

ENSAIOS PARA PROTEÇÃO DE CULTIVARES DO TIPO LINHA
PURA DE *Capsicum baccatum* var. *pendulum* RESISTENTES AO
Pepper Yellow Mosaic Virus

SABRINA CASSARO

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE
DARCY RIBEIRO – UENF

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ
FEVEREIRO – 2022

ENSAIOS PARA PROTEÇÃO DE CULTIVARES DO TIPO LINHA
PURA DE *Capsicum baccatum* var. *pendulum* RESISTENTES AO
Pepper Yellow Mosaic Virus

SABRINA CASSARO

“Tese apresentada ao Centro de Ciências e
Tecnologias Agropecuárias da Universidade
Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro,
como parte das exigências para obtenção do
título de Doutora em Genética e Melhoramento
de Plantas.”

Orientador: Prof^a. Rosana Rodrigues

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ
FEVEREIRO - 2022

FICHA CATALOGRÁFICA

UENF - Bibliotecas

Elaborada com os dados fornecidos pela autora.

C343

Cassaro, Sabrina.

Ensaio para proteção de cultivares do tipo linha pura de *Capsicum baccatum* var. *pendulum* resistentes ao *Pepper Yellow Mosaic Virus* / Sabrina Cassaro. - Campos dos Goytacazes, RJ, 2022.

127 f. : il.

Bibliografia: 90 - 113.

Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, 2022.
Orientadora: Rosana Rodrigues.

1. colorimetria. 2. imagem digital. 3. microssatélite. 4. proteção de cultivares. 5. teste DHE. I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. II. Título.

CDD - 631.5233

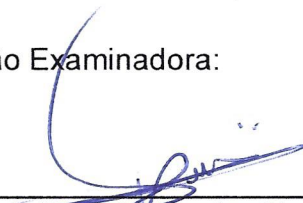
ENSAIOS PARA PROTEÇÃO DE CULTIVARES DO TIPO LINHA
PURA DE *Capsicum baccatum* var. *pendulum* RESISTENTES AO
Pepper Yellow Mosaic Virus

SABRINA CASSARO

“Tese apresentada ao Centro de Ciências e
Tecnologias Agropecuárias da Universidade
Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro,
como parte das exigências para obtenção do
título de Doutora em Genética e Melhoramento
de Plantas.”

Aprovada em 23 de fevereiro de 2022.


Comissão Examinadora:



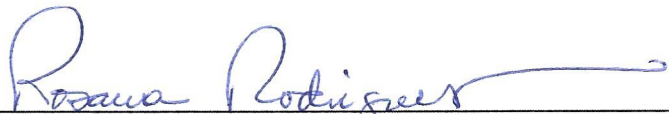
Prof. Alexandre Pio Viana (D.Sc., Produção Vegetal) - UENF



Prof.^a Telma Nair Santana Pereira (Ph.D., Plant Breeding) - UENF



Prof.^a Monique Moreira Moulin (D.Sc., Genética e Melhoramento de Plantas)
IFES



Prof.^a Rosana Rodrigues (D.Sc., Produção Vegetal) - UENF
(Orientadora)

DEDICATÓRIA

*Aos meus pais, Demétrio e Dezinéia, por todo amor, carinho, força e incentivo.
À minha avó (in memoriam) tão querida, pela bondade, exemplo de ser humano, e
por tudo o que representou em minha vida.
Aos meus amigos, pela amizade e pelo companheirismo.*

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida, por ser meu alicerce e por sempre me conceder sabedoria, coragem e força para seguir em frente.

Aos meus pais, Demétrio e Dezinéia, minha base. Obrigada por cada palavra de incentivo, pela presença constante, por acreditarem em mim e por nunca permitirem que eu desistisse.

À minha bondosa avó Orlandina (*in memoriam*), minha segunda mãe. Obrigada pelo apoio e ajuda, pelas orações, pelo carinho e amor. Você se foi, mas sei que continua me abençoando aí de cima e segue torcendo pelo meu sucesso. Saudades eternas!

À minha família, por todo apoio e amor.

À Professora Rosana Rodrigues, pela orientação, confiança, paciência, conselhos e apoio.

Aos amigos de laboratório, pela companhia, pelo auxílio nos trabalhos, pelas conversas, pelas risadas e por todo apoio.

Aos professores do curso de Pós-Graduação, pela oportunidade de aprendizagem, pela confiança e pelo incentivo, essenciais para meu crescimento profissional.

Aos amigos feitos ao longo do curso, pelas horas de estudo, pelas conversas, pelas boas risadas e pela companhia diária.

À Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro e ao Curso de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, pela oportunidade da realização deste curso.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa, à FAPERJ e ao CNPq, pelo apoio financeiro ao projeto.

Aos demais amigos, por todo amor, pela paciência e pelo apoio nos momentos de tensão. Obrigada pelas risadas, pelos conselhos e por compartilharem minha felicidade.

A todos aqueles que são importantes e especiais para mim.

A todos que, de alguma forma, me ajudaram até aqui.

Muito obrigada!

SUMÁRIO

RESUMO	vii
ABSTRACT	x
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	3
2.1. Objetivo geral.....	3
2.2. Objetivos específicos.....	3
3. CAPÍTULOS	5
3.1. DESENVOLVIMENTO DE CULTIVARES DE PIMENTA, ASSOCIANDO FENOTIPAGEM MORFOAGRONÔMICA E DIGITAL COM QUALIDADE DE FRUTOS E <i>FINGERPRINTING</i>	5
3.1.1. INTRODUÇÃO	5
3.1.2. REVISÃO DE LITERATURA	7
3.1.2.1. Aspectos gerais do gênero <i>Capsicum</i> e importância socioeconômica	7
3.1.2.2. <i>Capsicum baccatum</i> var. <i>pendulum</i>	9
3.1.2.3. Melhoramento de <i>Capsicum</i> spp. no Brasil	10
3.1.2.4. Proteção de cultivares e teste de DHE	11
3.1.2.5. Fingerprinting de cultivares	13
3.1.3. MATERIAL E MÉTODOS	15
3.1.3.1. Material vegetal	15
3.1.3.2. Fenotipagem	18
3.1.3.3. Caracterização molecular	23

3.1.3.4. Análise estatística.....	27
3.1.4. RESULTADOS	28
3.1.4.1. Fenotipagem morfoagronômica.....	28
3.1.4.2. Diversidade morfoagronômica.....	38
3.1.4.3. Fenotipagem físico-química dos frutos.....	39
3.1.4.4. Genotipagem.....	42
3.1.5. DISCUSSÃO	45
3.1.6. CONCLUSÕES	60
3.2. COLORÍMETRO E <i>TOMATO ANALYZER</i> NA FENOTIPAGEM DE FRUTOS DE PIMENTA	61
3.2.1. INTRODUÇÃO	61
3.2.2. REVISÃO DE LITERATURA	63
3.2.2.1. Cor: Definição e importância	63
3.2.2.2. Modelo de cor CIELAB	65
3.2.2.3. Métodos de avaliação por colorimetria	69
3.2.2.3.1. Análise visual	70
3.2.2.3.2. Análise instrumental	71
3.2.2.3.3. Sistema de visão computacional	72
3.2.2.4. Aplicações da colorimetria na agricultura	73
3.2.3. MATERIAL E MÉTODOS	75
3.2.3.1. Material vegetal	75
3.2.2.1. Avaliação instrumental	76
3.2.2.2. Avaliação por imagem digital.....	77
3.2.2.3. Análise estatística.....	79
3.2.4. RESULTADOS	80
3.2.5. DISCUSSÃO	86
3.2.6. CONCLUSÕES	89
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	90

RESUMO

CASSARO, Sabrina; D.Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; fevereiro, 2022; Ensaio para proteção de cultivares do tipo linha pura de *Capsicum baccatum* var. *pendulum* resistentes ao *Pepper Yellow Mosaic Virus*. Orientadora: Rosana Rodrigues; Conselheiros: Telma Nair Santana Pereira e Alexandre Pio Viana

Os frutos de pimenta (*Capsicum spp.*) têm ampla variabilidade genética em termos de cor, aparência, sabor, pungência e valor nutricional, o que possibilita múltiplos usos, abrangendo vários setores da economia. O lançamento de cultivares é o principal objetivo dos programas de melhoramento, por isso, além de buscar aumentar a produtividade e a resistência a estresses bióticos e abióticos, têm focado em variáveis relacionadas à qualidade físico-química dos frutos e ao conhecimento do perfil genético (*fingerprinting*). No primeiro capítulo, é relatada a fenotipagem morfoagronômica, digital, molecular e físico-químicas dos frutos de genótipos candidatos a ser registrados como novas cultivares de pimenta (*C. baccatum* var. *pendulum*). Três linhagens candidatas a cultivares e três genótipos comerciais de *C. baccatum* var. *pendulum* foram fenotipados com base em 49 características morfológicas multicategóricas e 11 atributos de qualidade de frutos. Para o *fingerprint*, 11 iniciadores microssatélites foram submetidos à eletroforese capilar. As características foram analisadas por meio de estatística descritiva, a matriz de dissimilaridade foi obtida pelo algoritmo de Gower e a divergência genética, observada pelo agrupamento UPGMA. As

variáveis físico-químicas dos frutos foram submetidas à análise de variância, teste Tukey ($p < 0,05$) e correlação de Pearson. Para os dados moleculares, foi construída uma matriz para calcular a dissimilaridade entre os genótipos. As características relacionadas aos frutos foram aquelas que mais contribuíram para a distinção entre os genótipos (32,6%), e a análise de agrupamento formou dois grupos. A análise colorimétrica dos frutos mostrou duas classes de cores: escuro/opaco e claro/brilhante. A pré-cultivar P1732 é pungente, uma característica peculiar ao tipo morfológico conhecido como pimenta cambuci. Os genótipos P1624 e P1732 são, respectivamente, descritos como altamente resistente e resistente ao PepYMV. As pré-cultivares P1624, P1639 e P1732 têm altos teores de vitamina C (96,52; 68,32 e 60,15 mg/100g⁻¹), alta concentração de sólidos solúveis totais (8,34; 9,30 e 8,27 °Brix) e baixo teor de acidez (0,20; 0,15 e 0,12%), respectivamente. Foi observado polimorfismo em cinco iniciadores microsatélites. Apesar da baixa taxa de polimorfismo encontrada (8,9%), foi possível observar dissimilaridade entre as pré-cultivares e as cultivares. No segundo capítulo, objetivou-se verificar o desempenho do *software Tomato Analyzer - Color Test* (TACT) na medição dos parâmetros de cor em frutos de pimenta (*C. baccatum* var. *pendulum*) e comparar este método com a análise colorimétrica padrão feita com o colorímetro digital. Novecentos e sessenta frutos de três linhagens e três cultivares de pimenta foram coletados para avaliação colorimétrica, abrangendo os estádios imaturo e maduro. Foram feitas, com colorímetro, três leituras em pontos distintos de cada fruto. Imagens digitais dos frutos foram capturadas com *scanner* de mesa e analisadas com *software Tomato Analyzer – Color Test*. Tendo como referência os dados obtidos pelos parâmetros L*a*b*, foram feitas análise de variância ($p < 0,05$) e análise de regressão simples. Maiores valores de V_g foram encontradas para C* (55,77% e 12,36%) utilizando o TACT. Alta herdabilidade foi observada para todas as variáveis em ambos os métodos usados. Para frutos na maturidade, foi possível encontrar diferença de classificação entre os métodos. O TACT demonstrou ser mais preciso na diferenciação das cores. Coeficientes de correlação superiores a 0,90 foram encontrados para ambos os métodos. O TACT desempenhou papel semelhante na medição de cores quando comparado ao colorímetro. No entanto, para alguns parâmetros (a* e C*), o TACT demonstrou ser um método de mensuração mais robusto e preciso. As linhagens avaliadas são potenciais candidatas a cultivares

de pimenta por terem caracteres agronômicos desejáveis e serem ricas em compostos químicos, incluindo atributos relacionados tanto ao sabor quanto à saúde dos consumidores, podendo atender ao mercado. Recomenda-se que as linhas candidatas sejam protegidas e registradas, tornando-se novas opções de cultivo para os produtores rurais.

Palavras-chave: colorimetria; imagem digital; microssatélite; proteção de cultivares; teste DHE.

ABSTRACT

CASSARO, Sabrina; D. Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, February, 2022; "Tests for protection of pure line crops of *Capsicum baccatum* var. *pendulum* resistant to Pepper Yellow Mosaic Virus", Supervisor: Rosana Rodrigues; Counselors: Telma Nair Santana Pereira and Alexandre Pio Viana

Pepper fruits (*Capsicum* L.) have wide genetic variability in terms of color, appearance, flavor, pungency, and nutritional value, which allows multiple uses covering various sectors of the economy. The release of cultivars is the main objective of breeding programs, therefore, in addition to seeking to increase productivity and resistance to biotic and abiotic stresses, they have focused on variables related to the physicochemical quality of the fruits and the knowledge of the genetic profile (fingerprinting). The first chapter reports the morphoagronomic, digital, molecular, and physicochemical phenotyping of the fruits of candidate genotypes to be registered as new pepper cultivars (*C. baccatum* var. *pendulum*). Three candidate lines for cultivars and three commercial genotypes of *C. baccatum* var. *pendulum* were phenotyped based on 49 multicategorical morphological traits and 11 fruit quality attributes. For the fingerprinting, 11 microsatellite primers were submitted to capillary electrophoresis. The traits were analyzed using descriptive statistics, the dissimilarity matrix was obtained by the Gower algorithm and the genetic divergence was observed by the UPGMA cluster. The physicochemical variables of the fruits were submitted to analysis of variance,

Tukey test ($p < 0.05$) and Pearson's correlation. For the molecular data, a binary matrix was constructed to calculate the dissimilarity between the genotypes. The characteristics related to the fruits were the ones that most contributed to the distinction between the genotypes (32.6%), and the cluster analysis formed two groups. The colorimetric analysis of the fruits showed two color classes: dark/opaque and light/bright. The pre-cultivar P1732 is pungent, a characteristic peculiar to the morphological type known as cambuci pepper. The P1624 and P1732 genotypes are respectively described as highly resistant and resistant to PepYMV. The three pre-cultivars have high levels of vitamin C (96.52 mg/100g⁻¹), high concentration of total soluble solids (SST 66.21 °Brix) and lower values of titratable acidity (0.12 and 0.15%). Polymorphism was observed in five microsatellite primers. Despite the low rate of polymorphism found (8.9%), it was possible to observe dissimilarity between pre-cultivars and cultivars. In the second chapter, the objective was to verify the performance of the Tomato Analyzer - Color Test (TACT) software in the measurement of color parameters in pepper fruits (*C. baccatum* var. *pendulum*), and to compare this method with the standard colorimetric analysis performed with the digital colorimeter. Nine hundred and sixty fruits of three lines and three pepper cultivars were collected for colorimetric evaluation, include the immature and ripe stages. Three readings at different points of each fruit were performed with the aid of the colorimeter. Digital images of the fruits were captured with the aid of a desktop scanner and analysed with the Tomato Analyzer – Color Test software. From the data obtained by the parameters $L^*a^*b^*$, analysis of variance ($p < 0.05$) and simple regression analysis were performed. From the data obtained by the parameters $L^*a^*b^*$, analysis of variance ($p < 0.05$) and simple regression analysis were performed. Higher V_g values were found for C^* (55.77% and 12.36%) using TACT. High heritability was observed for all variables in both methods used. For fruits at maturity, it was possible to find a difference in classification between the methods. TACT proved to be more accurate in color differentiation. Correlation coefficients greater than 0.90 were found for both methods. The TACT played a similar role in color measurement when compared to the colorimeter. However, for some parameters, TACT proved to be a more robust and accurate measurement method. The strains evaluated are potential candidates for pepper cultivars because they have desirable agronomic characters, and are rich in chemical compounds, including attributes related to

both flavor and consumer health, which can serve the market. It is recommended that candidate lines are protected and registered, becoming new crop options for rural producers.

Keywords: colorimetry; digital image; microsatellite; cultivar protection; DUS test.

1. INTRODUÇÃO

Utilizadas em todo o mundo desde a antiguidade, as pimentas (*Capsicum* spp.) fazem parte da história e da cultura e são patrimônio da agrobiodiversidade brasileira. É possível encontrá-las em diversos formatos, cores, tamanhos, sabores e níveis de pungência (Indrabi et al., 2021). No Brasil, *C. baccatum* var. *pendulum* é amplamente cultivada por agricultores familiares, sendo os tipos ‘Dedo-de-Moça’ e ‘Cambuci’ os mais cultivados dessa espécie (Cardoso et al., 2018).

Os principais objetivos de um programa de melhoramento de *Capsicum* são produtividade, resistência a doenças e pragas, arquitetura da planta e características relacionadas às qualidades sensoriais dos frutos (cor, forma, tamanho, espessura da polpa e níveis de pungência) (Rodrigues et al., 2012). O desenvolvimento de cultivares (linhagens puras ou híbridos) pode ter um papel importante no agronegócio brasileiro de *Capsicum*, o que ajudaria a diversificar as fontes de renda dos pequenos agricultores (Gomes et al., 2022).

A lei de proteção a variedades vegetais n. 9.456, de abril de 1997, dispõe sobre a proteção da propriedade intelectual na área de melhoramento genético, concedendo ao melhorista o direito de receber *royalties*, em prazo determinado, em troca da exploração comercial de uma nova cultivar (Araújo, 2010). Os requisitos legais para proteção de cultivares são que o genótipo seja resultante de melhoramento genético e apresente distinguibilidade, homogeneidade e estabilidade (DHE) (Reategui-Betancourt et al., 2021) sob os critérios do Serviço Nacional de Proteção de Cultivares (SNPC), responsável pela emissão do certificado de proteção. Para *Capsicum*, 48 descritores multicategóricos são

estabelecidos para satisfazer a exigência do DHE. A aplicação de variáveis quantitativas em conjunto com os testes de DHE, com base em caracteres qualitativos, permite selecionar linhas mais produtivas com maior número de caracteres de interesse agrônomo (Sant'Anna et al., 2020). Os experimentos de DHE são conduzidos em apenas um local, por, no mínimo, dois anos de cultivo semelhante (Machado, 2011). Apesar de não fazer parte das exigências para a proteção de cultivar, o uso de marcadores moleculares pode ser anexado ao pedido de proteção, pois pode auxiliar na caracterização do perfil genético da cultivar candidata (Aviani e Santos, 2011).

A Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) tem 5 registros de cultivares de pimenta junto ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA): três pimentas *C. annuum* var. *annuum* resistentes à mancha bacteriana, 'UENF Carioca', 'UENF Carioquinha' e 'UENF Campista'; e duas pimentas ornamentais *Capsicum annuum* L., 'UENF Atria' e 'UENF Raios de Sol' (Brasil, 2022).

A análise da morfologia dos frutos e as características de cor de hortaliças e frutas de forma objetiva e reprodutível são importantes para análises fenotípicas detalhadas dessas características. A introdução de técnica de alto desempenho, capaz de gerar resultados consistentes e rápidos, de forma menos subjetiva, apresenta grande potencial para a avaliação segura da qualidade de produtos agrícolas (Mahajan et al., 2015). A fenotipagem por meio de imagens tem sido cada vez mais utilizada no melhoramento de plantas (Maciel et al., 2020) por ser uma ferramenta rápida, barata e não destrutiva (Kyratzis et al., 2017; Mascarenhas Maciel et al., 2019). A técnica é usada principalmente para estudos de caracterização qualitativa e/ou quantitativa de descritores, estabelecendo correlações com o desempenho de uma linhagem dentro de um ambiente específico (Dhondt et al., 2013), bem como distinguindo uma cultivar de outra.

Avanços na área de processamento digital de imagens, auxiliados por computador, têm contribuído para viabilizar esse tipo de abordagem (Medeiros et al., 2020). Programas de domínio público como o *Tomato Analyzer* e *ImageJ* têm fornecido perspectivas promissoras para atender a esse propósito, pois propiciam automação de análises fenotípicas de atributos relacionados à forma bidimensional e coloração de frutos de forma semiautomática e reprodutível.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Conduzir a etapa final de obtenção de cultivares dentro do programa de melhoramento de *Capsicum* da UENF, conduzindo ensaios de Distinguibilidade, Homogeneidade e Estabilidade (DHE) e fazendo caracterização de frutos das linhagens candidatas à proteção.

2.2. Objetivos específicos

- a) Implantar e conduzir ensaios de DHE, com genótipos de *C. baccatum*, e obter linhagens de pimentas aptas à proteção de cultivares;
- b) Avaliar atributos de qualidade nos frutos das linhagens de pimentas aptas à proteção;
- c) Identificar os descritores que permitem a diferenciação entre as linhagens de pimenta e as testemunhas selecionadas para o DHE;
- d) Caracterizar molecularmente as linhagens de pimenta com marcadores microssatélites para auxiliar na sua distinguibilidade;
- e) Verificar o desempenho do programa *Tomato Analyzer - Color Test* na medição dos parâmetros de cor em frutos de pimenta (*C. baccatum* var. *pendulum*).

f) Comparar dois métodos de fenotipagem de cores, colorímetro e *Tomato Analyzer - Color Test*, para constatar se ambos geram resultados semelhantes para caracterizar a cor e qual deles é mais indicado ou apresenta melhor desempenho na análise das cores para frutos de pimenta.

3. CAPÍTULOS

3.1. DESENVOLVIMENTO DE CULTIVARES DE PIMENTA, ASSOCIANDO FENOTIPAGEM MORFOAGRONÔMICA E DIGITAL COM QUALIDADE DE FRUTOS E *FINGERPRINTING*

3.1.1. INTRODUÇÃO

O Brasil é um importante centro de diversidade genética do gênero *Capsicum*, tendo ampla variedade de pimentas e de pimentões. Essas hortaliças estão difundidas em todas as regiões do país, sendo um dos melhores exemplos de agricultura familiar e de integração pequeno agricultor-agroindústria (Villela et al., 2014).

A espécie *C. baccatum* L. tem ampla variabilidade genética, que pode ser observada pelas diferentes formas de frutos, tamanhos, cores, aromas, texturas e níveis de pungência (Moulin et al., 2015), resultando em múltiplos usos como frutos frescos para consumo *in natura*, ou seco (páprica) ou extratos (molhos) (Albrecht et al., 2012), como planta ornamental para jardinagem ou paisagismo (Luz et al., 2018). É um dos alimentos considerados *smart food*, uma das tendências alimentares que mais vêm crescendo no século 21 (Liotta et al., 2017),

juntamente com a denominada *clean label* (ITAL 2014). Essas duas tendências se caracterizam por se tratar de produtos naturais sem adição de conservantes artificiais e têm impulsionado o mercado de produtos com ingredientes naturais.

No setor farmacológico, as pimentas são utilizadas em diferentes segmentos, pois exercem atividade antimicrobiana, anti-inflamatória, analgésica, antioxidante, termogênica e anticancerígena (Chapa-Oliver e Mejía-Teniente, 2016), sendo considerada um recurso promissor para a indústria farmacêutica (Aguilera et al., 2017).

O desenvolvimento de novas cultivares de pimenta representa um caminho de oportunidades, de negócios e de investimentos na busca constante das transformações no campo da propriedade intelectual e do desenvolvimento biotecnológico. Constitui também valioso instrumento propulsor do desenvolvimento sustentável, merecendo ser observado como um mecanismo estratégico de inserção das regiões produtivas, voltadas ao setor agrícola, proporcionando benefícios diretos e indiretos para toda a sociedade (Rêgo et al., 2011).

O Programa de Melhoramento Genético de *Capsicum* da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) vem desenvolvendo estudos de caracterização, análise da diversidade genética e de resistência a doenças (Gonçalves et al., 2011; Rodrigues et al., 2012; Bento et al., 2013; Medeiros et al., 2014; Moulin et al., 2014; Moulin et al., 2015; Cabral et al., 2017; Bento et al., 2017), que permitem acessar a variabilidade genética com o avanço de gerações por meio de métodos de melhoramento adequados, a seleção de genótipos superiores e o lançamento de novas cultivares com características agronômicas desejáveis.

