



# RECUPERACIÓN DE ECOTIPOS DE PIMIENTO BLANCO (*C. annuum* L.) EN BASE A SU CALIDAD NUTRICIONAL Y ADAPTACIÓN A CULTIVO ECOLÓGICO EN EL TERRITORIO DE VILLENA

MÁSTER UNIVERSITARIO DE MEJORA GENÉTICA VEGETAL



## TRABAJO FINAL DE MÁSTER

ALUMNO:

**MARISA JIMÉNEZ PÉREZ**

DIRECTOR ACADÉMICO:

**ADRIÁN RODRÍGUEZ BURRUEZO**

CODIRECTOR ACADÉMICO:

**ANA MARÍA FITA FERNÁNDEZ**

DIRECTOR EXPERIMENTAL:

**ANA MARÍA ADALID MARTÍNEZ**

## RESUMEN

El desarrollo de una mayor conciencia hacia los problemas asociados al cambio climático ha incentivado un aumento en el consumo de productos ecológicos. España es el principal productor ecológico a nivel europeo, lo que ha supuesto la creciente necesidad de identificar materiales adaptados a un sistema de producción de bajos insumos. A nivel español, el pimiento es considerado una de las hortalizas de mayor importancia económica, no solo por su versatilidad culinaria en formas, colores y sabores, sino también por suponer una importante fuente de compuestos bioactivos como la vitamina C, flavonoides, capsaicinoides o carotenoides. Así, variedades locales, como el pimiento blanco de Villena, se han convertido en materiales potenciales para su evaluación y producción bajo agricultura ecológica (AE).

Bajo el marco de un proyecto colaborativo entre la institución pública UPV-COMAV y la Cooperativa Agrícola Villena, se pretende evaluar y recuperar un conjunto de ecotipos locales de pimiento blanco de la localidad de Villena. Así, se trabajó sobre una colección de 23 genotipos, constituidos por variedades comerciales y entradas del banco de germoplasma UPV-COMAV a modo de testigos, y ecotipos locales cedidos por agricultores de la cooperativa, con buena adaptación a condiciones de bajos insumos y calidad interna del fruto. Se evaluaron durante las campañas de 2019 y 2020, realizándose dos cosechas en la campaña de 2019, en agosto y septiembre, y una selección posterior que se evaluó en 2020. Sobre estos materiales se evaluaron y estudiaron caracteres agronómicos, como el rendimiento; fenotípicos como la firmeza, espesor de la carne y los parámetros del color (colorímetro Minolta); y de calidad organoléptica y nutraceútica, cuantificando los niveles en azúcares (HPLC – IR), vitamina C y los principales flavonoides (HPLC – UV-Vis).

Los resultados de rendimiento obtenidos pusieron de manifiesto la elevada adaptación de los ecotipos locales a las condiciones agroclimáticas de la localidad de Villena mediante un sistema de bajos insumos, pues la media global del rendimiento total y el rendimiento relativo fueron superados en casi todas las ocasiones por los ecotipos locales. El análisis de tipo ANOVA sobre los parámetros fenotípicos reveló efectos significativos para los factores “Variedad”, “Mes de cosecha” y la interacción “Variedad x Mes de cosecha” para el espesor del pericarpio. Además, se revelaron efectos significativos para los factores “Variedad”, “Año”, y la interacción “Variedad x Año”, para los parámetros de color “a” y “b” y la firmeza del fruto. El análisis de tipo ANOVA realizado sobre el contenido en azúcares (sacarosa, glucosa y fructosa), vitamina C (ácido ascórbico (AsA), ácido dehidroascórbico (DHA), y total) y flavonoides (quercetina, luteolina, kaempferol y apigenina), indicó efectos de tipo significativo para los factores “Variedad”, “Mes de cosecha”, “Año”, y para las interacciones “Variedad x Mes de cosecha” y “Variedad x Año”, sobre el contenido en fructosa, sacarosa, AsA, VC total, luteolina, kaempferol y apigenina. Finalmente, el análisis de correlaciones entre los parámetros evaluados permitió obtener información valiosa para el desarrollo de futuros programas de mejora,

pues la variabilidad existente entre materiales los convierte en potenciales donantes del pimiento blanco de Villena.

Palabras clave: Agricultura ecológica, azúcares, flavonoides, pimiento blanco, vitamina C.

## ABSTRACT

The development of a higher awareness of the problems related to climate change has encouraged an increase of the consumption of organic products. Spain is the first organic producer in Europe, which has meant that there is a growing need to identify materials adapted to low input production systems. In Spain, pepper is considered one of the most economically important vegetables, not only for its culinary versatility in terms of shapes, colours and flavors, but also because it is an important source of bioactive compounds, such as vitamin C, flavonoids, capsaicinoids or carotenoids. Thus, landraces, such as the pimiento blanco de Villena, have become potential materials for evaluation and production under organic farming (OF).

In the frame of collaborative project between the public institution UPV-COMAV and the Farmers Cooperative Agrícola Villena, the aim is to evaluate and recover a set of local ecotypes of the pimiento blanco de Villena. Thus, a pepper collection of 23 genotypes was used, which included commercial varieties and accessions from the UPV-COMAV Gene Bank, used as controls, and local ecotypes, provided by farmers from the cooperative, which showed good behaviour under low input conditions and internal quality. These materials were evaluated during the 2019 and 2020 campaigns, with two harvests in the 2019 campaign, August and September. Thus, after a selection process a new evaluation was carried out in 2020. These materials were evaluated and studied for agronomic traits, such as yield; phenotypic traits such as firmness, flesh thickness and colour parameters (Minolta colorimeter); and organoleptic and nutraceutical quality, quantifying the levels of sugars (HPLC - IR), vitamin C and the main flavonoids (HPLC - UV-Vis).

The yield results showed the high adaptation of the local ecotypes to the agro-climatic conditions of the region of Villena, under a low-input system. This fact was confirmed by the fact that the mean total yield and the mean relative yield were exceeded on almost all occasions by the local ecotypes. ANOVA analysis on phenotypic parameters revealed significant effects for the factors "Variety", "Harvest month" and the interaction "Variety x Harvest month" for flesh thickness. In addition, significant effects were revealed for the factors "Variety", "Year", and the interaction "Variety x Year", for colour parameters "a" and "b" and fruit firmness. ANOVA analysis performed on sugar content (sucrose, glucose and fructose), vitamin C (ascorbic acid (AsA), dehydroascorbic acid (DHA), and total) and flavonoids (quercetin, luteolin, kaempferol and apigenin), indicated significant effects for the factors "Variety", "Harvest month", "Year", and for the interactions "Variety x Harvest month" and "Variety x Year", on the content of fructose, sucrose, AsA, total VC, luteolin, kaempferol and apigenin. Finally, the analysis of correlations between the evaluated parameters provided valuable information for the development of future breeding programmes, as the described variability between materials makes them potential donors of the pimiento blanco de Villena.

Key words: Organic farming, sugars, flavonoids, white pepper, vitamin C.

### **Agradecimientos:**

Me gustaría agradecer a todos los que habéis hecho posible esta tesina de máster a pesar de todos los problemas que hemos sufrido a lo largo de este año anterior.

Gracias a Adrián y Ana, por vuestro apoyo, guía y comprensión a lo largo de este camino.

Gracias a los compañeros de laboratorio, por transmitirme día a día tanta alegría. Sobre todo a Ana, por estar conmigo siempre mano a mano y por su ayuda sincera.

Gracias a mi familia, pues sois el pilar fundamental que me ha permitido llegar a donde estoy. Gracias especialmente a mi hermanita, por escuchar y aconsejarme siempre que lo he necesitado.

Gracias.

**ÍNDICE GENERAL:**

<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>12</b>
1.1. IMPORTANCIA ECONÓMICA DEL CULTIVO DEL PIMIENTO .....	12
1.2. DESCRIPCIÓN TAXONÓMICA, BOTÁNICA Y CITOLÓGICA .....	14
<b>1.2.1. Descripción taxonómica, citológica y botánica</b> .....	14
1.3. ORIGEN, DOMESTICACIÓN Y DIFUSIÓN DEL PIMIENTO .....	16
1.4. MANEJO DEL CULTIVO DEL PIMIENTO .....	17
<b>1.4.1. Requerimientos edafoclimáticos</b> .....	17
<i>Temperatura</i> .....	17
<i>Humedad relativa y luminosidad</i> .....	17
<i>Tipo de suelo</i> .....	18
<b>1.4.2. Labores preparatorias a la plantación</b> .....	18
<b>1.4.3. Prácticas culturales</b> .....	19
<b>1.4.4. Exigencias nutricionales</b> .....	19
<b>1.4.5. Cosecha y post-cosecha</b> .....	20
1.5. PIMIENTO BLANCO DE VILLENA .....	20
1.6. ASPECTOS DE INTERÉS EN LA MEJORA DEL CULTIVO DEL PIMIENTO .....	21
<b>1.6.1. Contenido en azúcares</b> .....	22
<b>1.6.2. Contenido en vitamina C</b> .....	22
<b>1.6.3. Contenido en flavonoides</b> .....	23
1.7. AGRICULTURA ECOLÓGICA. CARACTERÍSTICAS .....	25
1.7.1. REGLAMENTACIÓN DE LA AGRICULTURA ECOLÓGICA .....	26
<b>1.7.2. Implantación de la Agricultura Ecológica</b> .....	26
<b>1.7.3. Efecto sobre la calidad del fruto y el rendimiento</b> .....	28
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	<b>30</b>
<b>3. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	<b>31</b>
3.1. MATERIAL VEGETAL .....	31
3.2. CONDICIONES DE CULTIVO .....	32
3.3. DISEÑO EXPERIMENTAL .....	34
3.4. CARACTERIZACIÓN AGRONÓMICA Y FENOTÍPICA .....	34
3.5. PROCESADO DE MUESTRAS PARA SU POSTERIOR ANÁLISIS .....	35
3.6. ANÁLISIS DE COMPUESTOS BIOACTIVOS .....	36
<b>3.6.1. Contenido en azúcares simples</b> .....	36

<i>Extracción de azúcares en pimiento</i> .....	36
<i>Realización de la curva de calibrado</i> .....	37
<i>Análisis mediante HPLC</i> .....	38
3.6.2. <i>Contenido en vitamina C</i> .....	39
<i>Extracción de vitamina C en pimiento</i> .....	39
<i>Realización de la curva de calibrado</i> .....	39
<i>Análisis mediante HPLC</i> .....	40
3.6.3. <i>Contenido en flavonoides</i> .....	40
<i>Extracción de flavonoides en pimiento</i> .....	40
<i>Realización de la curva de calibrado</i> .....	42
<i>Análisis mediante HPLC</i> .....	42
3.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	43
3.8. CRITERIO DE EVALUACIÓN Y SELECCIÓN .....	43
<b>4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	<b>44</b>
4.1. SELECCIÓN DE MATERIALES .....	44
4.2. CARACTERIZACIÓN AGRONÓMICA .....	45
4.3. CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA .....	48
4.4. EVALUACIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS .....	54
4.4.1. <i>Contenido en azúcares</i> .....	54
4.4.2. <i>Contenido en vitamina C</i> .....	59
4.4.3. <i>Contenido en flavonoides</i> .....	63
4.5. ANÁLISIS DE CORRELACIONES PARA MEJORA INDIRECTA .....	68
<b>5. CONCLUSIONES</b> .....	<b>71</b>
<b>6. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>73</b>

**ÍNDICE DE FIGURAS:**

<b>Figura 1.</b> Usos del pimiento. a) Pimentón. b) Conserva. c) Fresco.....	12
<b>Figura 2.</b> a) Producción de chiles, pimiento picante y pimiento verde para consumo en fresco en 2019. b) Producción de chiles y pimientos para secar en 2019. ....	14
<b>Figura 3.</b> Diversidad de variedades del género <i>Capsicum</i> . ....	15
<b>Figura 4.</b> Frutos de pimiento de la variedad botánica a) abbreviatum, b) cerasiforme, c) acuminatum, d) conoides, e) longum, f) fasciculatum y g) grossum.....	15
<b>Figura 5.</b> a) Planta de pimiento. b) Raíz adulta de planta de pimiento. c) Flor de pimiento. d) Semillas de pimiento unidas a la placenta del fruto. ....	16
<b>Figura 6.</b> Localización del área propuesta como origen de ciertos taxones de <i>Capsicum</i> .....	17
<b>Figura 7.</b> Distintos estadios de maduración en el fruto del pimiento. ....	20
<b>Figura 8.</b> Pimiento blanco de Villena. ....	21
<b>Figura 9.</b> Estructura molecular del ácido L-ascórbico y ácido L-dehidroascórbico, y el intercambio de electrones entre formas. ....	23
<b>Figura 10.</b> Estructura básica de los grupos de flavonoides principales.....	24
<b>Figura 11.</b> Estructura molecular de a) luteolina, b) apigenina, c) quercetina, d) kaempherol y e) miricetina. ....	25
<b>Figura 12.</b> Representación del porcentaje de millones de hectáreas destinadas por región geográfica en el mundo al sistema de agricultura ecológica. ....	27
<b>Figura 13.</b> Los 10 países con las mayores áreas de tierra destinada a agricultura ecológica en 2017. ....	27
<b>Figura 14.</b> Campo de ensayo agroecológico de la Cooperativa Agrícola Villena donde se realizaron los ensayos con las distintas variedades de pimiento blanco.....	32
<b>Figura 15.</b> Diferentes accesiones de pimiento blanco cosechados en estado verde/inmaduro. a) Variedad comercial Skytia F1. b) Accesoión de banco de germoplasma BGV-15011. c) Variedad de agricultor Serrano. d) Variedad de agricultor Zapater. ....	33
<b>Figura 16.</b> Diferentes accesiones de pimiento blanco cosechados y cortados para su caracterización fenotípica en estado verde/inmaduro. a) Variedad comercial Skytia F1. b) Accesoión de banco de germoplasma BGV-5143. c) Variedad de agricultor Serrano. d) Variedad de agricultor Zapater. ....	35
<b>Figura 17.</b> Jugo de diferentes accesiones de pimiento blanco analizado. ....	36
<b>Figura 18.</b> Triturado de pimiento liofilizado procedente de diferentes accesiones.....	36
<b>Figura 19.</b> Filtro de jeringa de 0,22 $\mu\text{m}$ de diámetro de poro. a) Empleado en análisis de azúcares y vitamina C. b) Empleado en análisis de flavonoides. ....	37
<b>Figura 20.</b> Instrumento HPLC, asociado al monitor y un detector de índice de refracción (IR). Fuente: elaboración propia.....	37
<b>Figura 21.</b> Cromatograma de azúcares simples de pimiento blanco analizado mediante HPLC y detector de índice de refracción (IR).....	38
<b>Figura 22.</b> Cromatograma de muestra de pimiento para detección de ácido ascórbico. 40	
<b>Figura 23.</b> Liofilizado de pimiento en solución extrayente.....	41



<b>Fuente 24.</b> Muestras de pimiento en baño de ultrasonidos bajo campana de extracción. .....	41
<b>Fuente 25.</b> Muestras de pimiento en termobloque.....	41
<b>Figura 26.</b> Cromatograma de pimiento blanco para la detección de los flavonoides quercetina, luteolina, kaempferol y apigenina. Curva roja: patrón, curva azul: muestra de pimiento blanco.....	43
<b>Figura 27.</b> Frutos de pimiento de a) agricultor Serrano, b) agricultor Zapater, c) agricultor Morales, d) híbrido comercial Cynthia F1 y e) Variedad comercial Babyplant.....	44
<b>Figura 28.</b> Frutos de pimiento de a) variedad comercial Pebrot Blanc de Berga y b) accesión del banco de germoplasma BGV-5143.....	44
<b>Figura 29.</b> Matriz de correlaciones entre los compuestos bioactivos analizados, los caracteres fenotípicos y los agronómicos para la cosecha de septiembre de la campaña de 2019. ....	69

**ÍNDICE DE TABLAS:**

<b>Tabla 1.</b> Datos de área cultivada (ha) y rendimiento (t/ha) de cada continente para chiles, pimientos picantes y pimientos en fresco.....	13
<b>Tabla 2.</b> Datos de área cultivada (ha) y rendimiento (t/ha) de cada continente para chiles, pimientos picantes y pimientos en fresco. ....	13
<b>Tabla 3.</b> Variedades y accesiones de pimiento blanco empleadas en el estudio, su descripción y procedencia. ....	31
<b>Tabla 4.</b> Resumen de las variedades cultivadas en las campañas 2019 y 2020, el momento de cosecha de los frutos y la localización del ensayo. n.d. = ausencia de datos por 0% de germinación. ....	33
<b>Tabla 5.</b> Rendimiento o peso total (kg) y peso medio de 10 frutos (g) de las distintas accesiones evaluadas en agosto y septiembre de 2019.....	46
<b>Tabla 6.</b> Rendimiento o peso total (kg) y peso medio de 5 frutos (g) de las distintas accesiones evaluadas en agosto y septiembre de 2020.....	47
<b>Tabla 7.</b> Valores promedio (n = 5) de los parámetros L, a y b del color (media ± Des. Est.), la firmeza (media ± Des. Est. en escala 1-5) y el espesor (media ± Des. Est. en mm) de las distintas accesiones evaluadas en agosto y septiembre de 2019. n.d. = ausencia de datos por falta de recolecta.....	50
<b>Tabla 8.</b> Tabla ANOVA de los valores de espesor (mm) del fruto en los meses de agosto y septiembre de la campaña de 2019. ....	51
<b>Tabla 9.</b> Valores promedio (n = 5) de los parámetros L, a y b del color (media ± Des. Est.), la firmeza (media ± Des. Est. en escala 1-5) y el espesor (media ± Des. Est. en mm) de las distintas accesiones evaluadas en septiembre de 2020. ....	52
<b>Tabla 10.</b> Análisis ANOVA para los parámetros del color analizados, L, (-) a y b, durante las campañas de 2019 y 2020. ....	53
<b>Tabla 11.</b> Análisis ANOVA para los parámetros fenotípicos de firmeza y espesor, durante las campañas de 2019 y 2020. ....	54
<b>Tabla 12.</b> Valores promedio (n = 5) del contenido en fructosa, glucosa y sacarosa (media ± Des. Est. en g/kg pf) de las distintas accesiones evaluadas en las cosechas de agosto y septiembre en la campaña de 2019. n.d. = ausencia de datos por falta de recolecta. ....	55
<b>Tabla 13.</b> Análisis ANOVA para los azúcares analizados fructosa, glucosa y sacarosa en la campaña de 2019. ....	56
<b>Tabla 14.</b> Valores promedio (n = 5) del contenido en fructosa, glucosa y sacarosa (media ± Des. Est. en g/kg pf) de las distintas accesiones evaluadas en la campaña de 2020. ....	57
<b>Tabla 15.</b> Análisis ANOVA para los azúcares analizados fructosa, glucosa y sacarosa en la campaña de 2019 y 2020. ....	59
<b>Tabla 16.</b> Valores promedio (n = 5) del contenido en AsA, DHA y VC total (media ± Des. Est. en mg/kg pf) de las distintas accesiones evaluadas en las cosechas de agosto y septiembre en la campaña de 2019. n.d. = ausencia de datos por falta de recolecta. ....	60

<b>Tabla 17.</b> Análisis ANOVA para el contenido en AsA, DHA y VC en la campaña de 2019. ....	61
<b>Tabla 18.</b> Valores promedio (n = 5) del contenido en AsA, DHA y VC total (media ± Des. Est. en mg/kg pf) de las distintas accesiones evaluadas en la campaña de 2020. ....	62
<b>Tabla 19.</b> Análisis ANOVA para contenido en VC total y las dos formas redox AsA y DHA en la campaña de 2019 y 2020. ....	63
<b>Tabla 20.</b> Valores promedio (n = 5) del contenido en quercetina, luteolina, kaempferol y apigenina (media ± Des. Est. en µg/g ps) de las distintas accesiones evaluadas en las cosechas de agosto y septiembre en la campaña de 2019. n.d. = ausencia de datos por falta de recolecta. ....	65
<b>Tabla 21.</b> Análisis ANOVA para el contenido en los flavonoides quercetina, luteolina, kaempferol y apigenina en la campaña de 2019. ....	66
<b>Tabla 22.</b> Valores promedio (n = 5) del contenido en quercetina, luteolina, kaempferol y apigenina (media ± Des. Est. en µg/g ps) de las distintas accesiones evaluadas en la campaña de 2020. ....	67
<b>Tabla 23.</b> Análisis ANOVA para el contenido en los flavonoides quercetina, luteolina, kaempferol y apigenina durante las campañas de 2019 y 2020. ....	68

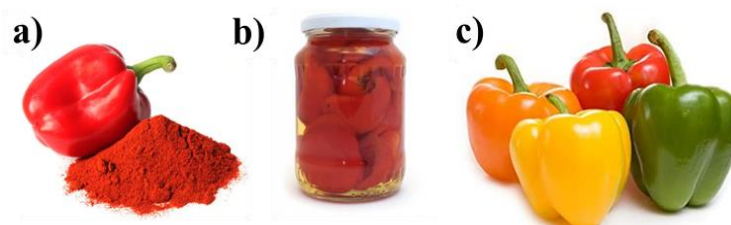
## 1. INTRODUCCIÓN

El pimiento, jalapeño o ají es una de las hortalizas de mayor popularidad a nivel mundial, destacando por su característico flavor y su gran plasticidad en el ámbito culinario (Bosland *et al.*, 2012). Dentro de sus características más cotizadas se encuentra su distintivo sabor, el particular color de sus frutos (Thampi, 2003) y la presencia de capsaicina en algunas de sus especies y variedades (De, 2003). La capsaicina es el responsable principal del sabor picante de los pimientos de tipo chili, frecuentemente utilizados para la elaboración de especias (Papoiu and Yosipovitch, 2010) e incluso lacrimógenos (Hill *et al.*, 2013). Además, también ha sido evidenciado el papel de la capsaicina en el ámbito médico, al pertenecer a un conjunto de moléculas denominadas capsaicinoides, alcaloides pungentes que parecen actuar como componentes activos con acción terapéutica (Khan *et al.*, 2014). Así, se han empleado clásicamente los pimientos picantes para tratar dolores neuropáticos y picores (Papoiu *et al.*, 2010).

Este fruto también es apreciado por sus destacados contenidos en vitamina E (Topuz *et al.*, 2007), vitamina A y vitamina C (Topuz *et al.*, 2007; Kantar *et al.*, 2016), así como por la presencia de compuestos fenólicos, carotenoides y flavonoides (Park *et al.*, 2012), de importante acción antioxidante (Bae *et al.*, 2012). Numerosos estudios han corroborado que el consumo de alimentos ricos en compuestos antioxidantes está asociado a un menor riesgo de sufrir determinados tipos de cáncer o enfermedades cardiovasculares (Kaur *et al.*, 2001). Así, la efectividad de los componentes antioxidantes de determinadas especies de pimiento ya ha sido puesta de manifiesto (Alvarez-Parrilla *et al.*, 2011; Khan *et al.*, 2014).

### 1.1. IMPORTANCIA ECONÓMICA DEL CULTIVO DEL PIMIENTO

El éxito económico del pimiento radica en sus tres grandes destinos de consumo: pimiento para pimentón (Figura 1a), para conserva (Figura 1b) y en fresco (Figura 1c) (García, 2008). Entre las especies cultivadas de pimiento, *Capsicum annuum* L. es la especie de mayor importancia económica, cultivándose en la mayor parte de las regiones templadas y tropicales del planeta (Bosland *et al.*, 2012).



**Figura 1.** Usos del pimiento. a) Pimentón. b) Conserva. c) Fresco.

Fuente: a) [www.huertapuerta.com](http://www.huertapuerta.com). b) [www.dietfarma.com](http://www.dietfarma.com) c) <https://images-na.ssl-images-amazon.com>.

Así, Asia es el continente que mayor número de hectáreas destina al cultivo de chiles, pimientos picantes y pimientos verdes para consumo en fresco del planeta,

correspondiéndose con el 66,6% del área mundial destinada a este cultivo en el año 2018. Sin embargo, su rendimiento se encuentra en cuarta posición, solo por delante del continente africano. África, aun siendo el segundo país que más área destina al cultivo del pimiento en fresco, el 15,7% del área total, es el que obtiene los rendimientos más bajos, con tan solo un 10,6%. Seguidamente, América, Europa y Oceanía presentan un área cultivada del 12,2%, del 5,4% y del 0,1%, respectivamente. Sin embargo, son los que mejores rendimientos obtienen, siendo éstos de un 19,7% en América, un 23% en Oceanía y un 28,7% en Europa (Tabla 1) (FAO, 2018).

**Tabla 1.** Datos de área cultivada (ha) y rendimiento (t/ha) de cada continente para chiles, pimientos picantes y pimientos en fresco. Fuente: FAO, 2018.

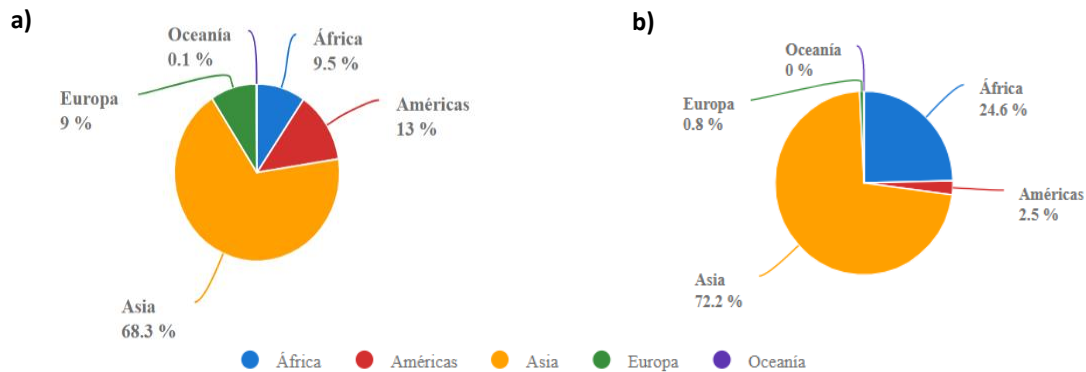
<b>Chiles, pimientos picantes, pimientos (verdes), 2018</b>				
<b>Continente</b>	<b>Área cultivada (ha)</b>	<b>Área cultivada (%)</b>	<b>Rendimiento (t/ha)</b>	<b>Rendimiento (%)</b>
Asia	1.326.527	66,6%	18,8397	18,0%
África	311.757	15,7%	11,1564	10,6%
Europa	106.904	5,4%	30,1149	28,7%
Oceanía	2.210	0,1%	24,0921	23,0%
América	243.025	12,2%	20,6950	19,7%
<b>Mundial</b>	<b>1.990.423</b>	<b>100,0%</b>	<b>104,8981</b>	<b>100,0%</b>

Si nos focalizamos en los chiles y pimientos consumidos secos, los resultados son muy similares (Tabla 2). Como se observa, Asia vuelve a ser el continente que más área destina al cultivo del pimiento, el 73,76% del área total en el año 2018, alcanzando unos rendimientos del 20,5%. África, por su parte, ocupa la segunda posición en territorio empleado para este cultivo, un 20,1% del total, obteniendo, en este caso, rendimientos muy superiores a continentes como Europa y Oceanía (23%). Así, Europa y Oceanía, destinando respectivamente casi un 4% y una superficie insignificante del total, obtuvieron rendimientos de casi el 15% y el 18%, en cada caso. Además, América, empleando tan solo el 2,26% de la superficie total de pimiento para secar, obtiene los mayores rendimientos del planeta, casi un 24% del total (FAO, 2018).

**Tabla 2.** Datos de área cultivada (ha) y rendimiento (t/ha) de cada continente para chiles, pimientos picantes y pimientos en fresco. Fuente: FAO, 2018.

<b>Chiles y pimientos secos, 2018</b>				
<b>Continente</b>	<b>Área cultivada (ha)</b>	<b>Área cultivada (%)</b>	<b>Rendimiento (hg/ha)</b>	<b>Rendimiento (%)</b>
Asia	1.310.183	73,7577%	23.046	20,5%
África	356.355	20,0613%	25.872	23,0%
Europa	69.643	3,9206%	16.691	14,8%
Oceanía	2	0,0001%	20.252	18,0%
América	40.151	2,2603%	26.641	23,7%
<b>Total</b>	<b>1.776.334</b>	<b>100,0000%</b>	<b>112.502</b>	<b>100,0%</b>

Respecto a la producción a nivel mundial, como es de esperar, Asia es el principal productor, tanto de chiles, pimientos picantes y pimientos verdes para su consumo en fresco (Figura 2a), como para chiles y pimientos para secar (Figura 2b), seguida por América, Europa, África y Oceanía.



**Figura 2.** a) Producción de chiles, pimiento picante y pimiento verde para consumo en fresco en 2019. b) Producción de chiles y pimientos para secar en 2019 Fuente: (FAO, 2019).

Dentro de los chiles, pimientos picantes y pimientos verdes para consumo en fresco, China es el principal productor, produciendo casi 19 millones de toneladas en 2019. A esta le sigue Méjico muy por detrás, produciendo 3 millones 200 mil toneladas. España se encuentra en quinta posición a nivel mundial, con una producción de 1 millón 400 mil toneladas. Sin embargo, en el caso de los chiles y pimientos para secar, India es la líder en producción, con más de 1 millón 740 mil toneladas de pimiento en 2019. A ésta le sigue Tailandia, productora de casi 350 mil toneladas (FAO, 2019).

