuales y carotenoides totales (CT_A y CT_R)

El estudio en profundidad del contenido en ácido ascórbico (CAA) mostró amplios rangos de variación en ambos sistemas de cultivo y ambos estados de maduración. En frutos inmaduros los valores estuvieron comprendidos entre 14 y 121 mg·100 g⁻¹ y entre 10 y 93 mg·100 g⁻¹, para los cultivos ecológico y convencional, respectivamente. Para los frutos en estado maduro los valores aumentaron considerablemente, con rangos comprendidos entre 48 y 208 mg·100 g⁻¹ en ecológico y entre 48 y 196 mg·100 g⁻¹ en convencional. Estos valores podrían ser considerados muy altos en comparación con otras frutas y hortalizas, lo cual demuestra la riqueza en los frutos *Capsicum* de este compuesto antioxidante [224]. Los rangos de variación del estudio fueron considerablemente superiores comparados con otros estudios en pimiento, avalando la ventaja del uso de amplias colecciones varietales para evaluar la conducta real de un cultivo bajo diferentes condiciones de cultivo, lo que aumenta las oportunidades de selección de genotipos con alto contenido en ácido ascórbico. Además, se observaron diferencias respecto a la creencia generalizada de que los pimientos picantes de carne fina y pequeño tamaño presentan mayores contenidos en este compuesto antioxidante [224]. Nuestros resultados mostraron, para la mayoría de los casos, que el grupo de pimientos gruesos pueden presentar contenidos medios de ácido ascórbico similares o incluso mayores en comparación con los de fruto pequeño y carne fina.

El contenido en fenoles totales (FT) fue altamente variable según el genotipo y las condiciones de cultivo. Los rangos de variación oscilaron entre 68 y 626 mg a.c.·100 g⁻¹ y entre 87 y 506 mg a.c.·100 g⁻¹, para el cultivo ecológico y convencional, respectivamente, en el estado inmaduro. El contenido en FT aumentó mayoritariamente en el estado maduro, con rangos promedios entre 109 y 367 mg a.c.·100 g⁻¹ para ecológico y entre 96 y 438 mg a.c.·100 g⁻¹ para convencional. Al igual que con el CAA, los valores de FT en ambos estados fueron considerablemente superiores a otras frutas y hortalizas [89,90], reforzando la riqueza en compuestos fenólicos de los frutos *Capsicum*.

El análisis más detallado de compuestos fenólicos por HPLC igualmente permitió distinguir diferencias notables para flavonoides individuales entre genotipos y en cada estado de maduración. Los compuestos luteolina y quercetina fueron los que tuvieron mayor contribución en la suma total de los cinco flavonoides individuales (aproximadamente 70% para luteolina y 20% para quercetina, en ambos estados y sistemas de cultivo), mientras que la miricetina, apigenina y kenferol mostraron niveles considerablemente menores ($\leq 6\%$ cada uno). Asimismo, se observó una amplia variación varietal dentro de cada compuesto, aunque el sistema de cultivo y su interacción también influyeron en las diferencias. Así, para el estado inmaduro la luteolina estuvo comprendida entre 29 y 220 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, la quercetina entre 2 y 72 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, la miricetina entre 1.3 y 9 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, la apigenina entre 0.2 y 4 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, y el kenferol entre 0.04 y 2.5 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. Como se observó para el CAA y el FT, el estado maduro favoreció niveles medios generalmente mayores en comparación con el estado inmaduro, incrementándose ligeramente los intervalos de variación varietal. Así, en frutos maduros, la luteolina estuvo comprendida entre 33 y 270 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, la quercetina entre 2 y 79 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, la miricetina entre 6 y 17 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, la apigenina entre 0.1 y 5.8 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, y el kenferol entre 0.2 y 3.1 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. Estos rangos de variación y la predominancia de cada flavonoide según el genotipo fueron distintos a otros estudios donde se utilizaron variedades diferentes, pero con una base genética más reducida [57,58,225,226], lo cual vuelve a remarcar la importancia del uso de una amplia diversidad genética para conocer y mejorar la calidad nutricional de los cultivos.

El estudio para el contenido en carotenoides totales en frutos maduros igualmente mostró unos amplios rangos de variación entre genotipos, con valores de carotenoides rojos totales (CT_R) para el sistema ecológico entre 0 y 257 $\text{mg}\cdot 100\text{ g}^{-1}$ y de carotenoides amarillo-anaranjados totales (CT_A) entre 2 y 147 $\text{mg}\cdot 100\text{ g}^{-1}$, y para el sistema convencional entre 0 y 324 $\text{mg}\cdot 100\text{ g}^{-1}$ de CT_R y entre 1 y 166 $\text{mg}\cdot 100\text{ g}^{-1}$ de CT_A . Igualmente, así como para los anteriores compuestos nutricionales, los contenidos resultaron relativamente altos comparados con otras frutas y hortalizas [227–229]. Atendiendo a los distintos tipos varietales dentro de la colección estudiada, los pimientos gruesos tuvieron en general menor contenido en estos compuestos, pudiendo ser explicado por la alta correlación positiva entre carotenoides y contenido en materia seca de los frutos, la cual es menor en este tipo de frutos, carnosos y con alto contenido en humedad [224]. Como novedad, se encontraron valores altos de CT_R en variedades

comercialmente utilizadas en estado inmaduro. Esto señala la posibilidad de seleccionar nuevos materiales con alto contenido en carotenoides rojos para su explotación como colorantes alimentarios, aunque originalmente no hayan tenido uso en estado maduro. Por otro lado, se detectó una correlación positiva entre el contenido de CT_R y CT_A , lo cual permitiría una selección conjunta.

2.2 Efecto del sistema de cultivo y su interacción con el genotipo para los caracteres de calidad nutricional

En fruto inmaduro, la media general del CAA presentó valores similares en ambos sistemas de cultivo, aunque se apreciaron diferencias entre grupos *Capsicum* y a nivel de accesiones individuales. La interacción significativa genotipo \times sistema de cultivo fue confirmada al detectar variedades con diferente comportamiento según el sistema de cultivo. Así, según el coeficiente de regresión β , 15 variedades mostraron valores medios de CAA significativamente mayores en el sistema ecológico, 18 variedades en el convencional y cuatro variedades mostraron valores estables entre sistemas para el estado inmaduro. Para el estado maduro el CAA medio fue significativamente superior en el cultivo ecológico y también fue significativa la interacción genotipo \times sistema de cultivo. Según el coeficiente de regresión, la mayoría de las variedades tuvieron contenidos medios de ácido ascórbico significativamente superiores en el sistema ecológico, a excepción de algunas variedades que fueron superiores en el sistema convencional y otras estables entre sistemas.

En el caso del contenido en FT, tanto el sistema de cultivo como su interacción con el factor genotipo tuvieron un efecto significativo en ambos estados de madurez. En promedio, el contenido en FT en estado inmaduro fue superior en el cultivo convencional. Además, el coeficiente de regresión β permitió identificar 25 variedades con valores superiores en el sistema convencional, frente a siete para el ecológico y cinco variedades estables. Estos resultados contrastaron con el comportamiento en estado maduro, donde el promedio de FT resultó claramente superior en los frutos del cultivo ecológico, lo cual coincide con los resultados para el CAA, y con 22 variedades con valores significativamente superiores en este sistema, frente a seis variedades con FT más altos en el sistema convencional y nueve con un comportamiento estable entre sistemas.

Para el estado inmaduro las medias generales de los flavonoides individuales fueron similares entre sistemas, como se vio para el CAA, excepto en el caso de kenferol, ligeramente superior en el sistema convencional. En cambio, el efecto del sistema de cultivo resultó significativo en el estado maduro, con una media superior en el cultivo ecológico. Esta superioridad en el cultivo ecológico, para el estado de fruto maduro coincide con los resultados del análisis tanto de CAA como de FT. La mayor permanencia de los frutos en desarrollo recogidos en el estado maduro, en las diferentes condiciones propias de cada sistema podría ser la causa, concretamente a la mayor exposición de las plantas a las condiciones estresantes (i.e. bajos insumos) del cultivo ecológico [200,230]. Según el parámetro β para la interacción genotipo \times sistema de cultivo, aunque la mayoría de las accesiones se mostraron estables, para el estado inmaduro hubo cuatro variedades con mejor respuesta a alguno de los flavonoides en cada sistema, mientras que el estado maduro permitió distinguir seis genotipos con mejor respuesta al cultivo ecológico y tres para el convencional. Se pudieron distinguir diferentes grados de correlación entre los flavonoides individuales, lo cual resulta muy útil como herramienta de selección indirecta de flavonoides en base al contenido de otros. Así, hubo una correlación positiva alta entre la luteolina y la quercetina, entre el kenferol y la quercetina y entre el kenferol y la luteolina, en ambos estados de maduración, así como entre la apigenina y la quercetina y entre la apigenina y la luteolina, en el estado maduro. Además, para el estado maduro entre la luteolina y la miricetina hubo una correlación intermedia. Estas correlaciones positivas podrían deberse a una acumulación conjunta por reguladores transcripcionales compartidos implicados en la biosíntesis de flavonoides [231].

Al contrario que para el CAA, FT y flavonoides individuales, el contenido en carotenoides no resultó significativamente diferente entre sistemas. Sin embargo, unos pocos genotipos mostraron comportamientos distintos. Para CT_R , tres genotipos mostraron contenidos superiores en el sistema ecológico y siete en el convencional, mientras que para CT_A , se encontraron dos y cinco variedades para los sistemas ecológico y convencional, respectivamente. Según los resultados de este trabajo, los factores que promueven en fruto maduro la acumulación de CAA, FT y flavonoides individuales en condiciones de cultivo ecológico no parecen tener este efecto en los compuestos carotenoides.

2.3 Estudio del perfil de compuestos volátiles

Se encontraron un total de 124 y 122 compuestos volátiles entre las 11 accesiones *Capsicum* para los estados inmaduro y maduro, respectivamente, clasificados en 17 familias químicas, con diferencias tanto a nivel cuantitativo como cualitativo. Los grupos con una mayor abundancia para el estado inmaduro, en base a los niveles totales de volátiles (áreas de pico totales) fueron los ésteres, alcanos, sesquiterpenos, monoterpenos y alquenos, mientras que los aldehídos y lactonas fueron los de contenidos minoritarios. Para el estado maduro los grupos con mayores niveles totales de volátiles fueron los ésteres, alcanos y sesquiterpenos, mientras que los monoterpenoides, quetonas y metilquetonas, aldehídos, furanos y lactonas fueron los de menores niveles. A nivel de genotipo, las accesiones ECU-994, BOL-144 y la variedad Serrano mostraron los mayores niveles de volátiles totales para ambos estados de maduración, mientras que las variedades Jalapeño M y BOL-58 para el estado inmaduro, Doux Long des Landes y Piquillo para el estado maduro y Bola para ambos estados, mostraron los menores niveles de volátiles totales.

A nivel cualitativo, las accesiones Doux Long des Landes y Numex Big Jim en ambos estados de maduración junto con Guindilla Ibarra, Jalapeño M, Mojo Palmero y Piquillo en el estado inmaduro mostraron valores predominantes de monoterpenos, con típicos aromas herbales; para las accesiones Bola en ambos estados y Piquillo en estado maduro predominaron los sesquiterpenos, con aroma a madera; los alcanos, con ligero aroma céreo, destacaron en Serrano en ambos estados y en Guindilla Ibarra, Jalapeño M y Mojo Palmero en el estado maduro; los productos de escisión lipoxigenasa, de aromas grasos y aceitosos, en BOL-58 para ambos estados; y para ECU-994 y BOL-144 predominaron los ésteres en ambos estados, con aromas característicos frutales y tropicales.

El análisis de correlación entre accesiones según el perfil volátil agrupó a las accesiones *C. annuum* por un lado y por otro el resto de las especies *Capsicum*, tanto en estado inmaduro como maduro, lo cual confirmó la influencia del origen filogenético en el perfil de volátiles ya sugerida en trabajos similares [120]. Otro estudio basado en SNPs también confirma la distribución de las variedades *Capsicum* según sus relaciones filogenéticas [232]. Según las cantidades relativas de cada familia de volátiles, para las accesiones de *C. annuum* el grupo de los monoterpenos, con aromas herbales, tuvo una

mayor contribución general en el estado inmaduro, mientras que para el estado maduro destacaron los alcanos y sesquiterpenos, con aromas céreos, a madera y dulces, aunque el comportamiento para el grupo de *C. annuum* resultó variable al tratarse de un grupo más amplio. Para la accesión perteneciente a *C. baccatum*, BOL-58, destacó el grupo de los productos de escisión lipoxigenasa en ambos estados de maduración, con una mezcla de fragancias grasas/herbales/afrutadas. El grupo de los ésteres tuvo una alta contribución, tanto en el estado inmaduro como en el maduro, en las accesiones exóticas ECU-994 y BOL-144, pertenecientes a las especies *C. chinense* y *C. frutescens*, respectivamente, con aromas característicos frutales y dulces. Esta distribución de cantidades relativas también fue descrita en otro trabajo para frutos maduros de pimiento [233].