O objetivo deste trabalho foi fenotipar linhagens de pimentas (*C. baccatum* var. *pendulum*), associando características morfológicas multicategóricas, moleculares e físico-químicas de frutos, indicando a potencialidade de uso dessas pré-cultivares.

3.1.2. REVISÃO DE LITERATURA

3.1.2.1. Aspectos gerais do gênero *Capsicum* e importância socioeconômica

O gênero *Capsicum* pertence à família Solanaceae, é nativo das zonas tropicais da América Central e do Sul, e foi um dos primeiros a ser domesticado, em torno de 6.000 a.C. (Perry et al., 2014). O gênero compreende aproximadamente 40 espécies descritas de pimentas e pimentões (The Plant List, 2013), classificadas em domesticadas, semidomesticadas e silvestres (Villela et al., 2014), e mais de 200 variedades com grande variação morfológica, principalmente em termos de cor, forma, tamanho e níveis de pungência (Cardoso et al., 2018). Entre essas espécies, cinco são consideradas domesticadas: *C. annuum* L., *C. chinense* Jacq., *C. frutescens* L., *C. pubescens* Ruiz et PAV., e *C. baccatum* L. (var. *pendulum*) (Albrecht et al., 2012; Cardoso et al., 2018).

As pimenteiras são plantas de crescimento indeterminado, cujos florescimento e frutificação são contínuos, o que acarreta colheita múltipla (Fialho De Melo et al., 2014). As flores são hermafroditas, constituindo o principal órgão para classificação taxonômica das espécies do gênero (Alcorcés de Guerra, 2001). As espécies que compõem o gênero são diploides, sendo classificadas em dois grupos de acordo com o número de cromossomos, um primeiro grupo contendo $2n=2x=24$ e um segundo com $2n=2x=26$, sendo as espécies domesticadas pertencentes ao primeiro grupo (Moscone et al., 2007).

Quanto à reprodução, as plantas de *Capsicum* são preferencialmente autógamas, mas pode ocorrer a polinização cruzada natural, que varia dependendo da espécie, localização geográfica, condições climáticas, agentes polinizadores e espaçamento entre as plantas (Pickersgill, 1997). Em estudos com a espécie *C. annuum*, Justino et al. (2018) verificaram taxa de cruzamento natural entre 1,2 e 10,8%, e por apresentar uma grande faixa na taxa de polinização cruzada, as pimentas dessa espécie podem ser consideradas autógamas facultativas.

O fruto é uma baya com estrutura oca, com grande variabilidade morfológica, com variados formatos, tamanhos, colorações e pungências (Rigon et al., 2012). A coloração dos frutos maduros é frequentemente vermelha, mas

pode variar desde o amarelo, alaranjado, salmão, roxo e preto. Quanto ao formato, varia entre as espécies e até dentro delas, com frutos alongados, arredondados, ovalados, triangulares ou cônicos, campanulados, quadrados e retangulares (Carvalho e Bianchetti, 2009).

Uma das principais características do gênero *Capsicum* é a pungência, produzida por um conjunto de substâncias alcaloides, denominadas capsaicinoides. Essas substâncias ocorrem apenas no gênero *Capsicum* e são produzidas por glândulas presentes na placenta dos frutos, podendo haver variação de frutos não pungentes, caso do pimentão (*C. annuum*) e de algumas pimentas, e frutos muito pungentes como nas pimentas (Orellana-Escobedo et al., 2012). A pungência é controlada por um único gene dominante, denominado *Pun-1*, também conhecido como *C* (Wang e Bosland, 2006), que funciona como um regulador dos principais compostos na via da capsaicina (Reddy et al., 2014).

O gênero inclui pimentas de importante valor comercial e econômico (Dassie et al., 2017), frequentemente usadas pela indústria alimentícia como especiarias, pápricas, molhos, conservas, geleias, corantes (Caixeta et al., 2014), tendo também uma ampla variedade de aplicações em indústrias terapêuticas, farmacêuticas, medicinais, cosméticas e ornamentais (Arimboor et al., 2015). Do ponto de vista social, o agronegócio de pimenta tem importância principalmente por requerer grande quantidade de mão de obra, especialmente na colheita.

O cultivo das pimentas tem crescido em importância econômica e social no mundo, principalmente pela sua versatilidade de uso, sendo registrado um aumento considerável na produção mundial ao longo dos últimos anos (FAOSTAT, 2014). Segundo dados da FAO (*Food and Agriculture Organization of the United Nations*), em 2016, cerca de 34 milhões de toneladas de frutos verdes de *Capsicum* foram produzidas em todo mundo. Porém acredita-se que este número possa ser maior, uma vez que a produção em muitos países é contabilizada de modo precário, caso do Brasil. Mundialmente, a Ásia e a América são os maiores produtores, sendo Peru, México, China, Índia e Indonésia os principais países produtores de pimenta e pimentão. Na América do Sul, mais de 530 mil toneladas de frutos verdes foram produzidas em 2016, e Peru, Argentina e Venezuela foram os maiores produtores. O Brasil produziu em 2017 cerca de 47 mil toneladas de pimentas, sendo as regiões Norte e Nordeste as principais produtoras, correspondendo a 70% da produção nacional. A produção de pimentões foi de

aproximadamente 254 mil toneladas, sendo a região Sudeste a principal produtora (49%) (IBGE, 2017).

3.1.2.2. *Capsicum baccatum* var. *pendulum*

Entre as espécies de pimentas domesticadas, *C. baccatum* é uma das mais importantes da América do Sul, sendo cultivada principalmente em planícies e elevações médias da Argentina, Bolívia, Peru, Equador, Paraguai, Colômbia, Chile (Albrecht et al., 2012), se posicionando entre as principais espécies cultivadas no Brasil (Dassie et al., 2017). O centro de origem dessa espécie é a Bolívia e sul do Peru (Eshbaugh, 1970), sendo dividida em quatro variedades botânicas: *C. baccatum* var. *pendulum* (domesticada) e as silvestres *C. baccatum* var. *baccatum*, *C. baccatum* var. *praetermissum* e *C. baccatum* var. *umbilicatum* (Albrecht et al., 2012; Cardoso et al., 2018).

No Brasil, *C. baccatum* var. *pendulum* é conhecida por “dedo-de-moça”, “chapéu-de-frade”, “chifre-de-veado”, “cambuci” e “chapéu-de-bispo” (Melo et al., 2014), dependendo das características dos frutos e da região onde é encontrada. A pressão de seleção humana promoveu aumento do tamanho e massa do fruto com flexão descendente resultante do pedicelo, por isso, o nome “*pendulum*” (pêndulo), derivado do latim *pendus* para pendurar frutas (Albrecht et al., 2012).

C. baccatum tem ampla variabilidade genética, que pode ser observada pelas diferentes formas de frutos, tamanhos, cores, aromas, texturas e pungências (Moulin et al., 2015a), resultando em múltiplos usos, como frutos frescos para consumo *in natura*, ou seco para processamento em pós ou extratos (Albrecht et al., 2012), como planta ornamental, sendo também considerada um recurso promissor para a indústria farmacêutica (Aguilera et al., 2017).

As flores da espécie são isoladas, pequenas, hermafroditas e se apresentam em número de uma a duas por nó. Na antese, os pedicelos são geralmente eretos. A corola é branca e sempre apresenta um par de manchas amareladas ou esverdeadas na base de cada lobo das pétalas, e as anteras são amarelas (Villela et al., 2014). Os cálices dos frutos maduros são evidentemente dentados e não têm constrição anelar na junção do pedicelo. Os frutos são de várias cores e formas, geralmente pendentes, persistentes, com polpa firme e as sementes apresentam cor de palha (Carvalho e Bianchetti, 2009). A pungência

dos frutos pode variar desde muito intensa até menos intensa, há, inclusive, cultivares de pimenta do tipo Cambuci que são doces (Bosland, 1996).

3.1.2.3. Melhoramento de *Capsicum* spp. no Brasil

O melhoramento genético de *Capsicum* no Brasil é feito tanto por empresas públicas como por empresas privadas. Os programas de melhoramento têm explorado a diversidade genética, principalmente das espécies domesticadas. Entre as cultivares desenvolvidas para o mercado, existem híbridos, linhagens e populações de polinização aberta. As principais características alvo dos programas de melhoramento são produtividade, fácil destaque dos frutos durante a colheita, arquitetura de planta, precocidade e resistência a doenças. Paralelamente, são realizadas avaliações para coloração, pungência, sabor, aroma, formato e tamanho de fruto, espessura da polpa e perda de peso pós-colheita (Rêgo et al., 2011).

O programa de melhoramento genético de *Capsicum* spp. desenvolvido pela UENF teve início no ano de 1998, com o objetivo de identificar fontes de resistência e estudar a capacidade combinatória entre genótipos de *C. annuum* visando à obtenção de híbridos resistentes à mancha bacteriana do pimentão (Costa et al., 2002). A partir desta data, vários projetos foram executados, e outras espécies desse gênero foram incluídas para novos objetivos.

Os primeiros trabalhos de melhoramento na UENF envolvendo *C. baccatum* var. *pendulum* começaram a ser desenvolvidos em 2008 por Gonçalves et al., (2011) visando à resistência ao PepYMV e à alta produtividade, identificando combinações híbridas superiores a partir de um dialelo. Dando continuidade a esse trabalho, Medeiros et al. (2014) selecionaram os híbridos mais promissores para a etapa posterior de ensaios VCU com vistas ao registro de nova(s) cultivar(es) adaptadas ao Norte Fluminense. Aliado a este trabalho, Cabral et al. (2017) avaliaram o desempenho desses híbridos experimentais de *C. baccatum* var. *pendulum* nas condições edafoclimáticas da região Sudoeste de Mato Grosso quanto às características relacionadas à precocidade, manejo e produção, tendo avaliado também a interação genótipo x ambiente em Cáceres-MT e Campos dos Goytacazes – RJ. Após indicar híbridos promissores, Medeiros

et al., (2018) recomendaram que o híbrido UENF 1616 X UENF 1732 fosse registrado junto ao MAPA e o pedido de registro já está em fase de andamento.

Bento et al. (2013) estudaram a herança da resistência ao PepYMV e de características agrônômicas em populações P₁, P₂, F₁, F₂ e retrocruzamentos de *C. baccatum* var. *pendulum* obtidos pelo cruzamento entre os acessos UENF 1616 e UENF 1732, a fim de orientar a escolha do(s) método(s) de melhoramento para a condução das populações segregantes até a obtenção de linhas puras. A partir dos resultados encontrados, Santos et al. (2015) propuseram novas estratégias de condução de seleção de linhas segregantes pelo método genealógico e modelos mistos. O método SSD também foi utilizado para obter linhas recombinadas que foram fenotipadas para caracteres agrônômicos e resistência ao PepYMV com o intuito de indicar as linhas promissoras a serem testadas em ensaios de VCU e DHE (Costa et al., 2021a).

Moulin et al. (2015b) construíram um mapa genético de referência para a espécie, com base em marcadores codominantes SSR e em marcadores dominantes ISSR e RAPD, e investigaram a presença e o papel de inibidores de protease na interação existente entre o acesso UENF 1624 e o *Pepper yellow mosaic virus* (Moulin et al., 2014).

3.1.2.4. Proteção de cultivares e teste de DHE

A normatização de proteção ao trabalho executado pelos melhoristas é exercida e coordenada, internacionalmente, pela *Union Internationale pour la Protection des Obtentions Végétales* (UPOV) (Ramalho et al., 2010).

O Brasil se tornou membro da UPOV na ATA de 1978, confirmando sua adesão pelo decreto nº 3.109, de 30 de junho de 1999 (Brasil, 2011). Por meio dessa adesão e com a posterior criação da Lei de Proteção de Cultivares nº 9.456 de 1997 e do SNPC também em 1997, comprometeu-se a regular o direito dos melhoristas de plantas sobre cultivares protegidas no Brasil (Ramalho et al., 2010).

São passíveis de pedido de proteção a nova cultivar e/ou a cultivar essencialmente derivada de qualquer gênero ou espécie vegetal. As cultivares que não se enquadrarem nesses dois grupos, mas cujos pedidos de proteção tenham sido apresentados até doze meses após a divulgação dos descritores da

espécie e cuja primeira comercialização tenha ocorrido há, no máximo, dez anos da data do pedido, também poderão ser solicitadas.

Por meio da Lei nº. 9.456 /1997, passa-se a proteger uma nova variedade vegetal, que seja distinguível de outras cultivares e espécies vegetais por um conjunto mínimo de características morfológicas, fisiológicas, bioquímicas ou moleculares, herdadas geneticamente. Essas características, denominadas descritores, devem se mostrar homogêneas e estáveis através de sucessivas gerações.

Em janeiro de 2022, existiam 2704 cultivares protegidas no Brasil (Brasil, 2022). Destas cultivares, 16 são do gênero *Capsicum*, sendo 4 pimentões e 12 pimentas. Porém, para a espécie *C. baccatum*, ainda não existem cultivares protegidas pelo SNPC, reforçando a importância do presente trabalho. A UENF detém, junto ao SNPC, o registro e a proteção de três cultivares (linhagens) da espécie *C. annuum* var. *annuum* resistentes à mancha bacteriana, 'UENF Carioca', 'UENF Carioquinha' e 'UENF Campista', e o registro de dois híbridos ornamentais, 'UENF Atria' e 'UENF Raios de Sol'.

Para que uma cultivar candidata tenha sua proteção, um requisito técnico importante são os chamados ensaios de DHE para proteção pelo sistema UPOV, em qualquer país do mundo. No Brasil, as exigências do DHE são definidas pela Lei nº 9.456/97 (Brasil, 1997) no art. 3º, incisos VI, VII e VIII, e são de responsabilidade do requerente e devem ser entregues na apresentação do pedido de proteção (Aviani, 2011). Esses testes seguem metodologia própria para cada espécie e exigem um conhecimento da espécie por parte do examinador.

Para *Capsicum* ssp., o teste de DHE é baseado em 48 descritores binários ou multicategóricos, avaliados desde a formação das mudas, passando pela arquitetura das plantas, formato de folha e frutos (Brasil, 2006). Os ensaios de DHE não englobam algumas características agronômicas como produtividade, pelo fato de estas características serem bastante influenciadas pelas condições ambientais, sendo importantes apenas nos ensaios de VCU requerido no pedido de registro da cultivar. Para a proteção, não importa se a cultivar é mais produtiva ou tem melhor arquitetura do que outras. A obtenção do Certificado de Proteção, contudo, não habilita o titular a produzir ou comercializar a cultivar (Aviani, 2011).

Os ensaios de DHE são normalmente conduzidos em apenas uma localidade, o que minimiza o efeito ambiental, sendo obtidos resultados mais coerentes sobre descrição, distinção, homogeneidade e estabilidade da cultivar candidata à proteção, além de verificar melhor a consistência das suas diferenças para com as cultivares que estão sendo comparadas (Machado, 2011).

Duas alternativas que podem complementar os descritores morfológicos empregados na proteção de cultivares são a avaliação de características de resistência a pragas e doenças e o uso de marcadores moleculares. Para as características de resistência, iniciativas que permitem utilizá-los como distinção em testes DHE são bem aceitas na medida em que: a) as resistências sejam nitidamente definidas, nomeadas com o gênero, espécie, e se necessário o patótipo associado com a resistência; b) a avaliação seja clara, usando caracteres que devem ser documentados como um método padronizado e que esteja disponível através de uma publicação conhecida ou uma vez incorporado às diretrizes da UPOV para testar as espécies em questão; e c) um nível de resistência diferente só é aceitável como uma característica que permite o teste de nitidez se os níveis de expressão puderem ser claramente definidos e se os resultados do teste forem consistentes e tecnicamente viáveis (ISF, 2012). Quanto aos marcadores moleculares, eles são aplicados na proteção de cultivares como uma ferramenta auxiliar para comprovação da origem genética da cultivar, identificação de cultivares em casos de uso indevido e em atividades de fiscalização (Aviani e Santos, 2011).

De acordo com os artigos 11 e 12 da Lei de Proteção de Cultivares, o período de proteção estabelecido no momento de concessão do certificado pode variar de 15 a 18 anos conforme a espécie. Após o prazo de vigência, a cultivar cairá em domínio público e poderá ser utilizada livremente por qualquer pessoa, sem necessidade da autorização do titular da proteção (Aviani, 2011; Brasil, 1997).

3.1.2.5 *Fingerprinting* de cultivares

Nos últimos anos, as tecnologias de detecção de marcadores moleculares têm sido continuamente desenvolvidas. São diversas as aplicações dos marcadores moleculares no melhoramento genético de plantas, inclusive,

em diferentes etapas dos programas. Em geral, os marcadores moleculares podem ser utilizados para: caracterização de germoplasma - identificação de variações genéticas dentro de um grupo de plantas, com objetivo de selecionar uma característica específica; seleção assistida – seleção de características de interesse agrônomo (qualitativas e quantitativas) com base especificamente em marcadores moleculares; teste de paternidade e seleção de genitores – identificação ou seleção de indivíduos; resistência a patógenos – identificação de indivíduos que têm sequências genéticas (genes) que garantem a resistência a determinadas doenças; associação com características quantitativas – identificação de genes responsáveis por certas características quantitativas; estudos de diversidade e pureza genética – importante para avaliar a variabilidade genética entre indivíduos da mesma espécie; e *fingerprinting*, identidade genética de uma variedade ou cultivar desenvolvida que garante o direito e a proteção da propriedade intelectual (Ahn et al., 2018; Salgotra e Neal Stewart, 2020).

De acordo com Ferreira (2008), diferentemente dos descritores morfológicos, os marcadores têm número de polimorfismo ilimitado e não sofrem influência ambiental. Além disso, sua utilização acelera o processo de melhoramento genético vegetal como consequência da possibilidade de identificar e selecionar plantas a partir de amostras de qualquer idade, de encontrar mais de uma característica de interesse simultaneamente em um mesmo indivíduo, e a possibilidade de identificar geneticamente na planta características difíceis de serem visualmente avaliadas, ou que só apresentam a característica em determinada fase do desenvolvimento, como, por exemplo, resistência a alguma doença ou pragas, ou tolerância a certas variações climáticas (Salgotra e Neal Stewart, 2020).

Os perfis genéticos (*fingerprinting*) de cultivares, obtidos por marcadores, podem ser anexados ao pedido de proteção para fins de caracterização de cultivares. A possibilidade de utilização de marcadores moleculares é prevista no documento TGP/15 (UPOV, 2013), e a Instrução Normativa nº 58/2009 estabeleceu os procedimentos para envio e recebimento de DNA genômico de cultivar protegida ou candidata à proteção (Aviani e Santos, 2011). Desde 2009, o SNPC vem aplicando a análise do DNA por marcadores em cultivares de

espécies como soja, algodão, arroz e eucalipto para manejo dos ensaios de DHE e como um dos itens para verificação da distinguibilidade entre cultivares candidatas à proteção.

Marcadores obtidos de regiões do DNA com microssatélites (SSR - *Single Sequence Repeat*) são sequências curtas (1 a 6 pb), repetidas em *tandem*, distribuídas aleatoriamente (Faleiro, 2007), muito mais frequentes e distribuídas ao acaso, permitindo a mais completa cobertura de qualquer genoma eucarioto.

De acordo com Moe et al. (2010), os SSRs se destacam por serem abundantes no genoma, codominantes, multialélicos e terem boa repetibilidade. Têm o mais elevado conteúdo de informações de polimorfismo na terminologia de marcadores moleculares, facilidade de detecção por reação de cadeia da polimerase (PCR), possíveis localizações dos microssatélites, reprodutibilidade e facilidade de interpretação, além da possibilidade de detecção de vários marcadores no mesmo gel (*multiplex*), sendo mais rápido e eficiente quando comparado a outros tipos de marcadores. Os marcadores SSR revelam polimorfismo em um *locus* pela diferença no número de vezes em que um nucleotídeo é repetido naquele *locus* (Buso et al., 2003).

Diversos trabalhos disponíveis na literatura utilizaram marcadores em processos de proteção para outras culturas, incluindo arroz (Islam et al., 2020), trigo (Potokina et al., 2012), videira (Vélez e Ibáñez, 2012) e cevada (Jones et al., 2012), confirmando que marcadores quando utilizados em conformidade com os descritores morfológicos podem ser de grande utilidade para a distinção de genótipos.

3.1.3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1.3.1. Material vegetal

Foram utilizadas três linhagens (pré-cultivares) de *C. baccatum* var. *pendulum*, provenientes do Programa de Melhoramento Genético de *Capsicum* da UENF, obtidas pelo método de seleção massal com sete ciclos de

autofecundação controlada (F₇) (Figura 1), identificadas como P1732, P1624 e P1639, consideradas pré-cultivares, e três cultivares denominadas comercialmente como ‘Cambuci’ (Feltrin), ‘BRS Mari’ (Embrapa Hortaliças) e ‘Dedo-de-Moça’ (Topseed). As pré-cultivares P1624 e P1732 são pungentes, altamente produtivas (13,52 e 10,63 t/ha, respectivamente) (Medeiros 2012), altamente resistente (AR) e resistente (R) ao PepYMV (*Pepper Yellow Mosaic Virus*), respectivamente (Bento et al., 2017). A linha P1639 é uma pimenta doce, com média produtividade (5,13 t/ha) (Medeiros 2012), suscetível ao PepYMV (Bento et al., 2017).

Apesar do rico valor nutricional e econômico de *Capsicum* spp., sua produção tem sido muito dificultada por pragas e doenças (Ali et al., 2016). Entre as doenças de origem viral, destaca-se o PepYMV, principal doença viral desse gênero no Brasil (Lucinda e Nagata 2012). Considerado uma ameaça para as lavouras, o PepYMV tem causado preocupação crescente aos produtores de pimenta e pimentão, por comprometer a produtividade. Por essa razão, a resistência ao PepYMV tem sido uma prioridade nos programas de melhoramento de *Capsicum* conduzidos no Brasil (Ferraz et al., 2016; Ribeiro et al., 2018). No presente estudo, destacam-se a pré-cultivar P1624, por sua alta resistência ao PepYMV, sendo superior aos demais genótipos, e também a pré-cultivar P1732 por ser resistente, conforme resultados descritos por Bento et al. (2017), assim como a cultivar BRS Mari (Carvalho et al., 2009). A resistência genética de plantas consiste no método de controle mais efetivo que se pode dispor contra doenças em culturas agrícolas comerciais, razão da importância do desenvolvimento de cultivares com altos níveis de resistência, o que melhora o potencial produtivo da cultura.