## 1.2. DESCRIPCIÓN TAXONÓMICA, BOTÁNICA Y CITOLÓGICA

### 1.2.1. Descripción taxonómica, citológica y botánica

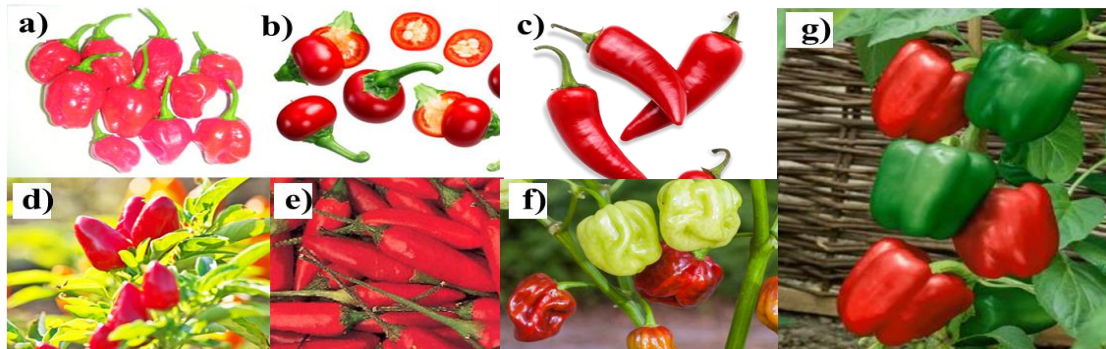
El género *Capsicum* se encuadra en la familia Solanaceae y el orden Solanales. Las especies de este género son diploides, con una dotación cromosómica mayoritaria de 24 cromosomas ( $n = x = 12$ ), entre las que se encuentra *Capsicum annuum* (Lanteri and Pickersgill, 1993; Tong and Bosland, 2003). Sin embargo, varias especies silvestres cuentan con una dotación de 26 cromosomas ( $n = x = 13$ ) (Tong and Bosland, 2003). Además, el género *Capsicum* es muy diverso tanto a nivel genético como morfológico (Figura 3), albergando más de 35 especies (García Romero, 2008; Carrizo García *et al.*, 2013), cinco de las cuales son las principales especies domesticadas cultivadas y al menos unas treinta silvestres (Bosland *et al.*, 2012; Barboza *et al.*, 2019). Las cinco formas cultivadas de *Capsicum* son *Capsicum annuum* L., *Capsicum chinense* Jacq., *Capsicum frutescens* L., *Capsicum baccatum* L. y *Capsicum pubescens* Ruiz et Pav (Kumar *et al.*, 2006).

La especie *Capsicum annuum* L. se caracteriza por su amplia gama de formas y colores, siendo difícil establecer una descripción simple de sus características (Csilléry, 2006). Dentro de esta especie se han descrito hasta siete variedades botánicas, empleando fundamentalmente los criterios de tamaño y forma del fruto: var. *Abbreviatum* Fingerh, var. *Cerasiforme* (Miller) Irish, var. *Acuminatum* (*annuum*) Fingerh, var. *Conoides*

(Miller) Irish, var. *grossum* L. Sendt, var. *fasciculatum* (Styrt) Irish y var. *longum* (DC) Sendt (Figura 4) (Purseglove, 1968).



**Figura 3.** Diversidad de variedades del género *Capsicum*. Fuente: (Kantar *et al.*, 2016).



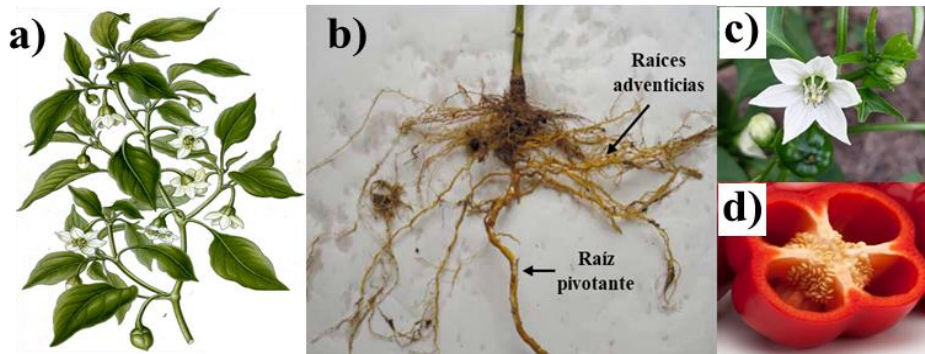
**Figura 4.** Frutos de pimiento de la variedad botánica a) *abbreviatum*, b) *cerasiforme*, c) *acuminatum*, d) *conoides*, e) *longum*, f) *fasciculatum* y g) *grossum*. Fuente: a) Olatunji *et al.*, (2019), b) alamy.es, c) pngegg.com, d) istockphoto.com, e) plants.ces.ncsu.edu, f) chilisorte.de y g) nova.co.at.

Así mismo, el pimiento es una planta herbácea, perenne y de ciclo de cultivo anual (García, 2008). La planta del pimiento (Figura 5a) suele ser erecta, aunque algunas pueden llegar a ser casi rastreras y su altura se encuentra habitualmente entre un poco más del medio metro y el metro y medio de altura (Fornaris, 2007). Presenta un sistema radicular pivotante, vigoroso y extenso (Figura 5b), pudiendo alcanzar profundidades de hasta un metro, presentando una raíz principal de la que surge un número elevado de raíces adventicias (Rodríguez, 2017).

Las flores de pimiento (Figura 5c) son hermafroditas, al presentar tanto gineceo como androceo. Además, estas flores cuentan con un pedúnculo, 5 pétalos soldados de coloración usualmente blanco lechoso y un cáliz con 5 sépalos soldados (Fornaris, 2007; Mármol, 2010).

Por su parte, el fruto del pimiento es una baya hueca, no jugosa, de piel lisa y usualmente asurcada, mostrando coloraciones verdosas generalmente en estado inmaduro, y rojos, amarillos o naranjas en estado maduro. Como se ha comentado, el fruto presenta una gran diversidad de formas y tamaños (Figura 4) (Rodríguez, 2017).

Las semillas de pimiento (Figura 5d) presentan forma ovalada o lenticular, siendo aplanadas, de color amarillento y de superficie lisa. Éstas se encuentran separadas de la carne, insertadas en una placenta de forma cónica, situada en la zona de mayor grosor del fruto (Mármol, 2010). Además, es justo en esta estructura donde la capsaicina tiende a acumularse (Rodríguez, 2017).



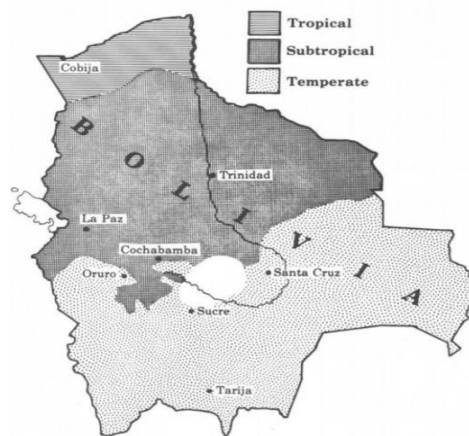
**Figura 5.** a) Planta de pimiento. b) Raíz adulta de planta de pimiento. c) Flor de pimiento. d) Semillas de pimiento unidas a la placenta del fruto. Fuente: a) Köhler (1887), b) Mármol (2010), c) [www.turismodeobservacion.com](http://www.turismodeobservacion.com). d) [www.nunhems.com](http://www.nunhems.com).

### 1.3. ORIGEN, DOMESTICACIÓN Y DIFUSIÓN DEL PIMIENTO

El origen del género *Capsicum* se encuentra situado en la región tropical de América del Sur que se corresponde con un área amplia que incluye los actuales territorios de Bolivia (Figura 6) (McLeod *et al.*, 1982), Perú, Ecuador y Colombia, es decir, a lo largo de los Andes, situados en el noroeste de América de Sur (Carrizo García *et al.*, 2016). Esta región geográfica se correspondía con un área semiárida, libre de heladas y situada a unos 2.000 metros por encima del nivel del mar (McLeod *et al.*, 1982). Así, una especie ancestral, posiblemente similar a la especie *Capsicum chacoense*, se difundió y daría lugar al resto de especies *Capsicum* tras una serie de mutaciones e hibridaciones espontáneas. De este modo, la expansión del género continuaría alrededor de la cuenca del Amazonas, desplazándose hacia el centro y sureste de Brasil. De este punto, volvería al oeste sudamericano para dirigirse, finalmente, hacia América Central (Carrizo *et al.*, 2016). Así, los Andes occidentales de América del Sur se corresponden con un centro significativo de especiación y dispersión de las especies del género *Capsicum* hacia el norte, principalmente para la especie *Capsicum annuum* (Carrizo *et al.*, 2013).

La domesticación de las cinco especies cultivadas de pimiento se llevó a cabo de manera independiente desde el 6.000 BC (Perry *et al.*, 2007). Entrando más en detalle, *Capsicum annuum* fue domesticada inicialmente en la región de Méjico, *Capsicum frutescens* en el área del Caribe, *Capsicum chinense* en la cuenca del Amazonas, y *Capsicum baccatum* y *Capsicum pubescens* presentan su centro de domesticación en Bolivia (Pickersgill, 2007; Kraft *et al.*, 2014).





**Figura 6.** Localización del área propuesta como origen de ciertos taxones de *Capsicum*. Fuente: McLeod *et al.* (1982).

Con las posteriores exploraciones, el pimiento se difundió por todo el planeta, sufriendo nuevas domesticaciones en centros secundarios de diversificación (Bosland *et al.*, 2012). Además, la realización de selecciones artificiales por agricultores de distintas regiones geográficas acabó desembocando en una vasta diversidad genética, compuesta por variedades nativas o autóctonas, adaptadas a condiciones agroclimáticas y de manejo particular (Djian-Caporalino *et al.*, 2007). Concretamente, *Capsicum annum* fue la especie con una expansión y aceptación más exitosa, dando lugar a pimientos de tipo dulce y picante en distintas regiones del planeta. Sin embargo, las especies *Capsicum pubescens* y *Capsicum baccatum* han quedado fundamentalmente restringidos en la región andina de América del Sur y la región central de las Tierras Altas americanas. Por su parte, *Capsicum frutescens* y *Capsicum chinense* son cultivados principalmente en África, Asia y América del sur para su uso como especia (Bosland *et al.*, 2012).

#### 1.4. MANEJO DEL CULTIVO DEL PIMIENTO

##### 1.4.1. *Requerimientos edafoclimáticos*

###### *Temperatura*

Como se puede inferir a partir del origen de este cultivo, el pimiento es propio de climas cálidos, requiriendo temperaturas diurnas entre los 20 y 25 °C y nocturnas entre 16 y 18 °C. Así, este cultivo vegeta de manera inadecuada cuando se alcanzan temperaturas inferiores a los 15°C, induciéndose un cuajado de frutos de pequeño tamaño y mala calidad si se produce dicho crecimiento entre los 8 y 10 °C (Sánchez, 1970).

###### *Humedad relativa y luminosidad*

El pimiento es una planta que se adapta adecuadamente a un ambiente de humedad relativa elevada, pues su humedad óptima oscila entre el 50% y el 70%. Adicionalmente, el pimiento requiere de mucha luz, especialmente durante la floración. Así, un déficit de

ésta acaba provocando un ahilamiento de la planta, implicando un alargamiento de los tallos y entrenudos, lo que se traduce en un debilitamiento de la planta y en una peor cosecha (Deker, 2011).

### ***Tipo de suelo***

Los suelos arcillosos no son adecuados para este cultivo, ya que inducen a asfixia radicular y tienden a favorecer determinadas enfermedades del suelo. De este modo, este tipo de suelos es responsable de una reducción considerable del tamaño del fruto y de su calidad. Así mismo, los suelos de elevada salinidad tampoco son aptos para el pimiento, ya que son responsables de un retraso en el desarrollo y, nuevamente, de una reducción en el tamaño de los frutos recolectados (García, 2008). Por ello, el pimiento se considera moderadamente sensible a la salinidad, pudiendo descender sus rendimientos desde un 10% a un 50% con valores de conductividad eléctrica que varíen entre 2 dS/m y 5dS/m (Serraño, 2011).

Así, los suelos más adecuados para el cultivo del pimiento son aquellos que cuentan con una textura media areno-limosa y franco-arenosa, que son sueltos, profundos, ricos en materia orgánica, siendo óptimo el contenido entre un 3% y 4%, abundantes en nitrógeno y fósforo y con un pH comprendido entre 6,5 y 7, pudiendo ascender a pH entre 7 y 8 en suelos enarenados (Serraño, 2011; Pinto and Alvarez, 2018).

#### ***1.4.2. Labores preparatorias a la plantación***

Debido a que el pimiento suele ser un cultivo al que se le exige elevados rendimientos, es un punto crucial llevar a cabo una buena preparación del suelo o sustrato. Así, las labores culturales dirigidas al suelo consisten en llevar a cabo una remoción del mismo, con el fin de aportar la estructura aireada y mullida que necesita la planta del pimiento para desarrollarse adecuadamente (López-Marin *et al.*, 2013). Seguidamente, se puede aplicar una capa de arena adicional de 10 cm de espesor, empleándose habitualmente la que se denomina como “grano de arroz”. Los enarenados son una labor imprescindible cuando se cultiva en terreno de elevada infertilidad y aguas de riego de baja calidad (Mármol, 2010).

Es habitual aplicar labores de subsolado cada 3-4 años, con el objetivo de eliminar los endurecimientos provocados en el suelo por cultivos anteriores. De esta manera se promueve la infiltración del agua y el lavado de sales a través del mismo (Sánchez, 2014). Seguidamente, se deben retirar los elementos de mayor grosor del terreno, de forma que no obstaculicen el resto de labores, así como la vegetación espontánea que pueda surgir. Seguidamente, se desmenuza la tierra, para generar una superficie mullida, y, adicionalmente, se le va aportado el abonado orgánico, envolviéndolo con el resto de tierra, sobre la cual, se aplicará la capa de arena (Mármol, 2010).

Otro factor importante es la desinfección del suelo o del sustrato, pues el pimiento es muy susceptible a multitud de patógenos que habitan en este medio. Un método preferible a la desinfección química es la solarización o biosolarización del terreno (Guerrero, 2012).

Respecto a la disposición de las plántulas, los marcos de plantación del pimiento son muy diversos, pudiendo variar en densidades de cultivo desde las 10.000 plantas/ha a las 33.000 plantas/ha (Mármol, 2010).

### **1.4.3. Prácticas culturales**

Una vez se tiene el cultivo establecido, es necesario desarrollar una serie de labores para que la planta del pimiento se desarrolle adecuadamente y se favorezca el buen cuajado de los frutos. Las plantas deben entutorarse, con el fin de mantenerlas erguidas y favorecer la ventilación (García, 2008). También es recomendable llevar a cabo un aporcado de los tallos principales, con el fin de fortalecer el sistema radicular. Otras labores consisten en aplicar una serie de podas, realizar destallados de los tallos interiores para favorecer el desarrollo de los tallos conservados tras la poda de formación, así como deshojados de las hojas senescentes o enfermas (Di Fabio *et al.*, 1999; Mármol, 2010).

El riego es un factor clave a lo largo del cultivo, el cual debe controlarse minuciosamente para evitar un defecto o exceso del mismo. La sensibilidad al estrés hídrico en el pimiento es máxima en las fases de floración y cuajado de los primeros frutos. Así, un riego inadecuado puede ser responsable de caída de flores, frutos que acaban de cuajar o de necrosis (García, 2008). De esta forma, los caudales deben ser ligeros en etapas tempranas, aplicando cierto estrés hídrico tras el arraigo de la plántula, para favorecer el desarrollo radicular. Sin embargo, en el momento de la fecundación de las flores, los riegos deben darse con mayor frecuencia para favorecer el cuajado adecuado de los frutos (Mármol, 2010).

### **1.4.4. Exigencias nutricionales**

El pimiento es altamente sensible al nitrógeno (N), presentando elevadas exigencias de este nutriente a lo largo del ciclo, siendo también importante tras el cuajado de los primeros frutos (Sánchez, 2014). El potasio (K) es otro elemento importante en el pimiento, siendo crucial en aspectos como la precocidad, la coloración y la calidad del fruto. Esto último es así porque este elemento está involucrado en una mejor formación y sabor del pimiento (Camacho, 2003). Además, este elemento interviene en el aprovechamiento del agua al estar involucrado en la turgencia celular (López-Marin *et al.*, 2013). El potasio interacciona con otros elementos de importancia, como el nitrógeno, ya comentado, y afectar a la adecuada absorción del magnesio (Mg) y del calcio (Ca) (Camacho, 2003). Además, se ha visto una influencia por parte del magnesio sobre la coloración de la porción vegetativa de la planta y en la producción, siendo importante su aporte durante la maduración del fruto. El calcio, por su parte, interviene en la adecuada formación del fruto y en aportar una mayor resistencia a los tejidos, provocando necrosis apical cuando éste se encuentra en déficit (Sánchez, 2014). Respecto al fósforo (P), éste debe aportarse especialmente al inicio del cultivo, ya que es eficaz estimulando el desarrollo del sistema radicular. Además, este elemento permite tejidos vegetales más resistentes y favorece la floración (López-Marin *et al.*, 2013).

### 1.4.5. Cosecha y post-cosecha

El fruto del pimiento se cosecha manualmente, manteniendo el pedúnculo adherido a la superficie superior del fruto (Fornaris, 2005). El pimiento, al no tratarse de un fruto climatérico, es decir, no experimenta un aumento en la producción y contenido de etileno tras su cosecha, debe recolectarse con la madurez deseada para su comercialización (Figura 7) (Escalona *et al.*, 2019). Un pimiento de calidad comercial se caracteriza por presentar paredes firmes, gruesas y brillantes, presentando a su vez un cáliz y pedúnculo turgentes y de coloración verde (del Pino, 2020).

Una vez cosechados, para conservar la calidad del pimiento durante el periodo que se mantengan almacenados o transportándose, es importante su conservación en cámara refrigerada. Las condiciones que permiten extender su vida comercial incluso 2-3 semanas suelen encontrarse entre los 7 y 10°C, a una humedad relativa de 90-95 % (Escalona *et al.*, 2019).



**Figura 7.** Distintos estadios de maduración en el fruto del pimiento. Fuente: Escalona *et al.*, (2019).

### 1.5. PIMIENTO BLANCO DE VILLENA

El pimiento blanco de Villena (Figura 8) engloba a un compendio de ecotipos autóctonos de pimiento que han sido cultivados, seleccionados y conservados por los agricultores locales de Villena durante decenas de años. El principal interés que presentan variedades locales como ésta reside en el acervo genético tan amplio que suponen frente a las variedades comerciales actuales. Esta variabilidad permite la búsqueda y selección de genes de interés relacionados con la calidad nutricional y agronómica, así como con la adaptación a sistemas de producción más sostenibles, pues las variedades locales, generalmente, se encuentran adaptadas a un manejo de bajos o moderados insumos. Su gran relevancia a nivel genético se debe a que los híbridos de pimiento, los cuales se cultivan actualmente de forma intensiva en gran parte del planeta, provienen de un procedimiento de fitomejoramiento que ha supuesto un cuello de botella importante en la diversidad de esta especie, implicando la pérdida de multitud de alelos y caracteres de interés.

El ideotipo del pimiento blanco de Villena se corresponde con un pimiento de tamaño reducido, de morfotipo lamuyo y con un pericarpio de color blanquecino verdoso en estado inmaduro, momento habitual de su consumo (*Tesoro Agroecológico de Villena*, 2018). Su uso está destinado fundamentalmente a conserva o procesado. Además, debido a la gran labor de los agricultores de Villena, presenta una muy buena adaptación a la climatología de la localidad.



**Figura 8.** Pimiento blanco de Villena.  
Fuente: Tesoro Agroecológico de Villena, (2018).

El atractivo que reside sobre este cultivo, además de la diversidad genética comentada anteriormente, se encuentra en su interesante calidad organoléptica, así como en su potencial comportamiento en condiciones de manejo sostenible de bajos insumos. Entre los principales compuestos bioactivos que se pueden detectar en el pimiento blanco de Villena, se encuentra una interesante actividad provitamínica A, así como un destacado contenido en vitamina C y en diversos compuestos fenólicos. Además, se han determinado genotipos de gran calidad sensorial gracias a la combinación de azúcares, ácidos y volátiles, responsables de unas cualidades organolépticas que ensalzan a este cultivo alicantino (*Tesoro Agroecológico de Villena, 2018*).

Debido al interés que supone esta variedad local, la evaluación y selección realizada sobre ella podría dar la oportunidad de emplearla en futuros programas de mejora o protegerla bajo una marca de calidad. Esto permitiría reconocer la gran labor agrícola realizada por parte de los agricultores de la localidad de Villena, así como promocionar su venta local, y preferiblemente, elevar su conocimiento a nivel nacional.

#### 1.6. ASPECTOS DE INTERÉS EN LA MEJORA DEL CULTIVO DEL PIMIENTO

Los objetivos de mejora clásicos en el cultivo del pimiento se pueden resumir en dos grandes puntos: incrementar el rendimiento y mejorar la calidad del fruto. En relación a la calidad del fruto, se han realizado grandes esfuerzos en aumentar una mayor gama de colores en estado maduro, que pueden variar desde el rojo, pasando por amarillo y naranja, como se ha comentado anteriormente. Esto es así porque, además de resultar atractivos para el consumidor, son los pimientos con estos colores tan llamativos los que suelen presentar mayores concentraciones de los precursores de la vitamina A, como son el  $\alpha$  y  $\beta$ -caroteno (Tomlekova *et al.*, 2008), así como la  $\beta$ -criptoxantina (Lorenzo *et al.*, 2017), los cuales son beneficiosos para la salud humana. La mejora de la calidad también engloba el desarrollar nuevas variedades ricas en antioxidantes, destacando los programas de mejora enfocados hacia un incremento en el contenido en vitamina C y en flavonoides, aunque también se ha trabajado con el contenido en otras vitaminas y en desarrollar sabores más agradables (Sharma *et al.*, 2020). Por tanto, la calidad de este fruto viene determinada claramente por su composición química, la cual se encuentra influenciada tanto por factores genéticos, el estadio de maduración y por factores ambientales,

especialmente las labores de manejo, como son el riego o la fertilización empleados (Simonne *et al.*, 1997; Estrada *et al.*, 2000).

Los objetivos de mejora en pimiento también están focalizados hacia rasgos agronómicos como la precocidad, el número de frutos, el peso por fruto o el rendimiento. Sin embargo, este tipo de características pueden verse mermadas por la acción de enfermedades o plagas, o una adaptación inadecuada a determinados ambientes. Así, la mejora en pimiento también se encuentra orientada hacia una mayor resistencia o tolerancia hacia estreses bióticos y abióticos (Pinto and Saavedra, 2018).

### **1.6.1. Contenido en azúcares**

El contenido en azúcares es una medida clave de la calidad interna del pimiento. Sin embargo, los estudios acerca de la composición bioquímica de este cultivo en los años previos a la década de los 80, habían proclamado que este fruto presentaba un nulo contenido en ácidos y pobre en azúcares (Rodríguez-Burruezo *et al.*, 2006; Bosland *et al.*, 2012). Actualmente, se conoce la importante contribución de los azúcares en las propiedades organolépticas del pimiento (Jarret *et al.*, 2009), percibiendo el contenido en éstos a través del dulzor, el aroma y el sabor. Dentro de los azúcares, la fructosa y glucosa son los que suelen encontrarse en mayores concentraciones en este fruto (Denev *et al.*, 2019). De forma general, los azúcares son máximos cuando el fruto se encuentra en estado maduro, especialmente cuando estos son suculentos (Bosland *et al.*, 2012), predominando en este estado de madurez la glucosa (90-98%) (Rehuš and Valšíková, 2019).

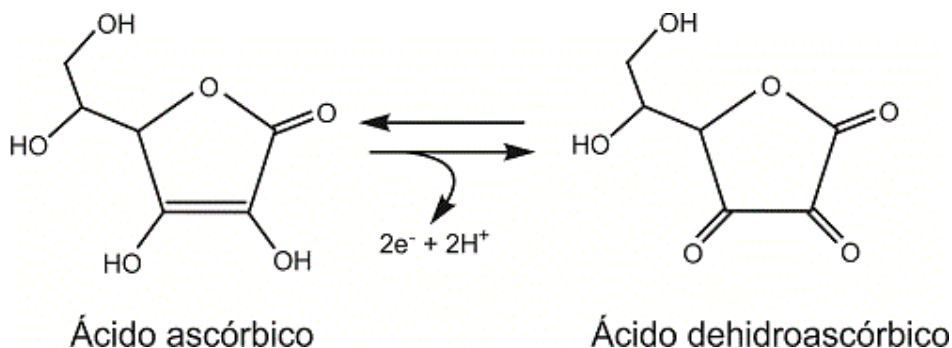
### **1.6.2. Contenido en vitamina C**

El ácido L-ascórbico, también conocido como vitamina C, es una vitamina hidrosoluble esencial para el ser humano (Serra and Cafaro, 2007). Ésta se encuentra en multitud de frutas y verduras, variando ampliamente entre éstos. En un estudio comparativo de 66 hortalizas, el chile rojo fue el que presentó el mayor contenido de este compuesto, detectándose una cantidad superior a 2 mg/g en peso fresco (pf) (Isabelle *et al.*, 2010).

Realmente, la vitamina C es el compendio de dos componentes que constituyen una pareja redox, siendo estos el ácido L-ascórbico (con poder antioxidante) y el ácido L-dehidroascórbico (con poder reductor), siendo ambas formas reversibles entre sí (Figura 9) (Chebrolu *et al.*, 2012).

El ácido L-ascórbico es un compuesto clave en la salud humana debido a su importante acción antioxidante (Wahyuni *et al.*, 2013; García *et al.*, 2016). Entre los papeles reconocidos por esta vitamina se encuentra su intervención en la prevención del escorbuto (Castillo-Velarde, 2019), el mantenimiento del colágeno (Levine, 1986), en la síntesis de carnitina en músculo, la cual es importante para el transporte de ácidos grasos y producción de energía (Hulse, Ellis and Henderson, 1978), en los procesos de reparación y cicatrización de heridas, en la reducción del riesgo de enfermedades cardiovasculares y

determinados cánceres (Naidu, 2003) y en la absorción de hierro en la dieta (Hallberg, 1981), entre otros aspectos. Así, los requerimientos diarios de ácido L-ascórbico, según la Food and Drug Administration (FDA), se encuentran entre 60-100 mg/dl (García *et al.*, 2016).



**Figura 9.** Estructura molecular del ácido L-ascórbico y ácido L-dehidroascórbico, y el intercambio de electrones entre formas. Fuente: <https://www.metabolismo.biz/web/wp-content/uploads/Ascorbate.gif>

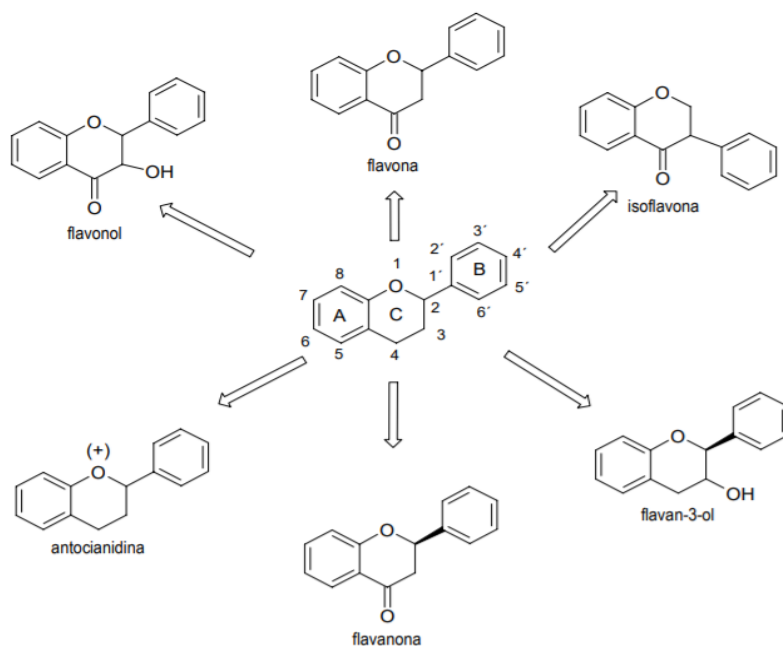
Se han publicado estudios contradictorios sobre el estado de maduración en el cual se produce una mayor acumulación de vitamina C (Perla *et al.*, 2016). Tener conocimientos sobre los cambios fisicoquímicos y la actividad antioxidante en el fruto, asociados al proceso de maduración, es importante para establecer el manejo de la cosecha y postcosecha más adecuados (Mendoza-Sánchez *et al.*, 2015).

Incrementar el contenido de este compuesto bioactivo en el fruto del pimiento es uno de los grandes objetivos de mejora desde el punto de vista de la calidad nutricional.

### 1.6.3. Contenido en flavonoides

Entre los compuestos responsables del sabor y olor característicos del fruto del pimiento se encuentran los compuestos fenólicos. Así, dentro de éstos, los que intervienen en los cambios de color y sabor durante la maduración del fruto se corresponden con un grupo de metabolitos secundarios. Estos metabolitos son sintetizados por las plantas frente a situaciones de estrés, como el ataque de microorganismos o de insectos (Harborne and Williams, 2000). A nivel químico, los compuestos fenólicos tienen en común la presencia de un anillo bencénico con diversos grupos hidroxilo (OH), a los que se les une estructuras de tipo aromático o alifático (Croteau *et al.*, 2000). Los compuestos fenólicos, a su vez, se dividen en dos grandes grupos en función de su estructura química, diferenciando entre los compuestos flavonoides y los no flavonoides (Waterhouse, 2002).