El estudio de compuestos volátiles a nivel individual permitió ver un mayor número de diferencias significativas entre sistemas de cultivo. El sistema de cultivo ecológico mostró un número mayor de compuestos volátiles con niveles superiores significativos, así como un mayor número de genotipos favorecidos por este sistema tanto en el estado inmaduro como en el maduro. Estos resultados sugieren que el sistema de cultivo ecológico podría favorecer la acumulación de compuestos volátiles en frutos de pimiento en ambos estados de maduración. Esto supone una ventaja para las plantas desarrolladas en el sistema ecológico dadas las funciones destacadas que desempeñan los compuestos volátiles. De los compuestos con diferencias significativas superiores en el cultivo ecológico se han detectado importantes funciones como atrayentes de insectos polinizadores, metabolitos relacionados con la compensación de la fertilización nitrogenada, componentes estructurales que actúan de barrera física protectora, reconocimiento de agentes de biocontrol, protección frente a plagas y enfermedades, promotores del crecimiento y propiedades antitumorales [234,235,244–247,236–243].

3. Influencia del proceso de maduración en el contenido en compuestos nutricionales y perfil volátil de los frutos de pimiento y su interacción con el cultivo ecológico

En cuanto al efecto del proceso de maduración en el contenido en compuestos nutricionales, todos los genotipos mostraron incrementos en el CAA y de manera general en FT, con variaciones en la magnitud según los factores genotipo y sistema. A nivel de flavonoides individuales en general hubo un aumento en su cantidad, a excepción del kenferol en los frutos del sistema convencional, con una media ligeramente inferior. Los mayores aumentos se dieron en luteolina (incrementos medios alrededor del 20% en el sistema ecológico y del 13% en convencional) y especialmente en la miricetina (incremento medio del 80% en ambos sistemas). Otros autores coinciden en el aumento de los flavonoides durante el proceso de maduración [58,225,248,249]. Sin embargo, también hay trabajos donde se describe lo contrario [250–252]. Estos trabajos utilizan una diversidad genética menor a la de nuestros trabajos, lo cual vuelve a poner de manifiesto la relevancia del uso de amplias colecciones varietales para un mejor conocimiento del cultivo y para aumentar el éxito en los programas de mejora. Así, aunque en nuestro trabajo a nivel de genotipo individual la tendencia con la maduración fue de acumular contenidos mayores o similares de flavonoides, se pudieron observar evoluciones distintas según la accesión al haber un efecto significativo de la interacción genotipo \times estado de maduración.

El estudio del perfil volátil de los frutos *Capsicum* igualmente mostró una evolución evidente con el proceso de maduración con cambios fueron muy diversos entre las accesiones, aunque también se detectaron similitudes. Sin embargo, al contrario que lo observado para los compuestos nutricionales, en general el nivel de volátiles disminuyó con el proceso de maduración. La tendencia general con el proceso de maduración, considerando la contribución relativa de cada familia química de volátiles en cada accesión, fue la reducción de los monoterpenos y monoterpenoides, de aromas herbales y verdes característicos, y el incremento relativo de otros grupos químicos con combinaciones variadas de aromas frutales/florales/dulces/madera/cerosos. El reemplazo del grupo de monoterpenos por otros grupos de volátiles durante la maduración también ha sido descrita en otros trabajos con las especies exóticas *C. frutescens*, *C. chinense* and *C. baccatum* [253,254].

Según la interacción del proceso de maduración con el sistema de cultivo, el cultivo ecológico favoreció la acumulación de CAA, FT y la suma de flavonoides individuales (en particular para la luteolina) en los frutos de pimiento durante el proceso de maduración, al registrar incrementos mayores de estos compuestos en dicho sistema, lo cual coincide con el trabajo de Pérez-López [176]. Esto sugiere que algunos factores presentes en las condiciones de cultivo ecológico pueden intensificar la acumulación de antioxidantes en los frutos de la mayoría de los genotipos *Capsicum* durante el proceso de maduración. Según otros estudios, el manejo del suelo y su fertilidad en los sistemas convencionales puede causar interacciones que alteren el balance de los nutrientes del suelo, esenciales en rutas metabólicas de biosíntesis, pudiendo ser una de las razones que den lugar a una acumulación menor en CAA y FT [255–258]. Además, se observaron correlaciones positivas entre ratios de maduración para flavonoides individuales, lo cual implica cambios similares en los flavonoides con el proceso de maduración, pudiendo ser debido a factores comunes en el metabolismo de los flavonoides durante el desarrollo de los frutos [259]. Así, hubo una correlación positiva y alta para ratios de maduración entre la luteolina y la quercetina, entre la apigenina y la quercetina, y entre la apigenina y la luteolina. En el caso del perfil volátil también se pudieron detectar diferencias entre sistemas tanto a nivel cuantitativo como cualitativo en el proceso de maduración. A nivel cuantitativo hubo un número mayor de accesiones que mostraron más compuestos volátiles con incrementos en la maduración y con ratios mayores. Además, a nivel cualitativo, medido por la presencia o ausencia de compuestos según sistema de cultivo, el sistema ecológico favoreció un mayor número de volátiles. Estas diferencias entre sistemas, tanto de tipo cuantitativo como cualitativo, sugieren que el sistema de cultivo ecológico podría favorecer la acumulación de compuestos volátiles durante el proceso de maduración. La interacción del sistema de cultivo ecológico con el proceso de maduración no ha sido todavía estudiada. Sin embargo, para caracteres de calidad nutricional otros trabajos también han descrito una mayor acumulación de compuestos en el cultivo ecológico [58,176,225,248,249]. Estos compuestos nutricionales tienen actividades antioxidantes y de protección frente a agentes ambientales y biológicos, lo cual haría esperar igualmente una mayor acumulación de compuestos volátiles con funciones protectoras.

4. Evolución de la actividad enzimática durante el ciclo de cultivo e interacción con el genotipo y el sistema de cultivo

El análisis de las actividades enzimáticas del suelo fosfatasa alcalina y catalasa, se realizó a los 30 cm de profundidad, en muestras de la fase inicial (antes de la implantación del cultivo, de muestras aleatorias del total de la superficie del suelo), de la fase intermedia (en la etapa inicial de fructificación y en zonas del suelo equidistantes entre plantas de la misma variedad) y de la fase final (en esta fase se realizan dos muestreos, uno de ellos similar al de la fase intermedia y el segundo muestreo de suelo correspondiente a la zona de la rizosfera).

La actividad enzimática de ambas enzimas tuvo los mayores valores en la fase intermedia de cultivo y disminuyó en la fase final de cultivo (tanto en el muestreo entre plantas como en la rizosfera), y en mayor medida para la actividad fosfatasa alcalina, con valores inferiores respecto a la fase inicial. La cubierta vegetal del cultivo de pimiento favorece la capacidad de retención de agua en el suelo y las características de fertilidad al aportar protección física y materia orgánica al suelo, esperándose así el aumento de la actividad enzimática a lo largo del ciclo de cultivo [260]. Además, la superioridad de la actividad en la fase intermedia coincide con una mayor demanda productiva de derivados fotosintéticos como consecuencia de la producción de fruto, lo que aumenta la fuente de carbono disponible para los microorganismos del suelo [261–263]. Asimismo, en la fase intermedia del cultivo el estrés oxidativo es mayor, al coincidir con períodos más cálidos con posibles momentos de insuficiencia hídrica, aumentando así la actividad de la enzima catalasa que protege de dicho estrés [264,265]. Por otro lado, el aumento de precipitaciones y disminución de la temperatura en la fase final del cultivo son condiciones desfavorables para la actividad enzimática [266,267].

La interacción de la actividad enzimática con el genotipo (accesión) sólo resultó significativa en promedio en el caso de la fosfatasa alcalina en fase intermedia de cultivo, si bien se pudieron apreciar diferencias a nivel individual entre accesiones. En cuanto a la interacción del sistema de cultivo con la actividad enzimática, únicamente hubo diferencias significativas en la fase intermedia del cultivo, con una actividad media de ambas enzimas mayor en el cultivo convencional. Este evento coincide con la aplicación del insecticida clorpirifos, que se ha visto que estimula la actividad de los

microorganismos del suelo que actúan degradando el producto aumentando así la síntesis enzimática [268]. Además, las condiciones de estrés oxidativo propias de la época de la fase intermedia podrían haberse visto amortiguadas en el sistema ecológico, más resiliente a cambios meteorológicos, esperándose un mayor aumento enzimático de la catalasa en el sistema convencional al estar más expuesto al estrés oxidativo [269]. Para la fase final del cultivo no hubo diferencias significativas entre sistemas de cultivo, sin embargo hubo diferencias para las actividades entre las zonas de muestreo. En el sistema ecológico, la actividad en la zona de muestreo de la rizosfera fue mayor que en el muestreo entre plantas, sin embargo, se dio lo contrario en el sistema convencional. Otros trabajos coinciden con una mayor actividad en la zona de la rizosfera como consecuencia de la liberación enzimática a través de las rizodeposiciones o las exudaciones de las raíces, la actividad microbiana y la lisis celular radicular [270–272]. Así, para el cultivo ecológico, la influencia de la planta en la zona de la rizosfera con la actividad enzimática fue mayor en comparación con esta interacción para el cultivo convencional, donde otros factores pudieron haber influido para que la actividad fuese superior en el muestreo entre plantas.

5. Potenciales selecciones de materiales para el cultivo ecológico según la calidad nutricional y organoléptica y genotipos destacados según su interacción con la actividad enzimática

La selección potencial de material genético para el cultivo ecológico, basado en los resultados de nuestros ensayos, sería posible considerando altos niveles de los compuestos nutricionales estudiados junto con factores y parámetros como el coeficiente de regresión β , los grupos varietales y el estado de maduración de los frutos.

Dentro del estado inmaduro, las accesiones de *C. annuum* Chimayo, Gernika, Jalapeño Candelaria, Mojo Palmero, Padrón, Pasilla, Petit Marsellais y Serrano Criollo por su suma en CAA y FT, así como el Pimiento Valenciano entre los de tipo grueso, además de las variedades Bierzo, Espelette, Gernika, Guindilla Ibarra, Padrón, Piquillo y Serrano por la suma de flavonoides individuales, serían materiales muy adecuados por

su valor añadido para ofrecer a los consumidores. La posible selección de accesiones pertenecientes a las especies exóticas ofrece la oportunidad de su incorporación a nuevos nichos de mercado con el valor añadido de su apariencia exótica y sus altos niveles en compuestos bioactivos bajo prácticas ecológicas. De esta manera, potenciales selecciones dentro de *C. chinense* serían Ají Dulce, ECU-973 y ECU-994, dentro de *C. baccatum* BOL-37R y para *C. frutescens* BOL-144.

Considerando el estado maduro, dentro de *C. annuum* las accesiones Bola, Chimayo, Di Senise, Doux Long des Landes, Espelette, Gernika, Guindilla Ibarra, Mojo Palmero, Numex 6-4, Numex Big Jim, Pasilla, Padrón, Petit Marsellais y Piquillo, así como Najerano y Bierzo dentro los de tipo grueso, serían las más adecuadas para seleccionar en este estado comercial por sus valores de CAA y FT, además Bierzo, Espelette, Gernika, Guindilla Ibarra, Jalapeño M, Mojo Palmero, Numex Big Jim, Padrón y Serrano también destacaron por la suma de flavonoides individuales. Dentro de las especies exóticas y por sus valores en CAA y FT para *C. chinense* las accesiones PI-152225, ECU-994, para *C. frutescens* BOL-144 y dentro de *C. baccatum* BOL-58, destacando esta última también por la suma de flavonoides individuales. La mayoría de los materiales mencionados también mostraron valores altos de los compuestos nutricionales en el cultivo convencional, lo que sugiere una amplia adaptación a otras condiciones de cultivo, incluyendo otros sistemas alternativos.

Además, las accesiones Bierzo, Chimayo, Di Senise, Espellete, Gernika, Guindilla Ibarra, Mojo Palmero, Padrón, Pasilla, Petit Marsellais, Piquillo y las exóticas ECU-994 y BOL-144 mostraron niveles destacables de estos compuestos bioactivos independientemente del estado de maduración, pudiendo ser recomendadas para la producción de frutos de alta calidad en ambos estados.

Por otro lado, el perfil volátil de cada variedad resultó único y de interés por sí mismo. Sin embargo, una potencial selección en función de criterios estrictamente cuantitativos sería posible. De esta manera, se pudieron diferenciar variedades con un número predominante de volátiles con contenido significativamente mayor en el cultivo ecológico respecto al convencional. En el caso del estado inmaduro destacaron las accesiones pertenecientes a *C. annuum* Bola, Guindilla Ibarra, Jalapeño M, Piquillo y Serrano y las exóticas BOL-58, ECU-994 y BOL-144. Para el estado maduro destacaron

nuevamente Bola, Jalapeño M, Piquillo y Serrano, junto con Mojo Palmero, Numex Big Jim y nuevamente la exótica BOL-144.