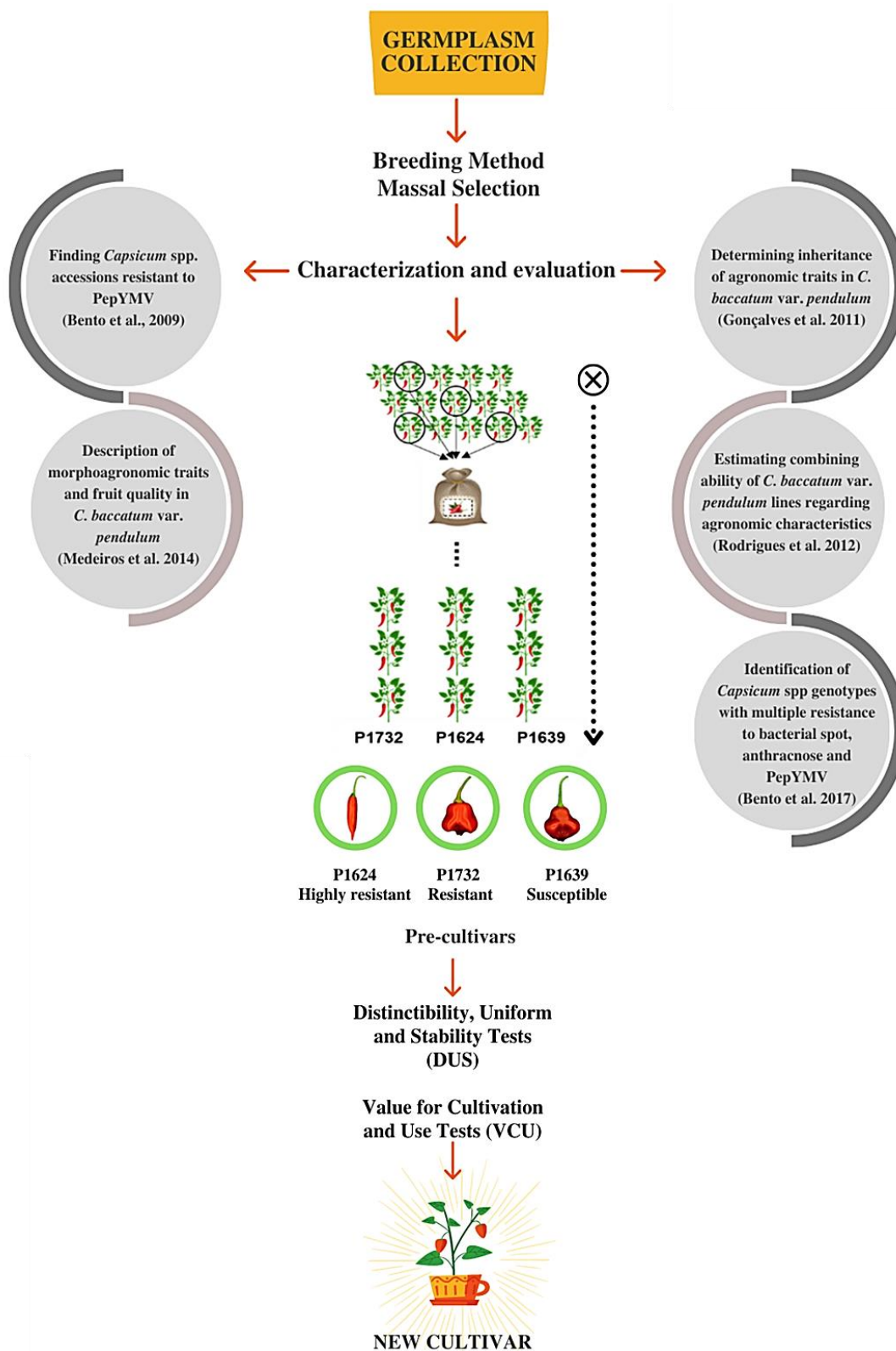


Figura 1. Fluxograma do programa de melhoramento com o avanço das gerações de autofecundação para obtenção de linhagens de *C. baccatum* var. *pendulum* pelo método de seleção massal. Fonte: A autora.

Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação do Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal (LMGV), localizado no *campus* da UENF, em Campos dos Goytacazes (latitude 21°45' Sul, longitude 41°17' Oeste, altitude 11m), Norte do Estado do Rio de Janeiro, Brasil, no período de setembro/2018 a fevereiro/2019 e maio/2021 a novembro/2021. Sementes das pré-cultivares e de cultivares foram semeadas em bandejas de isopor com 128 células contendo substrato comercial organovegetal Vivatto® e mantidas em casa de vegetação. O transplântio das mudas para vasos de 5L foi feito 30 dias após a semeadura, quando as plântulas atingiram quatro a seis folhas definitivas. O delineamento experimental utilizado foi em blocos ao acaso com quatro repetições e cinco plantas por parcela, dispostas em fileiras duplas, sendo 20 plantas por genótipo (Figura 2), totalizando 120 plantas. Para obtenção das sementes, foi feita proteção individual dos botões florais na pré-antese para garantir a autofecundação. Foram adotados os tratos culturais recomendados para a cultura (Filgueira, 2012).



Figura 2. Cultivo de pré-cultivares de pimenta (*C. baccatum* var. *pendulum*) em casa de vegetação. (a) Visão geral do experimento com irrigação por gotejamento na fase inicial; (b) plantas em fase de floração; (c) proteção individual dos botões florais na pré-antese; (d) detalhe da floração com manchas amarelas na corola, típicas de *C. baccatum* var. *pendulum*. Fonte: a autora.

3.1.3.2. Fenotipagem

Quarenta e nove características morfológicas multicategóricas foram avaliadas (Tabela 1), de acordo com os descritores estabelecidos pelo MAPA (Brasil, 2006). A característica resistência ao PepYMV foi adicionada, visto que o

programa de melhoramento tem como objetivo a obtenção de cultivares resistentes a essa doença. Na avaliação dessas características, foi utilizada a comparação lado a lado, na qual a distinguibilidade é baseada na observação direta do fenótipo das pimenteiras. Neste caso, atribui-se uma nota por genótipo para cada característica seguindo as classes preestabelecidas e, ao final, atribui-se a nota mais frequente (Moda) ao conjunto de dados conforme proposto por Pimenta et al. (2016).

Os ciclos até o florescimento e a frutificação foram avaliados a partir do transplântio das mudas, quando 50% das plantas apresentaram a primeira flor no segundo nó e quando 50% das plantas apresentavam frutos maduros.

Imagens de cinco frutos por planta foram capturadas, utilizando o *Scanner Plustek OpticPro A320*, e analisadas pelo programa *ImageJ*, para maior precisão e rapidez na mensuração das características quantitativas relacionadas a fruto, incluindo comprimento médio do fruto (CMF), diâmetro médio do fruto (DMF), tamanho da placenta; espessura média do pericarpo (EMP), comprimento do pedúnculo e espessura do pedúnculo.

Adicionalmente, foram determinados o teor de sólidos solúveis totais (SST), a acidez titulável (AT), a relação (SST/AT), o teor de vitamina C em frutos maduros (VitCM) e os parâmetros de cor (a^* , b^* , L^* e C^*). Estas avaliações foram feitas nos frutos do primeiro DHE.

A determinação do SST foi obtida pela extração de duas gotas de suco da amostra da polpa na região mediana do fruto, em cinco frutos/planta. O suco foi extraído por prensa manual e depositado diretamente sobre o prisma de um refratômetro digital (ATAGO, modelo PR 201) e os resultados, expressos em °Brix.

A acidez (AT) foi determinada pelo processo de titulação, utilizando NaOH (0,1 N) pelo método 22.058 (AOAC 1992). Os resultados foram expressos em equivalente de ácido cítrico (%). O teor de Vitamina C foi determinado de acordo com a metodologia da AOAC (2012), por titulação das amostras em solução de iodato de potássio a 0,02 M até a obtenção da coloração azul. O resultado foi expresso em mg de vitamina C (ácido ascórbico) por 100 g de fruta. Para determinação de AT e VitCM, a polpa foi obtida dos frutos oriundos das cinco plantas de cada genótipo colhidos em *bulk*/bloco, totalizando quatro replicatas.

Tabela 1. Características morfoagronômicas avaliadas em pré-cultivares e cultivares de *C. baccatum* var. *pendulum* com base nos Descritores estabelecidos pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Campos dos Goytacazes-RJ, UENF, 2022.

Características	Identificação das características* / Modo de avaliação (medição)
1 - Plântula: pigmentação antociânica no hipocótilo	1 – Ausente; 2 – Presente / Visualização
2 - Planta: posição das hastes	1 – Ereto; 2 – Semiereto; 3 – Horizontais; 4 – Prostrado / Visualização
3 - Planta: comprimento da haste	3 – Curta; 5 – Médio; 7 – Longo / Fita métrica (cm)
4 - Planta: entrenós curtos (na parte mais alta)	1 - Ausente; 2 – Presente / Visualização
5 - Planta: número de entrenós entre a primeira flor e os entrenós curtos (Apenas cultivares com entrenós curtos)	1 – Nenhum; 2 - Um a três; 3 – Três ou mais / Visualização
6 - Planta: comprimento do entrenó (apenas cultivares sem entrenó curto)	-
7 - Planta: pigmentação antociânica na altura dos nós	1 – Ausente ou muito fraco; 3 – Fraco; 5 – Médio; 7 – Forte; 9 / Visualização muito forte
8 - Folha: comprimento da lâmina	3 – Curta; 5 – Médio; 7 – Longo / Paquímetro (cm)
9 - Folha: largura	3 – Estreito; 5 – Médio; 7 – Grande / Paquímetro (cm)
10 - Folha: coloração	3 – Claro; 5 – Médio; 7 – Escuro / Visualização
11 - Folha: variação	1 - Ausente; 2 – Presente / Visualização
12 - Folha: pigmentação antociânica	1 – Ausente; 3 – Fraco; 5 – Médio; 7 – Forte / Visualização
13 - Folha: pilosidade	1 – Ausente; 3 – Esparsa; 5 – Médio; 7 – Denso / Visualização
14 - Folha: rugosidade	1 – Ausente; 3 – Fraco; 5 – Médio; 7 – Forte / Visualização
15 - Flor: número de flores por axila	1 - Um; 2 – Dois; 3 – Três ou mais / Visualização
16 - Flor: posição do pedúnculo	1 – Ereto; 3 – Intermediário; 5 – Pendente / Visualização
17 - Flor: coloração da corola	1 – Branco; 2 - Branco com base violeta; 3 - Branco com borda violeta; 4 - Branco esverdeado; 5 - Branco esverdeado com borda violeta; 6 - Amarelo claro; 7 – Amarelo; 8 – Amarelo esverdeado; 9 - Violeta com base branca; 10 – Violeta / Visualização

Tabela 1 - Cont.

Características	Identificação das características* / Modo de avaliação (medição)
18 - Flor: mancha na corola	1 – Ausente; 2 – Presente / Visualização
19 - Flor: coloração da mancha na corola	1 – Branco; 2 – Amarelo; 3 - Verde amarelado; 4 - Verde; 5 – Violeta / Visualização
20 - Flor: coloração da antera	1 – Branco; 2 – Amarelo; 3 - Amarelo com mancha azul; 4 – Azul claro; 5 – Azul; 6 – Violeta / Visualização
21 - Flor: coloração do filamento	1 – Branco; 2 – Amarelo; 3 - Amarelo com mancha azul; 4 – Azul claro; 5 – Azul; 6 – Violeta / Visualização
22 - Flor: posição do estigma	3 – Inserto; 5 – Mesmo nível; 7 – Exserto / Visualização
23 - Fruto: coloração antes da maturação	1 - Branco esverdeado; 2 – Amarelado; 3 – Verde; 4 – Roxo / Colorímetro
24 - Fruto: intensidade da coloração antes da maturação	3 – Claro; 5 – Médio; 7 – Escuro / Colorímetro
25 - Fruto: posição	1 – Ereto; 3 – Intermediário; 5 – Pendente / Visualização
26 - Fruto: comprimento	1 – Muito curto; 3 – Curta; 5 – Médio; 7 – Longo; 9 – Muito longo / Imagem digital (cm)
27 - Fruto: diâmetro	1 – Muito pequeno; 3 – Pequeno; 5 – Médio; 7 – Ótimo; 9 – Muito bom / Imagem digital (cm)
28 - Fruto: forma predominante da seção longitudinal	1 – Achatado; 2 – Arredondado; 3 – Cordiforme; 4 – Quadrado; 5 – Retangular; 6 – Trapezoidal; 7 – Triangular; 8 - Estreito triangular; 9 - Forma de chifre; 10 – Oval; 11 – Elíptica / Imagem digital
29 - Fruto: forma predominante da seção transversal	1 – Elíptica; 2 – Angulado; 3 – Arredondado / Imagem digital
30 - Fruto: sinuosidade do pericarpo na porção basal	1 – Ausente ou muito fraco; 3 – Fraco; 5 – Médio; 7 – Forte; 9 – muito forte / Visualização
31 - Fruto: textura da superfície	3 - Liso; 5 - Ligeiramente enrugado; 7 - Fortemente enrugado / Visualização
32 - Fruto: coloração na maturidade	1 – Amarelo; 2 – Laranja; 3 – Vermelho; 4 – Marrom, 5 – Roxo / Colorímetro
33 - Fruto: intensidade da coloração na maturidade	3 – Claro; 5 – Médio; 7 – Escuro / Colorímetro

Tabela 1 - Cont.

Características	Identificação das características* / Modo de avaliação (medição)
34 - Fruto: brilho	3 – Fraco; 5 – Médio; 7 – Forte / Colorímetro
35 - Fruto: profundidade da depressão peduncular	1 – Ausente ou muito raso; 3 – Raso; 5 – Médio; 7 – Profundo; 9 – Muito profundo / Visualização
36 - Fruto: forma do ápice	3 - Agudo; 5 - Arredondado; 7 – Deprimida / Visualização
37 - Fruto: profundidade dos sulcos interoculares	1 – Ausente ou muito raso; 3 – Raso; 5 – Médio; 7 – Profundo; 9 – Muito profundo / Visualização
38 - Fruto: número predominante de lóculos	1 – Dois; 2 – Dois e três; 3 – Três e quatro; 4 - Quatro e mais de quatro / Visualização / Imagem digital
39 - Fruto: espessura do pericarpo	3 – Fino; 5 – Médio; 7 – Grosso / Imagem digital (cm)
40 - Placenta: tamanho	3 – Pequeno; 5 – Médio; 7 – Ótimo / Imagem digital (cm)
41 - Pedúnculo: comprimento	3 – Curta; 5 – Médio; 7 – Longo / Imagem digital (cm)
42 - Pedúnculo: espessura	3 – Fino; 5 – Médio; 7 – Grosso / Imagem digital (cm)
43 - Cálice: margem	1 – Inteira; 2 – Intermediário; 3 – Denteado / Visualização
44 - Cálice: constrição anelar	1 – Ausente; 2 – Presente / Visualização
45 - Cálice: aspecto	1 – Não envolvente; 2 – Envolvimento / Visualização
46 - Fruto: capsaicina na placenta	1 – Ausente; 2 – Presente / Vanadato de amônio
47 - Ciclo até o florescimento	3 – Precoce; 5 – Médio; 7 – Tarde / Visualização (dias)
48 - Ciclo até a maturação	3 – Precoce; 5 – Médio; 7 – Tarde / Visualização (dias)
49 – Resistência à PepYMV	Bento et al. (2017)

Cinco frutos por planta foram coletados (ao acaso) para a avaliação da coloração nos estágios imaturos e maduros e utilizado o colorímetro Minolta® modelo CR-300, sendo feitas três medições em pontos distintos de cada fruto. Com essa abordagem, foi possível especificar as cores usando três coordenadas: L* (luminosidade) – que varia de zero a 100 (preto/branco); a* - que diz respeito à intensidade de vermelho/verde (+/-); e b* - relacionada à intensidade de amarelo/azul (+/-), conforme a CIE (Comissão Internacional da Iluminação). Tendo esses valores como referência, foi calculado o índice colorimétrico Chroma (C*) ou índice Chroma, que define uma medida de saturação ou intensidade de cor e varia de cores pálidas (valor baixo) para cores vivas (valor alto). Esse índice é calculado pela equação $C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}}$ (Schanda, 2007).

3.1.3.3. Caracterização molecular

As análises moleculares foram feitas no Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal (LMGV), do Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da UENF (CCTA).

Para extração do DNA, as amostras de folhas jovens foram coletadas em *bulk* (Figura 3) (24 amostras), colocadas em envelopes de papel alumínio, identificadas, imersas e transportadas em N₂ líquido e armazenadas em ultrafreezer a uma temperatura de – 86°C. Posteriormente, cerca de 300 mg de tecido macerado em nitrogênio líquido foram transferidos para microtubos (2,0 mL), devidamente identificados.

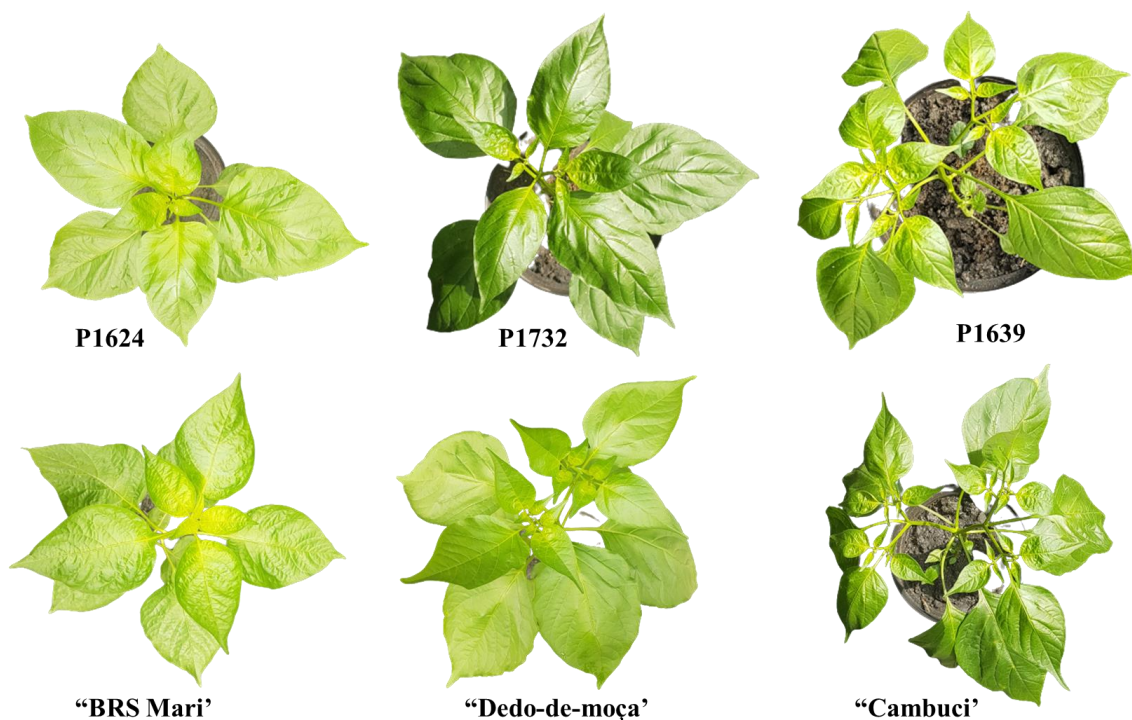


Figura 3. Imagem das folhas de três pré-cultivares e três cultivares de *C. baccatum* var. *pendulum*, colhidas na fase jovem (45 dias após o transplante) para extração de DNA.

A extração do DNA genômico seguiu o procedimento descrito por Doyle e Doyle (1987), com modificações (Daher et al., 2002). Após a maceração, foram adicionados 700 μ L do tampão de extração preaquecido, contendo CTAB em concentração final de 2%, NaCl - 1,4 M, EDTA - 20 mM, Tris-HCl (pH =8,0) - 100 mM, 1% de polivinilpirrolidona sólido (PVP) e 0,2% de β - mercaptoetanol. O material foi incubado em banho-maria a 65°C por 45 minutos, e os microtubos, agitados em intervalos de 10 minutos. Após as amostras atingirem a temperatura ambiente, foram adicionados 600 μ L de clorofórmio: álcool isoamílico (24:1) para a desproteinização. Foram feitas inversões do material durante, aproximadamente, um minuto até que ele ficasse turvo. A fase orgânica foi separada por centrifugação, a 14000 rpm, por um minuto. Feita a centrifugação, foi coletada uma fração do sobrenadante, que foi transferida para novos microtubos (1,5 mL), devidamente identificados. Os ácidos nucleicos foram precipitados pela adição de dois terços (500 μ L) do volume de isopropanol gelado e incubados por 30 minutos, a -20°C. O precipitado foi sedimentado por centrifugação, a 14000 rpm, por 15 minutos. O sobrenadante foi descartado e o precipitado, lavado duas vezes com 500 μ L de etanol a 70% para retirada do sal

presente (entre cada lavagem, o material foi centrifugado a 14000 rpm durante 5 minutos). Após o descarte do último sobrenadante, o material foi deixado para secar em condições naturais até que o etanol fosse removido. Em seguida, o material foi ressuspendido em 200µL de solução TE (Tris-EDTA – 10 mmol L⁻¹ Tris-HCl, 1mmol L⁻¹ EDTA, pH 8,0) com RNase a uma concentração final de 10µg mL⁻¹ e incubado em banho-maria a 37°C, por 30 minutos. Logo após, o material foi armazenado a -20°C até o uso. Após a extração, a integridade e a quantificação do DNA genômico foram verificadas via gel de agarose a 1,0%, utilizando o marcador High DNA Mass Ladder (Invitrogen, USA). Com base nesses resultados, todas as amostras foram diluídas para a concentração de trabalho de 5ng µL⁻¹.

Foram testados 56 pares de iniciadores microssatélites (Moulin et al., 2015; Pimenta et al., 2016; Bianchi et al., 2020). Cada iniciador foi anteriormente testado para encontrar sua temperatura ideal de amplificação. Esse teste foi feito por meio de reações de amplificação com um volume final de 13 µL, contendo os seguintes reagentes: 6,08 µL de água ultrapura, 1,3 µL do tampão de PCR (1X), 1,5 µL de dNTPs, 1,0 µL de cloreto de magnésio, 0,12 µL da enzima Taq polimerase e 2 µL de DNA. Foi aplicado 1 µL de iniciador e, posteriormente, adicionado o mix descrito anteriormente. As reações da polimerase em cadeia (PCR) foram conduzidas da seguinte forma: 4 min a 94°C, seguindo-se os 35 ciclos de 1min a 94°C, 1min a 56-66°C, 72°C por 2 min, e uma extensão final a 72°C por 7 min. Os fragmentos amplificados foram separados em gel de agarose 2%, corados com 6 µL da mistura gel red e blue juice na concentração 1:1 e submetidos à luz UV (Fotodocumentador *Minibis Pro – Bio-imaging System*) para visualização dos resultados. As imagens dos géis foram capturadas para posterior análise.

Após a realização do gradiente de temperatura, foram obtidos 30 pares de iniciadores, e as reações de amplificação foram preparadas para um volume final de 13 µL por amostra contendo: 6,08 µL de água ultrapura, 1,3 µL do tampão de PCR (1X), 1,5 µL de dNTPs, 1,0 µL de cloreto de magnésio, 1,0 µL do iniciador, 0,12 µL da enzima Taq polimerase e 2 µL de DNA. As reações de PCR foram feitas da seguinte forma: 4 min a 94°C (desnaturação inicial), seguido de 35 ciclos de 1 min a 94°C, 1 min a 56-66°C (de acordo com o ideal para o iniciador utilizado), 2 min a 72°C, e a extensão final por 7 min a 72°C. Os fragmentos

amplificados foram separados em gel de agarose de alta resolução Metaphor 4% e corados com 6 μ L da mistura gel red e blue juice na concentração 1:1. Para estimar o tamanho dos fragmentos, foi utilizado marcador de 100 pares de base DNA Ladder. Os géis foram submetidos à luz ultravioleta para visualização e as imagens foram capturadas.

Após análise das imagens obtidas pelos géis, 11 marcadores com amplificação mais consistente e possível presença de polimorfismos foram selecionados e submetidos a eletroforese capilar para confirmação de polimorfismo e determinação do tamanho dos alelos (Tabela 2). Para realização da eletroforese capilar, as amostras de PCR foram preparadas em uma placa de 96 poços. Para isso, foram tomados 8 μ L de cada amostra de PCR, misturando-os com 16 μ L de buffer, com um volume final de 24 μ L. As análises dos dados foram feitas pelo programa PROSize 2.0, para comparar a posição do pico de cada amostra com o padrão interno de peso molecular em cada *pool*, após o qual foi obtido o tamanho do fragmento.

Tabela 2. Iniciadores SSR utilizados na eletroforese capilar para diferenciação de três pré-cultivares e três cultivares de pimenta *C. baccatum* var. *pendulum*. Campos dos Goytacazes, UENF, 2022.

Marcador SSR	Foward Primer	Reverse Primer	Temperatura de anelamento
CAMS-190	tttctgcagtgtaccaatatttca	cccatgggtcctacctcag	65°
CAMS142	gagcgcttaagtggcatagg	ctacaacgccccaaaacaat	60°
CAMS378	gaaatcgacgcgtttctagc	tgtggggagagagaggaaga	59°
CAMS456	atggagctggggctaaaaat	gctcagcaaattgaggagaag	63°
CAMS301	ctgtccatgcttgatgct	tgatttgcctcgtttgag	60°
CAMS644	cgcatgaagcaaattgacca	acctgcagttgtgttga	59°
CAMS892-2	cgtcgattgaccattgagtg	tccttctaggaggcatgtttt	60°
CAMS095	cgctagcatgacactcaagg	aaacggcaaggctacacatc	63°
HpmsE019	aagtcacagctgcaaagacca	ttcaacatgcatccagcttctt	58°
HpmsE121	tgagagtggatccctcttctcg	ctgttcgggcttgaaagagga	58°
CAMS-460	cctttcacttcagcccat	accatccgctaagacgagaa	53°

3.1.3.4. Análise estatística

Foi utilizada a estatística descritiva da distribuição de frequência de variáveis contínuas para obtenção dos valores relativos às classes propostas para cada descritor proposto pelo MAPA (Brasil 2006). A estatística descritiva foi feita com o programa Genes (Cruz, 2016).