Los flavonoides son compuestos polifenólicos (Quiñones *et al.*, 2012) de bajo peso molecular, los cuales constituyen el grupo de mayor relevancia dentro de los compuestos fenólicos debido a su gran diversidad estructural (Figura 10) y abundancia en frutas y verduras (Tomás-Barberán and Espín, 2001), destacando en hortalizas como el pimiento (Serrano Martínez, 2009).



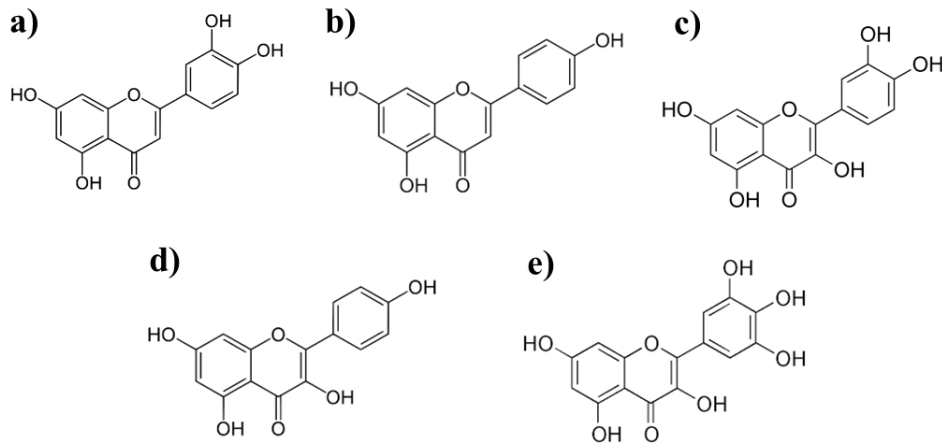
**Figura 10.** Estructura básica de los grupos de flavonoides principales. Fuente: Serrano Martínez, (2009).

Los grupos hidroxilo fenólicos con los que cuentan los flavonoides son capaces de estabilizar radicales libres, permitiendo proteger frente al daño oxidativo, motivo por el cual se relacionan con efectos beneficiosos sobre la salud humana (Martínez-Flórez *et al.*, 2002). Aunque los mecanismos de acción no se encuentran claramente descritos, se han relacionado los flavonoides con efectos antiinflamatorios, antiescleróticos, antitumorales, antitrombogénicos, antiosteoporóticos y antivirales (Vera-Guzmán *et al.*, 2017).

Es usual encontrar a los flavonoides estableciendo enlaces con carbohidratos, constituyendo un nuevo tipo de molécula denominada glicósido. Esta nueva forma les aporta una mayor solubilidad en agua y una menor capacidad de interaccionar frente a radicales libres (Serrano Martínez, 2009). En ocasiones, estos compuestos pueden llegar a polimerizar, formando complejos como los taninos condensados, los cuales suelen producir un cierto sabor amargo o astringente (Odriozola, 2009).

En el caso del pimiento, los flavonoides de mayor relevancia se corresponden con flavonoles y flavonas, los cuales solo difieren entre sí por la presencia/ausencia de un grupo hidroxilo (Crozier *et al.*, 2006). Así, las flavonas más destacadas son la luteolina (Figura 11a) y apigenina (Figura 11b), siendo la quercetina (Figura 11c), kaempherol (Figura 11d) y miricetina (Figura 11e) los principales flavonoles en pimiento (Odriozola, 2009). A la quercetina y luteolina se les han atribuido la capacidad de combatir frente a enfermedades de tipo coronario o cánceres como el de pulmón (Howard and Wildman, 2007).





**Figura 11.** Estructura molecular de a) luteolina, b) apigenina, c) quercetina, d) kaempferol y e) miricetina. Fuente: imágenes de dominio público.

### 1.7. AGRICULTURA ECOLÓGICA. CARACTERÍSTICAS

Según el U.S. Department of Agriculture (USDA), la agricultura ecológica puede definirse como un sistema que excluye o evita en gran medida el uso de insumos de naturaleza sintética (pesticidas, hormonas, fertilizantes o aditivos alimentarios), así como de organismos modificados genéticamente, con el fin de reducir al máximo sus efectos deletéreos en el medio ambiente (Behera *et al.*, 2012). A su vez, en la medida de lo posible, hace uso de prácticas como la rotación de cultivos, y materiales naturales como estiércol animal, desechos orgánicos, sistemas biológicos de movilización de nutrientes, etc. Así, la agricultura ecológica permite promover e incentivar una mejor conservación de la biodiversidad, de los ciclos biológicos y la salud de los ecosistemas (Meena, 2014).

La implantación de este sistema de cultivo ofrece múltiples ventajas, no solo para el productor y consumidor, sino también para el medio ambiente. Esto es así porque la agricultura ecológica promueve una circulación de nutrientes en el suelo mucho más eficiente que la agricultura convencional, reduciendo la dependencia de fertilizantes externos. De este modo, una fertilización natural contribuye a un sistema agrícola más saludable, lo que implica a su vez una reducción de la necesidad de pesticidas y otros productos químicos. Además, como la exposición a dichos productos químicos es mínima en este sistema, la fruta y verdura ecológicas pueden llegar a presentar un residuo promedio 180 veces menor que el presente en productos procedentes de agricultura convencional (FiBL, 2021).

El manejo bajo agricultura ecológica supone un mayor esfuerzo frente al necesario en agricultura convencional. Esto es así debido a que las plagas, malas hierbas y las enfermedades deben ser tratadas mediante un manejo manual, mecánico o control biológico (Forman and Silverstein, 2012). Sin embargo, debido a los mayores costes de producción por parte del agricultor, así como la visión en el mercado de un producto más sano para la salud humana y respetuoso con el medio ambiente, el consumidor está dispuesto a pagar precios bastante superiores a los pagados por un producto de procedencia convencional. Esto convierte a los productos ecológicos en un nicho de mercado de gran interés (Behera *et al.*, 2012).

Los objetivos esenciales que definen a la agricultura ecológica son: i) incrementar la fertilidad del suelo, ii) minimizar los insumos energéticos, iii) reducir los riesgos de tipo medioambiental y iv) mantener los niveles de producción alcanzados actualmente (Golijan and Popović, 2016).

### 1.7.1. REGLAMENTACIÓN DE LA AGRICULTURA ECOLÓGICA

La producción ecológica en España, así como en el resto de los países pertenecientes a la Unión Europea, fue regulada por primera vez bajo las directrices del Reglamento Europeo (CEE) 2092/91. Actualmente, esta producción se encuentra controlada por el Reglamento Europeo (CE) 834/2007 del Consejo, de 28 de junio de 2007, sobre producción y etiquetado de los productos de origen ecológico, y por el que se deroga el Reglamento (CEE) 2092/91.

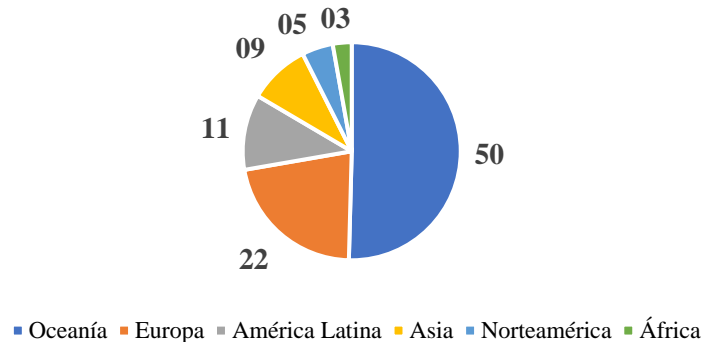
En el Reglamento (CE) 834/2007 se establecen los objetivos y los principios en los que se basa este sistema, así como las normas generales que deben aplicarse en la producción, transformación, almacenamiento, transporte, etiquetado y comercialización. Además, este Reglamento se aplica sobre todos los operadores participantes de cualquiera de las etapas de producción, preparación y distribución de los productos ecológicos.

Sin embargo, a partir del 1 de enero de 2022, entrará en vigor el Reglamento 2018/848 sobre producción ecológica y etiquetado de los productos ecológicos. Este cambio se debe a la necesidad de incluir bajo esta ley productos que se encuentran estrechamente ligados a la agricultura, como son el caso de la obtención de sal, aceites esenciales, corcho, algodón o lana. Así mismo, esta nueva normativa no solo armoniza las normas a nivel de la Unión Europea, sino que esta vez la armonía se extenderá a países fuera de la Unión Europea que cumplan las medidas de dicho Reglamento.

### 1.7.2. *Implantación de la Agricultura Ecológica*

De acuerdo con los últimos datos aportados por el FiBL, las tierras destinadas a ser cultivadas bajo el manejo agroecológico siguen en aumento, contando ya con datos de 186 países a finales del año 2018. Así, en dicho año, más de 71,5 millones de hectáreas de tierra fueron destinadas a producción vegetal bajo este sistema. Las áreas de mayor extensión destinadas a agricultura ecológica se encuentran en Oceanía, con 36 millones de hectáreas, lo cual se corresponde con la mitad de la superficie total destinada a este fin. A Oceanía le sigue Europa, con 15,6 millones de hectáreas destinadas. América Latina, por su parte, posee 8 millones de hectáreas, seguida por Asia, con 6,5 millones, Norteamérica, con 3,3 millones y África, con tan solo 2 millones de hectáreas (Figura 12) (Willer and Sahota, 2020).

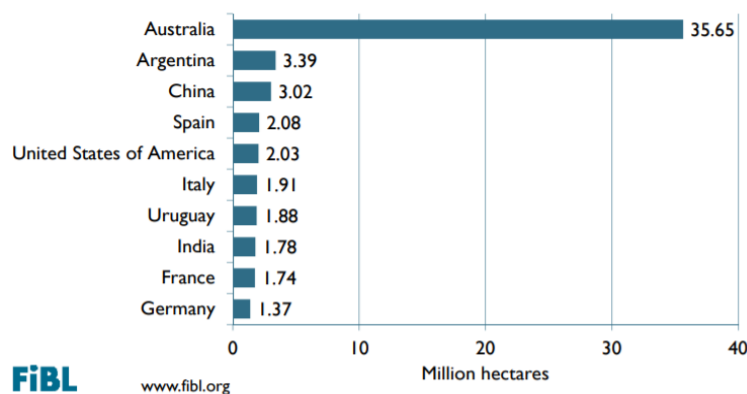
Millones de ha destinadas a agricultura ecológica (%)



**Figura 12.** Representación del porcentaje de millones de hectáreas destinadas por región geográfica en el mundo al sistema de agricultura ecológica. Fuente: Willer and Sahota (2020).

Según datos del FiBL de 2017, Australia es el país que posee la mayor extensión de territorio con el sistema ecológico implantado, siendo ésta de 35,7 millones de hectáreas. Seguidamente se encuentra Argentina, con 3,39 millones de hectáreas, China con 3,02 millones y España nos encontramos en cuarta posición, con 2,08 millones de hectáreas (Figura 13) (Willer *et al.*, 2019). Así, en 2018, el 1,5% de la superficie agrícola del planeta estaba dirigida a la producción orgánica, tras haber presentado un incremento del 2,9% en dicho último año con respecto al 2017 (Willer and Sahota, 2020).

Sin embargo, el número de productores se vio reducido en un 5% con el paso del 2017 al 2018, siendo en este último año el número de productores de ecológico de unos 2.8 millones. El 47% de los productores se encuentran en Asia, seguida por África, con un 28% de los productores a nivel mundial. Seguidamente, se encuentra Europa, con un 15% y América Latina con un 8%. Además, los países que registraron un mayor número de productores de cultivo ecológico en 2018 fueron India, con más de 1 millón 100 mil productores, Uganda, con más de 210 mil y Etiopía, con más de 200 mil productores (Willer and Sahota, 2020).



**Figura 13.** Los 10 países con las mayores áreas de tierra destinada a agricultura ecológica en 2017. Fuente: Willer *et al.* (2019).

### 1.7.3. Efecto sobre la calidad del fruto y el rendimiento

Multitud de estudios avalan que las frutas y hortalizas cultivadas bajo un sistema de producción ecológica presentan un mayor valor organoléptico y nutricional, detectándose, especialmente, mayores contenidos en compuestos bioactivos (Baranski *et al.*, 2014). Sin embargo, actualmente sigue existiendo cierta controversia respecto a este hecho, habiendo diversos estudios con resultados ciertamente contradictorios (Cristache *et al.*, 2018).

El incremento de los compuestos bioactivos bajo un sistema de producción ecológica radica en la suposición de que, al cultivar bajo condiciones que no cuentan con protección química frente a plagas, enfermedades u otros estreses, las plantas tienden a acumular en sus tejidos una mayor concentración de compuestos biológicamente activos (Średnicka-Tober *et al.*, 2013).

El cultivo del pimiento, al tratarse de un fruto rico en multitud de estos compuestos bioactivos (vitamina C, flavonoles, ácidos fenólicos, carotenoides, etc), ha sido susceptible de estudio en múltiples ocasiones, con el fin de comprobar cómo se ve afectada su calidad interna bajo un sistema de producción ecológico frente al convencional (Hallmann *et al.*, 2019). Así, trabajos como los de Sun *et al.*, (2007), Sim and Sil, (2008) y Ritota *et al.*, (2010), concluyeron que los frutos de pimiento cultivados bajo el sistema ecológico presentaron un incremento significativo de carotenoides, vitamina C y polifenoles frente a los frutos cultivados de forma convencional. Otros autores, como del Amor *et al.*, (2008), concluyeron que los frutos de pimiento cultivados en ecológico presentaron una mayor actividad polifenol peroxidasa, y por tanto, un incremento en la concentración de polifenoles.

Sin embargo, como se comentó anteriormente, la composición fisicoquímica de este fruto se puede ver influenciada por el compendio constituido por el genotipo, las condiciones ambientales y el manejo aplicado durante el cultivo (Hallmann *et al.*, 2019). De este modo, Chassy *et al.*, (2006) comprobaron que un determinado genotipo de pimiento presentó un incremento en su contenido en vitamina C cuando éste era cultivado bajo manejo ecológico, mientras que este hecho tuvo lugar en otra variedad bajo cultivo convencional. En este caso también se puso de manifiesto la relevancia de las interacciones existentes entre genotipo y sistema de producción.

Respecto a la calidad externa del fruto, no se ha visto drásticamente afectada entre ambos sistemas de producción. Concretamente, en un estudio elaborado por Martínez *et al.*, (2006), no se observaron diferencias significativas entre la longitud y la anchura de fruto obtenida en ambos tipos de manejo. Sin embargo, la coloración de los frutos obtenidos bajo sistema ecológico sí que mostraron una intensidad de color estadísticamente superior a los frutos cultivados de forma convencional. Este efecto sobre la calidad del color también ha sido descrito por Lee *et al.*, (2014).

Otro parámetro de gran importancia, especialmente para el agricultor, es el rendimiento. Tradicionalmente, la elevada eficiencia y el gran rendimiento del cultivo han sido los puntos clave que han respaldado la utilización de la agricultura convencional (Berova and Karanatsidis, 2008). Esto es así porque en agricultura ecológica no están permitidos los fertilizantes nitrogenados, pudiendo existir un posible déficit de nitrógeno que se traduzca en un rendimiento mermado. En el caso del pimiento, Russo and Taylor (2006), determinaron una reducción del rendimiento en las plantas cultivadas bajo un manejo ecológico frente al convencional. Sin embargo, estudios realizados por autores como Delate *et al.*, (2003), D.O. Chellemi and E.N. Roskopf, (2004), Cesar *et al.*, (2007) y Delate *et al.*, (2008) concluyeron que se podían obtener rendimientos en pimiento similares a los obtenidos bajo un manejo convencional.

A pesar de la multitud de estudios disponibles actualmente, es necesario seguir profundizando sobre el efecto que ejercen estos sistemas de producción en el cultivo del pimiento, así como en la interacción de éstos con el genotipo empleado. Estos estudios permitirían descifrar mucho mejor cómo se ve afectado el rendimiento o las propiedades de calidad del fruto, especialmente aquellas de mayor complejidad, como el contenido en polifenoles, o el efecto sobre los compuestos volátiles del pimiento.

## 2. OBJETIVOS

Los objetivos del presente trabajo tienen su origen en un proyecto-colaboración entre la institución pública COMAV-UPV y la Cooperativa Agrícola Villena, que lleva por título: *Tesoro Agroecológico de Villena: Obtención de variedades locales mejoradas y con valor añadido de zanahoria, pimiento y cerezo adaptadas a producción ecológica en el territorio de Villena*. Este proyecto, pionero en el ámbito del fitomejoramiento participativo en la Comunitat Valenciana, planteó un programa de evaluación y selección participativa de materiales adaptados a cultivo ecológico.

De este modo, las accesiones de pimiento blanco, evaluadas durante los años 2019 y 2020, fueron sometidas a un proceso de selección y evaluación en colaboración con técnicos y agricultores de la Cooperativa Agrícola Villena. Estas selecciones se realizaron en base a su comportamiento agronómico bajo manejo ecológico, sus características fenotípicas y su calidad nutricional y organoléptica, buscando recuperar el ecotipo clásico. Así, empleando un conjunto de entradas de pimiento blanco de diferentes procedencias, en este trabajo se pretende:

- i) Realizar una caracterización de los principales parámetros fenotípicos y de rendimiento.
- ii) Elaborar una caracterización del valor nutricional y organoléptico en base a su contenido en vitamina C, azúcares simples y principales flavonoides.
- iii) Evaluar la contribución que los efectos ejercidos por los factores de variedad, momento de cosecha y año, así como sus interacciones, pueden tener sobre la variabilidad observada a nivel fenotípico y de calidad interna.
- iv) Determinar posibles correlaciones de interés entre los parámetros y compuestos evaluados, con el fin de obtener información de valor para la aplicación de selección indirecta en mejora del pimiento.
- v) Identificar las accesiones testigo que mejor se ciñan al morfotipo del pimiento blanco de Villena, y que presenten adecuada calidad nutricional y adaptación al manejo ecológico en el territorio de Villena. Esto permitirá obtener material de gran valor para desarrollar futuros programas de mejora sobre esta variedad local.

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. MATERIAL VEGETAL

En este trabajo se han evaluado un total 23 accesiones de la especie *Capsicum annuum* L. var *grossum* Sent. Esta colección abarcó ecotipos locales de pimiento blanco conservados por los propios agricultores de Villena, por accesiones registradas como pimiento blanco en el banco de germoplasma del COMAV-UPV y por variedades comerciales de pimiento blanco de diversas casas de semillas, las cuales se utilizaron como testigos y posibles donantes de características de interés (Tabla 3).

**Tabla 3.** Variedades y accesiones de pimiento blanco empleadas en el estudio, su descripción y procedencia.

Variedad	Descripción	Procedencia			
		Proveedor	Localidad	Provincia	Comunidad Autónoma
Cynthia F1	Comercial	Agrícola Villena	Villena	Alicante	Com. Valen.
Skytia F1	Comercial	Agrícola Villena	Villena	Alicante	Com. Valen.
Pyramis F1	Comercial	Agrícola Villena	Villena	Alicante	Com. Valen.
Century F1	Comercial	Agrícola Villena	Villena	Alicante	Com. Valen.
Goccia D'oro	Comercial	Semillero Mascarell	Benissoda	Valencia	Com. Valen.
Pebrot Blanc de Berga	Comercial	Semillero Les Refardes	Mura	Barcelona	Cataluña
Babyplant	Comercial	Semillero Babyplant	Santomera	Murcia	Región de Murcia
Ros de Mallorca Battle	Comercial	Semillero Battle	Molins de Rei	Barcelona	Cataluña
Multiflor	Comercial	Agrícola Villena	Villena	Alicante	Com. Valen.
Monanta	Comercial	Agrícola Villena	Villena	Alicante	Com. Valen.
BGV-15011	Banco Germ. UPV	COMAV	Valencia	Valencia	Com. Valen.
BGV-15012	Banco Germ. UPV	COMAV	Valencia	Valencia	Com. Valen.
BGV-1463	Banco Germ. UPV	COMAV	Valencia	Valencia	Com. Valen.
BGV-1850	Banco Germ. UPV	COMAV	Valencia	Valencia	Com. Valen.
BGV-3764	Banco Germ. UPV	COMAV	Valencia	Valencia	Com. Valen.
BGV-5143	Banco Germ. UPV	COMAV	Valencia	Valencia	Com. Valen.
BGV-601	Banco Germ. UPV	COMAV	Valencia	Valencia	Com. Valen.
BGV-14140	Banco Germ. UPV	COMAV	Valencia	Valencia	Com. Valen.
Agricultor Serrano	Agricultor	Agrícola Villena	Valencia	Alicante	Com. Valen.
Agricultor Zapater	Agricultor	Agrícola Villena	Valencia	Alicante	Com. Valen.
Agricultor Morales	Agricultor	Agrícola Villena	Valencia	Alicante	Com. Valen.

Agricultor Navarro	Agricultor	Agrícola Villena	Valencia	Alicante	Com. Valen.
Agricultor Saez	Agricultor	Agrícola Villena	Valencia	Alicante	Com. Valen.

### 3.2. CONDICIONES DE CULTIVO

El primer ciclo de cultivo se inició a mediados de marzo de 2019, momento en el que se realizó el trasplante en campo de las plántulas de pimiento, las cuales se encontraban en estado de 4 hojas verdaderas. El semillero se realizó previamente en las instalaciones de Babyplant (Santomera, Murcia), especialista en semilleros ecológicos. El cultivo se desarrolló bajo condiciones de manejo agroecológico durante el ciclo habitual del mismo. El ensayo se dispuso en una parcela del campo de ensayos agroecológico de la Cooperativa Agrícola Villena (Figura 14), el cual se encuentra certificado como válido para cultivar bajo este sistema por el Comité de Agricultura Ecológica de la Comunidad Valenciana (CAECV). La superficie de la parcela presentaba en sus distintas áreas unas condiciones ambientales, de suelo y riego muy similares entre sí. Previo al trasplante, el suelo fue labrado y aireado, y se aportó estiércol de oveja (2 kg/m<sup>2</sup>), elaborando posteriormente una serie de caballones sobre los que se establecerían las plántulas. Durante el transcurso del ciclo no se realizó ningún tipo de abonado adicional, aunque sí que se aplicaron diversas escardas manuales por parte de los técnicos de la Cooperativa Agrícola Villena. Posteriormente, se realizaron dos recolectas, una de ellas el primer día de agosto y otra el primer día de septiembre, cosechando los frutos en estado comercial, es decir, en verde/inmaduro (Figura 15).



**Figura 14.** Campo de ensayo agroecológico de la Cooperativa Agrícola Villena donde se realizaron los ensayos con las distintas variedades de pimiento blanco.

De las siete variedades seleccionadas durante 2019, se conservó semilla para establecer un nuevo ciclo de evaluación a mediados de marzo de 2020. En esta segunda campaña, cuatro de ellas fueron cultivadas nuevamente en el campo de ensayos agroecológico de la Cooperativa Agrícola Villena, junto a las cuales se incorporaron cinco nuevas variedades comerciales como testigos. Las tres variedades seleccionadas restantes se cultivaron en maceta en un invernadero cedido por el COMAV, donde fueron autopolinizadas y mantenidas hasta su evaluación. En esta segunda campaña, se realizó



una única recolecta en el mes de septiembre, nuevamente en estado comercial, es decir, verde/inmaduro.



**Figura 15.** Diferentes accesiones de pimiento blanco cosechados en estado verde/inmaduro. a) Variedad comercial Skytia F1. b) Accesoión de banco de germoplasma BGV-15011. c) Variedad de agricultor Serrano. d) Variedad de agricultor Zapater.

En la Tabla 4 se resume las entradas cultivadas y evaluadas durante cada una de las campañas.

**Tabla 4.** Resumen de las variedades cultivadas en las campañas 2019 y 2020, el momento de cosecha de los frutos y la localización del ensayo. n.d. = ausencia de datos por 0% de germinación.

Código	Cosecha	Localización
<b>Campaña 2019</b>		
Cynthia F1	Agosto y Septiembre	Campo de ensayos agroecológico Agrícola Villena
Skytia F1		
Goccia D'oro		
Pebrot Blanc de Berga		
Babyplant		
Ros de Mallorca Batlle		
Monanta		
BGV-15012		
BGV-1850		
BGV-3764		
BGV-5143		
BGV-601		
BGV-14140		
Agricultor Serrano		
Agricultor Morales		

BGV-15011	Septiembre	
BGV-1463		
Agricultor Zapater		
Agricultor Navarro	n.d.	
Agricultor Saez		
<b>Campaña 2020</b>		
Cynthia F2 - 1	Septiembre	Invernadero COMAV
Cynthia F2 - 2		
Cynthia F2 - 3		
Cynthia F2 - 4		
Pebrot Blanc de Berga		
BGV-5143		Campo de ensayos agroecológico Agrícola Villena
Cynthia F1		
Skytia F1		
Pyramis F1		
Century F1		
Multiflor		
Babyplant		
Agricultor Serrano		
Agricultor Zapater		
Agricultor Morales		

### 3.3. DISEÑO EXPERIMENTAL

El diseño experimental radicó en aplicar un modelo de distribución al azar. Así, las distintas accesiones se repartieron aleatoriamente a través de los diferentes surcos, con 20 plantas por accesión. El riego aplicado y las distintas labores de mantenimiento se llevaron a cabo por igual en toda la parcela. Además, para evitar el efecto borde, se dispuso en los extremos de los caballones un par de plantas sobrantes a modo de bordadura.

### 3.4. CARACTERIZACIÓN AGRONÓMICA Y FENOTÍPICA

La caracterización agronómica y fenotípica se llevó a cabo en la primera campaña, 2019, en las recolecciones de agosto y septiembre, mientras que, en la campaña de 2020, se determinó tras la única recolecta elaborada a mediados de septiembre.

Se midieron los siguientes parámetros:

-Rendimiento en kilogramos (kg) por accesión evaluada.

-Peso promedio de 10 frutos de pimiento en gramos (g) en la campaña de 2019.

-Peso promedio de 5 frutos de pimiento en gramos (g) en la campaña de 2020.

-Firmeza al tacto (evaluándola con escala de 1 a 5).

-Espesor de la carne del fruto (mm) ayuda de un pie de rey (Figura 16).

-Parámetros de color L, a y b, empleando un colorímetro Minolta, donde L\* representa la luminosidad y a\* y b\* son las coordenadas cromáticas, siendo a\* las coordenadas rojo/verde (+a rojo, -a verde) y b\* las coordenadas amarillo/azul (+b amarillo, -b azul) (Talens Oliag, 2017).

La firmeza al tacto, el espesor de la carne y los parámetros de color se midieron en 5 frutos por accesión.



**Figura 16.** Diferentes accesiones de pimiento blanco cosechados y cortados para su caracterización fenotípica en estado verde/inmaduro. a) Variedad comercial Skytia F1. b) Accesión de banco de germoplasma BGV-5143. c) Variedad de agricultor Serrano. d) Variedad de agricultor Zapater.

### 3.5. PROCESADO DE MUESTRAS PARA SU POSTERIOR ANÁLISIS

Las muestras de pimiento se procesaron de diferente forma en función del compuesto bioactivo que se fuera a analizar (azúcares, vitamina C o flavonoides). Tras la caracterización fenotípica, se tomaron aquellos frutos que no presentaban ningún tipo de daño o malformación, realizándose 5 réplicas o “*bulk*” por accesión, con un mínimo de entre 5 y 10 frutos por réplica.

Los frutos de cada réplica se partieron en pequeños trozos, de los cuales una parte se licuó para obtener el jugo o zumo. Este jugo se guardó en tubos de centrifuga de 1,5 mL a -80°C para la determinación de azúcares reductores (Figura 17). Para poder determinar a posteriori la vitamina C, evitando su degradación, se adicionaron con ayuda de una micropipeta 0,9 mL de ácido metafosfórico 6% sobre 0,9 mL de jugo en tubos de centrifuga de 2 mL, conservándose a -80°C hasta su análisis. El ácido metafosfórico es

un agente que interviene en la buena conservación de la vitamina C, evitando que se oxide.



**Figura 17.** Jugo de diferentes accesiones de pimiento blanco analizado.

Los fragmentos de pimiento restantes se liofilizaron. Se tomaron unos 40 – 50 gramos por réplica, registrándose el peso en fresco (pf). El proceso de liofilización se llevó a cabo durante un periodo de 2 días para su total secado. Una vez secos, los fragmentos de cada muestra se pesaron nuevamente, con el fin de obtener el peso seco (ps). Finalmente, se molieron hasta reducirlos a polvo con ayuda de un molinillo, conservándolos en botes de plástico en un ambiente seco, oscuro y a temperatura ambiente (Figura 18).