Finalmente, la variación de la actividad enzimática para cada fase fue apreciable, adicionalmente a la variación según el factor genotipo y su interacción con el sistema. Así, los genotipos con mayor actividad fosfatasa alcalina en fase intermedia fueron Chile de Árbol y Ancho en cultivo ecológico y Mojo Palmero y Numex 6-4 en cultivo convencional; en fase final entre plantas Espelette, BOL-58 y Chile de Árbol en cultivo convencional y Arnoia en cultivo ecológico; y en fase final en rizosfera BOL-58 y ECU-994 en cultivo ecológico y BOL-37R y Bierzo en cultivo convencional. En el caso de la actividad catalasa, para la fase intermedia predominó la actividad enzimática en la variedad Ancho en ambos cultivos, además de Chile de Árbol y BOL-144 en ecológico; para la fase final, tanto entre plantas y como en rizosfera destacaron igualmente Ancho y BOL-144 en ecológico junto con Cuneo en convencional, además de Chile de Árbol en el sistema ecológico para final entre plantas y Padrón en sistema ecológico para final en rizosfera.

Conclusiones

En conclusión, los resultados han explicado la contribución del genotipo, el estado de maduración, el sistema de cultivo y sus interacciones en la calidad nutricional (contenido en ácido ascórbico, carotenoides, fenoles totales y flavonoides individuales) y organoléptica (compuestos volátiles) para una amplia colección de pimientos *Capsicum*, incluyendo variedades tradicionales.

Para el estudio del contenido en ácido ascórbico, carotenoides y fenoles totales se encontró un amplio rango de variaciones entre las accesiones estudiadas, independientemente del estado de maduración y las condiciones de crecimiento (sistema de cultivo). Los frutos maduros presentaron niveles de los compuestos bioactivos considerablemente superiores, a excepción de unas pocas accesiones para el contenido en fenoles totales. El cultivo ecológico proporcionó, en general, niveles más altos de ácido ascórbico y compuestos fenólicos en estado maduro.

Existe una amplia variación de flavonoides individuales dependiendo principalmente del genotipo, así como del sistema de cultivo y su interacción, para cada estado de maduración. En general, a excepción de unos pocos casos, la luteolina tuvo la mayor contribución al total de flavonoides en pimiento para ambos estados de maduración, seguido de la quercetina y la miricetina, y en menor medida por la apigenina y el kenferol. El estado de maduración determinó notablemente el contenido de flavonoides. En general, el proceso de maduración aumentó el nivel de flavonoides y, concretamente, el cultivo ecológico favoreció significativamente la acumulación de flavonoides totales y luteolina durante la maduración. Se detectaron correlaciones entre los flavonoides en ambos estados de maduración, especialmente entre los principales flavonoides, luteolina y quercetina, y entre la quercetina y el kenferol, lo cual permitiría selecciones positivas indirectas.

La notable interacción genotipo \times sistema de cultivo para el contenido en ácido ascórbico y fenoles totales, y en menor intensidad para el contenido en flavonoides individuales, permitió la selección de accesiones con alto rendimiento en estos compuestos bajo condiciones de cultivo ecológico en ambos estados de maduración. Por el contrario, los efectos del sistema de cultivo y la interacción genotipo \times sistema de cultivo no resultaron significativos en los niveles de carotenoides, cuya variación se debió principalmente al factor genotipo.

Se encontraron amplias diferencias cuantitativas y cualitativas entre el perfil volátil de los frutos de pimiento, dependiendo principalmente del factor genético y la etapa de maduración, mientras que el sistema de cultivo afectó significativamente a algunos compuestos volátiles. Los cambios en el perfil volátil con la maduración fueron evidentes y muy diversos según el genotipo. En general, el sistema de cultivo ecológico favoreció la acumulación de compuestos volátiles en ambos estados de maduración y durante el proceso de maduración.

Las actividades enzimáticas fosfatasa alcalina y catalasa aumentaron durante la fase de cultivo, con actividades máximas generales en la fase intermedia, especialmente para la fosfatasa alcalina. El sistema de cultivo tuvo una mayor contribución a la variación, resultando significativo y superior para el sistema convencional en fase intermedia para ambas actividades y estando generalmente seguido del factor genotipo, significativo para la fosfatasa alcalina en fase intermedia. La interacción genotipo \times sistema de cultivo permitiría seleccionar variedades con valores superiores de actividades enzimáticas fosfatasa alcalina y catalasa en el sistema de cultivo ecológico.

Los resultados de este trabajo proporcionarán información de especial utilidad para programas de investigación en hortalizas de alto valor añadido y programas de mejora de la calidad en agricultura ecológica, así como para el control de autenticidad de variedades tradicionales.

In conclusion, the results have explained the contribution of the genotype, the ripening stage, the growing system and their interactions in the nutritional quality (content of ascorbic acid, carotenoids, total phenolics and individual flavonoids) and organoleptic (volatile compounds) for a wide collection of *Capsicum* peppers, including traditional varieties.

For the study of the content of ascorbic acid, carotenoids and total phenolics, a wide range of variations was found among the accessions studied, regardless of the ripening stage and the growing conditions (growing system). Ripe fruits presented considerably higher levels of bioactive compounds, except for a few accessions for total phenolics content. Organic cultivation generally provided higher levels of ascorbic acid and phenolic compounds in the fully ripe stage.

There is a wide variation of individual flavonoids depending mainly on the genotype, as well as the growing system and its interaction, for each ripening stage. In general, except for a few cases, luteolin had the highest contribution to total flavonoids in pepper for both ripening stages, followed by quercetin and myricetin, and to a lesser extent by apigenin and kenferol. The ripening stage highly determined the content of flavonoids. In general, the ripening process increased the level of flavonoids and, specifically, organic farming significantly favoured the accumulation of total flavonoids and luteolin during ripening. Correlations were detected between flavonoids in both ripening stages, especially between the main flavonoids, luteolin and quercetin, and between quercetin and kenferol, which would allow indirect positive selections.

The remarkable genotype \times growing system interaction for the content of ascorbic acid and total phenolics, and to a lesser extent for the content of individual flavonoids, allowed the selection of accessions with high yields in these compounds under organic cultivation conditions in both ripening stages. On the contrary, the effects of the growing system and the genotype \times growing system interaction were not significant in carotenoid levels, whose variation was mainly due to the genotype factor.

Wide quantitative and qualitative differences were found between the volatile profile of pepper fruits, depending mainly on the genetic factor and the ripening stage, while the growing system significantly affected some volatile compounds. The changes in the volatile profile with ripening were noticeable and very diverse depending on the

genotype. In general, the organic farming system favoured the accumulation of volatile compounds in both ripening stages and during the ripening process.

Alkaline phosphatase and catalase enzymatic activities increased during the cultivation phase, with average maximum activities in the intermediate phase, especially for alkaline phosphatase. The growing system had a higher contribution to the variation, being significant and superior for the conventional growing system in the intermediate phase for both activities and being generally followed by the genotype factor, significant for alkaline phosphatase in the intermediate phase. The genotype × growing system interaction would allow the selection of varieties with higher values of alkaline phosphatase and catalase enzymatic activities in the organic growing system.

The results of this work will provide information of special utility for research programs in high added value vegetables and quality improvement programs in organic farming, as well as for the authenticity control of traditional varieties.

Anexos

Material vegetal general

Para el desarrollo de esta tesis se utilizó una colección de 38 accesiones de especies cultivadas de *Capsicum*, con una alta diversidad de tipos varietales (Tabla anexa 1). Esta colección incluye diversas variedades tradicionales o ecotipos españoles con Denominación de Origen Protegida (DOP) y con Indicación Geográfica Protegida (IGP), además de variedades y ecotipos de otros países. La colección está compuesta principalmente por accesiones *C. annuum* (31 accesiones), y también se incluyen las especies exóticas *C. baccatum* (2), *C. chinense* (4) y *C. frutescens* (1).

La elección de estos materiales se ha hecho en función de sus características morfológicas, usos y procedencias, para conseguir una colección que reúna una alta diversidad y que sea representativa del panorama general del género *Capsicum*, en concreto de la especie *C. annuum*, de mayor distribución. De esta manera, la colección incluye especies utilizadas en ambos estados de maduración comercial (verde y rojo/amarillo/anaranjado/chocolate), con uso culinario en fresco y también empleadas en la industria de deshidratado, conservera y procesado.

Estos materiales se evaluaron en varios años, en dos sistemas de cultivo (ecológico y convencional) y en ambos estados de maduración comercial (verde y rojo). El elevado número de muestras que resulta de la multiplicación por cada uno de estos factores obliga a una selección de esta colección para cada trabajo, atendiendo a la dificultad de los procedimientos analíticos de cada uno (Tabla anexa 1). Para todos los análisis de los trabajos, los frutos provenían de las mismas plantas.

Para el Capítulo 1 (Calidad nutricional en el cultivo de pimiento bajo condiciones de cultivo ecológico) se utilizaron un total de 37 accesiones en el trabajo de evaluación de los compuestos bioactivos ácido ascórbico, compuestos fenólicos y carotenoides por métodos espectrofotométricos (*Response to organic cultivation of heirloom Capsicum peppers: variation in the level of bioactive compounds and effect of ripening*) y para el análisis de flavonoides individuales mediante HPLC (*Variation of flavonoids in a collection of peppers (Capsicum sp.) under organic and conventional cultivation: effect of the genotype, ripening stage and growing system*) se hizo una selección de 14 accesiones dada la mayor complejidad y coste de estos análisis (Tabla anexa 1). De manera análoga, en el Capítulo 2 (Calidad organoléptica en el cultivo de pimiento bajo condiciones de cultivo ecológico), para el estudio del perfil volátil (*Effect of organic*

farming and fruit ripening in the volatile composition of Capsicum peppers analysed by headspace/solid phase micro-extraction) se hizo una selección de 11 accesiones, dada la mayor dificultad de este procedimiento (Tabla anexa 1). En el Capítulo 3 (Estudio de la actividad enzimática en el cultivo de pimiento bajo condiciones de cultivo ecológico) el estudio de la calidad del suelo a través de la medida de la fertilidad biológica (*Estudio preliminar de la actividad enzimática fosfatasa alcalina y catalasa en cultivos ecológico y convencional de ecotipos de pimiento (Capsicum sp.)*) permitió aumentar el número de accesiones seleccionadas a 24 (Tabla anexa 1).

Tabla anexa 1. Origen y características de las accesiones *Capsicum* empleadas en los trabajos de la tesis.