Para análise multivariada dos dados, obteve-se matriz de dissimilaridade pelo algoritmo de Gower (1971). A divergência genética foi representada por dendrograma obtido pelo método hierárquico *Unweighted Pair Group Method With Arithmetic Mean* (UPGMA). O método de Mojena (1977) foi utilizado para determinação do número ótimo de grupos no dendrograma. Para verificar a consistência do agrupamento, calculou-se o coeficiente de correlação cofenética (CCC). Os dados foram analisados por meio do programa R versão 3.5.2., com auxílio dos pacotes *Cluster* e *RCMDR*.

Os dados físico-químicos dos frutos foram submetidos ao teste de normalidade de Lilliefors ($p < 0,05$), análise de variância ($p < 0,05$), teste Tukey ($p < 0,05$) e correlação de Pearson.

Para os dados moleculares, foi construída uma matriz com base nos alelos encontrados, utilizada para calcular a dissimilaridade entre os genótipos com base no complemento $(1 - S_{ii'})$ do índice de coincidência não ponderado, obtido pela equação:

$$S_{ii'} = \frac{1}{2L} \sum_{j=1}^L C_j$$

Em que $S_{ii'}$ é a similaridade entre os acessos i e i' ; L é o número total de *loci* estudados; e C_j é o número de alelos comuns entre i e i' . A análise estatística foi feita utilizando o programa Genes (Cruz, 2016).

3.1.4. RESULTADOS

3.1.4.1. Fenotipagem morfoagronômica

Das 49 características avaliadas, 23 foram monomórficas para todos os genótipos estudados (Tabela 3).

Pigmentação antociânica no hipocótilo (plântula), entrenós curtos, número de entrenós curtos e pigmentação antociânica na altura dos nós foram as características que tiveram classificação idêntica entre os genótipos. A característica comprimento do entrenó não foi avaliada, uma vez que ela é somente mensurada em plantas sem entrenós curtos. Entre as sete características de folha, três foram monomórficas: comprimento da lâmina, variegação e pigmentação antociânica. Para características de flor, dos oito avaliados, sete foram monomórficos: número de flores por axila, posição do pedúnculo, coloração da corola, mancha da corola, coloração da mancha da corola, coloração da antera e coloração do filamento (Figura 4).

Das 24 características relacionadas ao fruto, oito foram consideradas monomórficas: posição, coloração na maturidade, brilho, profundidade da depressão peduncular, forma do ápice, número predominante de lóculos, margem do cálice e constrição anelar do cálice (Figura 5).

Tabela 3. Descritores morfológicos de *Capsicum* avaliados em ensaios de DHE, conforme recomendação do Serviço Nacional de Proteção de Cultivares para a proteção de cultivares de *C. baccatum* var. *pendulum*. Campos dos Goytacazes-RJ, UENF, 2022

Descritores	Cultivares						Pré-cultivares						
	BRS Mari		Cambuci		Dedo-de-Moça		P1732		P1624		P1639		
	DHE 1	DHE 2	DHE 1	DHE 2	DHE 1	DHE 2	DHE 1	DHE 2	DHE 1	DHE 2	DHE 1	DHE 2	
1 - Plântula: pigmentação antociânica no hipocótilo	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P
2 - Planta: posição das hastes	Ereta	Ereta	Ereta	Ereta	Ereta	Ereta	Ereta	Ereta	Ereta	Ereta	Ereta	Ereta	Ereta
3 - Planta: comprimento da haste	Longa	Longa	Curto	Curto	Curto	Curto	Curto	Curto	Curto	Médio	Médio	Curto	Curto
4 - Planta: entrenós curtos (na parte mais alta)	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P
5 - Planta: número de entrenós entre a primeira flor e os entrenós curtos (Apenas cultivares com entrenós curtos)	Mais de 3	Mais de 3	Mais de 3	Mais de 3	Mais de 3	Mais de 3	Mais de 3	Mais de 3	Mais de 3	Mais de 3	Mais de 3	Mais de 3	Mais de 3
6 - Planta: comprimento do entrenó (apenas cultivares sem entrenó curto)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabela 3 - Cont.

Descritores	Cultivares						Pré-cultivares					
	BRS Mari		Cambuci		Dedo-de-Moça		P1732		P1624		P1639	
	DHE 1	DHE 2	DHE 1	DHE 2	DHE 1	DHE 2	DHE 1	DHE 2	DHE 1	DHE 2	DHE 1	DHE 2
7 - Planta: pigmentação antociânica na altura dos nós	A ou MF	A ou MF	A ou MF	A ou MF	A ou MF	A ou MF	A ou MF	A ou MF	A ou MF	A ou MF	A ou MF	A ou MF
8 - Folha: comprimento da lâmina	Médio	Médio	Médio	Médio	Médio	Médio	Médio	Médio	Médio	Médio	Médio	Médio
9 - Folha: largura	Larga	Larga	Média	Média	Média	Média	Média	Média	Larga	Larga	Média	Média
10 - Folha: coloração	Média	Média	Média	Média	Escura	Escura	Média	Média	Escura	Escura	Média	Média
11 - Folha: variegação	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
12 - Folha: pigmentação antociânica	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
13 - Folha: pilosidade	A	A	Esp.	Esp.	A	A	Esp.	Esp.	A	A	Esp.	Esp.
14 - Folha: rugosidade	Fraca	Fraca	A	A	A	A	Fraca	Fraca	A	A	Fraca	Fraca
15 - Flor: número de flores por axila	Uma	Uma	Uma	Uma	Uma	Uma	Uma	Uma	Uma	Uma	Uma	Uma
16 - Flor: posição do pedúnculo	Inter.	Inter.	Inter.	Inter.	Inter.	Inter.	Inter.	Inter.	Inter.	Inter.	Inter.	Inter.
17 - Flor: coloração da corola	Branca	Branca	Branca	Branca	Branca	Branca	Branca	Branca	Branca	Branca	Branca	Branca
18 - Flor: mancha na corola	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P

Tabela 3 - Cont.

Descritores	Cultivares						Pré-cultivares						
	BRS Mari		Cambuci		Dedo-de-Moça		P1732		P1624		P1639		
	DHE 1	DHE 2	DHE 1	DHE 2	DHE 1	DHE 2	DHE 1	DHE 2	DHE 1	DHE 2	DHE 1	DHE 2	
19 - Flor: coloração da mancha na corola	AM	AM	AM	AM	AM	AM	AM	AM	AM	AM	AM	AM	AM
20 - Flor: coloração da antera	AM	AM	AM	AM	AM	AM	AM	AM	AM	AM	AM	AM	AM
21 - Flor: coloração do filamento	AM	AM	AM	AM	AM	AM	AM	AM	AM	AM	AM	AM	AM
22 - Flor: posição do estigma	Inserto	Inserto	Inserto	Inserto	Exserto	Exserto	M. nível	M. nível	M. nível	M. nível	Inserto	Inserto	Inserto
23 - Fruto: coloração antes da maturação	Amarel.	Amarel.	Amarel.	Amarel.	Verde	Verde	Amarel.	Amarel.	Verde	Verde	Amarel.	Amarel.	Amarel.
24 - Fruto: intensidade da coloração antes da maturação	Clara	Clara	Clara	Clara	Clara	Clara	Clara	Clara	Escuro	Escuro	Clara	Clara	Clara
25 - Fruto: posição	Penden	Penden	Penden	Penden	Penden	Penden	Penden	Penden	Penden	Penden	Penden	Penden	Penden.
26 - Fruto: comprimento	Médio	Médio	Curto	Curto	Longo	Longo	Curto	Curto	Longo	Longo	Médio	Médio	Médio
27 - Fruto: diâmetro	MP	MP	Grande	Grande	MP	MP	Grande	Grande	MP	MP	Muito grande	Muito grande	Muito grande
28 - Fruto: forma predominante da seção longitudinal	Estreito triang.	Estreito triang.	Camp.	Camp.	Forma de chifre	Forma de chifre	Camp.	Camp.	Estreito triang.	Estreito triang.	Camp.	Camp.	Camp.
29 - Fruto: forma predominante da seção transversal	Arred.	Arred	Angul.	Angul.	Arred	Arred	Angul.	Angul.	Arred	Arred	Angul.	Angul.	Angul.

Tabela 3 - Cont.

Descritores	Cultivares						Pré-cultivares					
	BRS Mari		Cambuci		Dedo-de-Moça		P1732		P1624		P1639	
	DHE 1	DHE 2	DHE 1	DHE 2	DHE 1	DHE 2	DHE 1	DHE 2	DHE 1	DHE 2	DHE 1	DHE 2
30 - Fruto: sinuosidade do pericarpo na porção basal	Forte	Forte	Muito Forte	Muito Forte	Forte	Forte	Muito Forte	Muito Forte	Forte	Forte	Muito Forte	Muito Forte
31 - Fruto: textura da superfície	Levem. enrug.	Levem. enrug.	Levem. enrug.	Levem. enrug.	Levem. enrug.	Levem. enrug.	Lisa	Lisa	Levem. enrug.	Levem. enrug.	Lisa	Lisa
32 - Fruto: coloração na maturidade	Verm.	Verm.	Verm.	Verm.	Verm.	Verm.	Verm.	Verm.	Verm.	Verm.	Verm.	Verm.
33 - Fruto: intensidade da coloração na maturidade	Média	Média	Clara	Clara	Clara	Clara	Clara	Clara	Média	Média	Clara	Clara
34 - Fruto: brilho	Forte	Forte	Forte	Forte	Forte	Forte	Forte	Forte	Forte	Forte	Forte	Forte
35 - Fruto: profundidade da depressão peduncular	A ou MF	A ou MF	A ou MF	A ou MF	A ou MF	A ou MF	A ou MF	A ou MF	A ou MF	A ou MF	A ou MF	A ou MF
36 - Fruto: forma do ápice	Arred.	Arred.	Arred.	Arred.	Arred.	Arred.	Arred.	Arred.	Arred.	Arred.	Arred.	Arred.
37 - Fruto: profundidade dos sulcos interloculares	Rasa	Rasa	Profun.	Profun.	Rasa	Rasa	Profun.	Profun.	Rasa	Rasa	Profun.	Profun.
38 - Fruto: número predominante de lóculos	3 e 4	3 e 4	3 e 4	3 e 4	3 e 4	3 e 4	3 e 4	3 e 4	3 e 4	3 e 4	3 e 4	3 e 4
39 - Fruto: espessura do pericarpo	Média	Média	Média	Média	Média	Média	Média	Média	Fina	Fina	Média	Média

Tabela 3 - Cont.

Descritores	Cultivares						Pré-cultivares					
	BRS Mari		Cambuci		Dedo-de-Moça		P1732		P1624		P1639	
	DHE 1	DHE 2	DHE 1	DHE 2	DHE 1	DHE 2	DHE 1	DHE 2	DHE 1	DHE 2	DHE 1	DHE 2
40 - Placenta: tamanho	Média	Média	PQ	PQ	Grande	Grande	PQ	PQ	Grande	Grande	PQ	PQ
41 - Pedúnculo: comprimento	Curto	Curto	Curto	Curto	Curto	Curto	Médio	Médio	Médio	Médio	Médio	Médio
42 - Pedúnculo: espessura	Média	Média	Grossa	Grossa	Média	Média	Grossa	Grossa	Grossa	Grossa	Grossa	Grossa
43 - Cálice: margem	Dent.	Dent.	Dent.	Dent.	Dent.	Dent.	Dent.	Dent.	Dent.	Dent.	Dent.	Dent.
44 - Cálice: constrição anelar	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
45 - Cálice: aspecto	Envol.	Envol.	Não envol.	Não envol.	Envol.	Envol.	Não envol.	Não envol.	Envol.	Envol.	Não envol.	Não envol.
46 - Fruto: capsaicina na placenta	P	P	A	A	P	P	P	P	P	P	A	A
47 - Ciclo até o florescimento	Tardia	Tardia	Tardia	Tardia	Tardia	Tardia	Tardia	Tardia	Tardia	Tardia	Prec.	Prec.
48 - Ciclo até a maturação	Média	Média	Média	Média	Média	Média	Prec.	Prec.	Média	Média	Prec.	Prec.
49 - Resistência à PepYMV	R	R	-	-	-	-	S	S	AR	AR	S	S

P – presente; A – ausente; A ou MF – ausente ou muito fraca; Inter. – intermediário; Esp.- esparsa; Amarel. – amarelado; AM – amarelo (a); M. nível – mesmo nível; Penden. – pendente; MP – muito pequeno; Estreito triang. – estreito triangular; Camp. – campanulado; Arred. – arredondado; Levem. enrug. – levemente enrugado; PG – pequena; Verm. – vermelho; Envol. – envolvente; Dent. – dentada; Prec. – precoce; R – Resistente; S – Suscetível; AR – Altamente resistente



Figura 4. Fenotipagem de plantas e frutos. Representação de características monomórficas em plantas: pigmentação antocianina no hipocótilo (plântula), entrenós curtos, número de entrenós curtos e pigmentação antocianina na altura dos nós; em folhas: comprimento da lâmina, variegação e pigmentação antocianina; em flores: número de flores por axila, posição do caule, cor da corola, mancha da corola, cor da mancha da corola, cor da antera.

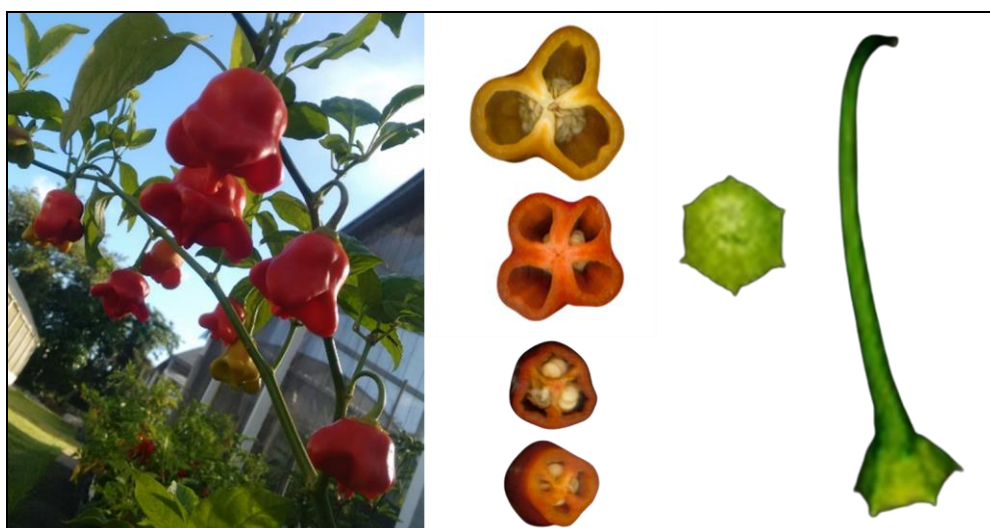


Figura 5. Fenotipagem de plantas e frutos. Representação de características monomórficas em frutos: posição, cor na maturidade, profundidade dos sulcos interloculares, forma do ápice, número de lóculos, margem do cálice e constrição do cálice.

Houve grande variabilidade para os valores médios das características quantitativas. Estas características foram transformadas em dados multicategóricos e analisadas estatisticamente (Tabela 4) para atender aos requisitos propostos nos descritores estabelecidos pelo MAPA e, ao mesmo tempo, servir de modelo e referência para futuros estudos de caracterização e avaliação, pois foi possível estabelecer intervalos de valores distribuídos em classes para padronizar e classificar de forma precisa os descritores quantitativos.

Tabela 4. Faixas de classes de características morfológicas quantitativas, notas atribuídas e identificação de características avaliadas em pimentas *C. baccatum* var. *pendulum* no primeiro ensaio de DHE. Campos dos Goytacazes-RJ, UENF, 2022.

Características	Classe	Observação	Descrição
Planta: comprimento do caule (cm)	19 f 38,67	3	Pequeno
	38,68 f 58,33	5	Médio
	58,34 f 78	7	Grande
Folha: comprimento (cm)	45,11 f 64,5	3	Pequeno
	64,6 f 83,89	5	Médio
	83,90 f 103,28	7	Grande
Folha: largura (cm)	20,2 f 32,4	3	Estreito
	32,5 f 44,6	5	Médio
	44,7 f 56,81	7	Largo
Fruto: comprimento (cm)	1,09 f 2,55	1	Muito curto
	2,56 f 4	3	Curto
	4,1 f 5,45	5	Médio
	5,46 f 6,91	7	Longo
	6,92 f 8,36	9	Muito longo
Fruto: diâmetro (cm)	0,98 f 1,96	1	Muito pequeno
	1,97 f 2,94	3	Pequena
	2,95 f 3,92	5	Médio
	3,93 f 4,91	7	Grande
	4,92 f 5,89	9	Muito grande
Fruto: espessura da polpa (cm)	0,09 f 0,19	3	Grosso
	0,20 f 0,29	5	Médio
	0,30 f 0,39	7	Fino
Placenta: tamanho (cm)	1,08 f 2,67	3	Pequena
	2,68 f 4,26	5	Médio
	4,27 f 5,85	7	Grande
Haste: comprimento (cm)	3,89 f 4,47	3	Pequeno
	4,48 f 5,04	5	Médio
	5,05 f 5,61	7	Grande

Tabela 4 - Cont.

Características	Classe	Observação	Descrição
	0,31 † 0,39	3	Grosso
Haste: espessura (cm)	0,40 † 0,47	5	Médio
	0,48 † 0,55	7	Fino
	47 † 52	3	Precoce
Ciclo até o florescimento (dias)	53 † 58	5	Médio
	59 † 63	7	Tardio
	82 † 87	3	Precoce
Ciclo até a frutificação (dias)	88 † 91	5	Médio
	92 † 96	7	Tardio

Vinte e seis das 49 características foram polimórficas (Figura 6). Para as características posição da haste e comprimento da haste (planta), todos os genótipos foram caracterizados com hábito de crescimento ereto e haste curta, com exceção da pré-cultivar P1624 (comprimento da haste médio). A pré-cultivar P1639 é classificada com ciclo de florescimento precoce (em média 50 dias), e os demais genótipos P1732, P1624, 'Dedo-de-moça', 'Cambuci' e 'BRS Mari' com ciclo tardio (em média 59, 60, 62,63 e 63, respectivamente). Para o ciclo até a frutificação, as pré-cultivares P1732 e P1639 são consideradas precoces (em média 83 e 86 dias, respectivamente) e P1624, 'Dedo-de-moça', 'BRS Mari' e 'Cambuci' têm ciclo médio (em média 90, 91, 88 e 89, respectivamente).

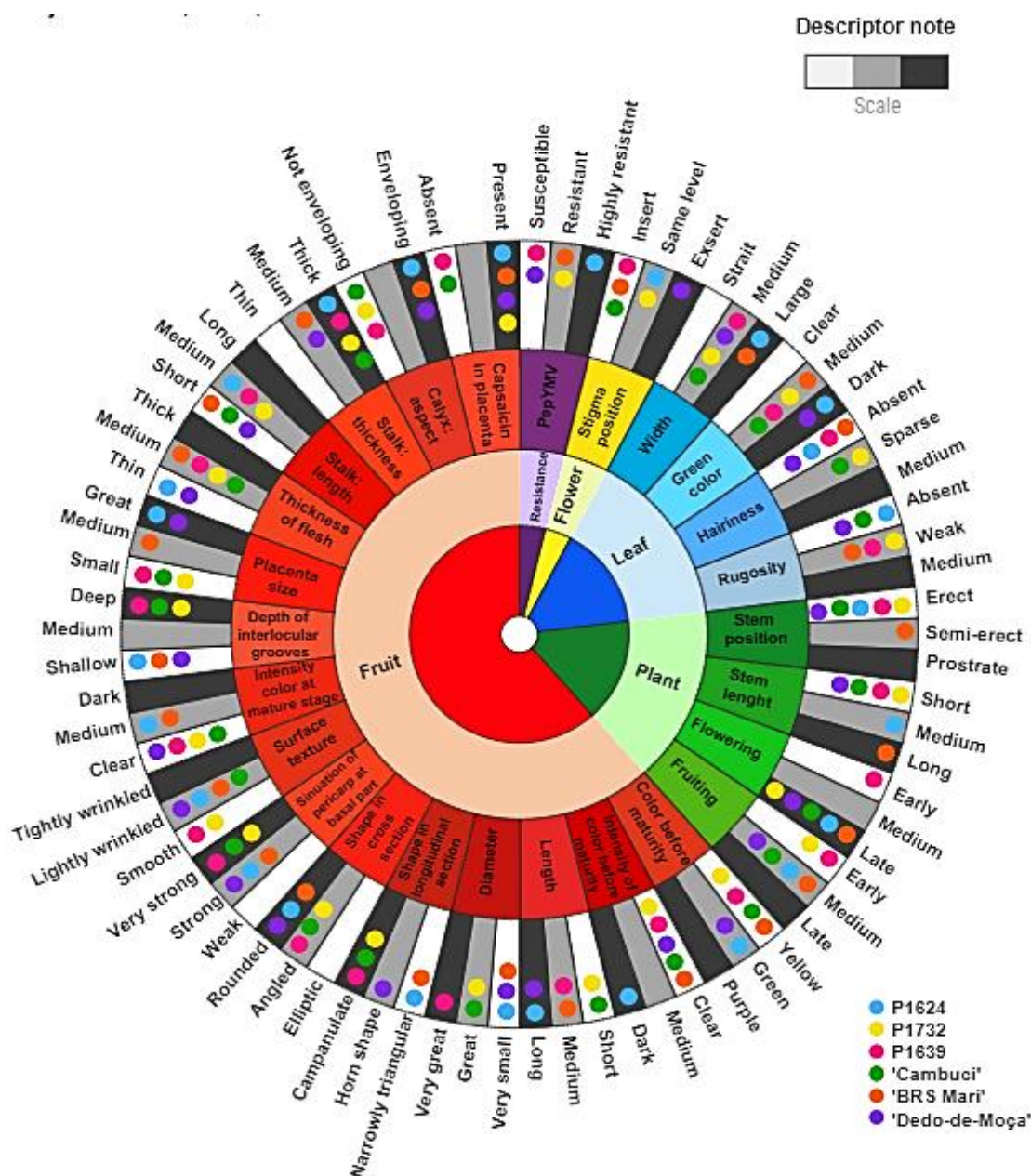


Figura 6. Infográfico com as características morfoagronômicas utilizadas na fenotipagem de pré-cultivares e cultivares de *C. baccatum* var. *pendulum* e respectivas classes. Representação de 26 caracteres polimórficos.

Em relação à largura e à coloração verde da folha, quatro genótipos foram caracterizados com folhas médias e verde médio. A pré-cultivar P1624 tem folhas largas (assim como 'BRS Mari') e escuras (assim como 'Dedo-de-Moça'). Foi observada pilosidade esparsa da folha apenas para P1732 e 'Cambuci', e rugosidade fraca para P1732, P1639 e 'BRS Mari'. Das oito características para flores, apenas a posição do estigma foi polimórfica. A cultivar Dedo-de-Moça foi a

única com estigma exserto. Duas pré-cultivares P1732 e P1624 têm estigma classificados de mesmo nível. As demais têm estigma inserto (Figura 6).