**Figura 18.** Triturado de pimiento liofilizado procedente de diferentes accesiones.

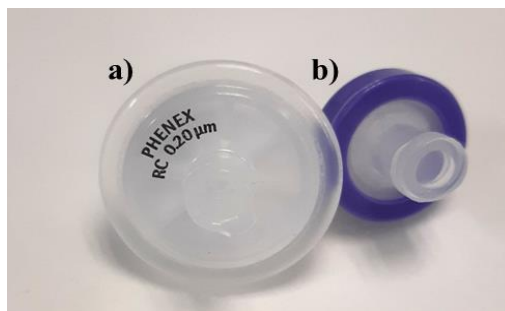
### 3.6. ANÁLISIS DE COMPUESTOS BIOACTIVOS

#### 3.6.1. Contenido en azúcares simples

##### *Extracción de azúcares en pimiento*

Los azúcares se identificaron en base al trabajo de Navarro *et al.*, (2006). Las alícuotas de 1,5 mL conservadas a -80°C con el jugo de pimiento, se descongelaron en nevera, bajo oscuridad. Para eliminar los componentes vegetales de mayor tamaño, se centrifugaron durante 5 min haciendo uso de una centrífuga refrigerada a 12.000 rpm. La refrigeración permite que las muestras no se sobrecalienten durante el centrifugado, evitando que se dañen los compuestos a medir. A continuación, se aplicó sobre las muestras una dilución de ½ con agua ultrapura, haciendo uso de tubos de microcentrífuga de 1,5 mL. Para ello,

con ayuda de una micropipeta, se tomaron 1 mL de muestra y 1 mL de agua ultrapura. Las muestras se homogeneizaron con ayuda de un vórtex y se volvieron a centrifugar durante 5 min a 12.000 rpm. Finalmente, los sobrenadantes se filtraron con ayuda de un filtro de jeringa de celulosa regenerada de 0,22  $\mu\text{m}$  de diámetro de poro (Figura 19a). Los filtrados se depositaron directamente en viales de cromatografía líquida de alta presión (HPLC) de color ámbar.



**Figura 19.** Filtro de jeringa de 0,22  $\mu\text{m}$  de diámetro de poro. a) Empleado en análisis de azúcares y vitamina C. b) Empleado en análisis de flavonoides.

### ***Realización de la curva de calibrado***

Para elaborar un calibrado conjunto que permitiera calcular las concentraciones correspondientes a las áreas del pico cromatográfico de cada muestra, se elaboró una solución madre con concentraciones conocidas de los tres azúcares. Tras aplicar diluciones seriadas, se obtuvieron las áreas de los picos cromatográficos de los tres azúcares en cada uno de los puntos del calibrado. De estas áreas y concentraciones se derivaron las tres curvas de calibrado correspondientes a cada azúcar tras su análisis en un dispositivo de HPLC Agilent 1220 Infinity LC System (Agilent Technologies, CA, USA) (Figura 20).



**Figura 20.** Instrumento HPLC, asociado al monitor y un detector de índice de refracción (IR). Fuente: elaboración propia.

Las curvas de calibrado de la fructosa, glucosa y sacarosa se confeccionaron a partir de una solución madre de 40.000 ppm, 40.100 ppm y 20.600 ppm reales, respectivamente.

En cada caso se establecieron 5 puntos de calibrado, ajustándose en cada caso a una recta de ecuación:  $y_{fructosa} = 0,3068x - 4,8436$ , de  $R^2 = 0,9995$ ,  $y_{glucosa} = 0,329x - 24,194$ , de  $R^2 = 0,9993$  y, finalmente,  $y_{sacarosa} = 0,6382x - 23,695$ , de  $R^2 = 0,9993$ , donde  $y$  = área y  $x$  = concentración. Con estas curvas se determinó la concentración de los tres azúcares en cada muestra a partir del área obtenida.

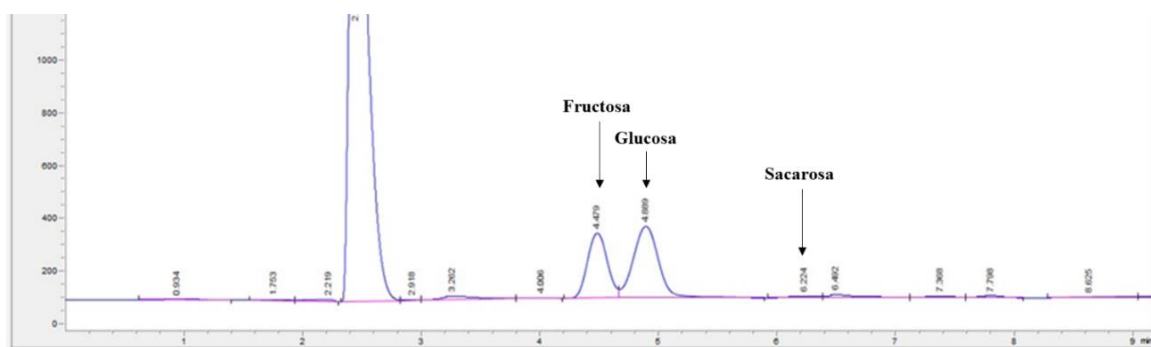
Los valores de contenido en azúcar calculados se encontraban en ppm (mg/litro). Para representar dichos contenidos en unidades de g/kg pf de pimienta, se tuvieron en cuenta las diluciones de  $\frac{1}{4}$  aplicadas a las muestras y el contenido en agua de las mismas. El cálculo de transformación aplicado fue:

$$\frac{g}{kg} pf = ppm \times 2 \times \frac{pf - ps}{pf}$$

### Análisis mediante HPLC

Para la detección mediante HPLC del contenido de azúcares simples se hizo uso de una fase estacionaria constituida por una columna Phenomenex Luna Omega Sugar, con un diámetro de poro de  $3\mu\text{m}$ , y unas dimensiones de  $150 \times 4,6 \text{ mm}$ . A su vez, la fase móvil estaba constituida por una mezcla 75:25 v/v acetonitrilo:agua (Navarro *et al.*, 2006).

Las condiciones cromatográficas estaban compuestas por una inyección de volumen de  $10 \mu\text{L}$ , temperatura de  $40^\circ\text{C}$  y un flujo de  $0,8 \text{ mL/min}$ . El tiempo de retención estimado al que migra la fructosa es de 4,4 min y la glucosa en torno a los 4,8 min. La sacarosa, por el contrario, se retrasa hasta los 6,2 min aproximadamente. Para su detección, debido a que los azúcares simples no son capaces de absorber ni emitir luz, se empleó un detector de índice de refracción (IR). Un cromatograma de azúcares simples en pimienta blanca se muestra en la Figura 21.



**Figura 21.** Cromatograma de azúcares simples de pimienta blanca analizado mediante HPLC y detector de índice de refracción (IR).

### 3.6.2. Contenido en vitamina C

#### *Extracción de vitamina C en pimiento*

Para llevar a cabo la extracción del AsA y DHA, así como del contenido total de vitamina C de las muestras de pimiento, se dejaron descongelar en nevera, bajo oscuridad. Para eliminar los componentes vegetales de mayor tamaño se hizo uso de una centrífuga refrigerada durante 5 min, a 12000 rpm. Sobre las muestras se deseaba aplicar una dilución de 1/4, pero éstas se encontraban diluidas 1/2 al haberle adicionado metafosfórico 6% previamente a la congelación. Por ello, con ayuda de una micropipeta, se adicionaron 750 µL de muestra y 750 µL de agua destilada ultrapura en tubos de centrífuga de 1,5 mL. Las nuevas alícuotas se homogeneizaron con un vórtex y se centrifugaron nuevamente durante 5 min, a 12000 rpm. Para obtener muestras más limpias, se pasaron a través de un filtro de jeringa de celulosa regenerada de 0,22 µm de diámetro de poro. Este nuevo sobrenadante se depositó directamente sobre viales de HPLC de color ámbar, listo para su análisis. Además, de cada muestra filtrada se recogieron con ayuda de una micropipeta 300 µL de sobrenadante y se depositaron en un nuevo vial de HPLC. De acuerdo con Chebrolu *et al.*, (2012), sobre estos nuevos viales se adicionó un volumen equivalente de TCEP (Tris (2-carboxy ethyl) phosphine hydrochloride) en una concentración de 5 mmol/L. El TCEP es un agente reductor, cuya acción implica que todo el ácido dehidroascórbico se reduzca en ácido ascórbico, la única forma en la que la vitamina C es capaz de absorber y emitir luz y, por tanto, de ser detectada por el detector de UV-Vis acoplado al HPLC. Las muestras con TCEP se homogeneizaron con vórtex y se dejaron reposar media hora a temperatura ambiente antes del análisis.

#### *Realización de la curva de calibrado*

Se elaboró una solución madre de AsA que, tras realizar soluciones seriadas, se analizó mediante HPLC, con el fin de crear una curva de calibrado. Así, se pudo calcular la concentración de AsA de cada muestra y el contenido de Vitamina C total en los viales que contenían el TCEP, pues todo el DHA se encontraba en forma de AsA. Para la elaboración de la recta, se partió de una solución madre de 4.500 ppm reales, tomando 9 puntos de calibrado. El ajuste de la curva se correspondió con la forma  $y_{AsA} = 10,828x - 214,94$ , de  $R^2 = 0,9939$ . De esta manera, por diferencia entre la concentración de AsA total frente al AsA inicial, se pudo determinar la concentración de DHA en cada caso.

Los valores de contenido en AsA, DHA y vitamina C total, calculados a través de la curva de calibrado, se encontraban en ppm. Para representar dichos contenidos en unidades de mg/kg de pimiento, se tuvieron en cuenta las diluciones de 1/4 aplicadas a las muestras para la determinación de AsA y la dilución de 1/8 en la cuantificación de vitamina C total. Así mismo, al igual que en la cuantificación de azúcares, se tuvo en cuenta el contenido en agua de las muestras. El cálculo de transformación aplicado fue:

$$\frac{mg}{kg} \text{ de AsA} = ppm \times 4 \times \frac{pf - ps}{pf}$$

$$\frac{mg}{kg} \text{ de VC} = ppm \times 8 \times \frac{pf - ps}{pf}$$

$$\frac{mg}{kg} \text{ de DHA} = \frac{mg}{kg} \text{ de VC} - \frac{mg}{kg} \text{ de AsA}$$

### Análisis mediante HPLC

Para el análisis mediante HPLC del contenido de AsA y DHA de las distintas entradas, se hizo uso de una fase estacionaria constituida por una columna Teknokroma BRISA LC<sup>2</sup>, con radicales de 18 carbonos (C18), un diámetro de poro de 3µm, y unas dimensiones de 150 x 4,6 mm. A su vez, la fase móvil consistía en una mezcla 5:95 v/v metanol:agua con un 1% acético, de acuerdo con Cano and Bermejo (2011).

Las condiciones cromatográficas estaban compuestas por una inyección con un volumen de 5 µL y un flujo de 1 mL/min. El tiempo de retención estimado al que migra el ácido ascórbico se encuentra en torno a los 2,3 min. Éste fue detectado con ayuda de un detector UV-Vis, absorbiendo a una longitud de onda (λ) de 254 nm. Un ejemplo de cromatograma para ácido ascórbico se muestra en la Figura 22.

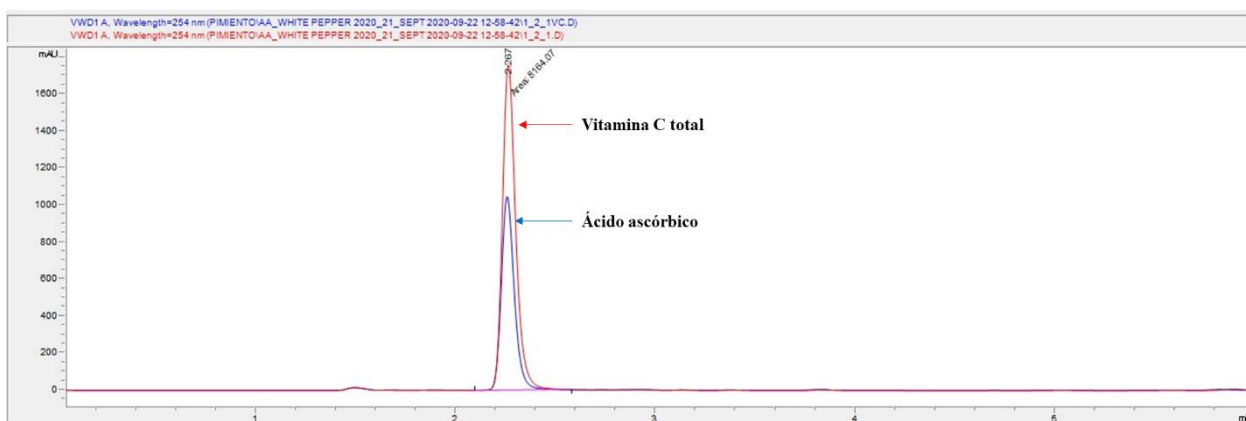


Figura 22. Cromatograma de muestra de pimienta para detección de ácido ascórbico.

### 3.6.3. Contenido en flavonoides

#### Extracción de flavonoides en pimienta

Para extraer e identificar los flavonoides de las muestras se empleó un protocolo basado en el trabajo de Bae *et al.*, (2012). Se pesaron 100 mg de muestra liofilizada en tubos de centrífuga de 2 mL, con ayuda de una balanza analítica. Se añadió 1,5 mL de solución extrayente (80:20 metanol:agua ultrapura v/v, con un 0,1% de Butil-hidroxi-tolueno (BHT)). Las muestras se agitaron con vórtex (Figura 23) y se introdujeron durante 60 min en un baño de ultrasonidos a 40°C (Figura 24).





**Figura 23.** Liofilizado de pimiento en solución extrayente.

Tras finalizar, se centrifugaron durante 5 min a 10.000 rpm. A continuación, para realizar la hidrólisis de los enlaces que se establecen entre los flavonoides y los glucósidos, se tomaron 700  $\mu$ L de muestra y se depositaron en tubos de Deltalab con tapón de rosca de 2 mL, añadiendo, seguidamente, 350  $\mu$ L de HCl 3M. Se agitaron con vórtex y se mantuvieron durante 1 hora a 95°C con ayuda de un termobloque (Figura 25). Una vez terminada la hidrólisis, se centrifugaron nuevamente las muestras durante 5 min a 7.000 rpm. Finalmente, los sobrenadantes se filtraron con ayuda de una jeringa y un émbolo, depositándolos en viales de HPLC de color ámbar a través de un filtro PTFE de 0,22  $\mu$ m de diámetro (Figura 19b).



**Fuente 24.** Muestras de pimiento en baño de ultrasonidos bajo campana de extracción.



**Fuente 25.** Muestras de pimiento en termobloque.

### **Realización de la curva de calibrado**

Para calcular el contenido de los cuatro flavonoides de interés, se elaboró una solución madre que contuviera simultáneamente todos ellos. A partir de esta solución inicial se derivaron diluciones seriadas. Mediante HPLC se determinaron las áreas de los picos cromatográficos de las concentraciones conocidas de quercetina, luteolina, kaempferol y apigenina. De este modo, se elaboró una curva de calibrado para cada componente bioactivo, empleando una solución madre con 950 ppm, 980 ppm, 485 ppm y 475 ppm reales, respectivamente. Se emplearon 7 puntos de calibrado, los cuales se ajustaron a las rectas de ecuación:  $y_{quercetina} = 4,6479x + 23,006$ , de  $R^2 = 0,9999$ ,  $y_{luteolina} = 60,069x - 87,924$ , de  $R^2 = 0,9982$ ,  $y_{kaempferol} = 48,909x - 6,9755$ , de  $R^2 = 0,996$  y  $y_{apigenina} = 40,656x - 7,35$ , con  $R^2 = 0,9982$ . De esta forma, mediante sustitución de las áreas obtenidas en cada caso, se pudo calcular la concentración correspondiente.

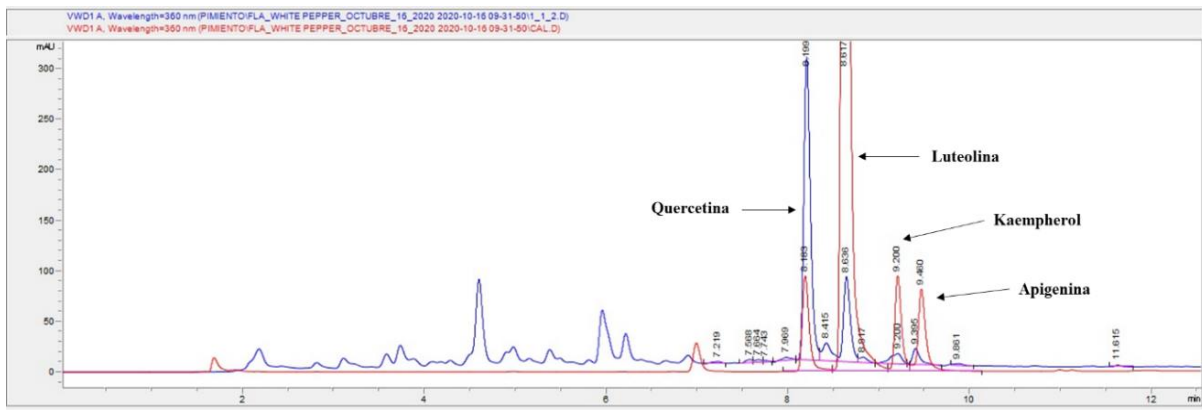
Los contenidos de los distintos flavonoides se encontraban en ppm, como en los casos anteriores. Para representar dichos contenidos en unidades de  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ps de pimiento, se tuvieron en cuenta las diluciones de 3/2 aplicadas a las muestras durante la hidrólisis de los enlaces con glucósidos. El cálculo de transformación aplicado fue:

$$\frac{\mu\text{g}}{\text{g}} \text{ ps} = \text{ppm} \left( \frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) \times 1000 \left( \frac{\mu\text{g}}{\text{mg}} \right) \times 3/2 \times \frac{\text{volumen solución extrayente (L)}}{\text{ps (g)}}$$

### **Análisis mediante HPLC**

Para determinar el contenido de los cuatro flavonoides de las entradas de pimiento, se empleó una fase estacionaria constituida por una columna Teknokroma BRISA, con radicales de 18 carbonos (C18), un diámetro de poro de  $3\mu\text{m}$ , y unas dimensiones de  $150 \times 4,6$  mm. Las fases móviles fueron: A) agua pura con 0,1% de ácido fórmico; y B) metanol grado HPLC con 0,1% de ácido fórmico. El gradiente utilizado en el método de análisis fue el siguiente: a tiempo 0 minutos, 60% A y 40% de B; tiempo 10 minutos, 100% B; tiempo 15 minutos, 100% B; tiempo 20 minutos, 60% A y 40% B, dejándolo 5 minutos para el requilibrado de la columna con las condiciones iniciales (Bae *et al.*, 2012).

Las condiciones cromatográficas estaban determinadas por un volumen de inyección de  $10 \mu\text{L}$ , un flujo de  $0,8 \text{ mL}/\text{min}$  y una temperatura de  $30^\circ\text{C}$ . Éstos fueron detectados mediante un detector UV-Vis, absorbiendo a una longitud de onda ( $\lambda$ ) de  $360 \text{ nm}$ . Como se puede observar en la Figura 26, este perfil es más complejo. Así, la quercetina presenta un tiempo de retención en torno a  $8,2 \text{ min}$ , la luteolina lo presenta alrededor de  $8,65 \text{ min}$ , mientras que el kaempferol y la apigenina se detectan más tarde, en torno a los  $9,2 \text{ min}$  y  $9,5 \text{ min}$ , respectivamente.



**Figura 26.** Cromatograma de pimienta blanca para la detección de los flavonoides quercetina, luteolina, kaempferol y apigenina. Curva roja: patrón, curva azul: muestra de pimienta blanca.

### 3.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos obtenidos a partir de los análisis elaborados en el laboratorio se procesaron mediante el programa estadístico *Statgraphics 18*. Este programa permite realizar análisis de la varianza (ANOVA) de los factores evaluados, siendo estos el factor variedad (genotipo), momento de cosecha y año, así como las interacciones entre ellos. De este modo, se pudo estudiar la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre los genotipos a nivel de contenido en compuestos bioactivos y caracteres agronómicos.

Para evaluar la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre genotipos en cada parámetro o compuesto bioactivo analizado, se realizó en cada caso una prueba de múltiples rangos. Así, haciendo uso de *Statgraphics 18*, se aplicó la prueba de Student-Newman-Keuls para un nivel de confianza del 95%.

De igual modo, se empleó *Statgraphics 18* para realizar un análisis de correlaciones entre los componentes bioactivos, entre los distintos aspectos fenotípicos medidos, y entre sí, con el fin de determinar relaciones de interés que permitan establecer posibles directrices para selección indirecta en el cultivo del pimiento.

### 3.8. CRITERIO DE EVALUACIÓN Y SELECCIÓN

Las accesiones de pimiento blanco se evaluaron y seleccionaron en base a características agronómicas relacionadas con el rendimiento; características fenotípicas, como son la firmeza, los parámetros de color, el espesor de la carne y la presencia de un fenotipo similar al ecotipo clásico del pimiento blanco de Villena; su calidad nutricional, en base a los contenidos de los componentes bioactivos analizados en el laboratorio, así como su adaptación al sistema de producción ecológico.

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. SELECCIÓN DE MATERIALES

Los materiales seleccionados en la campaña de 2019, para su siembra en la campaña de 2020, se correspondieron con los tres ecotipos locales de Villena, cedidos por los agricultores Serrano (Figura 27a), Zapater (Figura 27b) y Morales (Figura 27c); tres variedades comerciales, Cynthia F1 (Figura 27d), de cuya descendencia se comenzaron a derivar cuatro líneas, Babyplant (Figura 27e) y Pebrot Blanc de Berga (Figura 28a), y la accesión del banco de germoplasma BGV-5143 (Figura 28b).



**Figura 27.** Frutos de pimiento de a) agricultor Serrano, b) agricultor Zapater, c) agricultor Morales, d) híbrido comercial Cynthia F1 y e) Variedad comercial Babyplant.



**Figura 28.** Frutos de pimiento de a) variedad comercial Pebrot Blanc de Berga y b) accesión del banco de germoplasma BGV-5143.

La selección de los tres ecotipos locales se realizó con el fin de conservar el acervo genético de la propia variedad local, de elevada adaptación al territorio de Villena con buena respuesta a condiciones de bajos insumos, y con unas propiedades organolépticas plenamente aceptadas en la localidad. Las variedades comerciales Babyplant y Cynthia F1 se conservaron por su similitud a los morfotipos locales y sus interesantes propiedades nutricionales, fenotípicas y agronómicas. Sin embargo, la accesión del banco BGV-5143 y la variedad local *Pebrot Blanc de Berga* no fueron seleccionadas por su similitud fenotípica con el pimiento blanco de Villena, sino por su potencial como parentales de posibles híbridos para transmitir caracteres de interés como el vigor.

Adicionalmente, en la segunda campaña se introdujeron nuevos testigos comerciales. Las variedades empleadas fueron Cynthia F1, Skytia F1, Century F1, Pyramis F1 y Multiflor.

#### 4.2. CARACTERIZACIÓN AGRONÓMICA

En la primera recolecta de la campaña de 2019 se observó una importante variabilidad en el rendimiento total cuantificado, identificándose 3 genotipos que no presentaban frutos en estado adecuado para su recolección. Estos fueron las accesiones del banco de germoplasma BGV-15011 y BGV-15012, así como la variedad local del agricultor Zapater (Tabla 6). Sin tener en consideración las entradas que no fueron recolectadas, se determinaron valores de tan solo 0,29 kg en la accesión BGV – 1463, en contraste con la variedad comercial Babyplant, que alcanzó los 19,39 kg. El rendimiento total promedio de todos los materiales evaluados fue de 4,04 kg (Tabla 5), la mitad del rendimiento total determinado en el ecotipo local del agricultor Morales, el cual alcanzó los 8,64 kg. Así mismo, si se atiende al peso promedio de 10 frutos, el rango de valores también fue considerablemente variable (Tabla 5), correspondiéndose la accesión BGV-3764 con aquella de valor más reducido, 1,06 g. Por su parte, el híbrido Cynthia F1 fue el que alcanzó el valor más elevado, siendo éste de 80,40 g. El promedio del peso para 10 frutos global fue de 52,33 g, valor inferior a los pesos obtenidos en los ecotipos locales (Tabla 5).

En la recolecta de septiembre se detectó una reducción considerable en el rendimiento total de gran parte de las entradas estudiadas (Tabla 5). Así, el promedio de la segunda cosecha se redujo a 1,65 kg, frente a los 4,04 kg de la cosecha anterior. A su vez, la variabilidad existente en el rendimiento total entre accesiones fue bastante menor en esta segunda recolecta, donde la entrada de mayor valor fue la cedida por el agricultor Morales, con 2,44 kg, frente al 1,06 kg cosechados de la accesión BGV-14140, presentando los ecotipos locales unos promedios de rendimiento total superiores al promedio general (Tabla 5). Atendiendo al peso medio de 10 frutos, se puede observar nuevamente una elevada diversidad entre accesiones (Tabla 5). De este modo, la variedad comercial Goccia D'oro alcanzó casi 134 g, mientras que la entrada BGV- 14140 tan solo obtuvo 48,10 g. El promedio global se encontró en 69,05 g, valor muy inferior a los rendimientos cuantificados en los ecotipos locales (Tabla 5).

**Tabla 5.** Rendimiento o peso total (kg) y peso medio de 10 frutos (g) de las distintas accesiones evaluadas en agosto y septiembre de 2019.

Variedad	Rendimiento agosto	Rendimiento septiembre	Peso Medio de 10 frutos agosto	Peso Medio de 10 frutos septiembre
<b>Cynthia F1</b>	11,56	1,75	80,40	65,70
<b>Skytia F1</b>	3,46	1,16	60,20	59,80
<b>Goccia D'oro</b>	5,38	1,89	59,70	135,75
<b>Pebrot Blanc de Berga</b>	1,94	1,90	43,70	55,50
<b>Babyplant</b>	19,39	2,57	66,80	78,20
<b>Ros de Mallorca</b>	4,49	1,62	44,50	65,90
<b>Monanta</b>	1,73	1,45	53,60	59,90
<b>BGV-15011</b>	0	1,20	0	62,50
<b>BGV-15012</b>	0,29	1,93	47,83	68,80
<b>BGV-1463</b>	0	1,17	0	75,33
<b>BGV-1850</b>	0,44	1,22	33,62	51,30
<b>BGV-3764</b>	2,96	1,94	21,60	47,50
<b>BGV-5143</b>	1,28	1,58	43,20	48,80
<b>BGV-601</b>	1,17	1,47	58,10	96,13
<b>BGV-14140</b>	0,71	1,06	53,60	48,13
<b>Agricultor Serrano</b>	1,82	2,24	65,80	75,60
<b>Agricultor Zapater</b>	0	1,98	0	79,10
<b>Agricultor Morales</b>	8,64	2,44	64,90	87,70
<b>Media</b>	<b>4,04</b>	<b>1,65</b>	<b>52,33</b>	<b>69,05</b>

Atendiendo a estos resultados, es de interés mencionar el hecho de que las accesiones de menores rendimientos fueron las entradas del banco de germoplasma (Tabla 5). Una parte considerable de las variedades que se conservan en el banco de germoplasma del COMAV se corresponden con ecotipos locales o tradicionales, también conocidos como “*landraces*”. Estos materiales, como es el caso del pimiento blanco de Villena, no han sufrido un proceso de mejora tan elevado como lo han hecho las variedades comerciales actuales, especialmente en caracteres como el rendimiento o resistencia a patógenos. Por ello, es probable que estas accesiones se encuentren adaptadas a otras localizaciones geográficas específicas con unas condiciones climáticas concretas, además de no presentar elevados rendimientos de forma intrínseca. Además, el ecotipo local cedido por el agricultor Morales fue el que presentó un mayor rendimiento total en la segunda recolecta de la campaña, siendo este resultado razonable, pues se trata de una variedad especialmente adaptada a dichas condiciones geoclimáticas. De igual modo, se puede comprobar que las variedades comerciales actuales, como Babyplant o el híbrido Cynthia F1, por su propia constitución genética, pueden alcanzar rendimientos muy superiores a los observados en otras accesiones en las condiciones estudiadas.

En la campaña de 2020, el rendimiento total promedio general fue de 1,68 kg, muy similar al rendimiento total de septiembre de la campaña anterior. El rendimiento total más bajo se registró en la entrada BGV-5143, con 0,78 kg, frente al rendimiento del agricultor Zapater, que alcanzó los 2,36 kg. El promedio general se correspondió con 1,68 kg, ligeramente inferior a los valores cuantificados en los ecotipos locales (Tabla 6). Adicionalmente, se determinó el peso medio de 5 frutos, en el cual, la accesión BGV-5143 fue la que presentó un peso más bajo, siendo este de 39,80 g, en contraste con Cynthia F2 – 3, que alcanzó los 95,60 g. El promedio general de este parámetro se correspondió con 62,85 g, muy similar o superado por los valores cuantificados en los ecotipos locales (Tabla 6).

**Tabla 6.** Rendimiento o peso total (kg) y peso medio de 5 frutos (g) de las distintas accesiones evaluadas en septiembre de 2020.