Variedad/accesión	Origen	Color	Mesocarpio	Forma (Pochard)	Longitud/ancho (mm)	Peso (g)	Trabajos ¹
<i>C. annuum</i>							
Ancho	Puebla (Mexico)	Rojo oscuro	Medio	Triangular (C4)	70/45	25-50	1.a/3.d
Arnoia	IGP Pemento da Arnoia. Ourense, Galicia (España)	Rojo	Medio	Alargada (B3)	75/48	25-50	1.a/3.d
Berberé	Ethiopia. Reimer's Seeds Co.	Rojo	Fino, seco	Alargada (B4)	68/18	<10	1.a
Bierzo	Cons. Reg. IGP Pimiento Asado Bierzo. Carracedelo, León (España)	Rojo	Grueso, carnoso	Cónica/corazón (P)	104/94	100-200	1.a-b/3.d
Bola	Cons. Reg. DOP Pimentón Murcia. Totana, Murcia (España)	Rojo oscuro	Fino, seco	Redondeada (N)	35/41	10-25	1.a-b/2.c/3.d
CW Águila F1	Syngenta Seeds España	Rojo pálido	Grueso, carnoso	Cuadrada (A1-A2)	112/97	200-300	1.a
CW Línea de mejora	COMAV Institute. Valencia (España)	Rojo	Grueso, carnoso	Cuadrada (A1-A2)	119/105	200-300	1.a
Chile de Árbol	Mexico. Reimer's Seeds Co.	Rojo	Fino, seco	Muy alargada (C1)	75/10	<10	1.a/3.d
Chimayo	Chimayo, New Mexico (USA)	Rojo	Medio	Alargada (C2-C3)	141/32	25-50	1.a
Cuneo	S. Lanteri. Torino, Piedmont (Italy)	Amarillo	Grueso, carnoso	Cuadrada (A2)	115/109	>250	1.a/3.d
Di Senise	S. Lanteri. IGP Peperone di Senise. Senise, Potenza (Italy)	Rojo oscuro	Fino, seco	Alargada (C2)	152/37	25-50	1.a/3.d
Doux Long des Landes	Françoise Jourdan. INRA Geves (France)	Rojo	Medio	Muy alargada (C1)	156/23	25-75	1.a/2.c/3.d
Espelette	Françoise Jourdan. Type IGP Piment d'Espélette. INRA Geves (France)	Rojo oscuro	Fino, seco	Alargada (C3)	138/29	25-50	1.a-b/3.d
Gernika	I. Ruiz de Galarreta. IGP Gernikako Piperra. NEIKER, Euskadi (España)	Rojo oscuro	Fino, seco	Alargada (C2)	84/32	25-50	1.a-b/3.d
Guindilla Ibarra	I. Ruiz de Galarreta. EUSKO-Quality Label. NEIKER, Euskadi (España)	Rojo	Fino, seco	Muy alargada (C1)	139/11	<10	1.a-b/2.c/3.d
Jalapa F1	P.W. Bosland. NMSU, Las Cruces, New Mexico (USA)	Rojo pálido	Grueso, carnoso	Alargada (B4)	75/21	10-25	1.a
Jalapeño Candelaria	P.W. Bosland. NMSU, Las Cruces, New Mexico (USA)	Rojo pálido	Grueso, carnoso	Alargada (B4)	68/22	10-25	1.a
Jalapeño Espinalteco	P.W. Bosland. NMSU, Las Cruces, New Mexico (USA)	Rojo pálido	Grueso, carnoso	Alargada (B4)	78/22	10-25	1.a
Jalapeño M	Reimer Seeds (USA)	Rojo	Grueso, carnoso	Alargada (B4)	65/31	10-25	1.b/2.c
Mojo Palmero	Reserva Mundial de la Biosfera. La Palma, Canary Islands (España)	Rojo oscuro	Fino, seco	Alargada (C2)	56/21	10-25	1.a-b/2.c/3.d
Najerano	Cons. Reg. IGP Pimiento Riojano. Logroño, La Rioja (España)	Rojo	Grueso, carnoso	Triangular alargada (C3)	146/68	150-250	1.a/3.d
Numex 6-4	P.W. Bosland. NMSU, Las Cruces, New Mexico (USA)	Rojo pálido	Medio	Alargada (C2)	225/36	50-200	1.a/3.d
Numex Big Jim	P.W. Bosland. NMSU, Las Cruces, New Mexico (USA)	Rojo	Medio	Alargada (C2)	215/34	50-200	1.a-b/2.c
Numex Conquistador	P.W. Bosland. NMSU, Las Cruces, New Mexico (USA)	Rojo	Medio	Alargada (C2)	231/32	50-200	1.a/3.d
Padrón	Cons. Reg. DOP Pemento Herbón. Coruña/Pontevedra, Galicia (España)	Rojo	Fino, seco	Alargada (B4)	65/26	<10	1.a-b/3.d
Pasilla	Mexico. Reimer's Seeds Co.	Marrón	Fino, seco	Muy alargada (C1)	210/25	10-25	1.a/3.d
Petit Marsellais	Françoise Jourdan. INRA Geves (France)	Naranja	Fino, seco	Alargada (B2)	75/42	10-25	1.a/3.d
Pimiento Valenciano	COMAV Institute. Valencia (España)	Rojo	Grueso, carnoso	(Bell) Alargada (B1)	162/73	>250	1.a-b
Piquillo	Cons. Reg. DOP Pimiento Piquillo de Lodosa. Lodosa, Navarra (España)	Rojo oscuro	Medio	Triangular (C4)	94/48	50-100	1.a-b/2.c/3.d
Serrano Criollo	COMAV Institute. Valencia (España)	Rojo	Fino, seco	Alargada (B4)	38/14	<10	1.a
Serrano	Mexico. Reimer's Seeds Co.	Rojo	Medio	Alargada (B4)	35/16	<10	1.a-b/2.c
<i>Capsicum baccatum</i>							
BOL-37R	Sillane. Chuquisaca (Bolivia)	Rojo	Medio	Alargada	105/26	5-15	1.a/3.d
BOL-58	Cochabamba. Cochabamba (Bolivia)	Rojo oscuro	Fino, seco	Alargada	70/15	5-10	1.a-b/2.c/3.d
<i>Capsicum chinense</i>							
Ají dulce	Caracas (Venezuela)	Rojo pálido	Fino, seco	Aplanada	20/35	5-10	1.a/3.d
ECU-973	El Chaco, Napo (Ecuador)	Rojo	Fino, seco	Alargada	44/12	5-10	1.a
ECU-994	Archidona, Napo (Ecuador)	Rojo	Fino, seco	Triangular	42/15	5-10	1.a-b/2.c/3.d
PI-152225	COMAV Institute. USDA (USA)	Rojo oscuro	Fino, seco	Alargada	40/11	5-10	1.a
<i>Capsicum frutescens</i>							
BOL-144	Yapacani. Santa Cruz (Bolivia)	Rojo	Fino, seco	Muy alargada	26/6	1-3	1.a/2.c/3.d

¹ Capítulos (1, 2, 3) y trabajos (a, b, c, d) donde se han empleado los materiales.

Capítulo 1. a: Response to organic cultivation of heirloom *Capsicum* peppers: variation in the level of bioactive compounds and effect of ripening; **b:** Variation of flavonoids in a collection of peppers (*Capsicum* sp.) under organic and conventional cultivation: effect of the genotype, ripening stage and growing system; **Capítulo 2. c:** Effect of organic farming and fruit ripening in the volatile composition of *Capsicum* peppers analysed by headspace/solid phase micro-extraction; **Capítulo 3. d:** Estudio preliminar de la actividad enzimática fosfatasa alcalina y catalasa en cultivos ecológico y convencional de ecotipos de pimiento (*Capsicum* sp.).

Referencias generales

- [1] FAO. FAOSTAT 2020. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> (accessed March 2, 2020).
- [2] DeWitt D, Bosland PW. The Complete Chile Pepper Book: A Gardener's Guide to Choosing, Growing, Preserving, and Cooking 2009:336.
- [3] Milla A. *Capsicum* de capsas, cápsula : el pimiento. Pimientos Compend Horticult 2006:21–31.
- [4] Kumar S, Kumar R, Singh J. Cayenne/American pepper. Handb. Herbs Spices, vol. 3, Woodhead Publishing; 2006, p. 299–312.
- [5] Bosland PW, Votava EJ, Votava EM. Peppers: vegetable and spice capsicums. vol. 22. Cabi; 2012.
- [6] MAPA. Superficies y producciones anuales de cultivos. Superf y Prod Anu Cultiv 2020. <https://www.mapa.gob.es/es/estadistica/temas/estadisticas-agrarias/agricultura/superficies-producciones-anuales-cultivos/> (accessed March 4, 2020).
- [7] Bosland PW, Votava EJ. Peppers: Vegetable and Spice Capsicums. London: CAB International; 2000.
- [8] Hunziker AT. South American Solanaceae: a synoptic survey. In: Hawkes JG, Lester RN, Skelding AD, editors. Biol. Taxon. Solanaceae, London: Academic Press; 1979, p. 49–85.
- [9] USDA-Agricultural Research Service-National Plant Germplasm System. Germplasm Resources Information Network (GRIN-Taxonomy) 2020. <https://npgsweb.ars-grin.gov/gringlobal/taxon/taxonomysearch.aspx> (accessed March 10, 2020).
- [10] Rodríguez-Burruezo A, Nuez Viñals F. Mejora de la calidad del pimiento. In: Carrillo JM, Díez MJ, Badenes ML, Llácer G, editors. Mejor. genética la Calid. en plantas, UPV; 2006, p. 361–92.
- [11] Shizhao. Archivo: *Capsicum annuum* flower.JPG. Wikipedia 2006.

https://es.m.wikipedia.org/wiki/Archivo:Capsicum_annuum_flower.JPG
(accessed March 30, 2020).

- [12] Rodríguez A. Variabilidad en *Capsicum* 2013. Grupo Mejora de *Capsicum*-COMAV, UPV.
- [13] Nuez F, Gil R, Costa J. El Cultivo de Pimientos, Chiles y Ajíes. Madrid (España): Mundi Prensa; 2003.
- [14] Guinness World Records. Hottest chilli pepper. 2017. <https://www.guinnessworldrecords.com/world-records/hottest-chili> (accessed March 30, 2020).
- [15] Dénes E. File:Solanales-*Capsicum chinense*-1.jpg. Wikimedia Commons 2019. https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Solanales_-_Capsicum_chinense_-_1.jpg (accessed March 30, 2020).
- [16] Stefano. *Capsicum chinense* Scotch Bonnet (aka capsicum tetragonum). Flickr 2011. <https://www.flickr.com/photos/81918877@N00/5984746889> (accessed March 30, 2020).
- [17] Thurber D. File:Carolina Reaper pepper pods.jpg. Wikimedia Commons 2013. https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Carolina_Reaper_pepper_pods.jpg (accessed March 30, 2020).
- [18] Castañón-Nájera G, Latournerie-Moreno L, Leshner-Gordillo J, de la Cruz-Lázaro E, Mendoza-Elos M. Identificación de variables para caracterizar morfológicamente colectas de chile (*Capsicum* spp.) en Tabasco, México. Univ y Cienc 2010;26:225–34.
- [19] Bosland PW, Baral JB. “Bhut Jolokia” - The world’s hottest known chile pepper is a putative naturally occurring interspecific hybrid. HortScience 2007;42:222–4.
- [20] Zell H. Archivo:Capsicum frutescens “Hidalgo” 002.JPG. Wikipedia 2009. https://es.m.wikipedia.org/wiki/Archivo:Capsicum_frutescens_%27Hidalgo%27_002.JPG (accessed March 30, 2020).
- [21] Stang DJ. File:Capsicum frutescens Tabasco 2zz.jpg. Wikimedia Commons

2006.
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Capsicum_frutescens_Tabasco_2zz.jpg
(accessed March 30, 2020).
- [22] Jeganathan J. File:Capsicum chinense “Bhut Jolokia” from Nagaland JEG5208.JPG. Wikimedia Commons 2014.
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Capsicum_chinense_%27Bhut_Jolokia%27_from_Nagaland_JEG5208.JPG (accessed June 17, 2020).
- [23] Selvas VM V. File:Flor de pebrot campana.JPG. Wikimedia Commons 2013.
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Flor_de_pebrot_campana.JPG
(accessed March 30, 2020).
- [24] Rodríguez A. Diversidad en *C. baccatum* 2013. Grupo Mejora de *Capsicum*-COMAV, UPV
- [25] M-V M. *Capsicum baccatum* var. pendulum-The Bishop’s Crown or Christmas Bell. Flickr 2011. <https://www.flickr.com/photos/martius/6546010527/> (accessed March 30, 2020).
- [26] N-double-u. File:Capsicum pubescens flower and stem.jpeg. Wikimedia Commons 2012.
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Capsicum_pubescens_flower_and_stem.jpeg (accessed March 30, 2020).
- [27] Savage M. File:Peru - Cusco 098 - Peruvian rocoto peppers (7360325120).jpg. Wikimedia Commons 2012. [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Peru_-_Cusco_098_-_Peruvian_rocoto_peppers_\(7360325120\).jpg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Peru_-_Cusco_098_-_Peruvian_rocoto_peppers_(7360325120).jpg) (accessed March 30, 2020).
- [28] Falcodigiada. File:Capsicum pubescens (Rocoto).JPG. Wikimedia Commons 2015.
[https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Capsicum_pubescens_\(Rocoto\).JPG](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Capsicum_pubescens_(Rocoto).JPG)
(accessed March 30, 2020).
- [29] McLeod MJ, Guttman SI, Eshbaugh WH. Early evolution of chili peppers (*Capsicum*). *Econ Bot* 1982;36:361–8. doi:10.1007/BF02862689.