Entre os cinco grupos de características, as relacionadas aos frutos foram os que mais contribuíram para a distinção entre os genótipos (32,6%) (Figura 7). Os frutos da pré-cultivar P1624 foram caracterizados como estreitos triangulares, levemente enrugados, verde escuro antes da maturação, longos (5,87 cm) e de diâmetro muito pequeno (1,35 cm), pungentes e com placenta grande (4,24 cm), espessura do pericarpo fina (0,19 cm), com cálice envolvente e pedúnculo de comprimento médio (4,54 cm) e espessura grossa (0,47 cm). As cultivares BRS Mari e Dedo-de-Moça têm tamanho da placenta médio (4,13 cm) (Figura 6, Tabela 4).

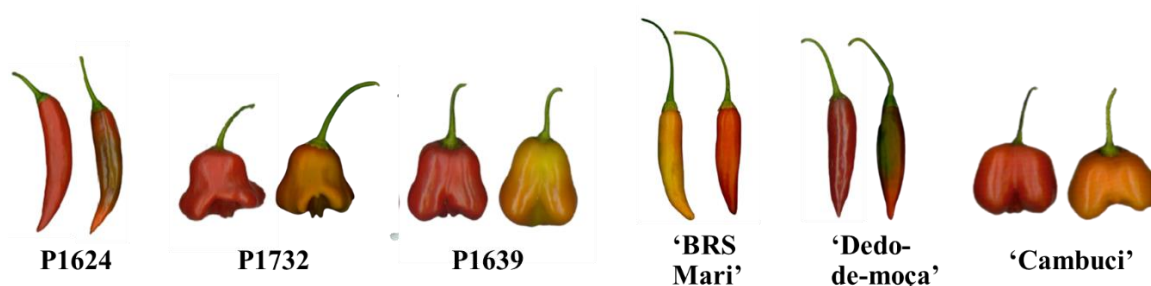


Figura 7. Fenotipagem digital de frutos maduros e imaturos: cor, comprimento, diâmetro e forma do fruto; seção longitudinal/transversal.

As pré-cultivares P1732 e P1639 têm frutos campanulados e lisos, amarelo claro antes da maturação, espessura média do pericarpo (0,25 e 0,23 cm), placenta pequena (1,76 e 1,90 cm), cálice não envolvente, pedúnculo médio (4,51 e 4,66 cm) e grosso (0,47 e 0,48 cm). Porém, P1732 tem frutos pungentes, curtos (3,28 cm) e de diâmetro grande (4,32 cm), e P1639 são pimentas doces, com frutos médios (4,22 cm) e diâmetro muito grande (5,02 cm) (Figura 6, Tabela 3).

3.1.4.2. Diversidade morfoagronômica

Com a análise multivariada, foram formados dois grupos, considerando um ponto de corte em aproximadamente 30% de dissimilaridade genética (Figura 8). O ajustamento da matriz de dissimilaridade e de agrupamento pelo método

UPGMA foi avaliado pelo coeficiente de correlação cofenética (CCC), que foi de 0,95. As características de frutos representaram 48,9% do total de características morfológicas utilizadas para a construção do dendrograma no presente estudo.

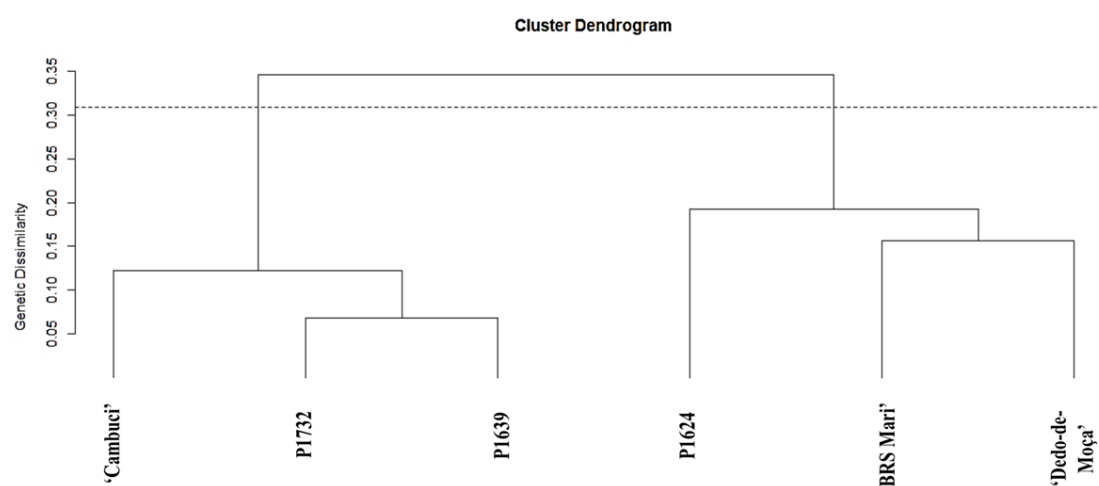


Figura 8. Análise de agrupamento de seis genótipos de *C. baccatum* var. *pendulum* feita pelo método UPGMA com base em 49 características morfoagronômicas multicategóricas.

O grupo I alocou três genótipos, P1732, P1639 e 'Cambuci', que têm similaridades quanto ao formato de fruto campanulado, formato da seção transversal angulada, sinuosidade do pericarpo na porção basal muito forte, lóculos profundos, cálice não envolvente e placenta pequena. O grupo II foi composto pelos genótipos P1624, 'BRS Mari' e 'Dedo-de-Moça', que têm em comum pungência, cálice envolvente, profundidade dos lóculos rasa, sinuosidade do pericarpo na porção basal forte, formato da seção transversal arredondada e diâmetro do fruto muito pequeno.

3.1.4.3. Fenotipagem físico-química dos frutos

Houve diferenças significativas para todas as características analisadas ($p < 0,05$), indicando variabilidade genética entre os genótipos testados para qualidade dos frutos.

De acordo com os parâmetros de cor a^* e b^* , foi possível classificar os frutos em três classes: verde (imaturo) (a^* - 3,11 e 5,43; b^* - 29,31 e 29,44; alaranjado (imatuross) com os valores de a^* variando de 23,59 a 29,18; b^* de 29,31 a 48,97; e vermelho (maduros) com a^* entre 57,39 a 63,10, b^* entre 24,51 e 32,62 (Tabela 5). Os parâmetros L^* e C^* permitiram a classificação dos frutos de acordo com sua tonalidade e intensidade de cor em duas classes: claro ou escuro; opaco ou brilhante. Desta forma, os frutos foram classificados da seguinte forma: quando imaturos, P1624 e 'Dedo-de-Moça', verde claro opaco; 'BRS Mari', P1639, P1732 e 'Cambuci', alaranjado escuro brilhante; quando maduros P1732, P1639 e 'Cambuci', vermelho claro brilhante; e P1624, 'BRS Mari' e "Dedo-de-Moça", vermelho escuro opaco.

Tabela 5. Média das características de frutos avaliadas em três pré-cultivares e três cultivares de pimenta (*C. baccatum* var. *pendulum*). Campos dos Goytacazes-RJ, UENF, 2022.

Caract.*	Genótipos						Média geral
	P1624	P1639	P1732	'BRS Mari'	'Cambuci'	'Dedo-de-moça'	
L*.IM	37,99 b	52,06 a	49,57 a	52,66 a	50,79 a	36,29 b	49,47
a*.IM	2,08 c	25,06 ab	28,76 a	20,86 b	30,18 a	2,15 c	18,26
b*.IM	37,08 b	45,39 a	42,03 a	41,70 a	43,06 a	36,95 b	42,72
C*.IM	35,22 c	53,07 a	51,64 ab	47,58 b	52,96 a	35,20 c	48,59
L*.M	37,30 b	42,18 a	42,08 a	36,96 b	43,17 a	35,17 b	39,69
a*.M	33,00 b	37,33 a	38,49 a	35,86 a	38,16 a	31,52 b	36,56
b*.M	24,95 b	31,28 a	31,33 a	25,36 b	32,24 a	23,41 b	28,69
C*.M	41,50 bc	48,77 a	49,70 a	43,99 b	50,01 a	39,34 c	46,63
SST	8,34 b	9,30 ab	8,27 b	9,29 ab	9,93 a	8,18 b	8,77
AT	0,20 a	0,15 c	0,12 d	0,18 b	0,19 ab	0,20 a	0,19
SST/AT	40,82 bc	61,83 a	66,21 a	50,73 b	50,47 b	39,12 c	49,98
VitCM	96,52 a	68,32 b	60,15 bc	83,25 a	88,45 a	50,00 c	77,40
CF	5,91 a	4,22 bc	3,48 c	5,45 ab	4,01 c	6,01 a	5,25
DF	1,35 c	5,02 a	4,32 b	1,35 c	3,95 b	1,64 c	2,32
EP	0,19 b	0,23 a	0,25 a	0,21 a	0,25 a	0,18 b	0,21

Características. SST - sólidos solúveis totais ($^{\circ}$ Brix); L^ - luminosidade; a^* - intensidade de vermelho/verde (+/-); b^* - intensidade de amarelo/azul (+/-); C^* - Índice colorimétrico cromático; IM - frutos imaturos; M - frutos maduros; AT- acidez titulável (% ácido cítrico); razão TSS/AT-; VitCM- teor de vitamina C frutos maduros ($\text{mg}/100\text{g}^{-1}$); CF- comprimento do fruto (cm); DF- diâmetro do fruto (cm); EP- espessura do pericarpo (cm). As médias seguidas da mesma letra na linha não diferem (Tukey, $P < 0,05$).

Foram observados maiores valores de SST para ‘Cambuci’ (9,93), P1639 (9,30) e ‘BRS Mari’ (9,29). Maiores teores de ácido cítrico foram encontrados para P1624 (0,20), ‘Dedo-de-Moça’ (0,20) e ‘Cambuci’ (0,19). As análises da relação SST/AT evidenciaram maiores valores para as pré-cultivares P1732 (66,21) e P1639 (61,83) em comparação com as testemunhas. Em relação ao teor de vitamina C, a pré-cultivar P1624 teve maior concentração (96,52 mg/100g⁻¹), semelhante às testemunhas ‘BRS Mari’ e ‘Cambuci’.

A análise de correlação de Pearson evidenciou correlações significativas, positivas e negativas (Figura 9). Entre as correlações positivas, destaca-se C*IM com seis características: L*M (0,86), a*M (0,96), b*M (0,89), C*M (0,94), TSS/TA (0,85) e EP (0,83).

	L*IM	a*IM	b*IM	C*IM	L*M	a*M	b*M	C*M	AT	SST/AT	VitCM	CF	DF	EP	
SST	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	0,8 † 1
L*IM		ns	*	*	ns	*	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	0,6 † 0,8
a*IM			ns	ns	*	ns	*	*	ns	ns	ns	*	ns	*	0,4 † 0,6
b*IM				*	ns	*	*	*	ns	*	ns	ns	ns	ns	0,2 † 0,4
C*IM					*	*	*	*	ns	*	ns	*	ns	*	0 † 0,2
L*M						*	*	*	ns	ns	ns	*	*	*	0
a*M							*	*	ns	*	ns	*	ns	*	0 † -0,2
b*M								*	ns	ns	ns	*	*	*	0 † -0,2
C*M									*	*	ns	*	*	*	-0,2 † -0,4
AT										*	ns	ns	ns	ns	-0,4 † -0,6
SST/AT											ns	*	*	ns	-0,6 † -0,8
VitCM												ns	ns	ns	-0,8 † -1
CF													*	*	
DF														ns	

Figura 9. Estimativas dos coeficientes de correlação de Pearson entre 11 características de qualidade de frutos e três características associadas ao tamanho de frutos de seis genótipos de *C. baccatum* var. *pendulum*. SST - sólidos solúveis totais (°Brix); IM – frutos imaturos; M – frutos maduros; L* - luminosidade; a* - intensidade de vermelho/verde (+/-); b* - intensidade de amarelo/azul (+/-); C* - Índice colorimétrico cromático; AT- acidez titulável (% ácido cítrico); razão SST/AT; VitCM- teor de vitamina C frutos maduros (mg/100g⁻¹); CF- comprimento do fruto (cm); DF- diâmetro do fruto (cm); EP- espessura do pericarpo (cm).

A característica AFL foi correlacionada negativamente com a*IM (0,88), C*IM (0,88), L*M (0,94), a*M (0,93), b*M (0,96), C*M (0,96), SST/AT (0,88), DF (0,88) e EP (0,95). Também foi observada correlação negativa para AT x SST/AT (0,95).

3.1.4.4. Genotipagem

Dos 56 pares de iniciadores microssatélites testados, 30 amplificaram por eletroforese em gel de agarose. Destes 30, apenas dois iniciadores apresentaram polimorfismo nítido, em nove não foi possível afirmar a presença de bandas polimórficas, os demais eram monomórficos (Figura 10).

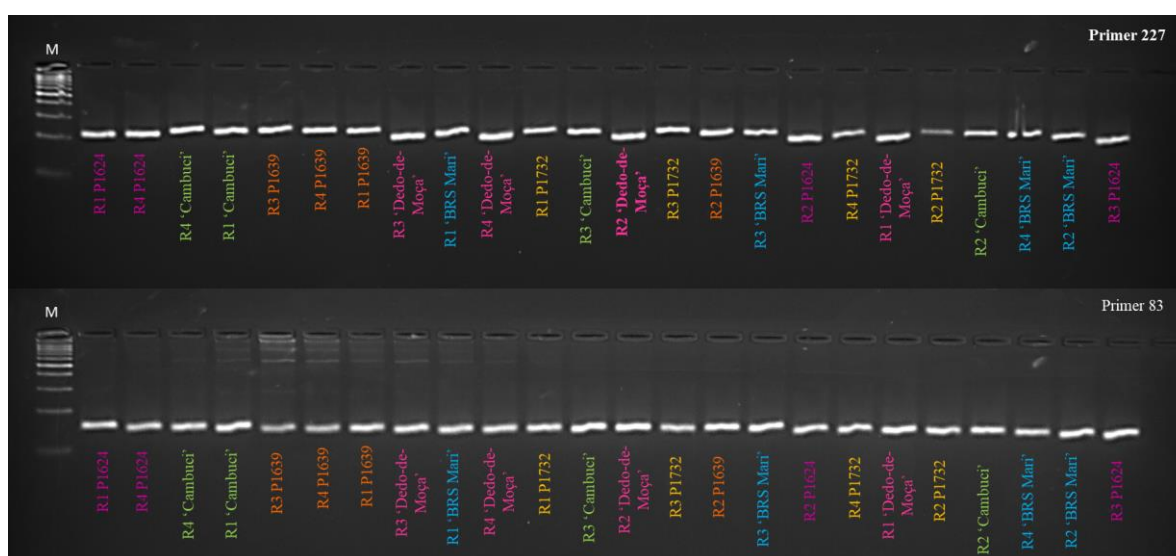


Figura 10. Amostra representativa de gel de agarose Metaphor a 4%. Fragmentos de DNA amplificados, utilizando o iniciador 227 (polimórfico) e o iniciador 83 (monomórfico).

Por isso, foram selecionados entre os 30 iniciadores amplificados aqueles que tiveram amplificação mais consistente e que apresentavam bandas com possível grau de polimorfismo para prosseguir as análises em eletroforese capilar a fim de confirmar a presença de polimorfismo e o tamanho das bandas encontradas. Onze iniciadores foram testados, cinco deles foram considerados polimórficos para os genótipos avaliados e seis foram considerados monomórficos (Figura 11).

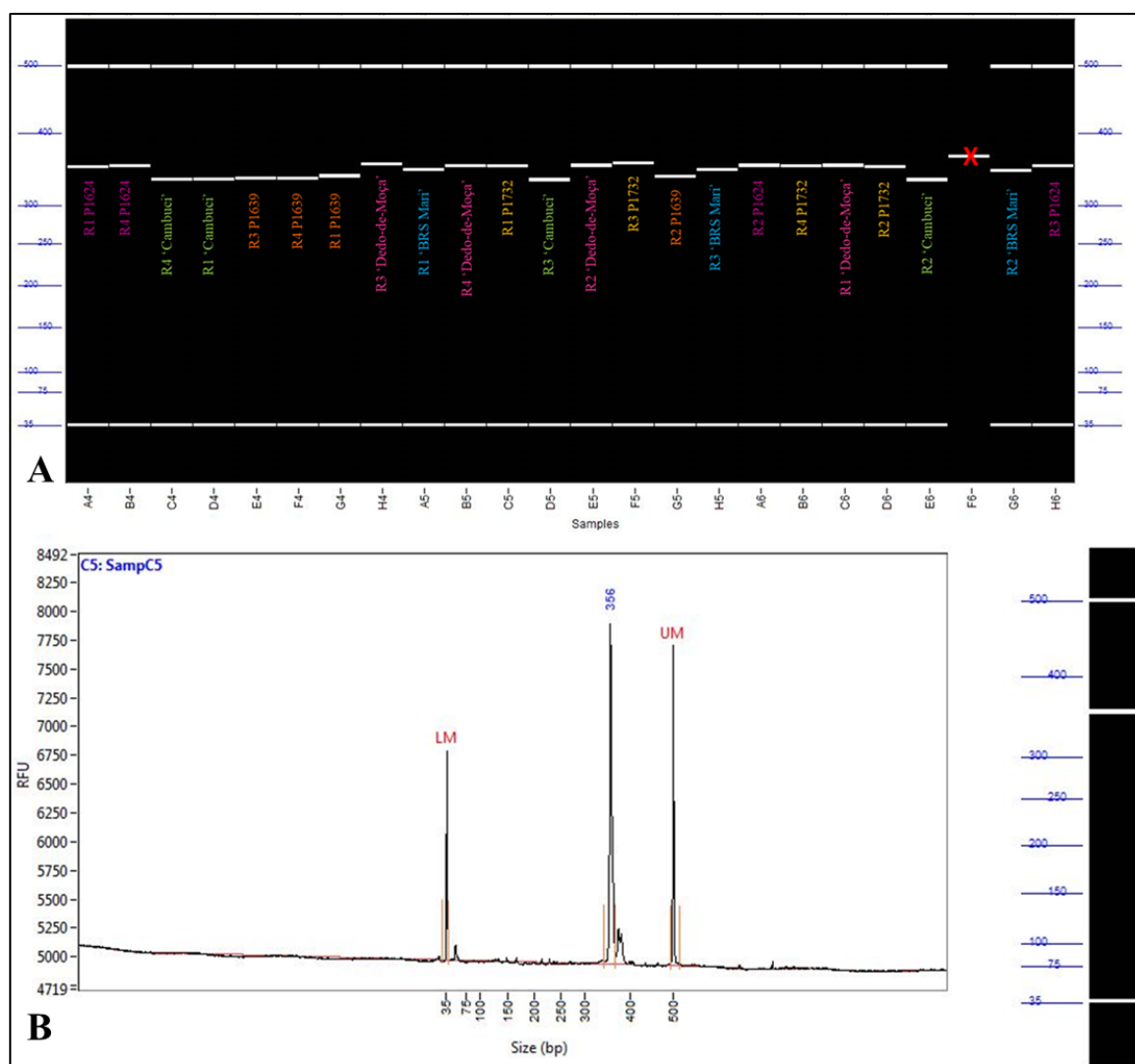


Figura 11. Amostra representativa de eletroforese capilar. A) Fragmentos de DNA amplificados utilizando o iniciador 22 (polimórfico). O X vermelho representa falha na leitura. B) Exemplo dos picos gerados pelo iniciador 22 utilizando a pré-cultivar P1732.

Neste trabalho, foi observada baixa taxa de polimorfismo (8,9%). O número de alelos por *locus* variou de um a quatro, com média de 1,8 alelos, tendo sido obtido um total de 20 alelos para os 11 *loci* e 14 alelos para os 5 *loci* polimórficos analisados (Tabela 6).

Tabela 6. Iniciador, número de alelos e tamanhos dos fragmentos obtidos na eletroforese capilar.

Iniciador	Nº de alelos	Tamanho do fragmento (pb)
CM0007	1	261
Hpms 1–5	1	183
Hpms 1–41	4	280 – 315
Hpms 1–145	3	337 – 360
Hpms 1–148	2	130 – 141
Hpms 1–173	1	130
Hpms 2–21	1	202
Hpms 2–45	1	263
HpmsE019	1	250
HpmsE121	2	195 – 204
CAMS-460	3	212 – 229
Total	20	-

A observação do número de *loci* polimórficos encontrados evidencia certo grau de dissimilaridade entre as linhagens, comprovado pela distância genética obtida pelo índice não ponderado (Tabela 7). Por esta matriz, podemos observar a distinguibilidade entre as pré-cultivares e as cultivares. Vale lembrar que P1624 pertence ao mesmo grupo morfológico que ‘Dedo-de-Moça’ e ‘BRS Mari’, e que P1732 e P1639 são do mesmo grupo morfológico que ‘Cambuci’. Dito isto, as pré-cultivares foram comparadas com as testemunhas mais próximas para observar a distinguibilidade entre elas. Ao analisar a pré-cultivar P1624, verifica-se uma dissimilaridade 100% com ‘BRS Mari’ e 40% com ‘Dedo-de-Moça’. P1732 tem 40% de dissimilaridade com a cultivar Cambuci. Além disso, estas pré-cultivares também apresentaram distinguibilidade entre si: P1624 é 100% distinta de P1639 e 80% de P1732; já P1732 tem 40% de dissimilaridade com P1639. A pré-cultivar P1639 não apresentou dissimilaridade com a cultivar testemunha Cambuci. No entanto, ela é 100% distinta de P1624, 40% de P1732 e 60% de ‘BRS Mari’ e ‘Dedo-de-moça’.

Tabela 7. Matriz de dissimilaridade SSR de três pré-cultivares e três cultivares de *C. baccatum* var. *pendulum*. Campos dos Goytacazes-RJ, UENF, 2022.

	P1624	P1639	P1732	'Dedo-de-moça'	'Cambuci'	'BRS Mari'
P1624	0	1	0,8	0,4	1	1
P1639		0	0,4	0,6	0	0,6
P1732			0	0,6	0,4	0,6
'Dedo-de-moça'				0	0,6	0,8
'Cambuci'					0	0,6
'BRS Mari'						0

3.1.5. DISCUSSÃO

Além do desenvolvimento de cultivares, as pesquisas visam à preservação do material genético e da variabilidade a partir de um Banco de Germoplasma (BAG) que armazena materiais coletados em diferentes locais do Brasil e do mundo. Quando um material começa a se diferenciar e perder características de interesse, é possível voltar ao BAG para recuperar o material original. O BAG da UENF contém 409 acessos de *Capsicum* spp., oriundos de várias regiões do Brasil e de alguns países, abrangendo as cinco espécies domesticadas. São 185 acessos de *C. chinense*, 96 de *C. annum*, 63 de *C. baccatum* var. *pendulum*, 45 de *C. frutescens* e dois de *C. pubescens*. As pesquisas conduzidas com os acessos desse banco na área de melhoramento de plantas incluem o desenvolvimento de cultivares altamente produtivas, que sejam precoces e tenham resistência às principais doenças limitantes ao cultivo das pimentas e pimentões, como a mancha bacteriana, antracnose e PepYMV (Gonçalves et al., 2011; Rodrigues et al., 2012; Bento et al., 2013; Medeiros et al., 2014; Moulin et al., 2014; Moulin et al., 2015; Cabral et al., 2017; Bento et al., 2017). Especificamente no caso de *C. baccatum* var. *pendulum*, este programa vem trabalhando no desenvolvimento de cultivares utilizando abordagens que associam métodos de melhoramento como pedigree a estratégias de análise REML/BLUP (Oliveira et al. 2015) e já identificou genótipos resistentes ao

PepYMV, caso das pré-cultivares P1732 e P1624 (Bento et al., 2017), descritas neste trabalho.

Desde os primórdios da agricultura, o homem selecionou sementes de pimenta com frutos grandes, persistentes e pendentes (DeWitt e Bosland, 2009). Ao selecionar e preservar esses tipos mais atrativos e produtivos, inconscientemente as modificações genéticas foram mantidas pelos primeiros agricultores. É provável que as primeiras variedades de pimenta tenham sido obtidas por seleção massal, um dos mais antigos métodos de melhoramento genético de plantas, que consiste em escolher plantas superiores com base na avaliação do fenótipo (Ribeiro et al., 2000). As principais vantagens desse tipo de método de melhoramento são a facilidade de condução e o baixo custo operacional.