Variedad	Rendimiento	Peso Medio de 5 frutos
Cynthia F1	2,13	65,40
Cynthia F2 - 1	1,02	70,40
Cynthia F2 - 2	1,32	68,80
Cynthia F2 - 3	0,86	95,60
Cynthia F2 - 4	2,32	61,00
Skythia F1	1,79	58,80
Pyramis F1	1,68	53,60
Century F1	2,04	63,20
Pebrot Blanc de Berga	0,94	67,00
Babyplant	1,99	65,40
Multiflor	2,02	46,80
BGV-5143	0,78	39,80
Agricultor Serrano	2,05	62,60
Agricultor Zapater	2,36	63,80
Agricultor Morales	1,88	60,60
<b>Media</b>	<b>1,68</b>	<b>62,85</b>

Los rendimientos obtenidos en esta segunda campaña se ajustan a los patrones observados en la campaña anterior. Nuevamente, las accesiones de mayores rendimientos se correspondieron con un descendiente del híbrido Cynthia F1, y con el ecotipo local del agricultor Zapater, altamente adaptado (Tabla 6). Además, en la segunda campaña el rendimiento total y el rendimiento promedio relativo a 5 frutos más bajos se volvieron a

corresponder con entradas del banco de germoplasma (Tabla 6). Esto último pudo deberse a diversos motivos, como una inadecuada adaptación a condiciones de producción de bajos insumos o la existencia de una posible interacción negativa con las condiciones agroclimáticas aplicadas.

Debido a los resultados de rendimiento cuantificados de las dos cosechas de la primera campaña, se podría llegar a la idea de que septiembre posiblemente sea un mes de recolecta más adecuado frente al mes de agosto. Esto se intuye atendiendo al mayor tamaño de fruto observado en la segunda recolecta, reflejado a través del peso promedio de 10 frutos. Así, se cuantificaron 52,33 g en agosto frente a 69,05 g en septiembre (Tabla 5). Sin embargo, a pesar de que el rendimiento total fue superior en agosto, esto podría deberse a una recolección excesivamente temprana, que implicara frutos de menor tamaño, junto con una menor disponibilidad de nuevos frutos cuajados en la siguiente cosecha. Sin embargo, en la campaña de 2020, aunque el peso promedio estaba referido a 5 frutos, éste era de elevada magnitud, apoyando la idea de frutos de buen tamaño en el mes de septiembre (Tabla 6). El rendimiento total fue el que resultó ser menor de lo esperado, pues se realizó una única recolecta. Sin embargo, las accesiones que registraron los menores rendimientos totales se correspondieron con los genotipos mantenidos bajo invernadero en el COMAV. Estos bajos rendimientos podrían ser explicados por una baja adaptación a dichas condiciones. A estos genotipos se les suman algunos individuos F2 de Cynthia F1, los cuales, al tratarse de una F2, podrían haber manifestado una amplia segregación en caracteres como el rendimiento.

De este modo, la amplia variabilidad descrita en el rendimiento se puede respaldar en la naturaleza cuantitativa y compleja del carácter. La dependencia de multitud de genes, algunos de ellos de efecto menor, junto con la elevada influencia del ambiente y el sistema de cultivo, pueden ser responsables de parte de esta diversidad de valores observados (Elizondo-Cabalceta and Monge-Pérez, 2017).

#### 4.3. CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA

Al igual que el rendimiento, los parámetros fenotípicos pueden presentar una naturaleza compleja, es decir, el ambiente es capaz de promover una variabilidad adicional a la generada por el propio genotipo.

En la segunda cosecha de la campaña de 2019, se detectó una variabilidad en el parámetro L desde 39,18 en la accesión BGV-14140, hasta 63,50 en el híbrido comercial Skytia F1, siendo éste así el más brillante. El promedio de la luminosidad se situó en 57,46 (Tabla 7). Las coordenadas del rojo/verde oscilaron desde 5,48 en el híbrido Cynthia F1, hasta 14,77 en la variedad Ros de Mallorca (Tabla 7). El promedio de este parámetro se situó en 8,82, observándose en estos valores una mayor tendencia al rojo que al color verde (Tabla 7). Finalmente, se determinó el parámetro correspondiente a las coordenadas amarillo/azul, el cual varió desde 16,60 en el híbrido Cynthia F1, hasta la variedad comercial Goccia D'oro, que alcanzó un valor de 25,85 (Tabla 7). El promedio esta vez



se situó en 22,09 (Tabla 7), lo que muestra una tendencia a tonalidades amarillas que se pueden intuir a simple vista en los frutos de la Figura 15, Figura 27 y Figura 28.

La firmeza se evaluó mediante una escala de 1 a 5, donde el 1 se correspondía con una carne no firme y 5 con una carne muy firme. Así, las entradas de menor firmeza fueron tres, Cynthia F1, Pebrot Blanc de Berga y Monanta, cuyo promedio se correspondió con 2,4. En contraposición, dos materiales destacaron por presentar una firmeza promedio de 5, siendo éstas tres accesiones del banco de germoplasma: BGV-3764, BGV-5143 y BGV-1463 (Tabla 7). El promedio de la firmeza en los materiales evaluados fue de 3,97, es decir, moderadamente elevada (Tabla 7).

El espesor de la carne del fruto se evaluó en ambas cosechas, con el fin de determinar posibles diferencias en la calidad del fruto entre ambos momentos de recolección. Esto se debe a que el grosor del pericarpio es un parámetro de gran importancia en la caracterización y valoración de variedades de pimiento (Reveles-Hernández *et al.*, 2010), pues en función de la forma del consumo del mismo, se busca una mayor o menor carnosidad. Así, en la cosecha de agosto se registró un rango desde 2,80 mm en la variedad Pebrot Blanc de Berga, hasta 5 mm en el ecotipo local del agricultor Morales (Tabla 7). En los frutos recolectados un mes después se cuantificaron valores desde 1,70 mm, en la accesión BGV-1850, a 3,80 mm de los frutos del agricultor Morales (Tabla 7). De media, el espesor pareció mantenerse similar en ambas cosechas, pues en agosto el promedio global presentó un valor de 3,55 y en septiembre de 3,29. En este parámetro se observó que los ecotipos locales presentaron valores de los más elevados entre los materiales del estudio (Tabla 7).

En relación a la coloración de los frutos, aunque los materiales evaluados se hayan correspondido en casi su totalidad con colores amarillento-blanquecinos, hay una variabilidad visible en los tonos de las accesiones. Para definir el fenotipo del pimiento blanco de Villena, se atendió a los datos obtenidos en los ecotipos locales. Así, se puede determinar que un valor de L adecuado se aproxima a 60, es decir, presenta una claridad o luminosidad considerables. El parámetro “a”, por su parte, es deseable que se encuentre entre 6,5 y 9,5 mientras que el “b” debe oscilar entre 21 y 24, aproximadamente, es decir, tonalidades que tiendan al amarillo, y a muy baja intensidad, al rojo. Además, la firmeza del fruto preferente en el pimiento blanco de Villena es relativamente elevada, encontrándose entre 4 y 4,60. Finalmente, el espesor de la carne más atractiva se determinó entre 3,60 mm y 5 mm (Tabla 7). Atendiendo a esta caracterización, se pudieron seleccionar algunos materiales evaluados con potencial para ser empleados como posibles donantes por su similitud con el pimiento blanco de Villena. Entre estos materiales se seleccionaron el híbrido Cynthia F1, la entrada del banco de germoplasma BGV-5143 y Babyplant, escogidos finalmente para su siembra en 2020. Esta similitud los hace donantes muy atractivos para emplearlos en mejora de esta variedad local.

**Tabla 7.** Valores promedio (n = 5) de los parámetros L, a y b del color (media ± Des. Est.), la firmeza (media ± Des. Est. en escala 1-5) y el espesor (media ± Des. Est. en mm) de las distintas accesiones evaluadas en agosto y septiembre de 2019. n.d. = ausencia de datos por falta de recolecta.

Variedad	Color			Firmeza	Espesor - Agosto	Espesor - Septiembre
	L	a	b			
<b>Cynthia F1</b>	57,10 ± 2,84 bcd	5,48 ± 0,59 a	16,60 ± 0,99 a	2,40 ± 0,55 a	4,80 ± 0,84 e	4,80 ± 0,84 d
<b>Skytia F1</b>	63,50 ± 2,52 e	5,40 ± 0,62 a	18,60 ± 1,97 ab	3,40 ± 0,55 bc	3,40 ± 0,55 abc	3,40 ± 0,55 bc
<b>Goccia D'oro</b>	56,91 ± 1,97 bcd	11,15 ± 1,25 e	25,85 ± 0,96 ef	4,60 ± 0,55 de	3,40 ± 0,55 abc	4,40 ± 1,14 cd
<b>Pebrot Blanc de Berga</b>	59,17 ± 4,19 cde	8,61 ± 0,80 cd	20,97 ± 3,18 bcd	2,40 ± 0,55 a	2,80 ± 0,84 ab	2,90 ± 0,42 ab
<b>Babyplant</b>	61,98 ± 2,67 de	8,34 ± 1,36 bcd	23,98 ± 3,18 def	4,60 ± 0,55 de	4,20 ± 0,84 cde	3,20 ± 0,45 bc
<b>Ros de Mallorca Battle</b>	57,30 ± 2,22 bcd	14,77 ± 0,92 e	27,05 ± 1,82 f	3,40 ± 0,55 bc	3,60 ± 0,55 bcd	2,80 ± 0,84 ab
<b>Monanta</b>	58,48 ± 4,01 bcde	6,67 ± 0,80 abc	20,67 ± 4,33 bcd	2,40 ± 0,55 a	3,40 ± 0,55 abc	2,90 ± 0,74 ab
<b>BGV-15011</b>	60,68 ± 3,22 cde	8,40 ± 0,39 bcd	22,05 ± 1,96 bcde	4,40 ± 0,55 de	n.d.	3,60 ± 0,55 bcd
<b>BGV-15012</b>	53,39 ± 2,14 b	8,56 ± 1,40 cd	21,19 ± 1,52 bcd	4,60 ± 0,55 de	n.d.	3,80 ± 0,45 bcd
<b>BGV-1463</b>	56,30 ± 3,84 bcd	11,87 ± 1,48 e	24,84 ± 2,32 def	5,00 ± 0,00 e	n.d.	2,40 ± 0,55 ab
<b>BGV-1850</b>	58,83 ± 2,48 bcde	7,42 ± 1,23 bc	20,47 ± 1,70 bcd	3,60 ± 0,55 bc	2,30 ± 0,45 a	1,70 ± 0,45 a
<b>BGV-3764</b>	56,18 ± 2,20 bc	5,34 ± 0,52 a	23,21 ± 1,59 cdef	5,00 ± 0,00 e	2,20 ± 0,45 a	3,30 ± 0,45 bc
<b>BGV-5143</b>	56,48 ± 2,19 bcd	6,39 ± 0,63 ab	20,95 ± 2,24 bcd	5,00 ± 0,00 e	4,60 ± 0,55 de	2,80 ± 0,84 ab
<b>BGV-601</b>	55,53 ± 1,12 bc	12,32 ± 1,48 d	24,50 ± 2,08 def	4,60 ± 0,55 de	3,30 ± 0,45 abc	3,30 ± 0,45 bc
<b>BGV-14140</b>	39,18 ± 1,42 a	13,86 ± 0,52 e	18,91 ± 1,19 abc	3,00 ± 0,00 ab	2,30 ± 0,45 a	2,90 ± 0,74 ab
<b>Agricultor Serrano</b>	59,58 ± 2,39 cde	6,54 ± 0,66 abc	21,08 ± 0,78 bcd	4,40 ± 0,55 de	4,40 ± 0,55 cde	3,70 ± 0,67 bcd
<b>Agricultor Zapater</b>	60,22 ± 2,78 cde	8,20 ± 1,38 bcd	22,81 ± 1,25 bcde	4,00 ± 0,00 cd	n.d.	3,60 ± 0,55 bcd
<b>Agricultor Morales</b>	63,42 ± 3,06 d	9,49 ± 1,71 d	23,89 ± 0,85 def	4,60 ± 0,55 de	5,00 ± 0,71 e	3,80 ± 1,10 bcd
<b>Media</b>	<b>57,46 ± 5,75</b>	<b>8,82 ± 2,98</b>	<b>22,09 ± 3,22</b>	<b>3,97 ± 0,10</b>	<b>3,55 ± 1,07</b>	<b>3,29 ± 0,93</b>

Para cada variedad, las medias dentro de cada columna seguida de la misma letra no son diferentes a nivel estadístico para un  $\alpha = 0,05$ , por la prueba de múltiples rangos de Student-Newman-Keuls.

Para estudiar si el mes de cosecha provoca un efecto significativo a nivel estadístico sobre el espesor del pericarpio en los materiales evaluados, se realizó un análisis de tipo ANOVA. Así, se determinó que el cosechar las accesiones en el mes de agosto, o retrasar dicha cosecha a septiembre, implicaba diferencias altamente significativas a nivel estadístico para el factor “Variedad” y su interacción con el mes de cosecha, con un P – valor de 0,000 (Tabla 8), lo cual respalda la amplia diversidad que presentan los materiales evaluados y su influencia por parte del momento de recolección. Así mismo, se detectaron diferencias estadísticamente significativas en el factor “Mes de cosecha”, al presentar un P – valor de 0,0185 (Tabla 8). Estos resultados pusieron de manifiesto la complejidad de este carácter fenotípico.

**Tabla 8.** Tabla ANOVA de los valores de espesor (mm) del fruto en los meses de agosto y septiembre de la campaña de 2019.

Fuente	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>				
<b>A: Variedad</b>	13	5,57473	12,36	<b>0,000***</b>
<b>B: Mes de cosecha</b>	1	2,57857	5,72	<b>0,0185*</b>
<b>INTERACCIÓN</b>				
<b>AxB</b>	13	1,72473	3,83	<b>0,000***</b>
<b>RESIDUOS</b>	112	0,450893		
<b>TOTAL (CORREGIDO)</b>	139			

Los niveles de significancia están representados por \* a  $P \leq 0.05$ , \*\* a  $P \leq 0.01$ , \*\*\* a  $P \leq 0.001$ .

En la campaña de 2020, se volvieron a evaluar los caracteres fenotípicos asociados al color, la firmeza y el espesor del pericarpio del fruto. Así, respecto al parámetro L, los valores oscilaron desde 57,12 en el ecotipo del agricultor Serrano, hasta 66 en el híbrido Pyramis F1. El promedio de este parámetro se situó en 61,18, correspondiéndose con una luminosidad considerable (Tabla 9). En el caso del parámetro “a” se detectaron valores desde 5,42 en la variedad Multiflor, hasta 10,63 en Pebrot Blanc de Berga, encontrándose el promedio en 7,68, nuevamente una tendencia al rojo muy suave (Tabla 9). En este caso, los ecotipos locales mostraron valores elevados frente a gran parte de las accesiones evaluadas. Finalmente, el parámetro “b” osciló desde 17,30 en Multiflor, hasta 26,50 en la variedad Pebrot Blanc de Berga (Tabla 9). El promedio, situado en 21,72, reflejó nuevamente la presencia de tonalidades amarillas (Tabla 9).

La firmeza, por su parte, presentó un rango de valores más estrecho que en la campaña anterior. Se detectó así una firmeza promedio de 3 en el híbrido Skytia F1, en contraposición con la firmeza medida en los individuos de dos líneas derivadas de Cynthia F1, Cynthia F2 – 3 y Cynthia F2 – 4, con 4,60 en ambos casos. El promedio global fue de 3,92, nuevamente elevado (Tabla 9).

Finalmente se determinó el espesor del pericarpio del fruto, donde se midió un valor promedio de 3,60 mm en la entrada BGV-5143 frente a los 5,30 mm medidos en la línea Cynthia F2-3. El promedio general, a su vez, se situó en 4,23 mm (Tabla 9).

**Tabla 9.** Valores promedio (n = 5) de los parámetros L, a y b del color (media  $\pm$  Des. Est.), la firmeza (media  $\pm$  Des. Est. en escala 1-5) y el espesor (media  $\pm$  Des. Est. en mm) de las distintas accesiones evaluadas en septiembre de 2020.

Variedad	Color			Firmeza	Espesor
	L	(-) a	b		
Cynthia F1	61,75 $\pm$ 1,51 ab	7,12 $\pm$ 0,32 a	20,32 $\pm$ 1,61 abcdef	4,00 $\pm$ 0,71 abc	4,60 $\pm$ 0,65 abc
Cynthia F2 - 1	63,17 $\pm$ 4,71 ab	6,95 $\pm$ 0,88 a	22,15 $\pm$ 2,20 bcdefg	4,40 $\pm$ 0,55 b	4,80 $\pm$ 0,45 bc
Cynthia F2 - 2	58,92 $\pm$ 2,65 ab	6,10 $\pm$ 1,14 a	18,95 $\pm$ 2,31 abcd	4,40 $\pm$ 0,55 b	4,40 $\pm$ 0,55 abc
Cynthia F2 - 3	57,31 $\pm$ 2,72 a	5,91 $\pm$ 0,22 a	22,55 $\pm$ 1,71 cdefg	4,60 $\pm$ 0,55 b	5,30 $\pm$ 0,67 c
Cynthia F2 - 4	60,13 $\pm$ 2,75 ab	6,06 $\pm$ 1,07 a	17,69 $\pm$ 1,65 ab	4,60 $\pm$ 0,55 b	4,40 $\pm$ 0,55 abc
Skytia F1	66,42 $\pm$ 2,11 b	9,44 $\pm$ 1,39 b	25,59 $\pm$ 0,48 g	3,00 $\pm$ 0,00 a	3,70 $\pm$ 0,27 ab
Pyramis F1	66,00 $\pm$ 3,88 b	6,42 $\pm$ 0,95 a	19,62 $\pm$ 3,49 abcde	3,60 $\pm$ 0,55 abc	4,00 $\pm$ 0,71 ab
Century F1	60,22 $\pm$ 5,89 ab	5,91 $\pm$ 0,91 a	18,52 $\pm$ 4,21 abc	3,80 $\pm$ 0,45 abc	4,00 $\pm$ 0,71 ab
Pebrot Blanc de Berga	60,73 $\pm$ 3,43 ab	10,63 $\pm$ 2,18 b	26,50 $\pm$ 1,54 g	3,80 $\pm$ 0,45 abc	3,40 $\pm$ 0,55 a
Babyplant	57,83 $\pm$ 5,97 a	9,56 $\pm$ 0,94 b	23,48 $\pm$ 2,28 defg	4,20 $\pm$ 0,45 bc	4,40 $\pm$ 0,55 abc
Multiflor	63,30 $\pm$ 2,20 ab	5,42 $\pm$ 0,80 a	17,30 $\pm$ 2,34 a	3,20 $\pm$ 0,45 ab	3,90 $\pm$ 0,22 ab
BGV-5143	59,81 $\pm$ 1,18 ab	6,73 $\pm$ 1,15 a	20,22 $\pm$ 2,64 abcdef	3,80 $\pm$ 0,84 abc	3,60 $\pm$ 0,42 ab
Agricultor Serrano	57,12 $\pm$ 4,19 a	10,58 $\pm$ 1,08 b	24,56 $\pm$ 1,64 fg	4,00 $\pm$ 0,00 abc	3,90 $\pm$ 0,74 ab
Agricultor Zapater	63,30 $\pm$ 2,73 ab	8,88 $\pm$ 1,78 b	23,98 $\pm$ 2,84 efg	3,60 $\pm$ 0,55 abc	4,60 $\pm$ 0,55 abc
Agricultor Morales	61,66 $\pm$ 2,44 ab	9,46 $\pm$ 1,14 b	24,34 $\pm$ 2,59 efg	3,80 $\pm$ 0,45 abc	4,40 $\pm$ 0,42 abc
<b>Media</b>	<b>61,18 <math>\pm</math> 4,23</b>	<b>7,68 <math>\pm</math> 2,08</b>	<b>21,72 <math>\pm</math> 3,61</b>	<b>3,92 <math>\pm</math> 0,65</b>	<b>4,23 <math>\pm</math> 0,70</b>

Para cada variedad, las medias dentro de cada columna seguida de la misma letra no son diferentes a nivel estadístico para un  $\alpha = 0,05$ , por la prueba de múltiples rangos de Student-Newman-Keuls.

En los materiales evaluados durante las dos campañas los espesores alcanzaron valores entre 2,20 y 5 mm. Estos resultados son relativamente bajos teniendo en cuenta a autores como Gajc-Wolska and Skąpski, (2001), los cuales establecieron que la media del grosor en el pimiento de grupo *grossum* se encuentra entre 5 y 6 mm, o a Buczkowska, (2004), que afinó a un rango entre 5,5 y 5,8 mm. Sin embargo, el grosor del pericarpio es fuertemente dependiente del genotipo, del estado de maduración o del ambiente. Esto queda contrastado con resultados de trabajos como el de Jadczyk *et al.*, (2010), cuyos materiales presentaron grosores desde 4,1 mm a 6,7 mm, siendo frutos recolectados aún en verde.

Finalmente, con el fin de evaluar el efecto de la evaluación y selección elaboradas en la campaña de 2019, se realizó un análisis de tipo ANOVA para los parámetros fenotípicos evaluados en la cosecha de septiembre. De este modo, se emplearon únicamente las accesiones que fueron seleccionadas para su cultivo y evaluación posterior en la campaña

de 2020. Así, en la Tabla 10 se muestra el análisis ANOVA para los parámetros del color del fruto. Para el parámetro L se detectaron únicamente diferencias estadísticamente significativas para el factor “Variedad”, con un P – valor de 0,0248. En el caso del parámetro “a” se obtuvieron diferencias altamente significativas para los dos factores, obteniéndose un P – valor de 0,0001 y 0,0002, respectivamente. Así mismo, la interacción entre ambos presentó diferencias estadísticamente significativas, con un P – valor de 0,0143. Finalmente, el parámetro “b” presentó diferencias altamente significativas para ambos factores y su interacción, con un P – valor de 0,0118, de 0,0094 y 0,0188 para los factores “Variedad” y “Año”, así como para su interacción, respectivamente (Tabla 10).

**Tabla 10.** Análisis ANOVA para los parámetros del color analizados, L, a y b, durante las campañas de 2019 y 2020.

Fuente	L			a			b		
	GI	Cuadrado Medio	Valor-P	GI	Cuadrado Medio	Valor-P	GI	Cuadrado Medio	Valor-P
<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>									
<b>A:Variedad</b>	5	31,329	<b>0,0248*</b>	5	12,1616	<b>0,0001***</b>	5	16,6435	<b>0,0118*</b>
<b>B:Año</b>	1	0,06144	<b>0,9407</b>	1	28,4144	<b>0,0002***</b>	1	36,754	<b>0,0094**</b>
<b>INTERACCIÓN</b>									
<b>AxB</b>	5	24,6846	<b>0,0648</b>	5	5,53149	<b>0,0143*</b>	5	15,154	<b>0,0188*</b>
<b>RESIDUOS</b>	48	10,9915		48	1,72944		48	5,0128	
<b>TOTAL (CORREGIDO)</b>	59			59			59		

Los niveles de significancia están representados por \* a  $P \leq 0.05$ , \*\* a  $P \leq 0.01$ , \*\*\* a  $P \leq 0.001$ .

Los resultados del análisis ANOVA para los parámetros de firmeza y espesor de la carne se muestran en la Tabla 11. Así, la firmeza presentó diferencias altamente significativas para el factor “Variedad” y la interacción estudiada, obteniéndose valores de P – valor de 0 en ambos casos (Tabla 11). Igualmente, el factor “Año” presentó diferencias significativas, con un P – valor de 0,0201. El espesor, sin embargo, no mostró diferencias significativas por parte de la interacción. De este modo, se describieron diferencias altamente significativas para los factores “Variedad” y “Año”, obteniéndose un P – valor de 0,0021 y 0,0001, respectivamente (Tabla 11).

Así, los resultados obtenidos del análisis ANOVA (Tabla 10 y Tabla 11), mostraron diferencias significativas para ambos factores y su interacción para la mayor parte de los parámetros evaluados. Sin embargo, la significación de estos factores era hasta cierto punto esperables, pues además de la amplia diversidad descrita entre los materiales, no todos fueron cultivados en las mismas condiciones de cultivo durante las dos campañas. Aun así, pueden tomarse como reflejo de la complejidad que subyace en las características fenotípicas evaluadas en el fruto del pimiento.

**Tabla 11.** Análisis ANOVA para los parámetros fenotípicos de firmeza y espesor, durante las campañas de 2019 y 2020.

Fuente	Firmeza			Espesor		
	Gl	Cuadrado Medio	Valor-P	Gl	Cuadrado Medio	Valor-P
<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>						
<b>A: Variedad</b>	5	2,49667	<b>0,0000***</b>	5	1,78417	<b>0,0021**</b>
<b>B: Año</b>	1	1,35	<b>0,0201*</b>	1	7,70417	<b>0,0001***</b>
<b>INTERACCIÓN</b>						
<b>AxB</b>	5	1,99	<b>0,0000***</b>	5	0,324167	<b>0,5509</b>
<b>RESIDUOS</b>	48	0,233333		48	0,402083	
<b>TOTAL (CORREGIDO)</b>	59			59		

Los niveles de significancia están representados por \* a  $P \leq 0.05$ , \*\* a  $P \leq 0.01$ , \*\*\* a  $P \leq 0.001$ .

De este modo, los materiales que, a nivel fenotípico, presentaron un mayor potencial para ser empleados como donantes de posibles características de interés por su similitud con los ecotipos locales fueron Babyplant, Pebrot Blanc de Berga y Skytia F1.

#### 4.4. EVALUACIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS

##### 4.4.1. Contenido en azúcares

La concentración en azúcares ha sido un parámetro tradicionalmente empleado para evaluar los atributos de calidad de un fruto para su introducción en el mercado. Además, se ha observado que la composición de la fracción de azúcar en un fruto se ve afectada tanto por factores genéticos, como ambientales, debido a la alteración de la actividad enzimática involucrada en su síntesis o degradación (Lingle and Dunlap, 1987). Este hecho respalda la amplia variabilidad de valores presentes en los materiales evaluados, pues, aunque se ha empleado el mismo manejo, al menos en la mayor parte de los materiales, puede haber pequeñas diferencias ambientales que provoquen una mayor variación en los valores para el contenido en azúcares, además de la propia diversidad genética empleada. Adicionalmente, debido al estado de inmadurez con el que se han recolectado los frutos, la concentración de azúcares esperable es más baja de la que podría obtenerse en pimientos ya maduros, momento en el que se alcanza el mayor contenido en azúcares acumulados (Martínez *et al.*, 2007).

Así, en la primera cosecha de la campaña de 2019 se observó una amplia variabilidad entre accesiones para los tres azúcares evaluados, fructosa, glucosa y sacarosa. Comenzando con la fructosa, se determinó un intervalo de valores que oscilaba desde 6,30 g/kg pf en Babyplant, hasta 15,37 g/kg pf en el híbrido Cynthia F1, situándose el promedio global en 9,91 g/kg pf (Tabla 12). La glucosa, por su parte, presentó una variabilidad que se extendía desde los 3,53 g/kg pf en Babyplant hasta los 18,05 g/kg pf

en la accesión BGV-15012 (Tabla 12). Se determinó un promedio de 10,87 g/kg pf, muy similar al promedio determinado para el contenido en fructosa (Tabla 12). Finalmente, la sacarosa se cuantificó en una concentración muy inferior a la de sus dos monosacáridos correspondientes, oscilando entre 0,10 g/kg pf en la variedad Babyplant, hasta 0,87 g/kg pf en la accesión BGV-5143. El promedio del disacárido se situó en tan solo 0,20 g/kg pf (Tabla 12).

**Tabla 12.** Valores promedio ( $n = 5$ ) del contenido en fructosa, glucosa y sacarosa (media  $\pm$  Des. Est. en g/kg pf) de las distintas accesiones evaluadas en las cosechas de agosto y septiembre en la campaña de 2019. n.d. = ausencia de datos por falta de recolecta.