- [30] Pickersgill B. The genus *Capsicum*: a multidisciplinary approach to the taxonomy of cultivated and wild plants. *Biol Zent Bl* 1988;107:381–9.
- [31] Pochard E, Palloix A, Daubeze AM. Le piment. In: Gallais A, Bannerot H, editors. *Amélioration espèces végétales Cultiv. Objectifs critères Sel.*, Paris: INRA; 1992, p. 420–47.
- [32] Heiser CB. *Peppers-Capsicum* (Solanaceae). In: Simmonds NW, editor. *Evol. Crop plants*, London: Longman; 1976, p. 265–8.
- [33] Blanco E, Morales R. Plantas cultivadas y drogas, intercambio entre dos mundos. *La Agric. Viajera. Cultiv. y Manuf. plantas Ind. y Aliment. en España y en la América Virreinal*, Madrid (España): Real Jardín Botánico; 1990, p. 83–95.
- [34] Votava EJ, Baral JB, Bosland PW. Genetic diversity of chile (*Capsicum annuum* var. *annuum* L.) landraces from northern New Mexico, Colorado, and Mexico. *Econ Bot* 2005;59:8–17. doi:10.1663/0013-0001(2005)059[0008:GDOCCA]2.0.CO;2.
- [35] Rodríguez-Burruezo A, Pereira-Dias L, Fita A. Pimiento. In: Ruiz de Galarreta JI, Prohens J, Tierno R, editors. *Las variedades locales en la Mejor. genética plantas*, Vitoria-Gasteiz: Servicio Central de Publicaciones del Gobierno Vasco; 2016, p. 480.
- [36] Long-Solís J. *Capsicum* y cultura: la historia del chilli. New York, NY: Cornell University; 1998.
- [37] DeWitt D, Bosland PW. *Peppers of the world : an identification guide*. Ten Speed Press; 1996.
- [38] Franz Eugen Köhler. File:Illustration *Capsicum annuum*0.jpg. Wikimedia Commons 1887. https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Illustration_Capsicum_annuum0.jpg (accessed March 30, 2020).
- [39] Pickersgill B. Genetic resources and breeding of *Capsicum* spp. *Euphytica* 1997;96:129–33.
- [40] Bosland PW, Gonzalez MM. “NuMex Mirasol” chile. *HortScience*

- 1994;29:1091–1091.
- [41] Thompson HC, Kelly WC. *Vegetable Crops*. Inc. New York; 1957.
- [42] Black LL, Green SK, Hartman GL, Poulos JM. *Pepper diseases: a field guide*. Asian Vegetable Research and Development Center; 1991.
- [43] MAPAMA. Registro de Productos Fitosanitarios- 2020. <https://www.mapa.gob.es/es/agricultura/temas/sanidad-vegetal/productos-fitosanitarios/registro/menu.asp> (accessed March 6, 2020).
- [44] Bot A, Benites J. The importance of soil organic matter: Key to drought-resistant soil and sustained food production. vol. 80. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations; 2005.
- [45] Céspedes C, Ovalle C, Hirzel J. Agricultura orgánica principios y prácticas de producción. *Boletín INIA* 2005;131.
- [46] Montejo Martínez M, Torres López CP, Martínez Toledo Á, Tenorio López JA, Cruz Colín, María del Rocío Ramos Morales FR, Cuevas Díaz M del C. Técnicas para el análisis de la actividad enzimática en suelos. In: Cuevas Díaz M del C, Espinosa Reyes G, Ilizaliturri Hernández CA, Mendoza Cantú A, editors. *Métodos ecotoxicológicos para la evaluación suelos Contam. con hidrocarburos*, 2012, p. 19–46.
- [47] García-Ruiz R, Ochoa V, Hinojosa MB, Carreira JA. Suitability of enzyme activities for the monitoring of soil quality improvement in organic agricultural systems. *Soil Biol Biochem* 2008;40:2137–45.
- [48] Cerón Rincón LE, Melgarejo Muñoz LM. Enzimas del suelo: indicadores de salud y calidad. *Acta Biológica Colomb* 2005;10:5–18.
- [49] Ochoa V, Hinojosa B, Gómez-Muñoz B, García-Ruiz R. Actividades enzimáticas como indicadores de calidad del suelo en agroecosistemas ecológicos. *Iniciación a La Investig* 2007:1.
- [50] Fita A, Martínez M, Guijarro C, Rodríguez-Burruezo A, Raigón M. Efecto de la variedad y manejo del cultivo en la actividad enzimática del suelo. XI Congr. SEAE “Agricultura ecológica Fam., Álava: 2014, p. 509–16.

- [51] Nannipieri P, Giagnoni L, Landi L, Renella G. Role of Phosphatase Enzymes in Soil. In: Bünenmann E, Oberson A, Frossard E, editors. Phosphorus action. Soil Biol. vol 26, Berlin, Heidelberg: Springer; 2011, p. 215–43.
- [52] Krämer S, Green DM. Acid and alkaline phosphatase dynamics and their relationship to soil microclimate in a semiarid woodland. Soil Biol Biochem 2000;32:179–88.
- [53] Alvear Z M, Pino B M, Castillo R C, Trasar-Cepeda C, Gil-Sotres F. Efecto de la cero labranza sobre algunas actividades biológicas en un alfisol del sur de Chile. Rev La Cienc Del Suelo y Nutr Veg 2006;6:38–53.
- [54] Sharma P, Jha AB, Dubey RS, Pessarakli M. Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions. J Bot 2012;2012:1–26.
- [55] Rodríguez-Burruezo A, González-Mas M del C, Nuez F. Carotenoid Composition and Vitamin A Value in Ají (*Capsicum baccatum* L.) and Rocoto (*C. pubescens* R. & P.), 2 Pepper Species from the Andean Region. J Food Sci 2010;75:S446–53.
- [56] Pérez-López AJ, López-Nicolas JM, Núñez-Delicado E, Amor FM del, Carbonell-Barrachina ÁA. Effects of agricultural practices on color, carotenoids composition, and minerals contents of sweet peppers, cv. Almuden. J Agric Food Chem 2007;55:8158–64.
- [57] Hallmann E, Rembiałkowska E. Characterisation of antioxidant compounds in sweet bell pepper (*Capsicum annuum* L.) under organic and conventional growing systems. J Sci Food Agric 2012;92:2409–15.
- [58] Ghasemnezhad M, Sherafati M, Payvast GA. Variation in phenolic compounds, ascorbic acid and antioxidant activity of five coloured bell pepper (*Capsicum annuum*) fruits at two different harvest times. J Funct Foods 2011;3:44–9.
- [59] Gnayfeed MH, Daood HG, Biacs PA, Alcaraz CF. Content of bioactive compounds in pungent spice red pepper (paprika) as affected by ripening and genotype. J Sci Food Agric 2001;81:1580–5.

- [60] Biology Online Dictionary. Nutritive value Definition and Examples 2020. <https://www.biologyonline.com/dictionary/nutritive-value> (accessed March 14, 2020).
- [61] British Nutrition Foundation. Nutrient requirements 2020. <https://www.nutrition.org.uk/nutritionscience/nutrients-food-and-ingredients/nutrient-requirements.html> (accessed March 14, 2020).
- [62] Kalra EK. Nutraceutical - definition and introduction. *AAPS PharmSci* 2003;5:27–8.
- [63] Ministerio de la Presidencia. Real Decreto 1669/2009, de 6 de noviembre, por el que se modifica la norma de etiquetado sobre propiedades nutritivas de los productos alimenticios, aprobada por el Real Decreto 930/1992, de 17 de julio 2009.
- [64] Moreiras Tuni O, Carbajal Azcona A, Cabrera Forneiro L, Cuadrado C. Tablas de composición de alimentos : guía de prácticas. Ediciones Pirámide, Madrid, España: 2005.
- [65] Latham MC. Nutrición humana en el mundo en desarrollo, Colección FAO: Alimentación y nutrición N 29. Roma: 2002.
- [66] Urbánek L, Krčmová L, Solichová D, Melichar B, Opletalová V, Solich P. Development and validation of a liquid chromatography method for the simultaneous determination of α -tocopherol, retinol and retinyl esters in human serum using a monolithic column for the monitoring of anticancer therapy side effects. *J Sep Sci* 2006;29:2485–93.
- [67] Ates-Alagoz Z. Antioxidant Activities of Retinoidal Benzimidazole Or Indole Derivatives in In Vitro Model Systems. *Curr Med Chem* 2013;20:4633–9.
- [68] Howard LR, Smith RT, Wagner AB, Villalon B, Burns EE. Provitamin A and Ascorbic Acid Content of Fresh Pepper Cultivars (*Capsicum annum*) and Processed Jalapeños. *J Food Sci* 1994;59:362–5.
- [69] Gallie DR. L-ascorbic acid: a multifunctional molecule supporting plant growth and development. *Scientifica (Cairo)* 2013;2013.

- [70] Osuna-García JA, Wall MM, Waddell CA. Endogenous Levels of Tocopherols and Ascorbic Acid during Fruit Ripening of New Mexican-Type Chile (*Capsicum annuum* L.) Cultivars. *J Agric Food Chem* 1998;46:5093–6.
- [71] Mozafar A. *Plant Vitamins*. CRC Press; 2018.
- [72] Balasundram N, Sundram K, Samman S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chem* 2006;99:191–203.
- [73] Bravo L. Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance. *Nutr Rev* 2009;56:317–33.
- [74] Waterman PG. *Phytochemical Dictionary. A Handbook of Bioactive Compounds from Plants*. vol. 21. Taylor & Francis; 1993.
- [75] Harborne JB (Jeffrey B., Baxter H, Moss GP. *Phytochemical dictionary : a handbook of bioactive compounds from plants*. Taylor & Francis; 1999.
- [76] Taylor LP, Grotewold E. Flavonoids as developmental regulators. *Curr Opin Plant Biol* 2005;8:317–23.
- [77] de Gea JC, Tomás-Barberán F. Polifenoles y salud. *Investig Cienc* 2006;356:34–6.
- [78] Bhattacharya A, Sood P, Citovsky V. The roles of plant phenolics in defence and communication during *Agrobacterium* and *Rhizobium* infection. *Mol Plant Pathol* 2010;11:705–19.
- [79] Blum U, Shafer SR, Lehman ME. Critical Reviews in Plant Sciences Evidence for Inhibitory Allelopathic Interactions Involving Phenolic Acids in Field Soils : Concepts vs . an Experimental Model Evidence for Inhibitory Allelopathic Interactions Involving Phenolic Acids in Field Soils : *Plant Sci* 1999;18:673–693.
- [80] Alasalvar C, Grigor JM, Zhang D, Quantick PC, Shahidi F. Comparison of volatiles, phenolics, sugars, antioxidant vitamins, and sensory quality of different colored carrot varieties. *J Agric Food Chem* 2001;49:1410–6.
- [81] Romero N, Saavedra J, Tapia F, Sepúlveda B, Aparicio R. Influence of

- agroclimatic parameters on phenolic and volatile compounds of Chilean virgin olive oils and characterization based on geographical origin, cultivar and ripening stage. *J Sci Food Agric* 2016;96:583–92.
- [82] Ferrer-Gallego R, Hernández-Hierro JM, Rivas-Gonzalo JC, Escribano-Bailón MT. Influence of climatic conditions on the phenolic composition of *Vitis vinifera* L. cv. Graciano. *Anal Chim Acta* 2012;732:73–7.
- [83] Tomás-Barberán FA, Espín JC. Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. *J. Sci. Food Agric.*, vol. 81, John Wiley & Sons, Ltd; 2001, p. 853–76.
- [84] Sun J, Chu YF, Wu X, Liu RH. Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits. *J Agric Food Chem* 2002;50:7449–54.
- [85] Sala A, Recio M del C, Giner RM, Máñez S, Tournier H, Schinella G, et al. Anti-inflammatory and antioxidant properties of *Helichrysum italicum*. *J Pharm Pharmacol* 2002;54:365–71.
- [86] Cai Y, Luo Q, Sun M, Corke H. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sci* 2004;74:2157–84.
- [87] Kris-Etherton PM, Lefevre M, Beecher GR, Gross MD, Keen CL, Etherton TD. Bioactive compounds in nutrition and health-research methodologies for establishing biological function: the antioxidant and anti-inflammatory effects of flavonoids on atherosclerosis. *Annu Rev Nutr* 2004;24:511–38.
- [88] Spencer JPE. Flavonoids: modulators of brain function? *Br J Nutr* 2008;99:ES60-ES77.
- [89] Kaur C, Kapoor HC. Anti-oxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. *Int J Food Sci Technol* 2002;37:153–61.
- [90] Sulaiman SF, Yusoff NAM, Eldeen IM, Seow EM, Sajak AAB, Ooi KL, et al. Correlation between total phenolic and mineral contents with antioxidant activity of eight Malaysian bananas (*Musa* sp.). *J Food Compos Anal* 2011;24:1–10.
- [91] Wojdyło A, Oszmiański J, Czemerys R. Antioxidant activity and phenolic

compounds in 32 selected herbs. *Food Chem* 2007;105:940–9.