O desenvolvimento de novas cultivares consiste em recombinar insumos antigos e novos em configurações que tenham valor econômico. A Convenção UPOV estabeleceu o mecanismo legal internacional mais abrangente para a proteção de novas cultivares de plantas. Esta convenção introduziu as regras mínimas comuns relativas às condições de proteção dos direitos do criador e deu aos requerentes certas prerrogativas importantes, aplicáveis em todos os outros estados signatários da Convenção. Isso significa que os melhoristas devem seguir certas regras para proteger e/ou registrar novas cultivares de plantas. Uma descrição precisa das plantas, considerando qualitativa e quantitativa, é essencial para proteger uma cultivar.

A proteção legal de uma nova cultivar é feita por testes de distinguibilidade, uniformidade e estabilidade. Isso é crucialmente importante quando os pré-cultivares são linhagens puras de programas de melhoramento. O teste DHE é baseado em uma lista de descritores mínimos específicos para cada espécie. Neste trabalho, três pré-cultivares foram avaliados para esses descritores para verificar se eles atendem aos requisitos estabelecidos (distinto, uniforme e estável) para lançamento de uma nova cultivar de pimenta. Essa avaliação incluiu as características físico-químicas, que são fatores de qualidade de fundamental importância para agregar valor nutricional aos frutos, e a caracterização molecular, para conhecer o perfil genético destes materiais. Ao escolher hortaliças, o consumidor considera principalmente o fenótipo morfológico externo da fruta ou hortaliça de interesse. A criação para “*smartfood*” implica que

o consumidor tenha à sua disposição um produto de qualidade que atenda aos padrões de mercado, tanto visuais, quanto nutricionais. Portanto, a análise das características físico-químicas dos frutos agrega novas informações importantes à qualidade das pré-cultivares testadas.

Poucas pesquisas descrevem as etapas de ensaios de DHE para as diferentes espécies de interesse agrícola, bem como suas dificuldades e obstáculos, embora existam centenas de cultivares protegidas junto ao MAPA. Um ponto muito importante na execução do ensaio de DHE está na escolha da testemunha. De acordo com Aviani e Machado (2011), devem ser escolhidas como testemunha nos ensaios comparativos de DHE cultivares muito parecidas com as linhagens em teste para garantir a distinguibilidade, mesmo que uma cultivar com características totalmente diferentes das pré-candidatas à proteção possa garantir esta proteção. O preenchimento do laudo técnico descritivo, obrigatório para o pedido de proteção, exige a comparação de apenas uma planta com testemunha em cada laudo (Brasil, 2006). No entanto várias testemunhas são permitidas em um teste DHE. Por isso, neste trabalho optou-se pela escolha de três cultivares, da mesma espécie, registradas no Brasil com algumas características semelhantes às das pré-cultivares candidatas à proteção. As pré-cultivares foram comparadas com as cultivares e atuaram como testemunha quando comparadas entre si.

A homogeneidade é assegurada aceitando o padrão de 1% com probabilidade de 95% para ocorrência de plantas atípicas em cultivo protegido (Brasil, 2006). A estabilidade é atestada quando as características são mantidas através de gerações sucessivas da nova cultivar.

Dentro das linhagens que se pretende lançar como novas cultivares, foram observadas uniformidade e estabilidade para todas as características. A uniformidade em algumas das 49 características já era esperada, visto que características específicas para planta, folha e flor são mais úteis na discriminação interespecífica e não intraespecífica, caso deste trabalho, em que todos os genótipos são representantes de *C. baccatum* var. *pendulum*. Por exemplo, flores desta espécie se caracterizam pela coloração branca, com mancha amarela na corola, anteras e filetes amarelos e uma flor por nó (Leite et al., 2016), mas a posição do estigma pode variar dentro da espécie.

Para o melhoramento, a característica “posição do estigma” é muito importante, pois plantas com flores que têm estigma exserto (acima dos estames) têm maior possibilidade de polinização cruzada (alogamia). Em contraste, flores com os estigmas insertos promovem a autopolinização. Apesar de as plantas de *Capsicum* serem preferencialmente autógamias, pode ocorrer polinização cruzada natural, que varia dependendo da espécie, localização geográfica, condições climáticas, agentes polinizadores e espaçamento entre as plantas (Pickersgill, 1997). Em estudos com a espécie *C. annuum*, Justino et al. (2018) verificaram taxa de cruzamento natural entre 1,2 e 10,8%. Crispim et al. (2017), ao estudarem receptividade de estigma em pimenta ornamental (*C. annuum*), notaram que o maior nível de receptividade do estigma é observado após a antese. Por isso, para garantir a autofecundação, é importante fazer a proteção dos botões florais antes da antese. Além disso, em se tratando da produção comercial de sementes, o isolamento e/ou a colocação de barreiras naturais é importante durante o cultivo de diferentes cultivares de pimenta. Esse isolamento funciona como um mecanismo de controle da qualidade e pureza genética das sementes, que é um dos principais problemas que comprometem a identidade da semente desenvolvida pelos melhoristas (Nascimento, 2011). A proteção dos botões florais torna-se primordial pelo risco de contaminação genética por insetos que perfuram os botões florais em busca de pólen e néctar, bem como a utilização de irrigação por gotejamento ou infiltração, para evitar a dispersão do pólen (Justino et al., 2018).

Quanto aos ciclos reprodutivos, avaliados após o transplântio, os genótipos estudados foram classificados segundo a análise estatística descritiva da distribuição de frequência de variáveis contínuas, tendo sido obtidos os valores relativos às classes propostas para cada ciclo proposto pelo MAPA (Tabela 4). A pré-cultivar P1639 é classificada com ciclo de florescimento precoce (em média 50 dias) e os genótipos P1732, P1624, ‘Dedo-de-moça’, ‘Cambuci’ e ‘BRS Mari’ com ciclo tardio (em média 59, 60, 62,63 e 63, respectivamente). Populações e acessos de diferentes tipos de pimentas têm apresentado grande variabilidade quanto ao número de dias para a emissão das primeiras flores (Domenico et al., 2012). Os mesmos autores encontraram plantas com o início da floração entre 39 e 94 dias após o transplântio. Para o ciclo até a frutificação, as pré-cultivares P1732 e P1639 são consideradas precoces (em média 83 e 86

dias, respectivamente) e P1624, 'Dedo-de-moça', 'BRS Mari' e 'Cambuci' têm ciclo médio (em média 90, 91, 88 e 89, respectivamente). De acordo com as empresas que fazem a comercialização de sementes, a cultivar 'BRS Mari' apresenta ciclo de frutificação de 90 dias após o transplante (Isla), 'Dedo-de-moça' tem ciclo de 100 a 120 dias após a semeadura (Topseed) e 'Cambuci', ciclo de 110 dias após a semeadura. A busca por materiais precoces tem norteado a pesquisa com pimentas do gênero *Capsicum*, principalmente em tempos de alterações climáticas que implicam modificações no calendário de plantio. Além disso, plantas mais precoces apresentam crescimento acelerado e possibilitam colheita antecipada, reduzindo assim o ciclo cultural, favorecendo, dessa forma, o agricultor que deseja uma cultivar que permaneça o menor tempo possível no campo, possibilitando um melhor aproveitamento da época para cultivo, diminuição do tempo de exposição da cultura a pragas e doenças e a redução dos custos de produção.

Neste trabalho, a fenotipagem para coloração, pungência, sabor, aroma, formato e tamanho de fruto, espessura da polpa e valor nutricional dos frutos mostrou variabilidade entre os genótipos para essas características. Albrecht et al. (2012) também encontraram diferenças fenotípicas entre 170 acessos de *C. baccatum* L. utilizando 40 características e observaram que as relacionadas a frutos (diâmetro, comprimento, massa e pedúnculo) foram as mais informativas, contribuindo para a divergência. Isso reforça a teoria de que a seleção e domesticação de *C. baccatum* foram baseadas neste órgão vegetal, que tem uma variedade diversificada de cores, formas, tamanhos, grau de pungência e aromas (Paran e Van Der Knaap, 2007).

A fenotipagem manual de frutos em larga escala tem como principal entrave o risco de deterioração dos frutos, pois demanda muito tempo e trabalho. Como diferencial neste estudo, as características quantitativas relacionadas aos frutos foram fenotipadas por meio de imagens digitais. Este método de análise permite agilizar o processo de medições, pois as imagens podem ser armazenadas e analisadas a qualquer momento, sendo, assim, um método rápido, seguro, com alta precisão e que contribui para melhor caracterização fenotípica, além de ser facilmente reproduzível e viável. A fenotipagem por imagem digital vem sendo muito utilizada por pesquisadores em *Capsicum* (Tripodi e Greco, 2018; Nankar et al., 2020; Pereira-Dias et al., 2020) e mamão

(*Carica papaya* L.) (Santa-Catarina et al., 2020), e também para sementes de goiaba (*Psidium guajava*) (Krause et al., 2017).

Descritores que envolvem precisão na avaliação, como, por exemplo, intensidade, brilho e coloração dos frutos antes e após a maturação, podem gerar falta de homogeneidade e estabilidade de um ciclo de cultivo para outro ou pela simples troca de avaliador dentro de um ensaio, já que se trata de uma análise subjetiva, relacionada à visualização de cores, sem a utilização de tabelas ou referências específicas para auxiliar a observação. Neste caso, destacam-se pontos importantes na utilização dos descritores: o avaliador deve ter conhecimentos específicos sobre a cultura e deve ser dada preferência a um mesmo avaliador para garantir uma padronização nas avaliações (Pimenta et al., 2016). O avaliador dos ensaios de DHE deve adotar um mesmo padrão de precisão e repetição no preenchimento dos descritores em um ensaio de DHE, assegurando, assim, a confiabilidade dos resultados (Gilliland e Gensollen, 2010). Para eliminar qualquer subjetividade, neste trabalho, para garantir maior precisão de avaliação, os descritores relacionados à coloração de frutos foram avaliados com o auxílio de um colorímetro.

A partir da análise de coloração de frutos realizada, foi possível confirmar a coloração vermelha no estágio maduro para os frutos de todos os genótipos. No entanto, observou-se formação de duas classes com base nos parâmetros de cor. Uma classe com frutos escuros e opacos (P1624, 'Dedo-de-Moça' e 'BRS Mari'), e uma outra classe com frutos claros e brilhantes (P1732, P1639 e 'Cambuci'). De acordo com Ferreira e Spricigo (2017), altos valores de L^* representam tons mais claros, e o oposto indica tons mais escuros. Em relação ao C^* , valores mais altos tendem a apresentar cores mais vivas e menores valores de cores com baixa saturação (Ergüneş e Tarhan, 2006).

As diversas cores dos frutos de pimentas resultam do teor e da composição dos carotenoides. A cor vermelha é proveniente da capsantina, capsorubina e xantofila, enquanto as cores que variam do amarelo ao laranja são provenientes do β -caroteno e zeaxantina (Sasmita et al., 2019). A coloração dos frutos maduros é controlada por três pares de genes independentes, $c1$, $c2$ e y (Hurtado-Hernandez e Smith, 1985). O *locus y* controla a segregação entre plantas de pimenta com frutos vermelhos e amarelos (Popovsky e Paran, 2000). O *locus c2* determina a segregação entre as plantas de pimenta com frutas

vermelhas e laranja (Huh et al., 2001). Lee et al. (2020) observaram que o *locus c1* é responsável pela redução da coloração vermelha, laranja e amarela, induzindo a cor pálida nos frutos, e que o gene *CaPPR2* em *c1* está associado ao desenvolvimento de plastídios e biossíntese de pigmentos, que, por sua vez, controlam a cor dos frutos da pimenta.

As indústrias alimentícias precisam seguir padrões técnicos para comercialização de produtos. A coloração vermelha observada nos frutos de pimenta é um importante atributo de qualidade para a matéria-prima processada e desidratada, pois agrega valor ao produto final utilizado pelas indústrias como especiarias, pápricas, molhos, conservas, geleias e corantes (Caixeta et al., 2014). A páprica, por exemplo, é classificada pela intensidade da sua coloração medida em unidades de cor ASTA (*American Spice Trade Association*), que se refere ao padrão internacional para medir a cor extraível de frutos e da páprica. De acordo com Ribeiro (2012), uma páprica de coloração vermelha intensa e brilhante tem maior unidade de coloração ASTA e, conseqüentemente, maior valor comercial. O grau de coloração da páprica é determinado pela matéria-prima, ou seja, pela coloração do fruto. Além disso, existem programas de melhoramento para o desenvolvimento de cultivares para páprica que apresentam como principal característica alta concentração de pigmentos vermelhos no pericarpo, como, por exemplo, o da EMBRAPA Hortaliças e o da Universidade Federal de Lavras (UFLA), uma vez que o valor comercial da páprica depende da sua capacidade de coloração. Desta forma, o uso do colorímetro é importante para quantificação dos parâmetros de cor e assim ter maior acurácia na classificação colorimétrica, pois alterações inadequadas de cor podem afetar o valor de mercado e a quantidade significativa de venda (Xiao et al., 2014).

Outro exemplo que corrobora a importância da análise colorimétrica foi a observação de que na caracterização visual por meio da característica “coloração antes da maturação”, a pré-cultivar P1624 e ‘Dedo-de-Moça’ foram classificadas como tendo frutos verdes e escuros, e os demais genótipos, frutos de cor amarelo claro. Porém, na análise colorimétrica, foi possível observar que os genótipos P1639, P1732, ‘Cambuci’ e ‘BRS Mari’ têm frutos de cor alaranjada na fase imatura, de acordo com os parâmetros a^* e b^* . Sendo assim, entende-se que a avaliação visual pode ser subjetiva e mascarar a característica real. Com base

nesse resultado, recomenda-se a inclusão nos descritores propostos pelo MAPA de uma nova classe de coloração de frutos antes da maturação: 5 – alaranjado.

Para a avaliação e classificação da característica “forma predominante da seção longitudinal”, foi vivenciada certa dificuldade para caracterizar os frutos de ‘Cambuci’, P1732 e P1639, uma vez que os descritores propostos não têm opção de nota para frutos campanulados. Desta forma, propõe-se a inclusão nos descritores propostos pelo MAPA de uma outra classe de identificação para este descritor: 12 – campanulada ou forma de sino.

As pimentas são consideradas “*smart food*”, pois são capazes de simular os efeitos da restrição calórica e influenciar as vias genéticas que regulam a longevidade (Liotta et al., 2017). A capsaicina, que determina a presença de pungência nas pimentas, tem função termogênica, o que contribui para aumentar o gasto energético, diminuir o apetite e reduzir a gordura corporal (Saito e Yoneshiro, 2013). A pungência é controlada por um único gene dominante, denominado *Pun-1*, também conhecido como *C* (Wang e Bosland, 2006), que funciona como um regulador dos principais compostos na via da capsaicina (Reddy et al., 2014).

A pungência é uma característica de grande apelo e importância para os consumidores de pimenta e, além de ser bastante variável, está diretamente associada ao tipo ou grupo de pimentas (Ribeiro et al., 2020). A variedade botânica *pendulum* é representada pelos tipos morfológicos “dedo-de-moça” e “cambuci”. As pimentas “dedo-de-moça” têm frutos alongados e pungentes. As pimentas “cambuci” têm a forma de um sino ou uma jarra e também são conhecidos como chapéu-de-bispo, ou chapéu-de-frade e não são pungentes (Martinez et al., 2017). Entretanto, a pré-cultivar P1732, classificada pelo tipo “cambuci”, tem frutos pungentes, sendo esta a principal característica que a distingue das demais pimentas desse tipo morfológico. Logo, é considerada um genótipo promissor com característica peculiar, pois associa um formato tradicionalmente bem aceito pelo mercado com a pungência, que também é desejada, por uma grande fatia do mercado consumidor.

A pré-cultivar P1639 é uma pimenta suscetível ao PepYMV (Bento et al., 2017), porém tem características de interesse agrônomico desejáveis como a ausência de pungência. Esse atributo é importante e explorado no mercado, pois há consumidores que não consomem pimentas em razão da sua pungência. O oferecimento de pimentas sem essa característica é de suma importância. Além

disso, essa pré-cultivar tem um formato bem aceito pelos consumidores (campanulado), média produtividade (5,13 t/ha) (Medeiros, 2012) e ciclo de florescimento e frutificação precoce, podendo ser indicada para regiões onde não há incidência do vírus.

Neste trabalho, foi possível observar a formação de dois grupos a partir do dendrograma de diversidade morfoagronômica. O primeiro formado por P1732, P1639 e ‘Cambuci’, e o segundo reunindo P1624, ‘Dedo-de-Moça’ e ‘BRS Mari’. Os genótipos comerciais deste estudo também foram utilizados como testemunhas por Martinez et al. (2017) em um trabalho de caracterização de *C. baccatum* L. do Banco Ativo de Germoplasma do Instituto Federal Goiano. Os autores observaram que estas cultivares foram alocadas em grupos diferentes, principalmente pelo formato de fruto, ficando ‘BRS Mari’ e ‘Dedo-de-Moça’ no mesmo grupo e ‘Cambuci’ em outro, assim como reportado no presente trabalho.

A determinação de atributos relacionados à qualidade dos frutos tem se revestido de grande importância, pois o mercado consumidor está cada vez mais atento e exigente quanto à presença de aspectos nutritivos e de sabor. Esses aspectos estão relacionados à presença de compostos antioxidantes e à concentração de açúcares e ácidos orgânicos, que contribuem para intensificar o sabor e a qualidade dos frutos frescos (Acunha et al., 2017). A nível de mercado, não foi encontrado nenhum documento publicado com padrões de qualidade dos frutos de pimenta para comercialização. Por isso, foi feito um levantamento com estudos feitos em espécies de *Capsicum* para um embasamento sobre a média encontrada por diferentes autores para as características SST e AT em pimentas (Tabela 8).

Tabela 8. Média de sólidos solúveis totais (SST) e acidez titulável (AT) em diferentes espécies de *Capsicum*, segundo diferentes autores. Campos dos Goytacazes-RJ, UENF, 2022.

Espécie / Referência	TSS	AT
<i>C. baccatum</i> var. <i>pendulum</i> (Gomes et al., 2019)	6,14	0,49
<i>C. frutescens</i> (Braga et al., 2013)	9,38	0,31
<i>Capsicum</i> spp. (Maciel et al., 2016)	9,08	0,22
<i>C. baccatum</i> var. <i>pendulum</i> (Soethe et al., 2016)	9,05	0,49
<i>C. chinense</i> (Soares et al., 2020)	7,82	0,24
<i>Capsicum</i> spp. (Pérez-Grajales et al., 2019)	6,47	0,36

De acordo com Chitarra e Chitarra (2005), o teor de açúcares normalmente constitui cerca de 85% do teor de sólidos solúveis. Assim, frutos com alto teor de sólidos solúveis totais são preferidos para consumo *in natura* devido ao excelente grau de doçura e também para processamento, proporcionando maior rendimento, menor custo operacional e menor contaminação por fungos e bactérias patogênicas (Rêgo et al., 2011).

Gomes et al. (2019) observaram uma variação de 5,20 a 7,10 °Brix ao estudarem cinco acessos de pimenta dedo-de-moça (*C. baccatum* var *pendulum*) em casa de vegetação. Em contrapartida, para *C. chinense* cultivada em condições de campo, valores maiores foram observados por Moreira et al. (2018), com SST variando de 8,11 a 11,02 °Brix. León et al. (2013) obtiveram diferentes valores de SST para duas cultivares de *C. annuum* cultivadas em dois ambientes (campo aberto e casa de vegetação) e dois sistemas de produção (solo e hidroponia): em estufa hidropônica, os valores foram maiores (5,4 e 5,6 °Brix), seguido de campo aberto (5,0 e 5,2 °Brix), e casa de vegetação no solo (3,4 e 4,4 Brix). Dessa forma, observa-se que o teor de sólidos solúveis pode ter influência genética, ambiental e de sistema de cultivo. No presente trabalho, os valores de sólidos solúveis totais variaram de 8,18 a 9,93 °Brix, e entre as pré-cultivares, P1639 obteve o maior valor de °Brix (9,30). Ressalta-se que P1639 é uma pimenta doce de formato campanulado que tem SST igual ao de uma cultivar com mesmas características (Cambuci) e superior a 'Dedo-de-moça'. Observa-se também que as pré-cultivares desse estudo têm teor de SST superior aos encontrados na literatura, dessa forma, são candidatas potenciais para consumo *in natura* ou processamento.

A acidez titulável é outra característica importante quando se trata de apreciação e conservação dos frutos de pimenta, pois expressa o conteúdo total de ácidos orgânicos, inclusive na forma não dissociada, além de ser indicador sensorial pelo seu papel no sabor e aroma. Segundo Reis et al. (2015), quanto menor o teor de acidez no fruto, melhor seu estado de conservação e armazenamento pós-colheita, tendo, assim, um maior tempo de prateleira, o que influencia diretamente na qualidade do produto final para o consumo. Araújo et al. (2019), ao estudarem 78 acessos de *Capsicum* spp. em casa de vegetação, observaram valores entre 0,02 e 0,65 para acidez titulável. Braga et al. (2013) conduziram pesquisas com oito genótipos de pimenta malagueta (*C. frutescens*

L.) de lavouras comerciais e observaram valores entre 0,22 e 0,48. Os valores de AT verificados neste trabalho variaram de 0,12 a 0,20, sendo as pré-cultivares P1732 e P1639 as que tiveram menor concentração de AT, sendo assim, mais promissoras para consumo *in natura*.

A acidez titulável pode ser influenciada pela constituição genética das plantas e pelo ambiente de cultivo (Caliman et al., 2010). A menor acidez dos frutos produzidos no ambiente protegido, como observado neste trabalho, pode ser efeito da menor atividade fotossintética das plantas neste ambiente como consequência da menor luminosidade e maior umidade relativa do ar, o que favorece o acúmulo de água nos frutos (Bertin, 2000).

O conteúdo de vitamina C pode variar de acordo com o genótipo (Howard et al., 1994), práticas culturais, maturidade, clima, manuseio de frutos frescos, fatores de processamento, embalagens e condições de armazenamento (Geleta e Labuschagne, 2006). No geral, o conteúdo de vitamina C aumenta de acordo com a maturação dos frutos (Bae et al., 2014). A vitamina C é um importante antioxidante fisiológico, sendo um componente essencial da alimentação, necessária para funções importantes no organismo e no desenvolvimento de células imunes (Granger e Eck, 2018). Neste estudo, foi observado que a pré-cultivar de pimenta P1624 apresentou elevado conteúdo de vitamina C (96,52 mg/100g), sendo semelhante às cultivares BRS Mari e Cambuci; P1639 e P1732, também têm conteúdo consideráveis dessa vitamina quando comparadas à cultivar Dedo-de-Moça. Logo, estas pré-cultivares têm potencial para novas cultivares com alto teor de vitamina C.

Segundo Barrett et al. (2010) a cor, aparência, sabor, aroma, textura e valor nutricional são, normalmente, os atributos mais importantes da maioria dos alimentos e produtos agrícolas, influenciando diretamente na escolha dos frutos pelos consumidores. As análises feitas neste estudo mostraram que os parâmetros de cor (a^* , b^* , C^* e L^*) tiveram correlação positiva e negativa com os parâmetros morfológicos de fruto (CMF, DMF e EMP). Observou-se que frutos imaturos de cor alaranjada intensa são menores (comprimento) e têm pericarpo mais grosso. Frutos maduros, que são vermelhos e brilhosos (cores mais vivas/intensas), são menores em comprimento, porém mais largos e espessos.

Cor e aparência atraem o consumidor para um produto e podem ajudar nas compras por impulso, pois no momento da compra, o consumidor usa fatores

de aparência para fornecer uma indicação de maturação, frescor e qualidade do sabor (Barrett et al., 2010). Também é importante que frutas e vegetais tenham tamanho e formato característicos uniformes (Mitcham e Kader, 2000), uma vez que alguns consumidores associam tamanho maior com qualidade superior.