Variedad	Agosto			Septiembre		
	Fructosa	Glucosa	Sacarosa	Fructosa	Glucosa	Sacarosa
<b>Cynthia F1</b>	15,37 $\pm$ 0,08 g	15,51 $\pm$ 0,28 gh	0,19 $\pm$ 0,09 a	8,32 $\pm$ 0,25 c	3,57 $\pm$ 0,64 a	0,00 $\pm$ 0,00 a
<b>Skytia F1</b>	9,75 $\pm$ 0,06 de	10,67 $\pm$ 0,14 cde	0,15 $\pm$ 0,01 a	8,91 $\pm$ 0,06 c	10,67 $\pm$ 0,14 efg	0,15 $\pm$ 0,01 ab
<b>Goccia D'oro</b>	12,26 $\pm$ 0,04 f	13,22 $\pm$ 0,12 efg	0,16 $\pm$ 0,01 a	10,80 $\pm$ 0,77 def	13,28 $\pm$ 0,96 ij	0,16 $\pm$ 0,02 b
<b>Pebrot Blanc de Berga</b>	9,32 $\pm$ 1,58 cde	11,56 $\pm$ 1,41 def	0,13 $\pm$ 0,02 a	8,42 $\pm$ 0,31 c	11,65 $\pm$ 0,45 efg	0,11 $\pm$ 0,02 ab
<b>Babyplant</b>	6,30 $\pm$ 2,11 a	3,53 $\pm$ 3,34 a	0,10 $\pm$ 0,03 a	11,32 $\pm$ 0,62 f	12,87 $\pm$ 0,71 hi	0,00 $\pm$ 0,00 a
<b>Ros de Mallorca Battle</b>	9,43 $\pm$ 0,12 cde	10,18 $\pm$ 0,13 cde	0,14 $\pm$ 0,01 a	10,55 $\pm$ 0,17 def	14,01 $\pm$ 0,27 ij	0,30 $\pm$ 0,05 c
<b>Monanta</b>	11,32 $\pm$ 0,10 ef	11,94 $\pm$ 0,13 ef	0,26 $\pm$ 0,02 a	10,53 $\pm$ 0,66 def	12,82 $\pm$ 0,79 hi	0,49 $\pm$ 0,05 d
<b>BGV-15011</b>	n.d.	n.d.	n.d.	10,13 $\pm$ 0,95 d	11,84 $\pm$ 1,19 efgh	0,13 $\pm$ 0,01 b
<b>BGV-15012</b>	15,10 $\pm$ 0,29 g	18,05 $\pm$ 0,36 h	0,15 $\pm$ 0,03 a	8,81 $\pm$ 0,06 c	11,83 $\pm$ 0,20 efgh	0,35 $\pm$ 0,04 c
<b>BGV-1463</b>	n.d.	n.d.	n.d.	7,61 $\pm$ 0,11 b	9,63 $\pm$ 0,10 c	0,12 $\pm$ 0,01 ab
<b>BGV-1850</b>	8,16 $\pm$ 1,16 abcd	10,47 $\pm$ 1,53 cde	0,14 $\pm$ 0,01 a	6,66 $\pm$ 0,56 a	9,99 $\pm$ 0,93 cd	2,03 $\pm$ 0,20 f
<b>BGV-3764</b>	6,75 $\pm$ 0,43 a	11,58 $\pm$ 0,74 def	0,17 $\pm$ 0,01 a	6,91 $\pm$ 0,09 a	11,46 $\pm$ 0,21 ef	0,62 $\pm$ 0,04 e
<b>BGV-5143</b>	6,93 $\pm$ 1,60 ab	7,89 $\pm$ 2,96 bcd	0,87 $\pm$ 0,50 b	6,16 $\pm$ 0,31 a	8,10 $\pm$ 0,39 b	3,45 $\pm$ 0,16 g
<b>BGV-601</b>	7,60 $\pm$ 1,23 abcd	7,02 $\pm$ 2,96 bc	0,12 $\pm$ 0,01 a	6,63 $\pm$ 0,13 a	10,45 $\pm$ 0,20 cd	0,16 $\pm$ 0,00 b
<b>BGV-14140</b>	7,18 $\pm$ 2,31 abc	6,48 $\pm$ 4,54 b	0,12 $\pm$ 0,04 a	7,71 $\pm$ 0,31 b	10,75 $\pm$ 0,46 de	0,14 $\pm$ 0,01 b
<b>Agricultor Serrano</b>	9,06 $\pm$ 2,13 bcd	9,93 $\pm$ 2,15 cde	0,14 $\pm$ 0,01 a	10,24 $\pm$ 0,54 de	12,52 $\pm$ 0,68 fghi	0,12 $\pm$ 0,01 ab
<b>Agricultor Zapater</b>	n.d.	n.d.	n.d.	10,70 $\pm$ 0,34 def	12,66 $\pm$ 0,35 ghi	0,00 $\pm$ 0,00 a
<b>Agricultor Morales</b>	14,13 $\pm$ 1,28 g	15,06 $\pm$ 1,35 fgh	0,16 $\pm$ 0,01 a	11,06 $\pm$ 0,35 ef	12,68 $\pm$ 0,42 ghi	0,00 $\pm$ 0,00 a
<b>Media</b>	<b>9,91 <math>\pm</math> 3,17</b>	<b>10,87 <math>\pm</math> 4,07</b>	<b>0,20 <math>\pm</math> 0,22</b>	<b>9,02 <math>\pm</math> 1,75</b>	<b>11,15 <math>\pm</math> 2,40</b>	<b>0,46 <math>\pm</math> 0,86</b>

Para cada variedad, las medias dentro de cada columna seguida de la misma letra no son diferentes a nivel estadístico para un  $\alpha = 0,05$ , por la prueba de múltiples rangos de Student-Newman-Keuls.

En la cosecha de septiembre, se volvió a observar un patrón similar respecto a la amplia variabilidad en el contenido de azúcares. Comenzando con la fructosa, se determinó un intervalo de valores comprendido entre 6,16 g/kg pf en la accesión BGV-5143 y los 11,32 g/kg pf detectados en Babyplant. El promedio global de este azúcar se situó en 9,02 g/kg pf (Tabla 12). Continuando con la glucosa, las concentraciones se presentaron entre los 3,57 g/kg pf del híbrido Cynthia F1 y los 14,01 g/kg pf de la variedad Ros de Mallorca

Battle, situándose el promedio en 11,15 g/kg pf (Tabla 12). Finalmente, la sacarosa volvió a presentar valores más reducidos frente a sus monosacáridos. En este caso, el rango de valores se concentró entre los 0 g/kg pf, detectado en el híbrido Cynthia F1, Babyplant, y en los materiales de los agricultores Zapater y Morales, hasta los 3,43 g/kg pf determinados en la accesión BGV-5143, situándose el promedio en 0,46 g/kg pf (Tabla 12).

Atendiendo a estos valores, se puede observar cómo el recolectar los frutos en el mes de agosto o de septiembre puede afectar de manera importante en su calidad organoléptica. Esto es así porque variedades como Babyplant, que en agosto presentó contenidos muy reducidos en todos los azúcares evaluados, en septiembre se determinó un incremento considerable de estos, implicando una mejora de su calidad interna dependiente del momento de cosecha. Sin embargo, este patrón no es constante en todas las variedades, pues otras, como el ecotipo local del agricultor Morales, sufrió una reducción en los tres azúcares de interés tras retrasar su cosecha (Tabla 12).

El efecto del mes de cosecha y su interacción con el genotipo en el contenido en azúcares se evaluó mediante un análisis ANOVA (Tabla 13). Las concentraciones de fructosa y sacarosa se vieron afectadas a nivel altamente significativo por el factor “Variedad”, “Mes de cosecha” y su interacción, con un P – valor de 0,000 (Tabla 13). Sin embargo, el contenido en glucosa no se vio afectado significativamente por el factor “Mes de cosecha”, aunque sí lo estuvo por el factor “Variedad” y su interacción, con un P – valor de 0,000 (Tabla 13). Estos resultados reafirmaron la influencia del genotipo sobre el contenido en azúcares. A su vez, estos valores son indicativos de la complejidad que subyace en estos compuestos de interés organoléptico, donde, según el azúcar en cuestión, puede verse afectada su concentración con el momento de cosecha.

**Tabla 13.** Análisis ANOVA para los azúcares analizados fructosa, glucosa y sacarosa en la campaña de 2019.

Fuente	Fructosa			Glucosa			Sacarosa		
	Gl	Cuadrado Medio	Valor-P	Gl	Cuadrado Medio	Valor-P	Gl	Cuadrado Medio	Valor-P
<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>									
<b>A:Variedad</b>	14	41,6808	<b>0,000***</b>	14	45,0039	<b>0,000***</b>	14	3,08978	<b>0,000***</b>
<b>B:Mes de cosecha</b>	1	40,8663	<b>0,000***</b>	1	3,272	<b>0,2247</b>	1	4,23293	<b>0,000***</b>
<b>INTERACCIÓN</b>									
<b>AxB</b>	14	21,1948	<b>0,000***</b>	14	58,2336	<b>0,000***</b>	14	1,59621	<b>0,000***</b>
<b>RESIDUOS</b>	120	0,848443		120	2,19653		120	0,0113275	
<b>TOTAL (CORREGIDO)</b>	149			149			149		

Los niveles de significancia están representados por \* a  $P \leq 0.05$ , \*\* a  $P \leq 0.01$ , \*\*\* a  $P \leq 0.001$ .



En la campaña de 2020, se volvió a evaluar el contenido en azúcares para las accesiones seleccionadas en la campaña anterior, junto a los nuevos testigos incluidos. Así, respecto al contenido de fructosa, fue la línea Cynthia F2 – 1 la que presentó un valor más elevado, obteniendo un contenido promedio de 15,37 g/kg pf, en contraste con los 6,30 g/kg pf determinados en el híbrido Century F1 (Tabla 14). El promedio general se situó en esta ocasión en 9,91 g/kg pf (Tabla 14). Respecto a la glucosa, el valor más elevado se determinó en el ecotipo local del agricultor Zapater, alcanzando 18,05 g/kg pf, frente al híbrido Century F1, en la cual se cuantificó 3,53 g/kg pf. El promedio global se encontró situado en 10,87 g/kg pf (Tabla 14). Finalmente, en referencia a la sacarosa, volvió a ser nuevamente el azúcar en menor abundancia de los tres evaluados, pues el máximo fue determinado en el híbrido Skytia F1, con un total de 0,87 g/kg pf, siendo el valor más reducido el de 0,10 g/kg pf del híbrido Century F1. En este último caso, el promedio de todos los materiales se situó en 0,20 g/kg pf (Tabla 14).

**Tabla 14.** Valores promedio (n = 5) del contenido en fructosa, glucosa y sacarosa (media  $\pm$  Des. Est. en g/kg pf) de las distintas accesiones evaluadas en la campaña de 2020.

Variedad	Fructosa	Glucosa	Sacarosa
Cynthia F1	6,75 $\pm$ 0,43 a	11,58 $\pm$ 0,74 def	0,17 $\pm$ 0,01 a
Cynthia F2 - 1	15,37 $\pm$ 0,08 g	15,51 $\pm$ 0,28 gh	0,19 $\pm$ 0,09 a
Cynthia F2 - 2	11,32 $\pm$ 0,10 ef	11,94 $\pm$ 0,13 ef	0,26 $\pm$ 0,02 a
Cynthia F2 - 3	9,75 $\pm$ 0,06 de	10,67 $\pm$ 0,14 cde	0,15 $\pm$ 0,01 a
Cynthia F2 - 4	9,06 $\pm$ 2,13 bcd	9,93 $\pm$ 2,15 cde	0,14 $\pm$ 0,01 a
Skytia F1	6,93 $\pm$ 1,60 ab	7,89 $\pm$ 2,96 bcd	0,87 $\pm$ 0,50 b
Pyramis F1	7,60 $\pm$ 1,23 abcd	7,02 $\pm$ 2,96 bc	0,12 $\pm$ 0,01 a
Century F1	6,30 $\pm$ 2,11 a	3,53 $\pm$ 3,34 a	0,10 $\pm$ 0,03 a
Pebrot Blanc de Berga	12,26 $\pm$ 0,04 f	13,22 $\pm$ 0,12 efg	0,16 $\pm$ 0,01 a
Babyplant	14,13 $\pm$ 1,28 g	15,06 $\pm$ 1,35 fgh	0,16 $\pm$ 0,01 a
Multiflor	7,18 $\pm$ 2,31 abc	6,48 $\pm$ 4,54 b	0,12 $\pm$ 0,04 a
BGV-5143	8,16 $\pm$ 1,16 abcd	10,47 $\pm$ 1,53 cde	0,14 $\pm$ 0,01 a
Agricultor Serrano	9,43 $\pm$ 0,12 cde	10,18 $\pm$ 0,13 cde	0,14 $\pm$ 0,01 a
Agricultor Zapater	15,10 $\pm$ 0,29 g	18,05 $\pm$ 0,36 h	0,15 $\pm$ 0,03 a
Agricultor Morales	9,32 $\pm$ 1,04 cde	11,56 $\pm$ 1,41 def	0,13 $\pm$ 0,02 a
<b>Media</b>	<b>9,91 <math>\pm</math> 3,18</b>	<b>10,87 <math>\pm</math> 4,07</b>	<b>0,20 <math>\pm</math> 0,22</b>

Para cada variedad, las medias dentro de cada columna seguida de la misma letra no son diferentes a nivel estadístico para un  $\alpha = 0,05$ , por la prueba de múltiples rangos de Student-Newman-Keuls.

Como se ha podido observar, los ecotipos locales destacaron en mayor o menor medida para el contenido en azúcares. Este hecho es ciertamente usual, pues las variedades locales o tradicionales suelen presentar elevados contenidos de compuestos bioactivos y de importancia organoléptica. Una de las razones se fundamenta en que, tradicionalmente,

estas características organolépticas y nutraceúticas han sido relegadas en los programas de mejora modernos ante otros parámetros como el rendimiento o la resistencia a patógenos. Esta idea queda respaldada por los bajos contenidos determinados en algunos híbridos comerciales, como ocurre en Century F1 o Multiflor, posiblemente mejor adaptados a condiciones de elevados insumos y mayor disposición de nitrógeno. Sin embargo, debido a la tendencia actual de consumir productos de mayor calidad y sabor, ya nos podemos encontrar variedades comerciales mejoradas que también cuentan con un importante contenido en azúcares en estado inmaduro y en condiciones de cultivo ecológico, como ocurre con la variedad Babyplant, la línea Cynthia F2-1 o Pebrot Blanc de Berga (Tabla 14).

Así, el contenido en fructosa fluctuó a lo largo de ambas campañas entre 6,30 g/kg pf y 15,37 g/kg pf, el contenido en glucosa entre 3,53 g/kg pf y 18,05 g/kg pf y el contenido en sacarosa entre 0 g/kg pf y 0,87 g/kg pf (Tabla 12 y Tabla 14). Estas concentraciones resultan bajas frente a los resultados publicados por Bernardo *et al.*, (2008), los cuales determinaron en sus variedades españolas de pimiento en estado inmaduro concentraciones de fructosa en torno a 210 g/kg ps, de glucosa en 189 g/kg ps y de sacarosa en 21 g/kg ps. Sin embargo, Denev *et al.*, (2019) determinó sobre sus variedades de pimiento en estado inmaduro, no cultivadas bajo condiciones de AE, un contenido en azúcares similar o inferior, a excepción de la sacarosa, a los cuantificados en este trabajo. Así, en su material, la fructosa osciló entre 4,5 g/kg pf y 6 g/kg pf, la glucosa entre 9 g/kg pf y 11,5 g/kg pf y la sacarosa entre 2,5 g/kg pf y 3,5 g/kg pf. Otros autores, como García Romero (2008), evaluó bajo cultivo hidropónico una variedad de pimiento tipo “California”, cuantificando un contenido medio de fructosa de 12,3 g/kg pf, de glucosa en torno a 12,6 g/kg pf y de sacarosa de 3,3 g/kg pf. Estos datos permiten apoyar la idea de que el cultivo ecológico es capaz de mantener unos niveles de azúcares similares a los conseguidos bajo un manejo intensivo.

Seguidamente, se realizó un análisis ANOVA para evaluar el efecto ejercido por la selección ejercida entre campañas (Tabla 15). Éste mostró diferencias altamente significativas en ambos monosacáridos y el disacárido evaluados para los dos factores, con un P – valor de 0,000 (Tabla 15). La interacción entre ambos resultó ser a su vez altamente significativa, con un P – valor de 0,000. Sin embargo, el cultivo bajo diferentes manejos en algunos de los genotipos evaluados en la segunda campaña impidió obtener conclusiones certeras sobre el efecto ejercido por el factor “Año” y su interacción con los genotipos testados (Tabla 15).

Los materiales que parecieron presentar mayor potencial para ser empleados como donantes de un mayor contenido en azúcares fueron Babyplant, Pebrot Blanc de Berga y la línea Cynthia F2 – 1. A su vez, dentro de los ecotipos locales con mayor contenido en azúcar se encontraron los cedidos por Zapater y Morales.

Tabla 15. Análisis ANOVA para los azúcares analizados fructosa, glucosa y sacarosa en la campaña de 2019 y 2020.

Fuente	Fructosa			Glucosa			Sacarosa		
	Gl	Cuadrado Medio	Valor-P	Gl	Cuadrado Medio	Valor-P	Gl	Cuadrado Medio	Valor-P
<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>									
<b>A: Variedad</b>	5	44,8393	<b>0,000***</b>	5	44,1863	<b>0,000***</b>	5	4,79211	<b>0,000***</b>
<b>B: Año</b>	1	46,06	<b>0,000***</b>	1	27,116	<b>0,000***</b>	1	3,23809	<b>0,000***</b>
<b>INTERACCIÓN</b>									
<b>AxB</b>	5	15,6538	<b>0,000***</b>	5	18,9086	<b>0,000***</b>	5	4,85773	<b>0,000***</b>
<b>RESIDUOS</b>	48	0,437339		48	0,661665		48	0,00233881	
<b>TOTAL (CORREGIDO)</b>	59			59			59		

Los niveles de significancia están representados por \* a  $P \leq 0.05$ , \*\* a  $P \leq 0.01$ , \*\*\* a  $P \leq 0.001$ .

#### 4.4.2. Contenido en vitamina C

Como se ha comentado anteriormente, el pimiento es un fruto enriquecido en compuestos bioactivos de efecto beneficioso para la salud. La vitamina C es uno de los más destacados y deseables, debido a su acción antioxidante y funcionamiento como cofactor de multitud de enzimas involucradas en el metabolismo humano. Así, el pimiento se considera una fuente capaz de aportar del 50 al 100% de la dosis diaria recomendada de vitamina C (NCBI, 2011; Wildman, 2016). Al igual que los azúcares reductores, el contenido en vitamina C suele ser inferior cuando el fruto se encuentra en estado de inmadurez fisiológica (Flores *et al.*, 2009).

En la cosecha de agosto de la campaña de 2019 se observó una amplia variabilidad entre accesiones para la pareja redox AsA y DHA, así como para el contenido total. La concentración de AsA osciló en un rango entre 0 mg/kg pf en materiales comerciales como: Skytia F1, Goccia D'oro, Pebrot Blanc de Berga y Ros de Mallorca Battle y accesiones del banco de germoplasma: BGV-1850 y BGV-14140; hasta los 835 mg/kg pf en Babyplant. El promedio de las entradas evaluadas se correspondió con un valor de 219 mg/kg pf (Tabla 16). Los niveles de DHA se extendieron desde los 167 mg/kg, en la variedad comercial Babyplant, hasta los 608 mg/kg pf detectados en la variedad Monanta. Su promedio global se correspondió con 403 mg/kg pf (Tabla 16). Finalmente, se cuantificó el contenido en vitamina C total, determinándose un rango entre los 327 mg/kg en la variedad Ros de Mallorca Battle, y los 1002 mg/kg pf detectados en Babyplant. El promedio se situó en 623 mg/kg pf (Tabla 16).

En la cosecha de septiembre, el AsA se determinó entre 0 mg/kg pf, presentes en la accesión BGV-1463, y 804 mg/kg pf, cuantificados en la accesión BGV-3764. El promedio se estableció en 332 mg/kg pf, bastante superior al cuantificado el mes anterior (Tabla 16). El rango de DHA osciló entre los 161 mg/kg pf detectados en el ecotipo del

agricultor Serrano y los 679 mg/kg pf presentes en la accesión BGV-1850. El promedio, en este caso, se situó en 380 mg/kg pf (Tabla 16). Finalmente, la vitamina C total presentó un rango de valores entre 305 mg/kg pf, en la accesión BGV-1463, y 1078 mg/kg pf identificados en la variedad Goccia D'oro. El promedio se correspondió con 707 mg/kg pf (Tabla 16).

**Tabla 16.** Valores promedio (n = 5) del contenido en AsA, DHA y VC total (media  $\pm$  Des. Est. en mg/kg pf) de las distintas accesiones evaluadas en las cosechas de agosto y septiembre en la campaña de 2019. n.d. = ausencia de datos por falta de recolecta.

Variedad	Agosto			Septiembre		
	AsA	DHA	VC	AsA	DHA	VC
<b>Cynthia F1</b>	558 $\pm$ 132 e	294 $\pm$ 150 bc	852 $\pm$ 29 d	751 $\pm$ 45 g	255 $\pm$ 21 abc	1006 $\pm$ 61 hi
<b>Skytia F1</b>	0 $\pm$ 0 a	526 $\pm$ 45 f	526 $\pm$ 46 b	88 $\pm$ 0 b	656 $\pm$ 45 g	744 $\pm$ 46 def
<b>Goccia D'oro</b>	0 $\pm$ 0 a	374 $\pm$ 34 bcde	374 $\pm$ 34 a	521 $\pm$ 29 e	556 $\pm$ 37 f	1078 $\pm$ 62 i
<b>Pebrot Blanc de Berga</b>	0 $\pm$ 0 a	357 $\pm$ 39 bcde	357 $\pm$ 39 a	248 $\pm$ 40 c	285 $\pm$ 43 bcd	533 $\pm$ 78 bc
<b>Babyplant</b>	835 $\pm$ 111 f	167 $\pm$ 41 a	1002 $\pm$ 122 e	354 $\pm$ 39 d	254 $\pm$ 10 abc	608 $\pm$ 44 bcd
<b>Ros de Mallorca Battle</b>	0 $\pm$ 0 a	327 $\pm$ 42 bcd	327 $\pm$ 42 a	72 $\pm$ 4 b	534 $\pm$ 41 f	606 $\pm$ 39 bcd
<b>Monanta</b>	302 $\pm$ 61 c	608 $\pm$ 100 g	910 $\pm$ 50 d	589 $\pm$ 63 f	354 $\pm$ 52 de	944 $\pm$ 114 gh
<b>BGV-15011</b>	n.d.	n.d.	n.d.	488 $\pm$ 65 e	164 $\pm$ 17 a	651 $\pm$ 82 bcde
<b>BGV-15012</b>	150 $\pm$ 6 b	724 $\pm$ 8 h	874 $\pm$ 3 d	394 $\pm$ 27 d	387 $\pm$ 35 e	782 $\pm$ 54 ef
<b>BGV-1463</b>	n.d.	n.d.	n.d.	0 $\pm$ 0 a	305 $\pm$ 49 cde	305 $\pm$ 49 a
<b>BGV-1850</b>	0 $\pm$ 0 a	392 $\pm$ 34 cde	392 $\pm$ 34 a	3 $\pm$ 3 a	679 $\pm$ 104 g	682 $\pm$ 105 cde
<b>BGV-3764</b>	18 $\pm$ 10 a	404 $\pm$ 30 cde	422 $\pm$ 31 a	804 $\pm$ 96 h	236 $\pm$ 44 abc	1039 $\pm$ 140 hi
<b>BGV-5143</b>	603 $\pm$ 62 e	295 $\pm$ 50 bc	898 $\pm$ 109 d	200 $\pm$ 9 c	568 $\pm$ 100 f	768 $\pm$ 108 ef
<b>BGV-601</b>	172 $\pm$ 17 b	259 $\pm$ 8 b	431 $\pm$ 18 a	77 $\pm$ 7 b	567 $\pm$ 19 f	644 $\pm$ 15 bcde
<b>BGV-14140</b>	0 $\pm$ 0 a	419 $\pm$ 68 cde	419 $\pm$ 68 a	1 $\pm$ 2 a	499 $\pm$ 90 f	500 $\pm$ 89 b
<b>Agricultor Serrano</b>	207 $\pm$ 12 b	424 $\pm$ 11 de	631 $\pm$ 21 c	702 $\pm$ 51 g	161 $\pm$ 28 a	863 $\pm$ 76 fg
<b>Agricultor Zapater</b>	n.d.	n.d.	n.d.	359 $\pm$ 38 d	200 $\pm$ 17 ab	559 $\pm$ 52 bc
<b>Agricultor Morales</b>	446 $\pm$ 46 d	476 $\pm$ 99 ef	922 $\pm$ 76 d	333 $\pm$ 47 d	306 $\pm$ 41 cde	639 $\pm$ 82 bcde
<b>Media</b>	<b>219 <math>\pm</math> 268</b>	<b>403 <math>\pm</math> 148</b>	<b>623 <math>\pm</math> 253</b>	<b>332 <math>\pm</math> 263</b>	<b>380 <math>\pm</math> 175</b>	<b>707 <math>\pm</math> 212</b>

Para cada variedad, las medias dentro de cada columna seguida de la misma letra no son diferentes a nivel estadístico para un  $\alpha = 0,05$ , por la prueba de múltiples rangos de Student-Newman-Keuls.

Atendiendo a los valores cuantificados de esta primera campaña, se podría llegar a la conclusión de que el mes de septiembre es un mes mucho más adecuado para la obtención de frutos con mayor contenido en AsA, ya que diversas entradas presentaron un contenido nulo de AsA en la primera cosecha. Sin embargo, esto podría haberse debido a una conservación inicial de los frutos frescos en cámara frigorífica a  $-18^{\circ}\text{C}$  tras la recolecta. Así, para la elaboración de las muestras de la cosecha de agosto se emplearon los materiales previamente descongelados. Es posible que el estrés oxidativo generado por la congelación provocase que el fruto consumiera parte o gran parte de su contenido en AsA (Tabla 16). Además, los mayores niveles de AsA y vitamina C se determinaron en

variedades comerciales, como Cynthia F1 y accesiones del banco de germoplasma, como BGV-3746 (Tabla 16).

También se estudió el efecto del mes de cosecha y su interacción con el genotipo mediante un análisis ANOVA. Éste determinó para ambos factores, y su interacción, un efecto altamente significativo sobre las concentraciones de AsA y VC total, con un P – valor de 0,000 (Tabla 17). El contenido en DHA se vio afectado a nivel estadístico por el factor “Variedad” y la interacción entre ambos factores, obteniéndose un P – valor de 0,000. Sin embargo, el factor “Mes de cosecha” no resultó ejercer un efecto significativo (Tabla 17). Estos resultados reafirmaron el considerable efecto ejercido por el genotipo. Sin embargo, el efecto producido por el factor “Mes de cosecha” hay que interpretarlo con mucho cuidado, como se ha comentado.

**Tabla 17.** Análisis ANOVA para el contenido en AsA, DHA y VC en la campaña de 2019.

Fuente	AsA			DHA			VC		
	Gl	Cuadrado Medio	Valor-P	Gl	Cuadrado Medio	Valor-P	Gl	Cuadrado Medio	Valor-P
<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>									
<b>A:Variedad</b>	14	471775	<b>0,000***</b>	14	121043	<b>0,000***</b>	14	280437	<b>0,000***</b>
<b>B:Mes de cosecha</b>	1	568520	<b>0,000***</b>	1	10279,9	<b>0,0885</b>	1	731696	<b>0,000***</b>
<b>INTERACCIÓN</b>									
<b>AxB</b>	14	281464	<b>0,000***</b>	14	118672	<b>0,000***</b>	14	216869	<b>0,000***</b>
<b>RESIDUOS</b>	120	2169,21		120	3485,41		120	4920,38	
<b>TOTAL (CORREGIDO)</b>	149			149			149		

Los niveles de significancia están representados por \* a  $P \leq 0.05$ , \*\* a  $P \leq 0.01$ , \*\*\* a  $P \leq 0.001$ .

En la segunda campaña, el AsA presentó un incremento en el promedio general respecto a la campaña anterior, siendo éste de 377 mg/kg pf (Tabla 18). Su contenido se extendió desde los 3 mg/kg pf en Multiflor, hasta los 1096 de la primera línea derivada del híbrido Cynthia F1 (Tabla 18). El intervalo de concentración de DHA cubrió valores entre 216 mg/kg pf en la segunda línea del híbrido Cynthia F1 y 718 mg/kg pf de la accesión BGV-5143, situándose el promedio global en 465 mg/kg pf (Tabla 18). Finalmente, el contenido en VC total presentó un promedio general de 841 mg/kg pf, variando desde 418 mg/kg pf detectados en Multiflor y los 1322 mg/kg pf presentes en la primera línea del híbrido Cynthia F1 (Tabla 18).

Así, el contenido en AsA varió durante las dos campañas entre 0 mg/kg y 1096 mg/kg pf, el DHA entre 161 mg/kg pf y 679 mg/kg pf y el contenido en VC total entre 305 mg/kg pf y 1322 mg/kg pf (Tabla 16 y Tabla 18). Estos resultados resultaron ser sorprendentemente altos frente a los obtenidos por otros autores, como Denev *et al.*, (2019), los cuales determinaron contenidos de VC total en estado inmaduro, y bajo un manejo no ecológico, entre los 124 y 348 mg/kg pf. Sin embargo, en un trabajo realizado por Howard *et al.*, (2000) llegaron a cuantificar en pimientos en estado inmaduro niveles

de AsA entre los 632 mg/kg y 1717 mg/kg, valores superiores, pero ciertamente cercanos a los obtenidos en este trabajo. Por el contrario, Sánchez *et al.*, (2015), trabajando con variedades murcianas en estado verde maduro, obtuvo contenidos de vitamina C promedios en torno a los 2680 mg/kg pf, superando enormemente a los contenidos presentados en este trabajo. Aun así, hay que tener en cuenta que las accesiones trabajadas por Sánchez *et al.*, (2015) se encontraban ya en estado maduro, lo que explicaría esa superioridad en VC. Dobón-Suárez *et al.*, (2021) cuantificó en las primeras fechas de recolecta de sus variedades de pimiento, cultivadas bajo manejo convencional, un contenido de AsA en torno a los 600 mg/kg pf, mientras que de DHA se aproximaron a los 150 mg/kg pf, de forma que, aunque los valores de AsA sí que son próximos a los obtenidos en este trabajo, los de DHA son considerablemente bajos.

**Tabla 18.** Valores promedio (n = 5) del contenido en AsA, DHA y VC total (media  $\pm$  Des. Est. en mg/kg pf) de las distintas accesiones evaluadas en la campaña de 2020.