- [92] Winkel-Shirley B. Flavonoid biosynthesis. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology. *Plant Physiol* 2001;126:485–93.
- [93] Bae H, Jayaprakasha GK, Jifon J, Patil BS. Extraction efficiency and validation of an HPLC method for flavonoid analysis in peppers. *Food Chem* 2012;130:751–8.
- [94] Jeong WY, Jin JS, Cho YA, Lee JH, Park S, Jeong SW, et al. Determination of polyphenols in three *Capsicum annuum* L. (bell pepper) varieties using high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry: Their contribution to overall antioxidant and anticancer activity. *J Sep Sci* 2011;34:2967–74.
- [95] Marín A, Ferreres F, Tomás-Barberán FA, Gil MI. Characterization and quantitation of antioxidant constituents of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.). *J Agric Food Chem* 2004;52:3861–9.
- [96] Materska M. Bioactive phenolics of fresh and freeze-dried sweet and semi-spicy pepper fruits (*Capsicum annuum* L.). *J Funct Foods* 2014;7:269–77.
- [97] Khachik F, Goli MB, Beecher GR, Holden J, Lusby WR, Tenorio MD, et al. Effect of food preparation on qualitative and quantitative distribution of major carotenoid constituents of tomatoes and several green vegetables. *J Agric Food Chem* 1992;40:390–8.
- [98] Van Den Berg H, Faulks R, Granado HF, Hirschberg J, Olmedilla B, Sandmann G, et al. The potential for the improvement of carotenoid levels in foods and the likely systemic effects. *J Sci Food Agric* 2000;80:880–912.
- [99] Zapata N, Bañón S, Cabrera P. *El pimiento para pimenton*. Mundi-Prensa; 1992.
- [100] Wall MM, Waddell CA, Bosland PW. Variation in β -carotene and total carotenoid content in fruits of *Capsicum*. *HortScience* 2001;36:746–9.
- [101] Saini RK, Keum Y-S. Carotenoid extraction methods: A review of recent developments. *Food Chem* 2018;240:90–103.

- [102] Lee JJ, Crosby KM, Pike LM, Yoo KS, Leskovar DI. Impact of genetic and environmental variation on development of flavonoids and carotenoids in pepper (*Capsicum* spp.). *Sci Hortic (Amsterdam)* 2005;106:341–52.
- [103] Seddon JM, Ajani UA, Sperduto RD, Hiller R, Blair N, Burton TC, et al. Dietary Carotenoids, Vitamins A, C, and E, and Advanced Age-Related Macular Degeneration. *JAMA J Am Med Assoc* 1994;272:1413–20.
- [104] Matsufuji H, Nakamura H, Chino M, Takeda M. Antioxidant Activity of Capsanthin and the Fatty Acid Esters in Paprika (*Capsicum annuum*). *J Agric Food Chem* 1998;46:3468–72.
- [105] Govindarajan VS, Sathyanarayana MN. *Capsicum* - production, technology, chemistry, and quality. part v. impact on physiology, pharmacology, nutrition, and metabolism; Structure, pungency, pain, and desensitization sequences. *Crit Rev Food Sci Nutr* 1991;29:435–74.
- [106] Szallasi A, Blumberg PM. Specific binding of resiniferatoxin, an ultrapotent capsaicin analog, by dorsal root ganglion membranes. *Brain Res* 1990;524:106–11.
- [107] Scoville WL. Note on Capsicums. *J Am Pharm Assoc* 1912;1:453–4.
- [108] Boyd K, Shea SM, Patterson JW. The Role of Capsaicin in Dermatology. *Capsaicin as a Ther. Mol.*, Springer Basel; 2014, p. 293–306.
- [109] Laslett LL, Jones G. Capsaicin for Osteoarthritis Pain. *Capsaicin as a Ther. Mol.*, Springer Basel; 2014, p. 277–91.
- [110] Abdel-Salam OM. Capsaicin as a Therapeutic Molecule. *Springer Sci Bus Media* 2014;68.
- [111] Mózsik G. Capsaicin as New Orally Applicable Gastroprotective and Therapeutic Drug Alone or in Combination with Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs in Healthy Human Subjects and in Patients. *Capsaicin as a Ther. Mol.*, Springer Basel; 2014, p. 209–58.
- [112] Junior BBP, Nunes LF, Kuplich MMD, Martins MG. Aplicabilidade da pimenta (capsaicina) na estética. *Rev Interdiscip Estud Em Saúde* 2015;4:109–19.

- [113] Jarret RL, Berke T, Baldwin EA, Antonious GF. Variability for free sugars and organic acids in *Capsicum chinense*. Chem Biodivers 2009;6:138–45.
- [114] Conesa Bueno A, Artés Hernández FDA, López Rubira V, Artés Calero F. Ácidos orgánicos y azúcares en pimiento cultivado bajo distintos sistemas y conservado en atmósfera modificada. Universidad Miguel Hernández. Escuela Politécnica Superior de Orihuela; 2006.
- [115] Rohilla R, Singh VP, Singh US, Singh RK, Khush GS. Crop husbandry and environmental factors affecting aroma and other quality traits. Aromat. rices, Oxford & IBH Pub. Co; 2000, p. 201–16.
- [116] Robinson AL. Environmental Influences on Grape Aroma Potential. Murdoch University, 2011.
- [117] Mendez-Costabel MP, Wilkinson KL, Bastian SEP, Jordans C, McCarthy M, Ford CM, et al. Effect of increased irrigation and additional nitrogen fertilisation on the concentration of green aroma compounds in *Vitis vinifera* L. Merlot fruit and wine. Aust J Grape Wine Res 2014;20:80–90.
- [118] Haymon LW, Aurand LW. Volatile constituents of Tabasco peppers. J Agric Food Chem 1971;19:1131–4.
- [119] Keller U, Flath RA, Mon TR, Teranishi R. Volatiles from Red Pepper (*Capsicum* spp.). In: Teranishi R, Barrera Benitez H, editors. Qual. Sel. Fruits Veg. North Am., Washington, DC: ACS Symposium Series 170, American Chemical Society; 1981, p. 137–46.
- [120] Rodríguez-Burruezo A, Kollmannsberger H, González-Mas MC, Nitz S, Fernando N. HS-SPME comparative analysis of genotypic diversity in the volatile fraction and aroma-contributing compounds of *capsicum* fruits from the *annuum–chinense–frutescens* complex. J Agric Food Chem 2010;58:4388–400.
- [121] Kollmannsberger H, Rodríguez-Burruezo A, Nitz S, Nuez F. Volatile and capsaicinoid composition of ají (*Capsicum baccatum*) and rocoto (*Capsicum pubescens*), two Andean species of chile peppers. J Sci Food Agric 2011;91:1598–611.

- [122] Luning PA, de Rijk T, Wichers HJ, Roozen JP. Gas Chromatography, Mass Spectrometry, and Sniffing Port Analyses of Volatile Compounds of Fresh Bell Peppers (*Capsicum annuum*) at Different Ripening Stages. *J Agric Food Chem* 1994;42:977–83.
- [123] Moreno E, Fita A, González-Mas MC, Rodríguez-Burruezo A. HS-SPME study of the volatile fraction of *Capsicum* accessions and hybrids in different parts of the fruit. *Sci Hortic (Amsterdam)* 2012;135:87–97.
- [124] Carrillo JM. Erosión genética y reemplazo de variedades tradicionales. In: Ruiz de Galarreta JI, Prohens J, Tierno R, editors. *Las variedades locales en la Mejor. genética plantas*, Vitoria-Gasteiz: Eusko Jaurlaritzaren Argitalpen Zerbitzu Nagustia; 2016, p. 29–41.
- [125] Fita A, Rodríguez-Burruezo A, Boscaiu M, Prohens J, Vicente O. Breeding and Domesticating Crops Adapted to Drought and Salinity: A New Paradigm for Increasing Food Production. *Front Plant Sci* 2015;6:978.
- [126] Fonseca RM, Lopes R, Barros WS, Lopes MT., Ferreira FM. Morphologic characterization and genetic diversity of *Capsicum chinense* Jacq. accessions along the upper Rio Negro-Amazonas. *Embrapa Amaz Ocidental-Artigo Em Periódico Indexado* 2008.
- [127] Oh S-J, Song J-Y, Lee J, Lee G-A, Ko H-C, T. S, et al. Evaluation of Genetic Diversity of Red Pepper Landraces (*Capsicum annuum* L.) from Bulgaria Using SSR Markers. *J Korean Soc Int Agric* 2012;24:547–56.
- [128] Nicolai M, Cantet M, Lefebvre V, Sage-Palloix AM, Palloix A. Genotyping a large collection of pepper (*Capsicum* spp.) with SSR loci brings new evidence for the wild origin of cultivated *C. annuum* and the structuring of genetic diversity by human selection of cultivar types. *Genet Resour Crop Evol* 2013;60:2375–90.
- [129] Prohens J, Casañas F, Ferreira JJ. Variedades tradicionales en una agricultura moderna: estrategias de re-valorización. In: Ruiz de Galarreta JI, Prohens J, Tierno R, editors. *Las variedades locales en la Mejor. genética plantas*, Vitoria-Gasteiz: Servicio Central de Publicaciones del Gobierno Vasco; 2016, p. 79–100.
- [130] Brugarolas M, Martínez-Carrasco L, Martínez-Poveda A, Ruiz-Martínez JJ. A

competitive strategy for vegetable products: traditional varieties of tomato in the local market. *Spanish J Agric Res* 2009;7:294–304.

- [131] MAPA. Denominaciones de Origen e Indicaciones Geográficas Protegidas. MAPAMA 2019. <https://www.mapa.gob.es/es/alimentacion/temas/calidad-agroalimentaria/calidad-diferenciada/dop/default.aspx> (accessed February 29, 2020).
- [132] Gil Ortega R. El pimiento y sus variedades en España. *Hortofruticultura* 1992;7/8:16–21.
- [133] Comisión del Codex Alimentarius. CODEX ALIMENTARIUS FAO-WHO 1999. <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/es/> (accessed February 19, 2020).
- [134] General Assembly of IFOAM-Organics International. IFOAM - Organics International 2005.
- [135] Gómez Sal A. Aspectos ecológicos de los sistemas agrícolas. Las dimensiones del desarrollo. In: Labrador J, Altieri MA, editors. *Agroecol. y Desarro.*, Madrid (España): Mundi Prensa; 2001, p. 83–119.
- [136] Parlamento Europeo, Consejo de la Unión Europea. Reglamento (UE) 2018/848.
- [137] Kilcher L. Organic Agriculture in the Tropics and Subtropics Current Status and Perspectives. In: Huelsebusch C, Wichern F, Hemann H, Wolff P, editors. *Booksgooglecom*, vol. 89, Kassel University Press; 2007, p. 31–49.
- [138] Mäder P, Fließbach A, Dubois D, Gunst L, Fried P, Niggli U. Soil fertility and biodiversity in organic farming. *Science*. 2002;296:1694–7.
- [139] Scialabba NEH, Miller-Lindenlauf M. Organic agriculture and climate change. *Renew Agric Food Syst* 2010;25:158–69.
- [140] FAO. Organic Agriculture: ¿Qué respalda una etiqueta de producto orgánico? 2020. <http://www.fao.org/organicag/oa-faq/oa-faq3/es/> (accessed February 23, 2020).
- [141] Consejo de la Unión Europea. Reglamento (CE) n° 834/2007. D Of La Unión Eur

- 2007.
- [142] Raigón Jiménez MD. Agricultura ecológica, una realidad del siglo XXI. *Vida Rural* 2019;465:18–22.
- [143] ISO-IEC 17065 2012.
- [144] IFOAM. The Four Principles of Organic Agriculture 2020. <https://www.ifoam.bio/why-organic/shaping-agriculture/four-principles-organic> (accessed June 16, 2020).
- [145] Rahmann G. Biodiversity and Organic Farming: What do we know? *Agric For Res* 2011;3:189–208.
- [146] Bengtsson J, Ahnström J, Weibull AC. The effects of organic agriculture on biodiversity and abundance: A meta-analysis. *J Appl Ecol* 2005;42:261–9.
- [147] Mateo-Sagasta J, Marjani S, Turrall H. More people, more food, worse water?: A global review of water pollution from agriculture. Rome, Italy; Colombo, Sri Lanka: Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) and International Water Management Institute (IWMI); 2018.
- [148] Mahmood I, Imadi SR, Shazadi K, Gul A, Hakeem KR. Effects of pesticides on environment. *Plant, Soil Microbes Vol. 1 Implic. Crop Sci.*, Springer International Publishing; 2016, p. 253–69.
- [149] Lerro CC, Jones RR, Langseth H, Grimsrud TK, Engel LS, Sjödin A, et al. A nested case-control study of polychlorinated biphenyls, organochlorine pesticides, and thyroid cancer in the Janus Serum Bank cohort. *Environ Res* 2018;165:125–32.
- [150] Hunter D, Foster M, Mcarthur JO, Ojha R, Petocz P, Samman S. Evaluation of the micronutrient composition of plant foods produced by organic and conventional agricultural methods. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2011;51:571–82.
- [151] Baker BP, Benbrook CM, Groth E, Benbrook KL. Pesticide residues in conventional, integrated pest management (IPM)-grown and organic foods: Insights from three US data sets. *Food Addit Contam* 2002;19:427–46.