Para Crisosto et al. (2003), os consumidores têm uma cor preferida para um item específico. Kim et al. (2016) afirmam que a preferência dos frutos de pimenta é pela coloração vermelha intensa. Embora não esteja fortemente relacionada a compostos nutricionais, a cor é muito importante para os consumidores (Frank et al., 2001). Entretanto, neste estudo, o parâmetro C*, que mede a intensidade da cor, em frutos maduros, teve correlação positiva com a SST/AT, marcando uma relação entre a cor do fruto e a composição interna. A relação SST/AT indica o grau de equilíbrio entre o teor de açúcares e os ácidos orgânicos do fruto, estando diretamente relacionado tanto à qualidade quanto ao atributo sabor, sendo mais representativa que a medida isolada de açúcares ou acidez (Azevedo et al., 2018). Dito isso, foi observado que as pré-cultivares P1732 e P1639, com frutos maduros de coloração vermelho intenso, tem maior relação SST/AT (61,83 e 66,21, respectivamente), indicando maior influência do açúcar, provavelmente em função do baixo teor de acidez verificado nestas pré-cultivares.

A correlação negativa significativa observada entre a espessura média do pericarpo e o comprimento médio do fruto (0,95) mostrou que, para os genótipos testados quanto maior o fruto, menor a espessura do pericarpo. Hafsah e Firdaus (2020) obtiveram resultados similares ao avaliarem 11 acessos de *C. annuum* L., porém com valor de correlação negativa de 0,66. Esses mesmos autores também observaram correlação negativa entre EMP x severidade da doença (antracnose) (0,52). Segundo Bianchi et al. (2020), um aspecto importante na qualidade dos frutos é a espessura do pericarpo. Quanto mais espesso, maior a probabilidade de aumentar o grau de resistência a patógenos, danos mecânicos durante o manuseio e o transporte na pós-colheita, além de propiciar uma melhor aparência dos frutos para os consumidores. Peña-Yam et al. (2019) afirmaram que frutos com pericarpo espesso apresentam alto rendimento para consumo *in natura*.

A pré-cultivar P1732 tem pericarpo espesso (0,23 cm) e desta forma pode ser indicada para consumo *in natura*, além de ter alta produtividade (10,63 t/ha) (Medeiros, 2012). Em contrapartida, a pré-cultivar P1624 é ideal para

processamento, pois tem frutos com pericarpo mais fino (0,19 cm), o que pode levar a custos menores durante o processo de desidratação para a produção de páprica (Lannes et al., 2007), também tem alta produtividade (13,52 t/ha) (Medeiros, 2012). Apesar de a pré-cultivar P1639 ser menos produtiva (5,13 t/ha) (Medeiros, 2012), ela tem pericarpo espesso (0,25 cm), podendo ser indicada para consumo *in natura*, uma vez que essa característica tem grande participação na determinação do peso e na qualidade do fruto (Blat et al., 2007).

O mercado das pimentas é muito segmentado e diverso, em razão da grande variedade de produtos e subprodutos, usos e formas de consumo. Embora bem aceito, no Brasil o mercado de pimenta ainda é considerado pouco expressivo se comparado a outras hortaliças. A exploração de novas variedades de pimenta, combinada à popularização e ao desenvolvimento de novos produtos com valor agregado, fortalecerá e modificará rapidamente o cenário da cultura no comércio ao longo dos anos (Amaro et al., 2022). Dessa forma, torna-se de extrema importância produzir novas cultivares de pimenta, com características diferentes das já existentes, possibilitando a exploração pelos empreendedores rurais e pelo segmento da agroindústria, descobrir novas oportunidades de negócios, produzir produtos que sejam novidade e chamar atenção dos consumidores, como, por exemplo, frutos de sabor mais suave, mais aromáticos, diferentes formas e tamanho de frutos para a confecção de conservas ornamentais, ou desenvolvimentos de novos molhos com diferentes graus de ardência e sabor, geleias, pimenta em flocos, entre outros.

Os marcadores SSR são uma das tecnologias moleculares mais populares e apresentam algumas vantagens em comparação com outros marcadores, desempenhando, assim, papel significativo na avaliação genética. Estes marcadores representam tipos de variação altamente polimórficos, reprodutíveis, codominantes e multialélicos (Becher et al., 2000). Por consequência, SSR tem sido amplamente aplicado para identificação, caracterização e análise de diversidade em muitas culturas, incluindo arroz (Betancourth et al., 2020), feijão (Carvalho et al., 2020), milho (Bocianowski et al., 2021), cana-de-açúcar (Neto et al., 2020), tomate (Pidigam et al., 2021) e muitas outras espécies de plantas. Para *Capsicum*, vários trabalhos foram desenvolvidos sobre diversidade genética (Brilhante et al., 2021), construção de mapa de ligação

genética (Moulin et al., 2015b), suscetibilidade a doenças (Costa et al., 2021a) e *fingerprint* (Dhaliwal et al., 2013).

No presente trabalho, foi observada baixa taxa de polimorfismo (8,9%). Segundo Lefebvre et al. (2001), as cultivares de pimenta têm um baixo nível de polimorfismo molecular. Apesar da robustez deste tipo de marcador, a detecção de polimorfismo é reduzida à medida que as linhagens forem comparadas com uma testemunha de mesma espécie. Kwon et al. (2005) utilizaram 316 iniciadores SSR em 66 cultivares de *Capsicum* e também detectaram baixo nível de polimorfismo (8,5%) entre as cultivares. Tais autores afirmam que há baixa variabilidade entre as cultivares comerciais de pimenta e, conseqüentemente, a distinção destas variedades por marcadores SSR é muitas vezes difícil.

A eletroforese capilar oferece vantagens práticas e técnicas sobre a eletroforese em gel. A análise dos fragmentos em eletroforese capilar é mais precisa e rápida em comparação com a técnica tradicional de gel de agarose (Rex et al., 2020). Os géis de agarose permitem que sejam detectadas apenas variações em torno de 10 pares de base (Menksen e Kahl, 2005). Já a eletroforese capilar permite a detecção de alelos com apenas uma base de diferença com confiabilidade e segurança (Goulart et al., 2011). Por isso, o poder discriminatório de indivíduos é maior na eletroforese capilar (Gupta et al., 2010). Além disso, a eletroforese capilar oferece maior capacidade de produção tanto para a eletroforese como para a leitura dos resultados, possibilitando a automatização das análises, uma vez familiarizados com o *software*. No entanto, mesmo que o método tradicional de gel de agarose tenha uma precisão menor, continua sendo uma ferramenta boa e útil para equipamentos de rotina e de baixo orçamento.

Neste trabalho, foram observados média de 1,8 alelos, com variação de um a quatro alelos/*locus*, e um total de 14 alelos para os 5 *loci* polimórficos. Sharmin et al. (2018), ao avaliarem a diversidade genética de 20 genótipos de pimenta (*Capsicum* spp.) usando 11 iniciadores SSR, detectaram variação de um a três alelos, e um total de 10 alelos para 5 *loci* SSR polimórficos, com média de 2 alelos por *locus*. Buso et al. (2016) afirmam que quanto maior o número de alelos detectados por um marcador, maior sua utilidade.

A análise molecular de microssatélites permitiu a distinção entre as pré-cultivares candidatas à proteção e as testemunhas comerciais. A pré-cultivar

P1639 não apresentou dissimilaridade com a cultivar testemunha Cambuci, isso significa que apenas os cinco *loci* estudados não foram capazes de distinguir esses dois genótipos. Isso pode ser explicado pelo fato de esses genótipos serem morfológicamente semelhantes. Neste caso, mais *loci* devem ser analisados. No entanto, ela se distingue da pré-cultivar P1732, que tem características fenotípicas similares. O DNA *fingerprint* dessas linhagens, além de auxiliar na verificação da distinção entre cultivares de pimenta existentes ou e novas cultivares que surgirão, pode também auxiliar futuras comprovações e identificação da pureza genética das sementes dessas cultivares. Além disso, as informações obtidas pelos marcadores podem auxiliar em futuros ensaios de DHE, pois permitem indicar cultivares mais próximas geneticamente da linhagem candidata à proteção, de forma que as cultivares mais divergentes não sejam utilizadas como testemunhas, reduzindo o tempo e o custo na realização dos ensaios.

Abordagens tradicionais, incluindo observação e análise de caracteres morfológicos, são menos informativas, mais demoradas e não precisas (Hue et al., 2018), uma vez que muitas das características são quantitativas, e sua expressão é afetada por fatores ambientais, requerendo, por isso, replicação de observação. O desenvolvimento da tecnologia molecular forneceu ferramentas mais simples e eficientes para identificação e análise genética. Sem dúvida, a ampla aplicação de DNA *fingerprint* de uma variedade vegetal é de grande importância para gerenciamento de recursos de germoplasma e proteção do direito dos melhoristas de plantas à propriedade intelectual (Zhao et al., 2020).

Para o desenvolvimento de novas cultivares, é imprescindível conhecer e conservar os recursos genéticos das espécies (Ribeiro et al., 2020). Em programas de melhoramento, a matéria-prima utilizada é a variabilidade ou diversidade genética existente em uma espécie. O melhorista deve definir um objetivo e direcionar a seleção dos alelos para características cuja avaliação contribua com uma fonte de diversidade, combine atributos desejáveis por diferentes nichos da cadeia produtiva, desde o produtor até o consumidor, visando a solucionar ou a minimizar os problemas. Os métodos de melhoramento genético são estratégias empregadas para fazer a seleção dos genótipos e variam de acordo com o objetivo, população base e modo de reprodução da espécie. O desenvolvimento do programa conta com avaliações fenotípicas e com

a inclusão de novos objetivos e novas ferramentas, como fenotipagem digital, análises físico-químicas, análise termográfica, espectrometria, marcadores moleculares e bioinformática para gerar eficiência de seleção na obtenção de uma nova cultivar, uma vez que o maior desafio do melhorista é desenvolver cultivares superiores às que já existem no mercado.

Segundo Pimenta et al. (2015), a realização de ensaios de DHE, embora trabalhosa, é muito importante para assegurar que apenas novos genótipos sejam protegidos, garantindo os direitos dos obtentores das novas cultivares. É também um protocolo que completa a formação de um melhorista de plantas, que deve estar apto para gerar novos produtos com potencial para serem efetivamente utilizados pelos agricultores.

3.1.6. CONCLUSÕES

Após os ensaios de DHE, verificou-se que as três linhagens P1624, P1732 e P1639 reúnem boas características agronômicas e de qualidade dos frutos, estão aptas à proteção, pois foram comprovadamente distintas, homogêneas, estáveis, segundo os critérios estabelecidos pelo SNPC/MAPA, representando novos produtos tecnológicos que atendem a diversos nichos do mercado.

3.2. COLORÍMETRO E *TOMATO ANALYZER* NA FENOTIPAGEM DE FRUTOS DE PIMENTA

3.2.1. INTRODUÇÃO

O Brasil é um importante centro de diversidade genética do gênero *Capsicum* e, como tal, tem ampla variabilidade de pimentas e pimentões. Essas hortaliças estão difundidas em todas as regiões do país (Villela et al., 2014). São muito utilizadas na indústria alimentícia como aditivos, corantes ou processadas em razão do seu sabor e cor característicos, sendo adequadas para aplicações em produtos alimentícios prontos para consumo (Guadarrama-Lezama et al., 2014). Tornaram-se símbolo da culinária e são a segunda especiaria mais popular (Bortolin et al., 2016).

A cor e a aparência são importantes atributos associados às reações pessoais de aceitação, indiferença ou rejeição dos produtos na indústria alimentícia, em especial para frutas e hortaliças, indicando a qualidade e, muitas vezes, determinando seu valor. Se o consumidor espera que o produto tenha determinada cor, por exemplo, poderá ocorrer extrema relutância caso exista diferença de tonalidade ou intensidade desta (Ferreira et al., 2000). Desta forma, o desenvolvimento de produtos alimentares com essas características está entre os principais objetivos dos programas de melhoramento (Arimboor et al., 2015). Para alcançar esses resultados, os melhoristas desenvolvem estudos de fenotipagem que permitem acessar a variabilidade genética, bem como a

posterior seleção de materiais para atender as expectativas do mercado consumidor (Ping et al., 2019).

A introdução do sistema de cores CIELAB pela *Commission Internationale de l'Eclairage* (CIE) tornou possível expressar a cor em termos quantitativos e numéricos exatos. Esse sistema determina a cor mais bem relacionada à percepção humana e onde todas as cores concebíveis podem ser localizadas dentro da esfera de cores definida por três eixos perpendiculares: L* (do branco ao preto), a* (verde para vermelho) e b* (azul para amarelo) (Durrmus, 2020). Objetos coloridos podem ser analisados de acordo com as cores primárias ou pelo comprimento de onda. A classificação visual de cores é considerada uma avaliação subjetiva, pois pode ser influenciada por diversos fatores, tais como luminosidade, visão e experiência do avaliador. Quando é necessária uma descrição de cor mais precisa, podem ser usados instrumentos de medição como o colorímetro digital, que utiliza as três cores primárias, vermelho, verde e azul, resultando num valor numérico dentro do modelo de cores CIELAB (Leão, 2005). Já a fenotipagem digital visa a descrever com precisão a cor com base na análise de imagens digitais, aumentando a objetividade da coleta de dados, ao mesmo tempo em que reduz a caracterização subjetiva que normalmente é propensa a vieses (Darrigues et al., 2008).

O *Tomato Analyzer* (TA) é um programa que mede 37 atributos relacionados à forma bidimensional de modo semiautomático e reprodutível (Gonzalo et al., 2009). O TA também oferece o aplicativo *Color Test* (CT), projetado para coletar medições de cores de imagens digitalizadas e permitir que os dispositivos de digitalização sejam calibrados usando padrões de cores (Darrigues et al., 2008). Em *Capsicum*, o TA já foi aplicado para caracterizar uma coleção de germoplasma de 307 acessos recuperados de 48 regiões do mundo, pertencentes a nove espécies de *Capsicum* (Tripodi e Greco, 2018), para mapeamento de QTL em cruzamento biparental (Yarnes et al., 2013) e para identificação de candidatos moleculares de regulação de tamanho e forma de frutos em 40 linhas de *C. annuum* (Hill et al., 2017). No entanto nenhuma pesquisa foi encontrada envolvendo o uso do TA - *Color Test* em frutos deste gênero, o que torna este trabalho ainda mais relevante.

O objetivo deste trabalho foi verificar o desempenho do programa *Tomato Analyzer - Color Test* (TACT) na medição dos parâmetros de cor em frutos de

pimenta (*C. baccatum* var. *pendulum*) e comparar este método com a análise colorimétrica padrão feita com o colorímetro digital para constatar se ambos os métodos geram resultados semelhantes para caracterizar a cor e qual deles é mais indicado ou apresenta melhor desempenho na análise das cores para frutos de pimenta.

3.2.2. REVISÃO DE LITERATURA

3.2.2.1. Cor: Definição e importância

Cor pode ser definida como a propriedade dos corpos em absorver e refletir luz e tem como atributos principais o matiz, a luminosidade e a saturação. É o aspecto gerado pelas percepções do órgão visual em radiação eletromagnética visível de comprimento de onda entre ~380-400 e 740-750 nm (Figura 1), determinado basicamente pela fonte de luz e pela superfície refletora (Camargos e Gonzalez, 2001).

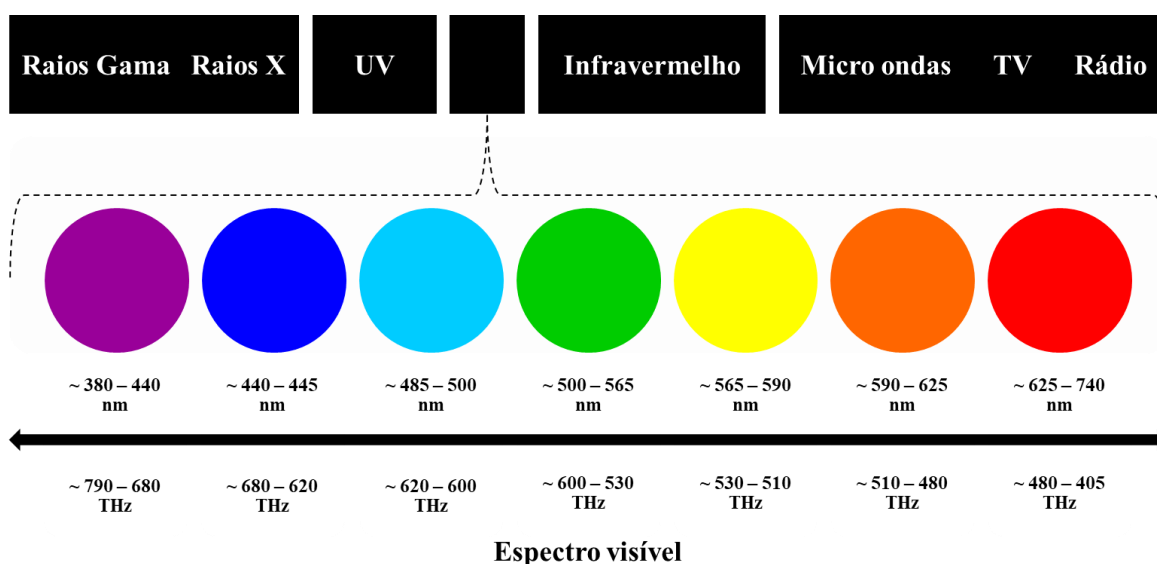


Figura 1. Cores do espectro visível, comprimento de ondas (nm) e frequência (THz). Fonte: Adaptado de Ferreira e Spricigo (2017).

A cor é uma resposta perceptual mental para o espectro visível da luz (distribuição da energia da luz versus comprimento de onda) refletida ou emitida por um objeto. Este sinal de resposta interage na retina do olho e transmite a continuação ao cérebro através do nervo óptico, o que faz com que os humanos associem cores a estes sinais. Logo, a cor não é uma propriedade intrínseca do objeto, pois a cor do objeto muda de acordo com a fonte de luz (Meléndez-Martínez et al., 2005).

A cor não é uma característica absoluta de um objeto, mas, sim, uma percepção humana que depende de aspectos fisiológicos e psicológicos, uma vez que os estímulos da cor registrados pela retina são provocados pela distribuição de energia e pelas propriedades espectrais da luz visível, que passa através de um objeto ou que é refletida por ele (Sampaio et al., 2007).

Segundo Guimarães (2001), a cor é definida por três características: a matiz ou tonalidade, o brilho ou luminosidade e a saturação ou croma. A matiz é a cor definida pelo comprimento de onda. O brilho é a luminosidade da cor, referente à proximidade do branco ou preto. A croma é definida como sendo o grau de pureza da cor.

O olho humano distingue as cores de acordo com as diferentes sensibilidades dos cones da retina à luz de diferentes longitudes de onda. Há três tipos de células fotorreceptoras da cor nas pessoas, com picos de sensibilidade a comprimentos de onda curta (azul, 420-440 nm), meia (verde, 530-540 nm) e longe (vermelho, 560-580 nm) (Pathare et al., 2013).

O ponto mais importante que precisa ser compreendido é que o olho humano é sensível aos comprimentos de onda vermelho, verde e azul provenientes da luz. Por isso, com intensidades diferentes de luz vermelha, verde e azul, torna-se possível a visualização de várias cores. Este princípio fundamenta a prática de reprodução das cores, possibilitando reproduzir ou simular todo o espectro visível a partir de somente três cores primárias: vermelho, verde e azul (Leão, 2005).

A percepção da cor é um fenômeno muito complexo, que depende da composição do objeto, da iluminação, dos ângulos de iluminação e visualização (Vásquez, 2015). Por ser um fenômeno subjetivo, a sensação de cor depende também do observador. A percepção que um indivíduo tem de uma determinada cor nunca é isolada sobre ela, pois é sempre em relação a um contexto, dado que

cada um tem vivências e culturas diferentes, além disso, biologicamente ninguém tem exatamente o mesmo número de células perceptivas no olho e muito menos as tem dispostas da mesma maneira.

A cor é uma medida importante para a compreensão e descrição de um objeto. Para muitas indústrias, de diversos ramos, a medição da cor e a aparência ajudam a manter uma qualidade visual aceitável de seus produtos. Em alguns casos, como na indústria alimentícia, a cor é utilizada para uniformizar a aparência do produto. No setor têxtil, o controle da cor assume papel de extrema relevância para o sucesso neste exigente mercado. Já nas embalagens, uma escolha adequada das cores pode resultar em elemento de grande atratividade e promoção do produto (Leite, 2006)

Além da ampla variabilidade de percepções humanas sobre as cores, o acelerado desenvolvimento tecnológico disponibiliza avanços sobre as colorações (Leão, 2005). Se há algumas décadas a gama de cores disponíveis não era tão extensa, hoje são necessários meios de diferenciar colorações muito semelhantes de forma prática e eficiente em busca de padronização.

3.2.2.2. Modelo de cor CIELAB

A CIE (Comissão Internacional de Iluminação) é uma organização sem fins lucrativos independente, fundada em 1913, que está presente em vários países, cujos membros participantes são voluntários. Com fundamentos técnicos, científicos e culturais muito fortes, a CIE é dedicada à cooperação mundial e à troca de informação em todos os assuntos relativos à ciência e arte da luz e iluminação, cor e visão e tecnologia de imagem (Bertolini, 2010). Como parte da sua missão, a CIE tem um comitê técnico para estudar o sistema visual e as cores, resultando numa diretriz para a colorimetria, desde a primeira padronização (Leão, 2005).

Espaço de cor é uma representação geométrica, tridimensional, onde as cores podem ser visualizadas utilizando determinado modelo de cor (Leite, 2006). Em razão do entendimento limitado do sistema visual humano e da necessidade de criar modelos de cores com espaço de cor independente do dispositivo, o comitê da CIE criou o modelo de cores. Segundo Minolta (2007), um modelo de

cor pode ser definido como um método para expressar a cor de um objeto ou de uma fonte de luz usando algum tipo de notação, como números, por exemplo.

Os modelos de cor são utilizados para classificar as cores e para qualificá-las de acordo com alguns atributos: tonalidade ou matiz (hue), saturação ou croma e luminosidade ou brilho (Leão et al., 2005) (Figura 2). A tonalidade baseia-se no comprimento de onda de luz refletida de um objeto, ou transmitida por ele. A saturação, também chamada de croma, é a quantidade de cinza em uma cor. Quanto mais alta a saturação, mais baixo é o conteúdo e mais intensa é a cor. O brilho é uma medida de intensidade de luz em uma cor (Kuehni, 2004).

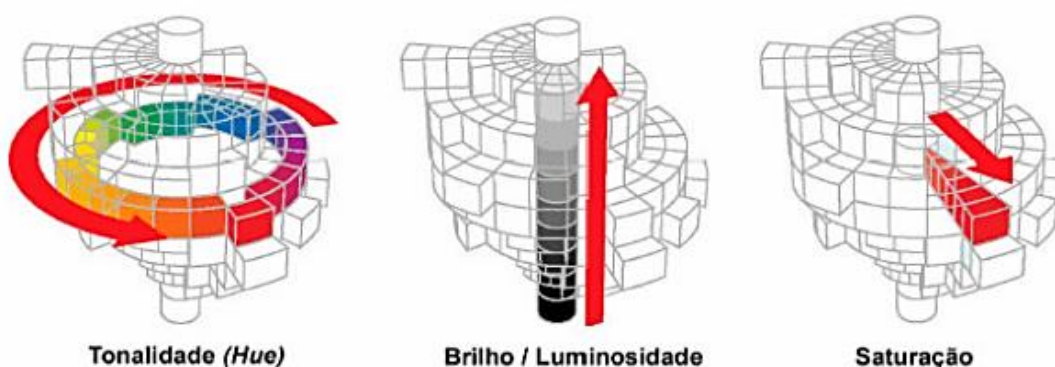


Figura 2. Tonalidade, Brilho/Luminosidade e Saturação. Fonte: Leão et al. (2005).

Os modelos de cor são usados também para definir as cores nos programas gráficos de computadores de forma a combinar com a percepção das cores pelo sistema visual humano, sendo, portanto, muito úteis para combinar as cores entre as diversas formas de uso: escâner, monitor, impressora e outros.