Variedad	AsA	DHA	VC
<b>Cynthia F1</b>	414 $\pm$ 60 ef	525 $\pm$ 52 bcd	938 $\pm$ 35 cde
<b>Cynthia F2 - 1</b>	1084 $\pm$ 151 h	237 $\pm$ 25 a	1322 $\pm$ 169 f
<b>Cynthia F2 - 2</b>	1096 $\pm$ 246 h	216 $\pm$ 45 a	1312 $\pm$ 274 f
<b>Cynthia F2 - 3</b>	779 $\pm$ 97 g	367 $\pm$ 40 b	1146 $\pm$ 69 ef
<b>Cynthia F2 - 4</b>	491 $\pm$ 61 f	480 $\pm$ 32 bcd	971 $\pm$ 86 de
<b>Skytia F1</b>	56 $\pm$ 14 ab	491 $\pm$ 46 bcd	547 $\pm$ 34 ab
<b>Pyramis F1</b>	159 $\pm$ 60 abc	438 $\pm$ 50 bc	598 $\pm$ 32 ab
<b>Century F1</b>	111 $\pm$ 72 ab	510 $\pm$ 67 bcd	621 $\pm$ 31 ab
<b>Pebrot Blanc de Berga</b>	456 $\pm$ 84 ef	629 $\pm$ 91 de	1085 $\pm$ 157 e
<b>Babyplant</b>	151 $\pm$ 89 abc	553 $\pm$ 167 bcd	705 $\pm$ 195 bc
<b>Multiflor</b>	3 $\pm$ 0 a	414 $\pm$ 26 bc	418 $\pm$ 26 a
<b>BGV-5143</b>	9 $\pm$ 7 a	718 $\pm$ 42 e	727 $\pm$ 48 bc
<b>Agricultor Serrano</b>	212 $\pm$ 77 bcd	601 $\pm$ 278 cde	813 $\pm$ 303 bcd
<b>Agricultor Zapater</b>	295 $\pm$ 70 cde	407 $\pm$ 45 b	703 $\pm$ 67 bc
<b>Agricultor Morales</b>	330 $\pm$ 82 def	384 $\pm$ 18 b	714 $\pm$ 76 bc
<b>Media</b>	<b>377 <math>\pm</math> 358</b>	<b>465 <math>\pm</math> 158</b>	<b>841 <math>\pm</math> 158</b>

Para cada variedad, las medias dentro de cada columna seguida de la misma letra no son diferentes a nivel estadístico para un  $\alpha = 0,05$ , por la prueba de múltiples rangos de Student-Newman-Keuls.

El efecto que ejercen los distintos sistemas de producción sobre el contenido en vitamina C ha sido ampliamente estudiado. Sin embargo, no se han conseguido obtener ideas concluyentes al respecto. Esto es así porque mientras unos autores han determinado un incremento en la vitamina C de sus genotipos de pimiento bajo AE, otros no han cuantificado diferencia alguna respecto a los materiales crecidos bajo manejo

convencional, y otros han observado un fuerte efecto del genotipo y su relación con el sistema de producción (Chassy *et al.*, 2006; Pérez-López *et al.*, 2007; García Romero, 2008).

El efecto ejercido por la selección realizada entre campañas se estudió también mediante un análisis ANOVA (Tabla 19). Así, sobre el contenido en AsA, DHA y VC total, se describió un efecto altamente significativo a nivel estadístico por ambos factores y su interacción, obteniéndose un P – valor de 0,000 en los tres casos, a excepción de la interacción sobre VC total, que fue de 0,006 (Tabla 19). Aun así, la significancia del efecto de la campaña y su interacción con el genotipo, como se ha mencionado anteriormente, puede estar en parte respaldada por la diferencia de manejo en algunos de los genotipos.

**Tabla 19.** Análisis ANOVA para contenido en VC total y las dos formas redox AsA y DHA en la campaña de 2019 y 2020.

Fuente	AsA			DHA			VC		
	Gl	Cuadrado Medio	Valor-P	Gl	Cuadrado Medio	Valor-P	Gl	Cuadrado Medio	Valor-P
<b>EFECTOS PRINCIPALES</b>									
<b>A: Variedad</b>	5	138692	<b>0,000***</b>	5	95545,5	<b>0,0001***</b>	5	119560	<b>0,000***</b>
<b>B: Año</b>	1	228378	<b>0,000***</b>	1	3,682E6	<b>0,000***</b>	1	190893	<b>0,0003***</b>
<b>INTERACCIÓN</b>									
<b>AxB</b>	5	136433	<b>0,000***</b>	5	120030	<b>0,000***</b>	5	47521,5	<b>0,0061***</b>
<b>RESIDUOS</b>	48	3482,46		48	15149,2		48	12680,5	
<b>TOTAL (CORREGIDO)</b>	59			59			59		

Los niveles de significancia están representados por \* a  $P \leq 0.05$ , \*\* a  $P \leq 0.01$ , \*\*\* a  $P \leq 0.001$ .

En este caso, los materiales con un mayor potencial para su uso como donantes de un mayor contenido en AsA, DHA y VC total podrían ser Pebrot Blanc de Berga y las tres primeras líneas derivadas del híbrido Cynthia F1. Adicionalmente, entre los ecotipos locales destacaron por su contenido en VC total los cedidos por el agricultor Serrano y Morales.

#### 4.4.3. Contenido en flavonoides

Al igual que ocurre con la vitamina C, el pimiento es una fuente importante de flavonoides, de entre cuyas funciones biológicas también se encuentra la de actuar como agente antioxidante. Tradicionalmente, la mayoría de los esfuerzos se han dirigido al estudio de las agliconas quercetina y luteolina, obtenidas mediante hidrólisis (Lee, Howard and Villalon, 1995; Howard *et al.*, 2000). Howard *et al.*, (2000), tras haber estudiado los efectos de la maduración del pimiento sobre su contenido en antioxidantes,

determinaron que dichos compuestos incrementaban conforme se iba alcanzando la madurez.

En la primera cosecha de la campaña de 2019 se observó, siguiendo el mismo patrón, una amplia variabilidad entre los flavonoides analizados. Así, la quercetina se determinó entre valores de 1339  $\mu\text{g/g ps}$ , presente en Babyplant, y 12056  $\mu\text{g/g ps}$  en Monanta (Tabla 20), situándose el promedio global en 4937  $\mu\text{g/g ps}$  (Tabla 20). La concentración de luteolina se extendió desde 93  $\mu\text{g/g ps}$  en la accesión BGV-5143 y 469  $\mu\text{g/g ps}$  en BGV-15012, correspondiéndose el promedio general con 203  $\mu\text{g/g ps}$  (Tabla 20). Los niveles de kaempferol comprendieron un rango entre los 7  $\mu\text{g/g ps}$ , determinados en la accesión BGV-5143 y los 107  $\mu\text{g/g ps}$  en Monanta. En este caso, el promedio se situó en 32  $\mu\text{g/g ps}$  (Tabla 20). Finalmente, el contenido en apigenina, se determinó entre 10  $\mu\text{g/g ps}$  en la accesión BGV-5143 y 45  $\mu\text{g/g ps}$  de la variedad Monanta, situándose el promedio en 19  $\mu\text{g/g ps}$  (Tabla 20).

En la cosecha de septiembre la quercetina mostró valores desde 1873  $\mu\text{g/g ps}$ , en el ecotipo del agricultor Morales, a 11689  $\mu\text{g/g ps}$  en el híbrido Skytia F1. El promedio global se situó en 4662  $\mu\text{g/g ps}$  (Tabla 20). Para la luteolina el rango de valores se extendió entre los 91  $\mu\text{g/g ps}$ , detectados en la accesión BGV-1850, y los 274  $\mu\text{g/g ps}$  del híbrido Skytia F1, cuantificándose el promedio general en 182  $\mu\text{g/g ps}$  (Tabla 20). El intervalo de valores del kaempferol se centró entre los 11  $\mu\text{g/g ps}$ , detectados en los ecotipos de Serrano y Morales, y los 63  $\mu\text{g/g ps}$ , presentes en el híbrido Skytia F1, estableciéndose el promedio global en 32  $\mu\text{g/g ps}$  (Tabla 20). Finalmente, la apigenina se situó en un rango entre los 8  $\mu\text{g/g ps}$ , en la accesión BGV-1463 y 36  $\mu\text{g/g ps}$  presentes en el híbrido Skytia F1 y en BGV-5143. El promedio general tuvo un valor de 20  $\mu\text{g/g ps}$  (Tabla 20).

Aunque los promedios generales no se vieron altamente afectados entre ambos momentos de cosecha, si se analiza caso por caso, se observan entradas como Cynthia F1, Skytia F1 o Pebrot Blanc de Berga, en la cuales recolectar en septiembre supuso un incremento importante en su contenido en flavonoides. El caso contrario se observó en variedades como Monanta o el ecotipo local del agricultor Serrano, en la cual agosto fue un mes más favorable para su valor añadido por contenido en flavonoides (Tabla 20).

A pesar de la concepción que se tiene acerca de los altos valores nutricionales y organolépticos de las variedades locales frente a las mejoradas, en el caso del contenido en flavonoides se pudo observar cómo en la primera campaña los ecotipos locales quedaron relegados frente a diversas variedades comerciales. Así, los principales contenidos en flavonoides se han cuantificado en Skytia F1, Monanta o Pebrot Blanc de Berga (Tabla 20). Sin embargo, ciertas accesiones del banco de germoplasma, posiblemente correspondientes a variedades locales, también destacaron, como la entrada BGV-1850 y BGV-601 (Tabla 20). Así, se pone de manifiesto nuevamente la compleja naturaleza de estos metabolitos secundarios, cuya presencia y proporción se encuentra afectada por factores tanto genéticos como ambientales.



**Tabla 20.** Valores promedio (n = 5) del contenido en quercetina, luteolina, kaempferol y apigenina (media ± Des. Est. en µg/g ps) de las distintas accesiones evaluadas en las cosechas de agosto y septiembre en la campaña de 2019. n.d. = ausencia de datos por falta de recolecta.

Variedad	Agosto				Septiembre			
	Quercetina	Luteolina	Kaempferol	Apigenina	Quercetina	Luteolina	Kaempferol	Apigenina
<b>Cynthia F1</b>	2714 ± 164 bc	99 ± 19 a	21 ± 3 cd	14 ± 1 bc	7235 ± 359 f	254 ± 11 fg	61 ± 4 h	30 ± 1 e
<b>Skytia F1</b>	8616 ± 983 g	198 ± 12 d	46 ± 2 f	28 ± 3 e	11689 ± 765 g	274 ± 11 g	63 ± 4 h	36 ± 3 f
<b>Goccia D'oro</b>	3647 ± 146 c	161 ± 13 bc	21 ± 5 cd	11 ± 2 ab	5589 ± 579 de	98 ± 39 a	28 ± 3 cd	14 ± 2 bc
<b>Pebrot Blanc de Berga</b>	2723 ± 2 bc	103 ± 5 a	20 ± 3 cd	14 ± 2 bc	5840 ± 488 de	149 ± 14 bc	50 ± 10 fg	34 ± 4 f
<b>Babyplant</b>	1339 ± 167 a	135 ± 10 b	16 ± 1 bc	12 ± 1 ab	1924 ± 194 a	186 ± 13 d	17 ± 2 ab	11 ± 1 b
<b>Ros de Mallorca Battle</b>	5419 ± 664 ef	268 ± 21 e	39 ± 3 e	16 ± 2 c	4798 ± 182 c	178 ± 27 cd	25 ± 4 c	15 ± 1 bc
<b>Monanta</b>	12056 ± 1484 i	306 ± 10 f	107 ± 5 h	45 ± 5 f	6663 ± 446 f	254 ± 25 fg	45 ± 1 f	22 ± 2 d
<b>BGV-15011</b>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	3250 ± 155 b	219 ± 19 ef	37 ± 5 e	14 ± 1 bc
<b>BGV-15012</b>	6081 ± 808 f	469 ± 33 g	41 ± 3 e	20 ± 2 d	3115 ± 269 b	233 ± 9 ef	34 ± 1 de	17 ± 1 c
<b>BGV-1463</b>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1999 ± 113 a	110 ± 6 a	22 ± 2 bc	8 a ± 0 a
<b>BGV-1850</b>	9743 ± 534 h	166 ± 11 bc	55 ± 4 g	29 ± 2 e	5174 ± 657 cd	91 ± 9 a	28 ± 4 cd	22 ± 2 d
<b>BGV-3764</b>	4784 ± 154 de	276 ± 42 e	15 ± 3 b	28 ± 2 e	2591 ± 173 ab	124 ± 8 ab	17 ± 1 ab	23 ± 0 d
<b>BGV-5143</b>	1768 ± 139 ab	93 ± 10 a	7 ± 1 a	10 ± 0 a	5958 ± 510 de	207 ± 11 de	38 ± 3 e	36 ± 5 f
<b>BGV-601</b>	5536 ± 587 ef	217 ± 35 d	24 ± 3 d	14 ± 1 bc	6041 ± 581 e	248 ± 31 fg	53 ± 6 g	17 ± 1 c
<b>BGV-14140</b>	4472 ± 267 d	204 ± 10 d	36 ± 3 e	16 ± 1 c	5475 ± 939 cde	251 ± 39 fg	28 ± 9 cd	15 ± 3 bc
<b>Agricultor Serrano</b>	3084 ± 371 c	163 ± 9 bc	17 ± 1 bc	16 ± 2 c	1886 ± 109 a	111 ± 6 a	11 ± 1 a	13 ± 1 bc
<b>Agricultor Zapater</b>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	2812 ± 398 b	145 ± 16 bc	15 ± 2 ab	14 ± 2 bc
<b>Agricultor Morales</b>	2074 ± 218 ab	191 ± 19 cd	10 ± 1 a	13 ± 1 abc	1873 ± 172 a	149 ± 11 bc	11 ± 1 a	13 ± 1 bc
<b>Media</b>	<b>4937 ± 3073</b>	<b>203 ± 97</b>	<b>32 ± 25</b>	<b>19 ± 9</b>	<b>4662 ± 2508</b>	<b>182 ± 63</b>	<b>32 ± 17</b>	<b>20 ± 9</b>

Para cada variedad, las medias dentro de cada columna seguida de la misma letra no son diferentes a nivel estadístico para un  $\alpha = 0,05$ , por la prueba de múltiples rangos de Student-Newman-Keuls.

El efecto de mes de cosecha y su interacción se evaluaron igualmente mediante un análisis ANOVA (Tabla 21). Éste determinó que el contenido en luteolina, kaempherol y apigenina se vieron afectados de forma significativa por ambos factores y su interacción, obteniéndose un P – valor de 0,000 (Tabla 21). En el caso de la quercetina, aunque el efecto del factor “Variedad” y su interacción sí que resultaron ser altamente significativos, con un P – valor de 0,000, el factor “Mes de cosecha” no generó tal efecto (Tabla 21).

**Tabla 21.** Análisis ANOVA para el contenido en los flavonoides quercetina, luteolina, kaempherol y apigenina en la campaña de 2019.

Fuente	Quercetina			Luteolina			Kaempherol			Apigenina		
	Gl	C. Medio	Valor-P	Gl	C. Medio	Valor-P	Gl	C. Medio	Valor-P	Gl	C. Medio	Valor-P
<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>												
<b>A:Variedad</b>	14	5,92E7	<b>0,000***</b>	14	41028,7	<b>0,000***</b>	14	2931,38	<b>0,000***</b>	14	490,16	<b>0,000***</b>
<b>B:Mes de cosecha</b>	1	537438	<b>0,1814</b>	1	9764,93	<b>0,000***</b>	1	193,38	<b>0,000***</b>	1	159,84	<b>0,000***</b>
<b>INTERACCIÓN</b>												
<b>AxB</b>	14	2,28E7	<b>0,000***</b>	14	26851,0	<b>0,000***</b>	14	1691,24	<b>0,000***</b>	14	350,38	<b>0,000***</b>
<b>RESIDUOS</b>	120	297405		120	420,34		120	14,88		120	4,47	
<b>TOTAL (CORREGIDO)</b>	149			149			149			149		

Los niveles de significancia están representados por \* a  $P \leq 0.05$ , \*\* a  $P \leq 0.01$ , \*\*\* a  $P \leq 0.001$ .

En la campaña de 2020, al igual que ocurrió con la vitamina C, el contenido en los distintos flavonoides se vio incrementado de manera global. La quercetina presentó un rango de valores entre 3891  $\mu\text{g/g}$  ps en Babyplant y 22173  $\mu\text{g/g}$  ps, determinados en Multiflor, situándose el promedio en 10457  $\mu\text{g/g}$  ps (Tabla 22). La concentración de luteolina presentó valores entre 158  $\mu\text{g/g}$  ps en la accesión BGV-5143 y 509  $\mu\text{g/g}$  ps en Multiflor. Su promedio global se correspondió con 284  $\mu\text{g/g}$  ps (Tabla 22). El nivel de kaempherol varió en un rango de 9  $\mu\text{g/g}$  ps, en la accesión del agricultor Morales y los 91  $\mu\text{g/g}$  ps en Multiflor, situándose el promedio en 50  $\mu\text{g/g}$  ps (Tabla 22). Finalmente, atendiendo a la concentración de apigenina, sus valores se encontraron entre 19  $\mu\text{g/g}$  ps en la accesión del agricultor Morales y 102  $\mu\text{g/g}$  ps en Multiflor, situándose el promedio general en 52  $\mu\text{g/g}$  ps (Tabla 22).

Así, durante las dos campañas de evaluación, el contenido en quercetina varió entre 1339  $\mu\text{g/g}$  ps y 22173  $\mu\text{g/g}$  ps, el de luteolina entre 91  $\mu\text{g/g}$  ps y 509  $\mu\text{g/g}$  ps, el de kaempherol entre 7  $\mu\text{g/g}$  ps y 107  $\mu\text{g/g}$  ps y el de apigenina entre 8  $\mu\text{g/g}$  ps y 102  $\mu\text{g/g}$  ps (Tabla 20 y Tabla 22). Sorprendentemente, los valores obtenidos en este trabajo son muy superiores a los publicados por otros autores. Castellanos Ruiz (2019), trabajando con variedades tradicionales españolas en estado maduro, y bajo manejo ecológico, cuantificó niveles máximos en quercetina de 3820  $\mu\text{g/g}$  ps, para luteolina de 110,45  $\mu\text{g/g}$  ps, en kaempherol, por su parte, de 20,32  $\mu\text{g/g}$  ps y finalmente, en apigenina, de 14,49  $\mu\text{g/g}$  ps. Aunque estos

valores siguen siendo superados o igualados por los contenidos determinados en los ecotipos locales de pimiento blanco en estado inmaduro, se vuelve a poner de manifiesto la curiosa relativa baja presencia de flavonoides en las variedades locales testadas, frente a híbridos u otras variedades comerciales. Además, Chen and Kang (2013), trabajando nuevamente con pimiento ya maduro, y bajo condiciones no ecológicas, cuantificaron un nivel de quercetina de 8860  $\mu\text{g/g ps}$ , 260  $\mu\text{g/g ps}$  de luteolina y 50  $\mu\text{g/g ps}$  de kaempferol. Por su parte, Thuphairo, Sornchan and Suttisansanee, (2019) cuantificaron en frutos en estado inmaduro y no cultivados bajo AE, niveles de 71,71  $\mu\text{g/g ps}$  de quercetina y 62,31  $\mu\text{g/g ps}$  de luteolina, nuevamente, valores muy inferiores a los cuantificados en los materiales evaluados en el presente trabajo. Estos resultados podrían ser un indicio del efecto positivo del sistema ecológico sobre el contenido de flavonoides en pimiento.

**Tabla 22.** Valores promedio ( $n = 5$ ) del contenido en quercetina, luteolina, kaempferol y apigenina (media  $\pm$  Des. Est. en  $\mu\text{g/g ps}$ ) de las distintas accesiones evaluadas en la campaña de 2020.

Variedad	Quercetina ( $\mu\text{g/g ps}$ )	Luteolina ( $\mu\text{g/g ps}$ )	Kaempferol ( $\mu\text{g/g ps}$ )	Apigenina ( $\mu\text{g/g ps}$ )
<b>Cynthia F1</b>	13341 $\pm$ 1243 g	285 $\pm$ 36 c	66 $\pm$ 9 f	55 $\pm$ 7 c
<b>Cynthia F2 - 1</b>	7436 $\pm$ 553 d	196 $\pm$ 13 b	49 $\pm$ 4 e	47 $\pm$ 2 c
<b>Cynthia F2 - 2</b>	16581 $\pm$ 709 h	326 $\pm$ 20 d	90 $\pm$ 8 h	84 $\pm$ 8 d
<b>Cynthia F2 - 3</b>	6247 $\pm$ 305 cd	190 $\pm$ 10 b	37 $\pm$ 12 d	40 $\pm$ 3 bc
<b>Cynthia F2 - 4</b>	9871 $\pm$ 439 e	317 $\pm$ 18 d	63 $\pm$ 4 f	57 $\pm$ 5 c
<b>Skytia F1</b>	10231 $\pm$ 366 e	339 $\pm$ 14 d	49 $\pm$ 2 e	55 $\pm$ 2 c
<b>Pyramis F1</b>	16465 $\pm$ 882 h	445 $\pm$ 26 e	80 $\pm$ 3 g	59 $\pm$ 21 c
<b>Century F1</b>	15566 $\pm$ 1753 h	276 $\pm$ 13 c	67 $\pm$ 4 f	84 $\pm$ 30 d
<b>Pebrot Blanc de Berga</b>	11401 $\pm$ 808 f	176 $\pm$ 13 ab	61 $\pm$ 7 f	86 $\pm$ 8 d
<b>Babyplant</b>	3891 $\pm$ 295 a	275 $\pm$ 16 c	20 $\pm$ 2 b	20 $\pm$ 1 a
<b>Multiflor</b>	22173 $\pm$ 1255 i	509 $\pm$ 19 f	91 $\pm$ 5 h	102 $\pm$ 5 e
<b>BGV-5143</b>	4904 $\pm$ 374 ab	158 $\pm$ 8 a	18 $\pm$ 1 b	22 $\pm$ 1 a
<b>Agricultor Serrano</b>	6946 $\pm$ 534 d	320 $\pm$ 25 d	29 $\pm$ 2 c	25 $\pm$ 2 ab
<b>Agricultor Zapater</b>	5410 $\pm$ 190 bc	274 $\pm$ 9 c	23 $\pm$ 1 bc	25 $\pm$ 1 ab
<b>Agricultor Morales</b>	6388 $\pm$ 627 cd	182 $\pm$ 18 ab	9 $\pm$ 3 a	19 $\pm$ 3 a
<b>Media</b>	<b>10457 <math>\pm</math> 5261</b>	<b>284 <math>\pm</math> 98</b>	<b>50 <math>\pm</math> 26</b>	<b>52 <math>\pm</math> 28</b>

Para cada variedad, las medias dentro de cada columna seguida de la misma letra no son diferentes a nivel estadístico para un  $\alpha = 0,05$ , por la prueba de múltiples rangos de Student-Newman-Keuls.

El análisis ANOVA para evaluar el efecto de la selección entre campañas (Tabla 23) determinó que éste era significativo o altamente significativo a nivel estadístico para ambos factores y su interacción, obteniéndose un P – valor de 0,000, sobre los cuatro flavonoides, a excepción del efecto del factor “Año” en la concentración de kaempferol,

que mostró un P – valor de 0,01 (Tabla 23). Nuevamente, se refleja la repercusión de las relaciones particulares entre genotipo y campaña sobre el perfil de flavonoides, aunque el gran efecto ejercido por el factor “Año” no debe considerarse como concluyente, como se ha indicado.

**Tabla 23.** Análisis ANOVA para el contenido en los flavonoides quercetina, luteolina, kaempherol y apigenina durante las campañas de 2019 y 2020.

Fuente	Quercetina			Luteolina			Kaempherol			Apigenina		
	Gl	C. Medio	Valor-P	Gl	C. Medio	Valor-P	Gl	C. Medio	Valor-P	Gl	C. Medio	Valor-P
<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>												
<b>A:Variedad</b>	5	3,91E7	<b>0,000***</b>	5	7931,72	<b>0,000***</b>	5	2539,47	<b>0,000***</b>	5	2944,29	<b>0,000***</b>
<b>B:Año</b>	1	1,45E8	<b>0,000***</b>	1	79782,8	<b>0,000***</b>	1	118,176	<b>0,0102**</b>	1	2389,17	<b>0,000***</b>
<b>INTERACCIÓN</b>												
<b>AxB</b>	5	1,53E7	<b>0,000***</b>	5	20263,3	<b>0,000***</b>	5	431,247	<b>0,000***</b>	5	1174,57	<b>0,000***</b>
<b>RESIDUOS</b>	48	194225		48	197,954		48	16,4982		48	10,7517	
<b>TOTAL (CORREGIDO)</b>	59			59			59			59		

Los niveles de significancia están representados por \* a  $P \leq 0.05$ , \*\* a  $P \leq 0.01$ , \*\*\* a  $P \leq 0.001$ .

Los materiales de mayor potencial para ser empleados como donantes de un mejor perfil de flavonoides fueron el híbrido Cynthia F1, así como la línea derivada número 2, Pyramis F1, Century F1 o Pebrot Blanc de Berga. De igual manera, dentro de los ecotipos locales destacó el ecotipo del agricultor Serrano.

#### 4.5. ANÁLISIS DE CORRELACIONES PARA MEJORA INDIRECTA

Con el fin de establecer posibles correlaciones entre los componentes bioactivos analizados y los caracteres agronómicos y fenotípicos medidos, se elaboró una matriz de correlaciones de Pearson (Figura 29). Así, se emplearon para ello los valores obtenidos en septiembre de la campaña de 2019, pues durante dicha campaña se mantuvieron condiciones de manejo y cultivo similares en todos los materiales testados, siendo además en esta cosecha en la cual se evaluaron un mayor número de materiales.

Entre las correlaciones establecidas a través de los parámetros evaluados, encontramos algunas fácilmente explicables, como la correlación positiva entre fructosa y glucosa (0,6\*\*), ya que ambos monosacáridos son liberados de la división del disacárido sacarosa, con el cual ambos monómeros presentan, a su vez, una correlación negativa (-0,57\* y -0,30). La correlación moderadamente positiva entre el rendimiento total y el peso de 10 frutos (0,35) también se respalda entre sí, de forma que a mayor tamaño de fruto parece

observase un mayor rendimiento total. La correlación moderadamente negativa entre el AsA y el DHA (-0,63\*\*) reside en la propia naturaleza redox de ambos componentes, pues el DHA es un intermediario que deriva de la transformación reversible del AsA en condiciones oxidativas (Dobón-Suárez *et al.*, 2021). Así mismo, las correlaciones negativas detectadas entre los componentes de color, especialmente “a” y “b” y el contenido en VC y los distintos flavonoides puede explicarse a través del estado de inmadurez en el que se encontraban los frutos a la hora de su evaluación (Ribes Moya, 2016).

**Figura 29.** Matriz de correlaciones entre los compuestos bioactivos analizados, los caracteres fenotípicos y los agronómicos para la cosecha de septiembre de la campaña de 2019.

Variables	AsA	DHA	VC	Fructosa	Glucosa	Sacarosa	Quercetina	Luteolina	Kaempherol	Apigenina	L	a	b	Rendimiento	Peso 10 frutos	Firmeza	Espesor
AsA	1	-0,63 **	0,80 ***	0,29	-0,05	-0,21	-0,23	-0,07	-0,10	0,03	0,21	-0,53 *	-0,03	0,50 *	0,12	0,01	0,66 **
DHA		1	-0,05	-0,40	-0,07	0,50 *	0,54 *	0,11	0,30	0,26	-0,26	0,25	-0,07	-0,46	0,06	-0,05	-0,40
VC			1	0,05	-0,11	0,13	0,06	-0,05	0,06	0,19	0,04	-0,45	-0,06	0,31	0,21	-0,01	0,52 *
Fructosa				1	0,60 **	-0,57 *	-0,18	-0,04	-0,29	-0,41	0,46	-0,07	0,17	0,48 *	0,44	-0,10	0,42
Glucosa					1	-0,30	-0,36	-0,30	-0,53 *	-0,50 *	0,19	0,22	0,53 *	0,30	0,30	0,21	-0,15
Sacarosa						1	0,15	-0,09	0,05	0,47	-0,05	-0,29	-0,14	-0,22	-0,38	0,20	-0,47 *
Quercetina							1	0,57 *	0,85 ***	0,73 ***	-0,02	-0,22	-0,56 *	-0,53 *	-0,15	-0,56 *	0,03
Luteolina								1	0,68 **	0,35	-0,24	-0,05	-0,54 *	-0,33	-0,28	-0,39	0,21
Kaempherol									1	0,70 **	-0,01	-0,18	-0,53 *	-0,49 *	-0,17	-0,55 *	0,13
Apigenina										1	0,11	-0,57 *	-0,59 *	-0,21	-0,47 *	-0,41	-0,03
L											1	-0,56 *	0,21	0,40	0,20	0,12	0,11
a												1	0,45	-0,21	0,42	0,16	-0,13
b													1	0,34	0,65 **	0,72 ***	-0,03
Rendimiento														1	0,35	0,27	0,44
Peso 10 frutos															1	0,34	0,50 *
Firmeza																1	0,02
Espesor																	1

Los niveles de significancia están representados por \* a  $P \leq 0,05$ , \*\* a  $P \leq 0,01$ , \*\*\* a  $P \leq 0,001$ .