- [152] Rembialkowska E, Średnicka-Tober D. Organic food quality and impact on human health. *Agron Res* 2009;7:719–27.
- [153] FiBL. FiBL Statistics 2020. <https://statistics.fibl.org/> (accessed February 21, 2020).
- [154] IFOAM-Organics International. Climate Change. <https://www.ifoam.bio/en/advocacy/climate-change> (accessed February 23, 2020).
- [155] Aidt M. Climate Emergency Declaration - Call to declare a climate emergency 2020. <https://climateemergencydeclaration.org/> (accessed February 28, 2020).
- [156] Godfray HCJ, Beddington JR, Crute IR, Haddad L, Lawrence D, Muir JF, et al. Food security: The challenge of feeding 9 billion people. *Science* 2010;327:812–8.
- [157] The Royal Society. Reaping the benefits: Science and the sustainable intensification of global agriculture. The Royal Society; 2009.
- [158] Foley JA, Ramankutty N, Brauman KA, Cassidy ES, Gerber JS, Johnston M, et al. Solutions for a cultivated planet. *Nature* 2011;478:337.
- [159] Tilman D, Balzer C, Hill J, Befort BL. Global food demand and the sustainable intensification of agriculture. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011;108:20260–4.
- [160] FAO - Noticias. La agricultura necesita soluciones innovadoras para responder al cambio climático 2019. <http://www.fao.org/news/story/es/item/1255110/icode/> (accessed February 20, 2020).
- [161] FAO. La agricultura climáticamente inteligente 2019. <http://www.fao.org/climate-smart-agriculture/es/> (accessed February 21, 2020).
- [162] Meredith S, Lampkin N, Schmid O. Organic Action Plans: Development, implementation and evaluation. 2nd ed. Brussels: IFOAM EU; 2018.
- [163] Mazzoncini M, Belloni P, Risaliti R, An, Tichi D. Organic Vs Conventional Winter Wheat Quality and Organoleptic Bread Test. 3rd QLIF Congr. Hohenheim, 2007, p. 1–5.

- [164] Stertz SC, Rosa MIS, De Freitas RJS. Qualidade nutricional e contaminantes da batata (*Solanum tuberosum* L., *Solanaceae*) Convencional e orgânica na Região metropolitana de Curitiba – Paraná. Bol Do Cent Pesqui Process Aliment 2005;23.
- [165] Hajšlová J, Schulzová V, Slanina P, Janné K, Hellenäs KE, Andersson C. Quality of organically and conventionally grown potatoes: Four-year study of micronutrients, metals, secondary metabolites, enzymic browning and organoleptic properties. Food Addit Contam 2005;22:514–34.
- [166] Rembiałkowska E, Hallmann E, Global AS-CA and S V., 2005 U. Nutritive quality of tomato fruits from organic and conventional cultivation. In: Edwards J, Kowrygo B, Rejman K, editors. Culin. Arts Sci. V. Glob. Natl. Perspect., 2005, p. 193–202.
- [167] Woëse K, Lange D, Boess C, Bögl KW. A comparison of organically and conventionally grown foods-results of a review of the relevant literature. J Sci Food Agric 1997;74:281–93.
- [168] Rembiałkowska E. Zdrowotna i sensoryczna jakość ziemniaków oraz wybranych warzyw z gospodarstw ekologicznych. Fundacja Rozwój SGGW; 2000.
- [169] Guadagnin SG, Rath S, Reyes FGR. Evaluation of the nitrate content in leaf vegetables produced through different agricultural systems. Food Addit Contam 2005;22:1203–8.
- [170] Kelly SD, Bateman AS. Comparison of mineral concentrations in commercially grown organic and conventional crops - Tomatoes (*Lycopersicon esculentum*) and lettuces (*Lactuca sativa*). Food Chem 2010;119:738–45.
- [171] Pérez-López AJ, López-Nicolás JM, Carbonell-Barrachina AA. Effects of organic farming on minerals contents and aroma composition of Clemenules mandarin juice. Eur Food Res Technol 2007;225:255–60.
- [172] Edris AE, Shalaby A, Fadel HM. Effect of organic agriculture practices on the volatile aroma components of some essential oil plants growing in Egypt II: Sweet Marjoram (*Origanum marjorana* L.) essential oil. Flavour Fragr J 2003;18:345–51.

- [173] Brandt K, Leifert C, Sanderson R, Seal CJ. Agroecosystem management and nutritional quality of plant foods: The case of organic fruits and vegetables. *CRC Crit Rev Plant Sci* 2011;30:177–97.
- [174] Hallmann E, Rembiałkowska E. Ocena wartości odżywczej i sensorycznej pomidorów oraz soku pomidorowego z produkcji ekologicznej i konwencjonalnej. vol. 53. 2008.
- [175] Hallmann E, Rembiałkowska E. Zawartość związków bioaktywnych w owocach papryki z uprawy ekologicznej i konwencjonalnej. *Żywnienie Człowieka i Metab* 2007;1:538–43.
- [176] Pérez-López AJ, Del Amor FM, Serrano-Martínez A, Fortea MI, Núñez-Delicado E. Influence of agricultural practices on the quality of sweet pepper fruits as affected by the maturity stage. *J Sci Food Agric* 2007;87:2075–80.
- [177] Caris-Veyrat C, Amiot MJ, Tyssandier V, Grasselly D, Buret M, Mikolajczak M, et al. Influence of organic versus conventional agricultural practice on the antioxidant microconstituent content of tomatoes and derived purees; consequences on antioxidant plasma status in humans. *J Agric Food Chem* 2004;52:6503–9.
- [178] Bender I, Ess M, Matt D, Moor U, Tonutare T, Luik A. Quality of organic and conventional carrots. *Agron Res* 2009;7:572–7.
- [179] Rossi F, Godani F, Bertuzzi T, Trevisan M, Ferrari F, Gatti S. Health-promoting substances and heavy metal content in tomatoes grown with different farming techniques. *Eur J Nutr* 2008;47:266.
- [180] Toor RK, Savage GP, Heeb A. Influence of different types of fertilisers on the major antioxidant components of tomatoes. *J Food Compos Anal* 2006;19:20–7.
- [181] Stracke BA, Rüfer CE, Bub A, Briviba K, Seifert S, Kunz C, et al. Bioavailability and nutritional effects of carotenoids from organically and conventionally produced carrots in healthy men. *Br J Nutr* 2008;101:1664–72.
- [182] Juroszek P, Lumpkin HM, Yang RY, Ledesma DR, Ma CH. Fruit quality and bioactive compounds with antioxidant activity of tomatoes grown on-farm:

- Comparison of organic and conventional management systems. *J Agric Food Chem* 2009;57:1188–94.
- [183] Pieper JR, Barrett DM. Effects of organic and conventional production systems on quality and nutritional parameters of processing tomatoes. *J Sci Food Agric* 2009;89:177–94.
- [184] Tamm I, Tamm Ü, Ingver A. Suviteraviljade proteiinisaldus tava-ja maheviljeluses. *Agronomia* 2009;78–81.
- [185] Mäder P, Hahn D, Dubois D, Gunst L, Alföldi T, Bergmann H, et al. Wheat quality in organic and conventional farming: Results of a 21 year field experiment. *J Sci Food Agric* 2007;87:1826–35. doi:10.1002/jsfa.2866.
- [186] Worthington V. Nutritional quality of organic versus conventional fruits, vegetables, and grains. *J Altern Complement Med* 2001;7:161–73.
- [187] Heaton S. Organic farming, food quality and, human health. 2001.
- [188] Magkos F, Arvaniti F, Zampelas A. Organic food: Nutritious food or food for thought? A review of the evidence. *Int J Food Sci Nutr* 2003;54:357–71.
- [189] Chassy AW, Bui L, Renaud ENC, Van Horn M, Mitchell AE. Three-year comparison of the content of antioxidant microconstituents and several quality characteristics in organic and conventionally managed tomatoes and bell peppers. *J Agric Food Chem* 2006;54:8244–52.
- [190] Kahu K, Jänes H, Luik A, Klaas L. Yield and fruit quality of organically cultivated blackcurrant cultivars. *Acta Agric Scand Sect B Soil Plant Sci* 2009;59:63–9.
- [191] Moreira MDR, Roura SI, Del Valle CE. Quality of Swiss chard produced by conventional and organic methods. *LWT - Food Sci Technol* 2003;36:135–41.
- [192] Rapisarda P, Calabretta ML, Romano G, Intrigliolo F. Nitrogen metabolism components as a tool to discriminate between organic and conventional citrus fruits. *J Agric Food Chem* 2005;53:2664–9.
- [193] Carbonaro M, Mattera M, Nicoli S, Bergamo P, Cappelloni M. Modulation of

antioxidant compounds in organic vs conventional fruit (peach, *Prunus persica* L., and pear, *Pyrus communis* L.). *J Agric Food Chem* 2002;50:5458–62.

- [194] Kahu K, Klaas L, Kikas A. Effect of cultivars and different growing technologies on strawberry yield and fruit quality. *Agron Res* 2010;8:589–93.
- [195] Wunderlich SM, Feldman C, Kane S, Hazhin T. Nutritional quality of organic, conventional, and seasonally grown broccoli using vitamin C as a marker. *Int J Food Sci Nutr* 2008;59:34–45.
- [196] Zuchowski J, Jonczyk K, Pecio L, Oleszek W. Phenolic acid concentrations in organically and conventionally cultivated spring and winter wheat. *J Sci Food Agric* 2011;91:1089–95.
- [197] Wang SY, Chen CT, Sciarappa W, Wang CY, Camp MJ. Fruit quality, antioxidant capacity, and flavonoid content of organically and conventionally grown blueberries. *J Agric Food Chem* 2008;56:5788–94.
- [198] Tõnutare T, Moor U, Mölder K, Põldma P. Fruit composition of organically and conventionally cultivated strawberry “Polka.” *Agron Res* 2009;7:755–60.
- [199] Ren H, Endo H, Hayashi T. Antioxidative and antimutagenic activities and polyphenol content of pesticide-free and organically cultivated green vegetables using water-soluble chitosan as a soil modifier and leaf surface spray. *J Sci Food Agric* 2001;81:1426–32.
- [200] Mitchell AE, Hong Y-J, Koh E, Barrett DM, Bryant DE, Denison RF, et al. Ten-Year Comparison of the Influence of Organic and Conventional Crop Management Practices on the Content of Flavonoids in Tomatoes. *J Agric Food Chem* 2007;55:6154–9.
- [201] Faller ALK, Fialho E. Polyphenol content and antioxidant capacity in organic and conventional plant foods. *J Food Compos Anal* 2010;23:561–8.
- [202] Barrett DM, Weakley C, Diaz J V, Watnik M. Qualitative and nutritional differences in processing tomatoes grown under commercial organic and conventional production systems. *J Food Sci* 2007;72:C441--C451.
- [203] Dimberg LH, Gissén C, Nilsson J. Phenolic compounds in oat grains (*Avena*

- sativa* L.) grown in conventional and organic systems. *Ambio*, vol. 34, SpringerRoyal Swedish Academy of Sciences; 2005, p. 331–7.
- [204] Briviba K, Stracke BA, Rüfer CE, Watzl B, Weibel FP, Bub A. Effect of consumption of organically and conventionally produced apples on antioxidant activity and DNA damage in humans. *J Agric Food Chem* 2007;55:7716–21.
- [205] Brandt K, Mølgaard JP. Organic agriculture: Does it enhance or reduce the nutritional value of plant foods? *J. Sci. Food Agric.*, vol. 81, John Wiley & Sons, Ltd; 2001, p. 924–31.
- [206] Rembialkowska E. Quality of plant products from organic agriculture. *J Sci Food Agric* 2007;87:2757–62.
- [207] Reeve JR, Hoagland LA, Villalba JJ, Carr PM, Atucha A, Cambardella C, et al. Organic farming, soil health, and food quality: Considering possible links. *Adv. Agron.*, vol. 137, Academic Press Inc.; 2016, p. 319–67.
- [208] Stinner BR, Blair JM. Ecological and agronomic characteristics of innovative cropping systems. *Sustain Agric Syst* 1990:123–40.
- [209] Stinner DH. The science of organic farming. *Org. Farming An Int. Hist.*, 2007, p. 40.
- [210] Delate K, Cambardella C, Chase C, Turnbull R. A Review of Long-Term Organic Comparison Trials in the U.S. *Sustain Agric Res* 2015;4:5.
- [211] Edmeades DC. The long-term effects of manures and fertilisers on soil productivity and quality: A review. *Nutr Cycl Agroecosystems* 2003;66:165–80.
- [212] Carr P, Delate K, Zhao X. Impacts on Soil, Food, and Human Health. *Soils Hum. Heal.*, 2012, p. 241.
- [213] Karlen DL, Erbach DC, Kaspar TC, Colvin TS, Berry EC, Timmons DR. Soil Tilt: A Review of Past Perceptions and Future Needs. *Soil Sci Soc Am J* 1990;54:153–61.
- [214] Gomiero T, Paoletti MG, Pimentel D. Energy and environmental issues in organic and conventional agriculture. *CRC Crit Rev Plant Sci* 2008;27:239–54.