La correlación positiva establecida entre el espesor de la carne del fruto y el contenido en AsA (0,66\*\*), no se correspondía con lo establecido por Nuez, Ortega and Costa (1996), los cuales indicaron que el contenido en ácido ascórbico suele concentrarse en variedades de pericarpio más fino y mayor contenido en materia seca. Tampoco quedó contrastada la correlación ligeramente negativa establecida entre el AsA y el contenido en quercetina, luteolina o kaempherol, ya que Vazquez-Flores *et al.*, (2020) registraron en sus variedades de pimiento una correlación de 0,883 entre el contenido en AsA y el de flavonoides totales. Sin embargo, la correlación ligeramente negativa (-0,0209) entre los flavonoides totales y el contenido en ácido ascórbico publicada por Hamed *et al.*, (2019) sí que se aproximó un poco más a los resultados obtenidos en este trabajo. La correlación

levemente positiva o nula entre el contenido en AsA y los azúcares reductores, fructosa y glucosa (0,29 y -0,05), tampoco se pudo contrastar adecuadamente, pues autores como Soare *et al.*, (2017), detectaron correlaciones positivas (0,718) entre el contenido en AsA y el contenido total de azúcares reductores de sus variedades.

Las correlaciones positivas entre los contenidos de los propios flavonoides, como por ejemplo entre quercetina y apigenina (0,73\*\*\*), quercetina y kaempferol (0,85\*\*\*) o entre apigenina y kaempferol (0,70\*\*) quedaron adecuadamente contrastadas con las correlaciones evaluadas en brócoli por Bhandari *et al.*, (2019), los cuales publicaron valores de r entre quercetina y kaempferol de 0,633, entre quercetina y apigenina de 0,594, o de apigenina entre kaempferol de 0,876. Estas correlaciones positivas entre flavonoides podrían explicarse desde el punto de vista de que entre ellos comparten rutas biosintéticas iguales o similares, constituyéndose simultáneamente, aunque en distintas proporciones. Se determinaron otras correlaciones interesantes asociadas con el espesor del pericarpio, como la correlación moderadamente negativa respecto al contenido en sacarosa (-0,47\*) y el peso de 10 frutos (0,50\*). Esta última correlación entre el espesor del pericarpio y el peso de 10 frutos, parámetro asociado al tamaño del mismo, fue también puesta de manifiesto por Tadesse *et al.*, (2002), los cuales observaron en sus materiales un incremento del espesor con la edad del fruto.

El hecho de que estas correlaciones no lleguen a ser contrastadas adecuadamente por otros autores puede deberse al efecto ejercido por los genotipos de pimiento empleados, el estado de madurez en el que se encuentran, el ambiente de cultivo, e incluso, el manejo de producción. Sin embargo, igualmente suponen una fuente de información valiosa a tener en cuenta a la hora de comenzar y desarrollar un programa de mejora que involucre ecotipos del pimiento blanco de Villena.

## 5. CONCLUSIONES

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos, se puede concluir que:

- Los ecotipos locales demostraron una elevada adaptación a condiciones de bajos insumos en la localidad de Villena, pues sus rendimientos total y relativo a 10 o 5 frutos fueron generalmente superiores a la media global registrada de todos los genotipos testados.
- De acuerdo con los resultados obtenidos en el análisis ANOVA para los parámetros fenotípicos evaluados, se revelaron efectos significativos para los factores “Variedad”, “Mes de cosecha” y la interacción “Variedad x Mes de cosecha” para el espesor del pericarpio, donde algunos materiales presentaron frutos más gruesos en la primera cosecha frente a otros, con el resultado opuesto. Además, se revelaron efectos significativos para los factores “Variedad”, “Año”, y la interacción “Variedad x Año”, para los parámetros de color “a” y “b”, y para la firmeza del fruto.
- En consonancia con los valores fenotípicos obtenidos en la caracterización del pimiento blanco de Villena, se determinó que el híbrido Cynthia F1, la entrada BGV-5143 y la variedad Babyplant fueron las entradas de mayor similitud a nivel de morfotipo.
- Los resultados procedentes del contenido en compuestos organolépticos y bioactivos determinaron un mayor contenido en azúcares en los ecotipos locales frente a la mayor parte de las variedades comerciales testadas. Sin embargo, el contenido en vitamina C no presentó un patrón definido, abundando tanto en ecotipos tradicionales como en materiales mejorados. Los flavonoides, a su vez, tendieron a verse incrementados en los materiales comerciales frente a los ecotipos locales.
- Se detectó una enorme variabilidad entre accesiones para el contenido en compuestos organolépticos y bioactivos, suponiendo un gran potencial para la selección de donantes que puedan ser utilizados en programas de mejora del pimiento blanco de Villena o en el desarrollo de nuevos híbridos. Entre las accesiones más destacadas se encontraron Pebrot Blanc de Berga, Babyplant, Skytia F1, Cynthia F1 y Cynthia F2-1.
- Conforme a los resultados obtenidos en el análisis ANOVA para los compuestos organolépticos y bioactivos analizados, se determinó un efecto significativo para los factores “Variedad”, “Mes de cosecha”, “Año”, así como para las interacciones “Variedad x Mes de cosecha” y “Variedad x Año”, sobre el contenido en fructosa, sacarosa, AsA, VC total, luteolina, kaempferol y apigenina. Sin embargo, el contenido en glucosa, DHA y quercetina no se vieron afectados por el factor “Mes de cosecha”.
- A pesar de haber obtenido efectos altamente significativos para el factor “Año” y para su interacción “Variedad x Año” para los distintos parámetros y compuestos estudiados, no pueden considerarse resultados del todo concluyentes debido a que

parte de los materiales fueron sometidos a un manejo bajo invernadero diferente al testado en la campaña anterior. Este hecho puede haber sesgado los resultados obtenidos.

- Se determinó una serie de correlaciones estadísticamente significativas entre los parámetros agronómicos, fenotípicos y compuestos organolépticos y bioactivos. Esta matriz aporta información de valor que podrá facilitar la selección indirecta en programas de mejora futuros.



## 6. BIBLIOGRAFÍA

- Alvarez-Parrilla, E. *et al.* (2011) 'Antioxidant activity of fresh and processed Jalapeno and Serrano peppers', *Journal of Agricultural and food Chemistry*, 59(1), pp. 163–173.
- del Amor, F. M. *et al.* (2008) 'Differential effect of organic cultivation on the levels of phenolics, peroxidase and capsidiol in sweet peppers', *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88(5), pp. 770–777.
- Bae, H. *et al.* (2012) 'Variation of antioxidant activity and the levels of bioactive compounds in lipophilic and hydrophilic extracts from hot pepper (*Capsicum* spp.) cultivars', *Food chemistry*, 134(4), pp. 1912–1918.
- Bae H, Jayaprakasha GK, Jifon J, Patil BS (2012). 'Extraction efficiency and validation of an HPLC method for flavonoid analysis in peppers'. *Food Chem.* Elsevier, 130(3):751–8.
- Baranski, M. *et al.* (2014) 'Higher antioxidant concentrations, and less cadmium and pesticide residues in organically grown crops: a systematic literature review and meta-analyses', *British Journal of Nutrition*, 112(5), pp. 794–811.
- Barboza, G. E. *et al.* (2019) 'Four new species of *Capsicum* (Solanaceae) from the tropical Andes and an update on the phylogeny of the genus', *PloS one*, 14(1), p. e0209792.
- Behera, K. K. *et al.* (2012) 'Organic farming history and techniques', in *Agroecology and strategies for climate change*. Springer, pp. 287–328.
- Bernardo, A. *et al.* (2008) 'The composition of two Spanish pepper varieties (Fresno de la Vega and Benavente-Los Valles) in different ripening stages', *Journal of food Quality*, 31(6), pp. 701–716.
- BEROVA, M. and Karanatsidis, G. (2008) 'Physiological response and yield of pepper plants (*Capsicum annum* L.) to organic fertilization', *Journal of central European agriculture*, 9(4), pp. 715–721.
- Bhandari, S. R. *et al.* (2019) 'Changes in phytochemical content and antioxidant activity during inflorescence development in broccoli', *Chilean journal of agricultural research*, 79(1), pp. 36–47.
- Bosland, P. W., Votava, E. J. and Votava, E. M. (2012) *Peppers: vegetable and spice capsicums*. Cabi.
- Buczowska, H. (2004) 'The effect of plant compaction on the growth and yielding of sweet pepper 'Mino' variety', *Folia Universitatis Agriculturae Stetinensis. Agricultura*, 95, pp. 27–32.
- Camacho Ferre, F. (2003) *Técnicas de producción en cultivos protegidos*. Caja Rural Intermediterránea, Cajamar.
- Cano A, Bermejo A. (2011). 'Influence of rootstock and cultivar on bioactive compounds in citrus peels'. *J. Sci. Food Agric.* Wiley Online Library, 91(9):1702–11.
- Carrizo García, C. *et al.* (2013) 'Wild Capsicums: identification and in situ analysis of Brazilian species', *Breakthroughs in the genetics and breeding of Capsicum and eggplant*. Edited by S. Lanteri, and GL Rotino, 2013, pp. 205–213.

- Carrizo García, C. *et al.* (2016) 'Phylogenetic relationships, diversification and expansion of chili peppers (*Capsicum*, Solanaceae)', *Annals of botany*, 118(1), pp. 35–51.
- Castellanos Ruiz, J. A. (2019) 'Compuestos bioactivos en pimientos tradicionales en diferentes condiciones de cultivo.'
- Castillo-Velarde, E. R. (2019) 'Vitamina C en la salud y en la enfermedad', *Revista de la Facultad de Medicina Humana*, 19(4), pp. 95–100.
- Cesar, M. N. Z. *et al.* (2007) 'Performance of sweet pepper under organic cultivation, submitted to intercropping with crotalaria and branch pruning', *Horticultura Brasileira*, 25(3), pp. 322–326.
- Chassy, A. W. *et al.* (2006) 'Three-year comparison of the content of antioxidant microconstituents and several quality characteristics in organic and conventionally managed tomatoes and bell peppers', *Journal of agricultural and food chemistry*, 54(21), pp. 8244–8252.
- Chebroly KK, Jayaprakasha GK, Yoo KS, Jifon JL, Patil BS (2012). 'An improved sample preparation method for quantification of ascorbic acid and dehydroascorbic acid by HPLC'. *LWT. Elsevier*, 47(2):443–9.
- Chen, L. and Kang, Y.-H. (2013) 'Anti-inflammatory and antioxidant activities of red pepper (*Capsicum annuum* L.) stalk extracts: Comparison of pericarp and placenta extracts', *Journal of Functional Foods*, 5(4), pp. 1724–1731.
- Cristache, S.-E. *et al.* (2018) 'Organic versus conventional farming—A paradigm for the sustainable development of the European countries', *Sustainability*, 10(11), p. 4279.
- Croteau, R., Kutchan, T. M. and Lewis, N. G. (2000) 'Natural products (secondary metabolites)', *Biochemistry and molecular biology of plants*, 24, pp. 1250–1319.
- Crozier, A. *et al.* (2006) 'Secondary metabolites as dietary components in plant-based foods and beverages'.
- Csilléry, G. (2006) 'Pepper taxonomy and the botanical description of the species', *Acta Agronomica Hungarica*, 54(2), pp. 151–166.
- D.O. Chellemi and E.N. Roskopf (2004) 'Yield potential and soil quality under alternative crop production practices for fresh market pepper', *Renewable Agr. Food Systems*, 19, pp. 168–175.
- De, A. K. (2003) *Capsicum: the genus Capsicum*. CRC Press.
- Deker Cerruffo, L. I. (2011) 'Adaptación de cinco híbridos de pimiento *Capsicum annuum* L. en la zona de Catarama, cantón Urdaneta provincia de Los Ríos'. Facultad de Ciencias Agrarias Universidad de Guayaquil.
- Delate, K., Cambardella, C. and McKern, A. (2008) 'Effects of organic fertilization and cover crops on an organic pepper system', *HortTechnology*, 18(2), pp. 215–226.
- Delate, K., Friedrich, H. and Lawson, V. (2003) 'Organic pepper production systems using compost and cover crops', *Biological agriculture & horticulture*, 21(2), pp. 131–150.
- Denev, P. *et al.* (2019) 'Phytochemical composition and antioxidant activity of 63 Balkan pepper (*Capsicum annuum* L.) accessions', *Journal of Food Measurement and*

*Characterization*, 13(4), pp. 2510–2520.

Djian-Caporalino, C. *et al.* (2007) ‘Capsicum’, *Genetic resources, chromosome engineering and crop improvement series*, 3(CRC Press, Florida (USA)), pp. 185–243.

Elizondo-Cabalceta, E. and Monge-Pérez, J. E. (2017) ‘Morphological characterization of 15 bell pepper (*Capsicum Annuum*) genotypes grown under greenhouse conditions in Costa Rica’, *InterSedes*, 18(37), pp. 129–154.

Escalona Contreras, V. H., Correa San Martín, J. and González Olivares, A. (2019) ‘Manejo postcosecha de tomates y pimientos frescos y de IV Gama’.

Estrada, A. B., Bernal, M. A. and Merino, F. (2000) ‘Maduración del pimiento padrón: transformaciones bioquímicas’, *Universidad de Coruña, Servicios de Publicaciones*, pp. 1–18.

Di Fabio, A., Lozoya-Gloria, E. and dos Santos-Olivera, F. (1999) ‘producción y manejo de cultivo’.

FiBL (2021) ‘Organic farming Basic principles and good practices’, nº1141.

Forman, J. and Silverstein, J. (2012) ‘Organic foods: health and environmental advantages and disadvantages’, *Pediatrics*, 130(5), pp. e1406–e1415.

Fornaris, G. J. (2005) ‘Cosecha y manejo postcosecha2’, *Artículo presentado en la Publicación*, 164.

Fornaris, G. J. (2007) ‘Características de la planta2’, *Conjunto Tecnológico para la Producción de Tomate. Recuperado el día*, 31.

Gajc-Wolska, J. and Skąpski, H. (2001) ‘Assessment of new Polish sweet pepper varieties in field cultivation’, *Fol. Hort*, 13, pp. 257–266.

García, C. *et al.* (2016) ‘La determinación de vitamina c en pimiento (*capsicum annuum*) por voltametría de barrido lineal’, *Revista de Investigación Talentos*, 3(2), pp. 1–9.

García Romero, M. C. (2008) ‘Efectos de los diferentes sistemas de cultivo (producción integrada, cultivo ecológico y cultivo sin suelo) sobre la composición antioxidante del pimiento fresco cultivado bajo invernadero’.

Golijan, J. and Popović, A. (2016) ‘Basic characteristics of the organic agriculture market’, in *Fifth International Conference Competitiveness Of Agro-Food And Environmental Economy*, pp. 10–11.

Guerrero Díaz, M. del M. (2012) ‘Biosolarización de invernaderos para cultivos de pimiento: manejo de patógenos y fatiga del suelo’.

Hallberg, L. (1981) ‘Bioavailability of dietary iron in man’, *Annual review of nutrition*, 1(1), pp. 123–147.

Hallmann, E. *et al.* (2019) ‘Polyphenols and carotenoids in pickled bell pepper from organic and conventional production’, *Food chemistry*, 278, pp. 254–260.

Hamed, M. *et al.* (2019) ‘Capsaicinoids, polyphenols and antioxidant activities of *Capsicum annuum*: Comparative study of the effect of ripening stage and cooking methods’, *Antioxidants*, 8(9), p. 364.

Harborne, J. B. and Williams, C. A. (2000) ‘Advances in flavonoid research since 1992’,

*Phytochemistry*, 55(6), pp. 481–504.

Hill, T. A. *et al.* (2013) ‘Characterization of *Capsicum annum* genetic diversity and population structure based on parallel polymorphism discovery with a 30K unigene Pepper GeneChip’, *PloS one*, 8(2), p. e56200.

Howard, L. R. and Wildman, R. E. C. (2007) ‘Isoflavones: source and metabolism’, *Handbook of nutraceuticals and functional foods*. Boca Raton, Fla.: CRC Press. p, pp. 165–191.

Hulse, J. D., Ellis, S. R. and Henderson, L. M. (1978) ‘Carnitine biosynthesis. beta-Hydroxylation of trimethyllysine by an alpha-ketoglutarate-dependent mitochondrial dioxygenase.’, *Journal of Biological chemistry*, 253(5), pp. 1654–1659.

Isabelle, M. *et al.* (2010) ‘Antioxidant activity and profiles of common vegetables in Singapore’, *Food Chemistry*, 120(4), pp. 993–1003.

Jarret, R. L. *et al.* (2009) ‘Variability for free sugars and organic acids in *Capsicum chinense*’, *Chemistry & biodiversity*, 6(2), pp. 138–145.

Kantar, M. B. *et al.* (2016) ‘Vitamin variation in *Capsicum* Spp. provides opportunities to improve nutritional value of human diets’, *PLoS One*, 11(8), p. e0161464.

Kaur, C. and Kapoor, H. C. (2001) ‘Antioxidants in fruits and vegetables—the millennium’s health’, *International journal of food science & technology*, 36(7), pp. 703–725.

Khan, F. A. *et al.* (2014) ‘Pharmacological importance of an ethnobotanical plant: *Capsicum annum* L.’, *Natural product research*, 28(16), pp. 1267–1274.

Kraft, K. H. *et al.* (2014) ‘Multiple lines of evidence for the origin of domesticated chili pepper, *Capsicum annum*, in Mexico’, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(17), pp. 6165–6170.

Kumar, S., Kumar, R. and Singh, J. (2006) ‘Cayenne/American pepper (*Capsicum* species). ISSN 0975-928X In: Peter KV (ed), *Handbook of Herbs and Spices*, Vol. 3’. Woodhead Publishing, Cambridge, UK.

Lanteri, S. and Pickersgill, B. (1993) ‘Chromosomal structural changes in *Capsicum annum* L. and *C. chinense* Jacq.’, *Euphytica*, 67(1), pp. 155–160.

Lee, Y.-S. *et al.* (2014) ‘Comparison of the quality of hot pepper (*Capsicum annum* L.) grown under organic and conventional conditions’, *Korean Journal of Organic Agriculture*, 22(4), pp. 645–656.

Levine, M. (1986) ‘New concepts in the biology and biochemistry of ascorbic acid’, *New England Journal of Medicine*, 314(14), pp. 892–902.

López-Marin, J., Angosto, J. and Gonzalez Benavente-Garcia, A. (2013) ‘El cultivo de pimientos en el Campo de Cartagena’, *Serie Técnica THM.*, 1, pp. 1–59.

Lorenzo, J. M. *et al.* (2017) ‘The use of natural antioxidants to replace chemical antioxidants in foods’, *Strategies for Obtaining Healthier Foods; Lorenzo, JM, Carballo, FJ, Eds*, pp. 205–228.

Mármol, J. R. (2010) *Cultivo del pimiento dulce en invernadero*. Junta de Andalucía. Consejería de Agricultura y Pesca. Secretaría General.

- Martínez-Flórez, S. *et al.* (2002) 'Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes', *Nutrición hospitalaria*, 17(6), pp. 271–278.
- Martínez, A. *et al.* (2006) 'Cultivo de pimiento ecológico en invernadero: producción y manejo', in *VII Congreso SEAE, Zaragoza*.
- Martínez, S. *et al.* (2007) 'The composition of Arnoia peppers (*Capsicum annuum* L.) at different stages of maturity', *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 58(2), pp. 150–161.
- McLeod, M. J., Guttman, S. I. and Eshbaugh, W. H. (1982) 'Early evolution of chili peppers (*Capsicum*)', *Economic Botany*, 36(4), pp. 361–368.
- Meena, H. P. (2014) 'Organic Farming: Concept and Components', *Popular Kheti*, 1, pp. 5–14.
- Mendoza-Sánchez, L. G. *et al.* (2015) 'Propiedades fisicoquímicas y antioxidantes del chile jalapeño (*Capsicum annuum* var. *annuum*) durante almacenamiento', *Revista Chapingo. Serie horticultura*, 21(3), pp. 229–241.
- Naidu, K. A. (2003) 'Vitamin C in human health and disease is still a mystery? An overview', *Nutrition journal*, 2(1), pp. 1–10.
- Navarro JM, Flores P, Garrido C, Martinez V.(2006) 'Changes in the contents of antioxidant compounds in pepper fruits at different ripening stages, as affected by salinity'. *Food Chem. Elsevier*, 96(1):66–73.
- Nuez, F., Ortega, G. and Costa, R. (1996) *El cultivo de pimientos, chiles y ajíes*. Mundi Prensa.
- Odrizola Serrano, I. (2009) *Obtención de zumos y frutos cortados con alto potencial antioxidante mediante tratamientos no térmicos*. Universitat de Lleida.
- Papoiu, A. D. P. and Yosipovitch, G. (2010) 'Topical capsaicin. The fire of a 'hot' medicine is reignited', *Expert opinion on pharmacotherapy*, 11(8), pp. 1359–1371.
- Park, J.-H. *et al.* (2012) 'Antioxidant activity and antiproliferative action of methanol extracts of 4 different colored bell peppers (*Capsicum annuum* L.)', *Food Science and Biotechnology*, 21(2), pp. 543–550.
- Pérez-López, A. J. *et al.* (2007) 'Influence of agricultural practices on the quality of sweet pepper fruits as affected by the maturity stage', *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(11), pp. 2075–2080.
- Perla, V. *et al.* (2016) 'Vitamin C and reducing sugars in the world collection of *Capsicum baccatum* L. genotypes', *Food chemistry*, 202, pp. 189–198.
- Perry, L. *et al.* (2007) 'Starch fossils and the domestication and dispersal of chili peppers (*Capsicum* spp. L.) in the Americas', *science*, 315(5814), pp. 986–988.
- Pickersgill, B. (2007) 'Domestication of plants in the Americas: insights from Mendelian and molecular genetics', *Annals of botany*, 100(5), pp. 925–940.
- del Pino, M. (2020) 'Curso De Horticultura Y Floricultura Año 2020 Guia Didactica: Horticultura Argentina', pp. 1–33. Available at: [https://www.indec.gov.ar/nivel4\\_default.asp?id\\_tema\\_1=3&id\\_tema\\_2=2&id\\_tema\\_3=39](https://www.indec.gov.ar/nivel4_default.asp?id_tema_1=3&id_tema_2=2&id_tema_3=39).

- Pinto, M. T. and Alvarez, F. (2018) 'Aspectos generales del manejo agronómico del pimiento en Chile', *Boletín INIA-Instituto de Investigaciones Agropecuarias*.
- Pinto, M. T. and Saavedra, J. (2018) 'Origen y desafíos del mejoramiento genético del pimiento a nivel mundial y nacional', *Boletín INIA-Instituto de Investigaciones Agropecuarias*.
- Purseglove, J. W. (1968) 'Tropical crops. Dicotyledons 2.', *Tropical crops. Dicotyledons* 2.
- Quiñones, M., Miguel, M. and Aleixandre, A. (2012) 'Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular', *Nutrición hospitalaria*, 27(1), pp. 76–89.
- Reglamento (CE) no 834/2007 del Consejo, de 28 de junio de 2007, sobre producción y etiquetado de los productos ecológicos y por el que se deroga el Reglamento (CEE) no 2092/91', *Diario Oficial de la Unión Europea*, 20, pp. 1–23.
- Reglamento (CEE) n° 2092/91 del Consejo, de 24 de junio de 1991, sobre la producción agrícola ecológica y su indicación en los productos agrarios y alimenticios, 1991, pp. 1-15.
- Reglamento (UE) 2018/848 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) n.o 834/2007 del Consejo.', 2018, pp. 1–92.
- Rehuš, M. and Valšíková, M. (2019) 'Evaluation of the content of pigments and total sugars in ground sweet paprika', *Potravinárstvo Slovak Journal of Food Sciences*, 13(1), pp. 700–705.
- Ribes Moya, A. M. (2016) 'Estudio comparativo del contenido en compuestos bioactivos y fracción volátil de una colección de pimientos y chiles (*Capsicum* sp.) bajo condiciones de cultivo ecológico y convencional'.
- Ritota, M. *et al.* (2010) 'Metabolomic characterization of Italian sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) by means of HRMAS-NMR spectroscopy and multivariate analysis', *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(17), pp. 9675–9684.
- Rodríguez-Burruezo, A. and Nuez Viñals, F. (2006) 'Mejora de la calidad del pimiento', in *Mejora genética de la calidad en plantas*. Universitat Politècnica de València, pp. 361–392.
- Rodríguez Pérez, N. (2017) 'Ensayo de tres variedades de pimiento, *Capsicum annuum* L. de tipo Lamuyo en dos tipos de invernaderos y en distintos sistemas de cultivo'.
- Russo, V. M. and Taylor, M. (2006) 'Soil amendments in transition to organic vegetable production with comparison to conventional methods: Yields and economics', *HortScience*, 41(7), pp. 1576–1583.
- Sánchez, E. *et al.* (2015) 'Contenido en vitamina C de siete variedades tradicionales de pimiento de la Región de Murcia', *Actas de horticultura*, 60, pp. 293–296.
- Sánchez Gómez, A. (1970) *El Pimiento: economía, producción, comercialización*. Institut National de Vulgarisation pour les Fruits, Legumes et Champignons.
- Sánchez Martín, R. M. (2014) 'Comparación del efecto de distintos patrones en pimiento tipo California cv. Bily y su influencia sobre la calidad de los frutos'.

- Serra, H. M. and Cafaro, T. A. (2007) 'Ácido ascórbico: desde la química hasta su crucial función protectora en ojo', *Acta bioquímica clínica latinoamericana*, 41(4), pp. 525–532.
- Serraño Cermeño, Z. (2011) 'Prontuario del cultivo de pimiento'. Serraño Cermeño, Z.
- Serrano Martínez, A. A. (2009) 'Efecto de diferentes factores: fertilización, salinidad y procesado, sobre parámetros objetivos de calidad en pimiento'.
- Sharma, V. K., Srivastava, A. and Mangal, M. (2020) 'Recent Trends in Sweet Pepper Breeding', in *Accelerated Plant Breeding, Volume 2*. Springer, pp. 417–444.
- Sim, K. H. and Sil, H. Y. (2008) 'Antioxidant activities of red pepper (*Capsicum annuum*) pericarp and seed extracts', *International journal of food science & technology*, 43(10), pp. 1813–1823.
- Simonne, A. H. *et al.* (1997) 'Ascorbic acid and provitamin a contents in unusually colored bell peppers (*Capsicum annuum*L.)', *Journal of Food Composition and Analysis*, 10(4), pp. 299–311.
- Soare, R. *et al.* (2017) 'Nutritional value and antioxidant activities in fruit of some cultivars of pepper (*Capsicum annuum* L.)', *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*, 23(4), pp. 217–222.
- Średnicka-Tober, D. *et al.* (2013) 'Effect of crop protection and fertilization regimes used in organic and conventional production systems on feed composition and physiological parameters in rats', *Journal of agricultural and food chemistry*, 61(5), pp. 1017–1029.
- Sun, T. *et al.* (2007) 'Antioxidant activities of different colored sweet bell peppers (*Capsicum annuum* L.)', *Journal of Food Science*, 72(2), pp. S98–S102.
- Tadesse, T. *et al.* (2002) 'Changes in physicochemical attributes of sweet pepper cv. Domino during fruit growth and development', *Scientia Horticulturae*, 93(2), pp. 91–103.
- Talens Oliag, P. (2017) 'Evaluación del color y tolerancia de color en alimentos a través del espacio CIELAB'.
- Tesoro Agroecológico de Villena (2018). Available at: <http://www.agricolavillena.es/Resumen-Tesoro-Agroecologico-de-Villena.pdf> (Accessed: 19 April 2021).
- Thampi, P. S. S. (2003) 'A glimpse of the world trade in *Capsicum*', *Capsicum: the genus Capsicum*. Taylor and Francis, London, pp. 16–24.
- Thuphairo, K., Sornchan, P. and Suttisansanee, U. (2019) 'Bioactive compounds, antioxidant activity and inhibition of key enzymes relevant to Alzheimer's disease from sweet pepper (*Capsicum annuum*) extracts', *Preventive nutrition and food science*, 24(3), p. 327.
- Tomás-Barberán, F. A. and Espín, J. C. (2001) 'Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables', *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81(9), pp. 853–876.
- Tomlekova, N. B., Timina, O. O. and Timin, O. Y. (2008) 'Achievements and perspectives of sweet pepper breeding towards high beta-carotene', in *IV Balkan Symposium on Vegetables and Potatoes 830*, pp. 205–212.

Tong, N. and Bosland, P. W. (2003) 'Observations on interspecific compatibility and meiotic chromosome behavior of *Capsicum buforum* and *C. lanceolatum*', *Genetic Resources and Crop Evolution*, 50(2), pp. 193–199.

Topuz, A. and Ozdemir, F. (2007) 'Assessment of carotenoids, capsaicinoids and ascorbic acid composition of some selected pepper cultivars (*Capsicum annuum* L.) grown in Turkey', *Journal of Food Composition and Analysis*, 20(7), pp. 596–602.

Vazquez-Flores, A. A. *et al.* (2020) 'Pytochemical profile and antioxidant activity of chiltepin chili (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*), Sonora, Mexico', *Journal of Food Bioactives*, 11.

Vera-Guzmán, A. M. *et al.* (2017) 'Flavonoid and capsaicinoid contents and consumption of mexican chili pepper (*Capsicum annuum* L.) landraces', *Flavonoids-from biosynthesis to human health. InTechOpen, London*, pp. 405–437.

Wahyuni, Y. *et al.* (2013) 'Secondary metabolites of *Capsicum* species and their importance in the human diet', *Journal of natural products*, 76(4), pp. 783–793.

Waterhouse, A. L. (2002) 'Wine phenolics', *Annals of the New York Academy of Sciences*, 957(1), pp. 21–36.

Willer, H. *et al.* (2019) 'The World of Organic Agriculture, Statistics and Emerging Trends 2019 at BIOFACH 2019'.

Willer, H. and Sahota, A. (2020) 'The world of organic agriculture, statistics and emerging trends 2020 at BIOFACH 2020'.