- [215] Pimentel D, Hepperly P, Hanson J, Douds D, Seidel R. Environmental, Energetic, and Economic Comparisons of Organic and Conventional Farming Systems. *Bioscience* 2005;55:573–82.
- [216] Reganold JP, Palmer AS, Lockhart JC, Macgregor AN. Soil quality and financial performance of biodynamic and conventional farms in New Zealand. *Science* 1993;260:344–9.
- [217] Reganold JP, Glover JD, Andrews PK, Hinman HR. Sustainability of three apple production systems. *Nature* 2001;410:926–30.
- [218] Tuomisto HL, Hodge ID, Riordan P, Macdonald DW. Does organic farming reduce environmental impacts? - A meta-analysis of European research. *J Environ Manage* 2012;112:309–20.
- [219] Gattinger A, Muller A, Haeni M, Skinner C, Fliessbach A, Buchmann N, et al. Enhanced top soil carbon stocks under organic farming. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012;109:18226–31.
- [220] Gomiero T, Pimentel D, Paoletti MG. Environmental impact of different agricultural management practices: Conventional vs. Organic agriculture. *CRC Crit Rev Plant Sci* 2011;30:95–124.
- [221] Lynch D. Environmental impacts of organic agriculture: A Canadian perspective. *Can J Plant Sci* 2009;89:621–8.
- [222] Hathaway-Jenkins LJ, Sakrabani R, Pearce B, Whitmore AP, Godwin RJ. A comparison of soil and water properties in organic and conventional farming systems in England. *Soil Use Manag* 2011;27:133–42.
- [223] Kang MS. Using genotype-by-environment interaction for crop cultivar development. *Adv. Agron.*, vol. 62, Elsevier; 1997, p. 199–252.
- [224] Moreiras O, Carbajal A, Cabrera L, Varela G. *Tablas de composición de alimentos*. Pirámide; 2005.
- [225] Howard LR, Talcott ST, Brenes CH, Villalon B. Changes in phytochemical and antioxidant activity of selected pepper cultivars (*Capsicum* species) as influenced by maturity. *J Agric Food Chem* 2000;48:1713–20.

- [226] Bae H, Jayaprakasha GK, Crosby K, Yoo KS, Leskovar DI, Jifon J, et al. Ascorbic acid, capsaicinoid, and flavonoid aglycone concentrations as a function of fruit maturity stage in greenhouse-grown peppers. *J Food Compos Anal* 2014;33:195–202.
- [227] Abushita AA, Daood HG, Biacs PA. Change in carotenoids and antioxidant vitamins in tomato as a function of varietal and technological factors. *J Agric Food Chem* 2000;48:2075–81.
- [228] Saini RK, Nile SH, Park SW. Carotenoids from fruits and vegetables: chemistry, analysis, occurrence, bioavailability and biological activities. *Food Res Int* 2015;76:735–50.
- [229] Sun M, Temelli F. Supercritical carbon dioxide extraction of carotenoids from carrot using canola oil as a continuous co-solvent. *J Supercrit Fluids* 2006;37:397–408.
- [230] Sliemstada R, Verheulb M. Review of flavonoids and other phenolics from fruits of different tomato (*Lycopersicon esculentum* mill.) cultivars. *J Sci Food Agric* 2009;89:1255–70.
- [231] Lim SH, Ha S-H, Kim JK, Chu SM, Lee SY, Cho HS, et al. Variation and Correlation Analysis of Flavonoids and Carotenoids in Korean Pigmented Rice (*Oryza sativa* L.) Cultivars. *J Agric Food Chem* 2010;58:12804–9.
- [232] Pereira-Dias L, Vilanova S, Fita A, Prohens J, Rodríguez-Burruezo A. Genetic diversity, population structure, and relationships in a collection of pepper (*Capsicum* spp.) landraces from the Spanish centre of diversity revealed by genotyping-by-sequencing (GBS). *Hortic Res* 2019;6:54.
- [233] Rodríguez-Burruezo A, Kollmannsberger H, González-Mas MC, Nitz S, Fernando N, Rodríguez-Burruezo A, et al. HS-SPME comparative analysis of genotypic diversity in the volatile fraction and aroma-contributing compounds of capsicum fruits from the *annuum–chinense–frutescens* complex. *J Agric Food Chem* 2010;58:4388–400.
- [234] Jarau S, Schulz CM, Hrnecir M, Francke W, Zucchi R, Barth FG, et al. Hexyl decanoate, the first trail pheromone compound identified in a stingless bee,

Trigona recurva. J Chem Ecol 2006;32:1555–64.

- [235] Breed MD, Stiller TM, Blum MS, Page RE. Honeybee nestmate recognition: Effects of queen fecal pheromones. J Chem Ecol 1992;18:1633–40.
- [236] Barth FG, Hrncir M, Jarau S. Signals and cues in the recruitment behavior of stingless bees (*Meliponini*). J Comp Physiol A Neuroethol Sensory, Neural, Behav Physiol 2008;194:313–27.
- [237] Shen T, Xiong Q, Zhong L, Shi X, Cao C, He H, et al. Analysis of main metabolisms during nitrogen deficiency and compensation in rice. Acta Physiol Plant 2019;41:68.
- [238] Zhang R, Tian A, Zhang H, Zhou Z, Yu H, Chen L. Amelioration of Experimental Autoimmune Encephalomyelitis by β -elemene Treatment is Associated with Th17 and Treg Cell Balance. J Mol Neurosci 2011;44:31–40.
- [239] Hilker M, Bläske V, Kobs C, Dippel C. Kairomonal effects of sawfly sex pheromones on egg parasitoids. J Chem Ecol 2000;26:2591–601.
- [240] Das S, Koner A, Barik A. A beetle biocontrol agent of rice-field weeds recognizes its host plants by surface wax long-chain alkanes and free fatty acids. Chemoecology 2019;29:155–70.
- [241] Rajan M, Chandran V, Shahena S, Mathew L. Controlled Release Pesticides as a Route to Sustainable Crop Production. Control. Release Pestic. Sustain. Agric., Springer International Publishing; 2020, p. 111–25.
- [242] Jiang CH, Xie YS, Zhu K, Wang N, Li ZJ, Yu GJ, et al. Volatile organic compounds emitted by *Bacillus* sp. JC03 promote plant growth through the action of auxin and strigolactone. Plant Growth Regul 2019;87:317–28.
- [243] Zou C, Li Z, Yu D. *Bacillus megaterium* strain XTBG34 promotes plant growth by producing 2-pentylfuran. J Microbiol 2010;48:460–6.
- [244] Bolívar-Anillo HJ, Garrido C, Collado IG. Endophytic microorganisms for biocontrol of the phytopathogenic fungus *Botrytis cinerea*. Phytochem Rev 2019:1–20.

- [245] Chamberlain DA, Wilson G, Ryan MF. trans-2-Nonenal insect repellent, insecticide, and flavor compound in carrot roots, cell suspensions, and “hairy” root cultures. *J Chem Ecol* 1991;17:615–24.
- [246] Subba A, Bharati M, Rai P, Saha D. Phytochemical composition of *Heracleum nepalense* D. Don fruit extracts and its activity against the larvae of *Aedes albopictus* (Diptera: *Culicidae*). *Int J Trop Insect Sci* 2020:1–11.
- [247] Ntalli N, Oplos C, Michailidis M, Thanasenaris A, Kontea D, Caboni P, et al. Strong synergistic activity and egg hatch inhibition by (E,E)-2,4-decadienal and (E)-2-decenal in *Meloidogyne* species. *J Pest Sci (2004)* 2016;89:565–79.
- [248] Martí MC, Camejo D, Vallejo F, Romojaro F, Bacarizo S, Palma JM, et al. Influence of fruit ripening stage and harvest period on the antioxidant content of sweet pepper cultivars. *Plant Foods Hum Nutr* 2011;66:416–23.
- [249] Navarro JM, Flores P, Garrido C, Martínez V. Changes in the contents of antioxidant compounds in pepper fruits at different ripening stages, as affected by salinity. *Food Chem* 2006;96:66–73.
- [250] Lee Y, Howard LR, Villalon B. Flavonoids and antioxidant activity of fresh pepper (*Capsicum annuum*) cultivars. *J Food Sci* 1995;60:473–6.
- [251] Shaha RK, Rahman S, Asrul A. Bioactive compounds in chilli peppers (*Capsicum annuum* L.) at various ripening (green, yellow and red) stages. *Ann Biol Res* 2013;4:27–34.
- [252] Serrano M, Zapata PJ, Castillo S, Guillén F, Martínez-Romero D, Valero D. Antioxidant and nutritive constituents during sweet pepper development and ripening are enhanced by nitrophenolate treatments. *Food Chem* 2010;118:497–503.
- [253] Bogusz Junior S, Março PH, Valderrama P, Damasceno FC, Aranda MS, Zini CA, et al. Analysis of volatile compounds in *Capsicum* spp. by headspace solid-phase microextraction and GC × GC-TOFMS. *Anal Methods* 2015;7:521–9.
- [254] Pino J, Sauri-Duch E, Marbot R. Changes in volatile compounds of Habanero chile pepper (*Capsicum chinense* Jack. cv. Habanero) at two ripening stages.

Food Chem 2006;94:394–8.

- [255] Jarrell WM, Beverly RB. The dilution effect in plant nutrition studies. *Adv Agron* 1981;34:197–224.
- [256] Marschner H. Mineral nutrition of higher plants. Cambridge Acad Press 1995:889.
- [257] Alloway BJ. Soil factors associated with zinc deficiency in crops and humans. *Environ. Geochem. Health*, vol. 31, Springer Netherlands; 2009, p. 537–48.
- [258] Lehmann A, Veresoglou SD, Leifheit EF, Rillig MC. Arbuscular mycorrhizal influence on zinc nutrition in crop plants - A meta-analysis. *Soil Biol Biochem* 2014;69:123–31.
- [259] Moriguchi T, Kita M, Tomono Y, Endo-Inagaki T, Omura M. Gene expression in flavonoid biosynthesis: Correlation with flavonoid accumulation in developing citrus fruit. *Physiol Plant* 2001;111:66–74.
- [260] García C, Hernández T, Costa F. Microbial activity in soils under mediterranean environmental conditions. *Soil Biol Biochem* 1994;26:1185–91.
- [261] Oburger E, Gruber B, Schindlegger Y, Schenkeveld WDC, Hann S, Kraemer SM, et al. Root exudation of phytosiderophores from soil-grown wheat. *New Phytol* 2014;203:1161–74.
- [262] Meena VS, Maurya BR, Verma JP. Does a rhizospheric microorganism enhance K⁺ availability in agricultural soils? *Microbiol Res* 2014;169:337–47.
- [263] Kumar A, Maurya BR, Raghuwanshi R, Meena VS, Tofazzal Islam M. Co-inoculation with *Enterobacter* and *Rhizobacteria* on yield and nutrient uptake by wheat (*Triticum aestivum* L.) in the alluvial soil under indo-gangetic plain of India. *J Plant Growth Regul* 2017;36:608–17.
- [264] Willekens H, Chamnongpol S, Davey M, Schraudner M, Langebartels C, Van Montagu M, et al. Catalase is a sink for H₂O₂ and is indispensable for stress defence in C3 plants. *EMBO J* 1997;16:4806–16.
- [265] Mhamdi A, Queval G, Chaouch S, Vanderauwera S, Van Breusegem F, Noctor

- G. Catalase function in plants: A focus on *Arabidopsis* mutants as stress-mimic models. *J Exp Bot* 2010;61:4197–220.
- [266] Ramírez LCC, Galvez ZYA, Burbano VEM. Solubilización de fosfatos: una función microbiana importante en el desarrollo vegetal. *Nov Publicación En Ciencias Biomédicas* 2014;12:67–79.
- [267] Criquet S, Ferre E, Farnet AM, Le Petit J. Annual dynamics of phosphatase activities in an evergreen oak litter: Influence of biotic and abiotic factors. *Soil Biol Biochem* 2004;36:1111–8.
- [268] Shiyin L, Lixiao N, Panying P, Cheng S, Liansheng W. Effects of pesticides and their hydrolysates on catalase activity in soil. *Bull Environ Contam Toxicol* 2004;72:600–6.
- [269] Samuel AD, Domuța C, Ciobanu C, Șandor M. Field management effects on soil enzyme activities. *Rom Agric Res* 2008:61–8.
- [270] Jones DL, Nguyen C, Finlay RD. Carbon flow in the rhizosphere: Carbon trading at the soil-root interface. *Plant Soil* 2009;321:5–33.
- [271] Marinari S, Moscatelli C, Grego S. Enzymes at plant-soil interface. *Enzym. Agric. Sci.* 1st ed., Foster City: OMICS Group eBooks; 2014, p. 94–109.
- [272] Razavi BS, Zarebanadkouki M, Blagodatskaya E, Kuzyakov Y. Rhizosphere shape of lentil and maize: Spatial distribution of enzyme activities. *Soil Biol Biochem* 2016;96:229–37.