O conceito CIE parte do princípio de que o ser humano tem três tipos de cores receptoras - vermelho, verde e azul - e que todas as cores são combinações destas cores (Ferreira e Spricigo, 2017) e para a existência da cor existem três condições: o objeto, o iluminante e o observador.

O modelo de cor $L^*a^*b^*$, também conhecido como modelo de cor CIELAB (Figura 3), foi desenvolvido em 1976 após a teoria de cores opostas, em que duas cores não podem ser verdes e vermelhas ao mesmo tempo, ou amarelas e azuis ao mesmo tempo, fornecendo, assim, uma diferenciação de cores mais precisa

em relação à percepção humana (Pathare et al., 2013). Ele é também um espaço de cor absoluto, isto é, define exatamente as cores, ao contrário, por exemplo, do RGB ou do CMYK, que dependem do recebimento de luz ou tinta, respectivamente.

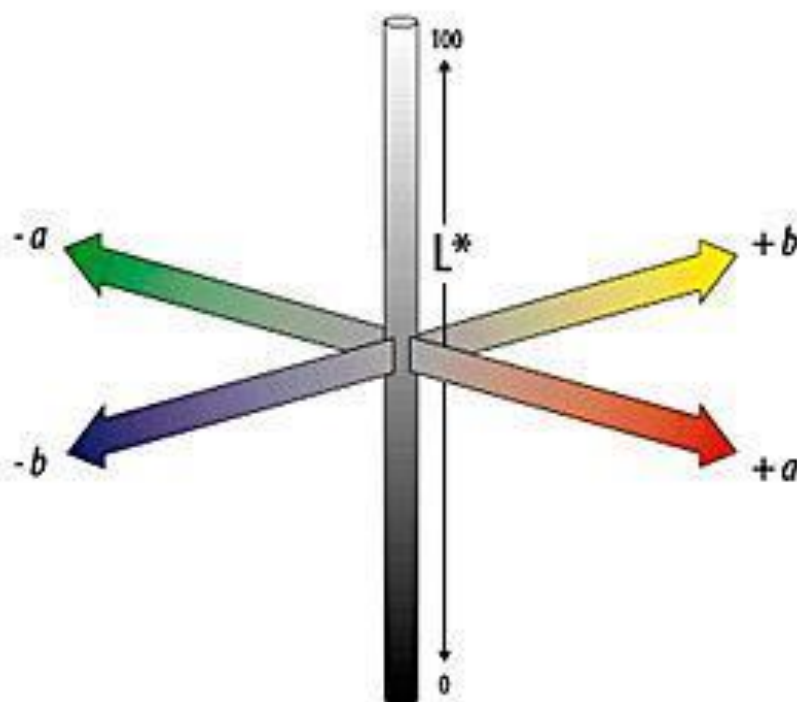


Figura 3. Modelo de cor CIE $L^* a^* b^*$. Fonte: Leite (2006).

A coordenada L^* representa a medida de luminosidade de uma cor, variando de zero para preto a 100 para branco; a^* define o desvio do ponto acromático correspondente à luminosidade, para o vermelho se for positivo e para o verde se for negativo, variando de 100 a -100; b^* define o deslocamento para amarelo se positivo e para azul negativo, variando também de 100 a -100. Com os valores obtidos de L^* , a^* e b^* , é possível calcular o índice de saturação de cor ou croma (C^*), o ângulo de matiz (h°) e a mudança total de cor ΔE^* (Hernández et al., 2009) (Figura 4).

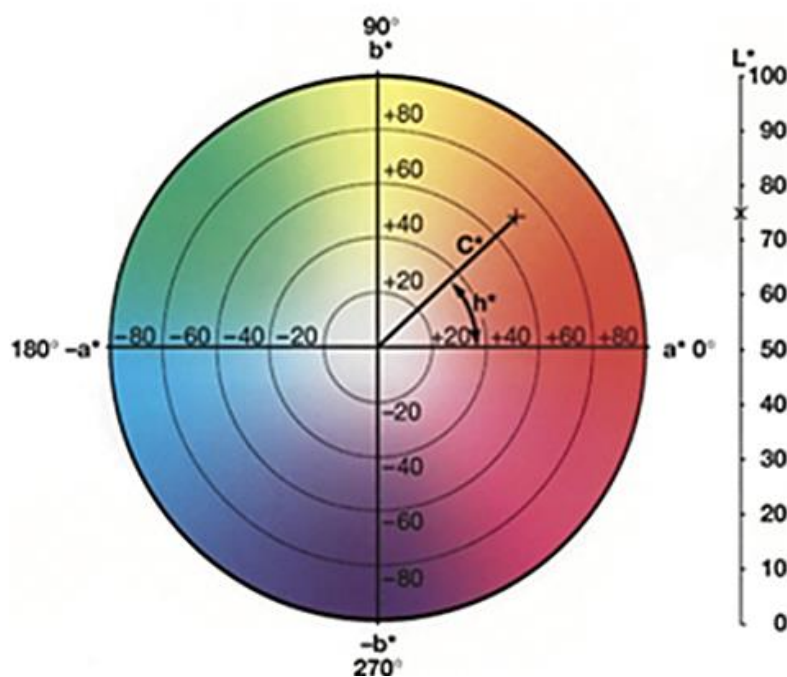


Figura 4. Espaço de cor $L^*C^*h^\circ$. Fonte: Ferreira e Spricigo (2017).

A saturação (C^*) é considerada um atributo quantitativo da coloração, sendo utilizada para determinar o grau de diferença de uma tonalidade em relação a uma cor cinza com a mesma luminosidade. Quanto mais altos os valores de croma, maior é a intensidade da cor das amostras percebidas pelos humanos. Cores neutras têm baixa saturação, enquanto cores puras têm alta saturação, portanto, mais brilhantes na percepção humana (Pathare et al., 2013).

O ângulo de tonalidade (ângulo hue) (h°), considerado o atributo qualitativo da cor, é o atributo segundo o qual as cores foram tradicionalmente definidas como avermelhadas, esverdeadas e assim por diante. Este atributo está relacionado às diferenças de absorvância em diferentes comprimentos de onda. Um ângulo de matiz mais alto representa um menor caráter amarelo nos ensaios (Pathare et al., 2013). Um ângulo de 0° ou 360° representa a tonalidade vermelha, enquanto os ângulos de 90° , 180° e 270° representam as tonalidades amarela, verde e azul, respectivamente (López et al., 1997).

Minolta (2007) afirma que o modelo de cor CIELAB é amplamente utilizado para medição de cores de um objeto, pois correlaciona consistentemente os valores de cor com a percepção visual (Fraser et al., 2005) e, por isso, está presente em todos os campos de aplicação. Indústrias como as de plástico, tintas, impressão, alimentos e têxtil, além de universidades, utilizam este espaço para

identificar, comunicar e avaliar os atributos da cor, além das inconsistências ou desvios de uma cor padrão.

3.2.2.3. Métodos de avaliação por colorimetria

Colorimetria é a ciência do estudo da cor de acordo com a percepção humana padrão. O objetivo é construir um modelo numérico com capacidade de prever a ocorrência do metamerismo (fenômeno pelo qual duas amostras de cores diferentes produzem a sensação de ser a mesma cor) (Fraser et al., 2005).

Segundo Fernandes (2002), a colorimetria é a ciência da medição da cor. Por meio da colorimetria, a cor pode ser expressa de uma forma numérica. Esta forma numérica de se obter a cor é possível desde que se trabalhe com valores padronizados quanto às fontes luminosas, geometrias de observação e sensibilidade média do olho humano.

A colorimetria básica fornece o embasamento fundamental das técnicas utilizadas para apontar os estímulos de cores ao sistema sensorial de um observador humano. Porém, com essas técnicas básicas, é apenas possível especificar se duas cores são correspondentes ou não. Por outro lado, a colorimetria avançada tem como objetivo ampliar as técnicas para ser possível especificar a diferença entre duas cores através de modelos de aparência de cores. Esses modelos permitem descrever de forma matemática e objetiva os estímulos de cores em uma variedade de condições. Desse modo, são os modelos que permitem que a percepção de cores passe do âmbito subjetivo ao analítico matemático (Vásquez, 2015).

As medições da cor podem ser feitas por inspeção visual (humana) ou por instrumentos tradicionais como o colorímetro óptico ou por instrumentos mais modernos como sistema de visão por computador (Wu e Sun, 2013). Segundo Régula (2004), com o aumento das exigências dos consumidores, a utilização de instrumentos para medição de cor tornou-se indispensável. Isso se deve ao fato de poder haver deficiências no campo visual do avaliador e estas deficiências poderem ser supridas pela medição instrumental da cor. Assim, com o uso de instrumentos de medição, aliado a análises visuais, podem ser eliminadas as muitas variáveis que surgem quando estes objetos são submetidos exclusivamente à avaliação humana.

3.2.2.3.1. Análise visual

A análise visual da cor é a avaliação de suas características por meio dos sentidos (Meléndez-Martínez et al., 2005). A medição visual de cores envolve a observação de uma amostra sem instrumentos, mas sob condições controladas de iluminação, juntamente com referência a um conjunto de padrões de cores com os quais comparar as cores da amostra observada para encontrar uma correspondência de cores (Figura e Teixeira, 2007).

Informações abrangentes sobre a avaliação da cor, incluindo diretrizes para seleção do atlas ou escala de cores, requisitos físicos para avaliações visuais e tipos de testes sensoriais, podem ser encontradas na literatura. Os descritores multicategóricos estabelecidos pelo *International Plant Genetic Resources Institute* (IPGRI) e pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) são exemplos de padrões subjetivos usados para descrever a cor a partir da análise visual e obter uma descrição particular da cor, para a qual existe um certo vocabulário. São adotadas pontuações subjetivas de classes para descrever a cor visual, por exemplo: 1 – branco; 2- verde; 3 – amarelo; 4 – vermelho; 5 – roxo.

A avaliação visual da cor também pode ser feita por escalas de cores ou atlas contendo padrões comparativos, que são muito baratos em comparação com a instrumentação utilizada para a medição objetiva da cor. Um exemplo dessa avaliação é o sistema Munsell, um atlas de cores confiável e reproduzível, que o torna um valioso auxiliar para a avaliação visual subjetiva das cores (Gonçalves, 2001). É importante lembrar um aspecto negativo de todo sistema baseado em atlas de cores, que é seu envelhecimento, em particular a umidade e a luz que deterioram em maior ou menor velocidade a cor das amostras, sendo necessário ter um cuidado especial para que se mantenham nas condições originais.

A detecção e a classificação de cores pelo olho humano são pouco confiáveis, pois dependem da experiência e da capacidade do observador. Para ser aceitável, as avaliações visuais devem ser precisas e reprodutíveis. Isto requer que o método e os arranjos físicos de observação sejam o mesmo para todas as avaliações. Por isso, muitas indústrias buscam ter pessoas especializadas nesse tipo de avaliação para garantir uma análise visual de qualidade. Não existem dúvidas de que, com a experiência ao longo dos anos, os coloristas adquirem grandes habilidades no que diz respeito a julgamentos visuais

de cor. Entretanto, é importante ressaltar que as habilidades humanas sofrem com a ação do tempo e que, com a idade, as pessoas tendem a perder a sua capacidade de visão, e a acuidade visual fica comprometida, e esse desgaste varia de indivíduo para indivíduo (Gonçalves, 2001).

3.2.2.3.2. Análise instrumental

A cor está sujeita à percepção. Diferentes pessoas interpretam as expressões de cor de muitas maneiras diferentes. Assim, a expressão subjetiva da cor pode não ser precisa o suficiente para comunicar a cor. Abordagens objetivas na medição e expressão de cores ajudariam a minimizar os problemas relacionados à cor (Lee, 2000). A cor pode ser descrita de forma objetiva e precisa pelo uso de instrumentos que descrevem a cor refletida no sistema de cores padronizado CIELAB (Sanmart et al., 2020).

Colorímetro é um dispositivo utilizado para medir a luz, mas o princípio de ação é separar as componentes RGB da luz (similar à maneira do olho humano, dos monitores de computadores ou dos escâneres e câmeras digitais, entre outros dispositivos). Ele utiliza filtros que imitam a resposta dos cones do sistema visual humano e produz resultado numérico em um dos modelos de cores CIE (Leão, 2005).

Os colorímetros são os instrumentos mais usados na medição de cores de alimentos e outros produtos, possivelmente, pela sua facilidade de uso e interpretação dos dados de cores (Pathare et al., 2013). Medições efetuadas com um colorímetro podem apontar diferenças sutis, mesmo em cores que sejam iguais para o olho humano. Além disso, sob um ambiente específico de iluminação, estes instrumentos proporcionam uma medida quantitativa pela simulação da maneira como o olho humano vê a cor de um objeto (McCaig, 2002). As medições são rápidas e simples, e a calibração dos colorímetros é feita usando azulejo padrão no início da operação (Oliveira e Balaban, 2006).

Porém, apesar de conseguir medições rápidas e simples, há desvantagens no uso de medições instrumentais tradicionais. Quando a superfície da amostra não tem uma distribuição homogênea da cor, a medição deve ser feita várias vezes para cobrir toda a superfície. Outra desvantagem são o tamanho e a forma da amostra. Segundo Wu e Sun (2013), se o tamanho da amostra for demasiado pequeno para cobrir a área de inspeção do instrumento, ou se a forma da área a ser medida for irregular, suas medições da cor podem ser inexatas.

Também não é possível obter uma caracterização detalhada do valor de cada ponto dentro da superfície da amostra (León et al., 2006). Esta desvantagem tem aumentado a necessidade de desenvolver processos de medição da cor com base em *pixels* de maneira automática para obter uma rápida e não invasiva medição da distribuição da cor dos produtos.

3.2.2.3.3. Sistema de visão computacional

O princípio de percepção de cores pelo olho humano tem sido copiado e explorado pelos fabricantes de *scanners* a cores, monitores e impressoras. O método de interpretação da cor usado pelos dispositivos é baseado diretamente na resposta humana aos estímulos à luz vermelha, verde e azul (Leão, 2005).

O sistema de visão computacional (SVC) é a ciência que desenvolve bases teóricas de uma imagem observada, conjunto de imagens ou sequência de imagem (Du e Sun, 2004). Tecnicamente é a avaliação por meios eletrônicos para perceber e medir uma imagem. É uma técnica alternativa para avaliação e quantificação de cores (Yam e Papadakis, 2004). Nos sistemas de visão computacional, a cor é a informação primária, sendo armazenada em pixels numa imagem digital. A informação quantitativa da cor é extraída das imagens digitais mediante o uso do processamento e análises da imagem, resultando em uma medição rápida da cor e sem contato (Wu e Sun, 2013).

A aquisição e a análise de imagens são duas etapas fundamentais para a medição da cor utilizando sistemas de visão computacional. A aquisição de imagens é o primeiro passo na visão computacional, sendo a qualidade dos dados a principal preocupação durante a aquisição (Jackman et al., 2011). A precisão correta do equipamento de aquisição é essencial, pois a precisão deve ser fina o suficiente para ver os detalhes necessários e grosseira o suficiente para o processamento rápido da imagem. A análise inclui numerosos algoritmos e métodos que dependem do tipo de aplicação (Krutz et al., 2000).

Segundo Dana e Ivo (2008), a transformação do modelo de cor é o método de pré-processamento de *pixel* mais comum para avaliação das imagens. RGB, HSV e CIELAB são os modelos de cores espaciais mais populares usados em visão computacional de alimentos (León et al., 2006). O modelo de cor CIELAB é um dos mais utilizados nas avaliações da cor dos alimentos porque as cores processadas representam efetivamente as cores

naturalmente percebidas pelos humanos e são perceptivelmente uniformes (Quevedo et al., 2010).

A medição da cor utilizando sistemas de visão por computador tem a vantagem de ser mais rápida, consistente, precisa e rentável, pelo que pode aperfeiçoar o controle de qualidade. Também pode reduzir a inconsistência humana e a subjetividade (Wu e Sun, 2013). Para León et al. (2006), uma diferença significativa entre o sistema de visão computacional e a análise instrumental convencional é a quantidade de informação espacial proporcionada. A alta resolução espacial dos sistemas de visão computacional permite analisar todos os pixels da superfície, calcular o valor médio e o desvio padrão da cor, medir formas irregulares, selecionar uma região de interesse, inspecionar mais de um objeto ao mesmo tempo, gerar o mapa da distribuição da cor e proporcionar um registro permanente, mantendo a imagem.

3.2.2.4. Aplicações da colorimetria na agricultura

O uso da colorimetria na agricultura é bem versátil e, por isso, é adotada nos mais diversos segmentos. Os métodos colorimétricos são utilizados em todos os setores da cadeia produtiva da agricultura. Uma das formas mais interessantes do uso da colorimetria consiste na substituição de técnicas destrutivas por análises de cor (Ferreira e Spricigo, 2017).

A cor da superfície dos alimentos é o primeiro parâmetro de qualidade avaliada pelos consumidores, sendo crítico para a aceitação do produto (Pathare et al., 2013). Na qualidade dos alimentos, a aparência é o atributo visual mais importante, pois relaciona tamanho, forma e cor da superfície (Werner et al., 2009). É a primeira sensação que os consumidores percebem e usam como uma ferramenta para aceitar ou rejeitar os alimentos (León et al., 2006). Por isso, a medição adequada da cor é uma importante ferramenta na caracterização dos alimentos. Em razão da grande variabilidade e da distribuição complexa da cor dos alimentos, diferentes metodologias têm sido desenvolvidas com a finalidade de obter medições mais versáteis, rápidas e economicamente acessíveis. O colorímetro e o sistema de visão computacional são os instrumentos mais utilizados para medir a cor dos alimentos.

No melhoramento de plantas, para o processo de seleção de novas cultivares desenvolvidas por melhoristas, características relacionadas à coloração de folhas, flores e frutos são utilizadas no estudo de correlações entre

características de interesses agrônômicos, para fazer distinção entre linhagens e variedades comerciais, por exemplo. Sendo um dos atributos mais valorizados pelo consumidor, a coloração é parâmetro de inclusão e exclusão de plantas, aceitação ou rejeição de alimentos.

A aplicação de instrumentos para avaliar as cores é amplamente usada em diversas culturas para estudos envolvendo o melhoramento de plantas. Bello et al. (2020) avaliaram a correlação entre variáveis colorimétricas e físico-químicas do tomateiro. As variáveis colorimétricas foram avaliadas em imagens em modelo de cores RGB obtidas com câmera digital. Rodrigues et al. (2020) fizeram avaliação colorimétrica de quatro cultivares de cerejeira produzidas na região nordeste de Portugal para fazer a discriminação entre as cultivares. Em feijões, Kläsener et al. (2019) identificaram as características que determinam as escolhas de grãos dos consumidores brasileiros por cor e avaliaram se diferentes cores de grãos representam diferenças nas características tecnológicas e nutricionais. Rego et al. (2020) verificaram a eficiência de imagens multiespectrais combinadas com modelo CIELAB para avaliar a saúde de sementes de feijão-caupi e diferenciar sementes portadoras de diferentes espécies de fungos. Para determinar a qualidade de flores de antúrio 'Tropical', Mattos et al. (2020) avaliaram e compararam a eficácia da medição de forma visual e por imagens digitais na classificação das cores. O colorímetro para avaliação de cores é muito utilizado para avaliação de polpa de frutas, como descrito por Pilon et al. (2021) ao estudarem batata-doce e por Reis et al. (2021) com a cultura da manga.

A aferição da qualidade por colorimetria é clássica em estudos pós-colheita. Villadiego et al. (2019) determinaram a relação entre a firmeza para cinco graus de maturidade e as coordenadas de cor CIELAB (a^* , b^* , L^* , C^*) do mamão Tainung. Em *Capsicum*, Yang et al. (2018) estudaram a cor da superfície, pigmento natural e escurecimento não enzimático do pimentão vermelho durante a secagem ao ar quente em diferentes temperaturas de secagem. Casquete et al. (2021) avaliaram a cor, pungência e propriedades antioxidantes de pimenta caiena, e os parâmetros de cor foram as características mais importantes para a discriminação das diferentes amostras. Em maracujá, Reis et al. (2018) avaliaram os parâmetros de cor do suco durante o armazenamento refrigerado (8°C).

Na área de processamento de alimentos, o controle de processos pode ser otimizado com a utilização da colorimetria. Vieira et al. (2020) compararam métodos de determinação de cor e de extração de pigmentos em frutos de diferentes cultivares de tomate para selecionar os materiais genéticos mais

promissores para a indústria de processamento. Com o objetivo de caracterizar e analisar a qualidade microbiológica da geleia alcoólica de maracujá amarelo com melão, Costa et al. (2021b) determinaram a cor das geleias de maracujá com colorímetro, utilizando o sistema de escala de cores CIELAB. Dias et al. (2018) caracterizaram parâmetros de cor de frutos frescos de cambuci e processados em geleias para identificar acessos com maior potencial para uso industrial.

Em solos, a colorimetria é ferramenta auxiliar para classificação. Em um estudo, Botelho et al. (2006) observaram que os atributos de solos apresentaram boas correlações com os componentes da cor obtidos por colorimetria, mostrando ser esta uma técnica eficiente e promissora para obter informações do solo de maneira simples e de baixo custo.

A colorimetria, por meio do sistema CIELAB, apresenta viabilidade na classificação da qualidade da madeira por propriedades mecânicas e físicas similares (Stangerlin et al., 2013). Santos et al. (2021) avaliaram o potencial da colorimetria para discriminar madeira do grupo “louros na Amazônia. Acosta et al. (2020) avaliaram as propriedades higroscópicas e colorimétricas de uma madeira madura de *Pinus elliottii* submetida a tratamentos de furfuração. Maia et al. (2020) caracterizaram e correlacionaram as propriedades químicas de cinco espécies do bioma Caatinga com a cor de suas madeiras, com auxílio de colorímetro digital.

3.2.3. MATERIAL E MÉTODOS

3.2.3.1. Material vegetal

Foram utilizadas três linhagens de *C. baccatum* var. *pendulum*, provenientes do Programa de Melhoramento Genético de *Capsicum* da UENF, obtidas pelo método de seleção massal com sete ciclos de autofecundação controlada (F₇), identificadas como P1732, P1624 e P1639, consideradas pré-cultivares, e três cultivares denominadas comercialmente como ‘Cambuci’ (Feltrin), ‘BRS Mari’ (Embrapa Hortaliças) e ‘Dedo-de-Moça’ (Topseed).

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal (LMGV), localizado no *campus* da UENF, em Campos dos Goytacazes (latitude 21°45’ Sul, longitude 41°17’ Oeste, altitude

11m), Norte do Estado do Rio de Janeiro, Brasil, no período de setembro/2018 a fevereiro/2019. O delineamento experimental utilizado foi em blocos ao acaso com quatro repetições e cinco plantas por parcela, dispostas em fileiras duplas, com 20 plantas por genótipo, totalizando 120 plantas. Foram adotados os tratamentos culturais recomendados para a cultura (Filgueira 2012).

3.2.2.1. Avaliação instrumental

Vinte frutos de cada genótipo foram coletados (ao acaso) entre as cinco plantas de cada bloco, totalizando 80 frutos de cada genótipo. A avaliação da coloração foi feita nos estádios imaturos e maduros dos frutos, tendo sido avaliados 480 frutos em cada estágio de maturação.

Para medição das cores, foi utilizado o colorímetro Minolta® modelo CR-300 (Figura 5), sendo feitas três leituras em pontos distintos de cada fruto e em seguida foi calculada a média dessas áreas. O aparelho foi calibrado com uma placa de cerâmica branca padrão, denominada cr-a43, que acompanha o equipamento, cuja escala padrão é: $z = 93,6$; $x = 0,3133$; $y = 0,3195$.



Figura 5. Avaliação de frutos imaturos e maduros com auxílio do colorímetro digital.

3.2.2.2. Avaliação por imagem digital

Os mesmos frutos utilizados na medição pelo colorímetro foram utilizados na avaliação de imagens digitais. As imagens foram coletadas usando um *scanner* de mesa *Plustek OpticPro A320*, coberto com uma caixa de papelão para minimizar o efeito de sombra e fornecer um fundo preto. As imagens foram analisadas pelo programa *Tomato Analyzer – Color Test 3.0* (Figura 6).

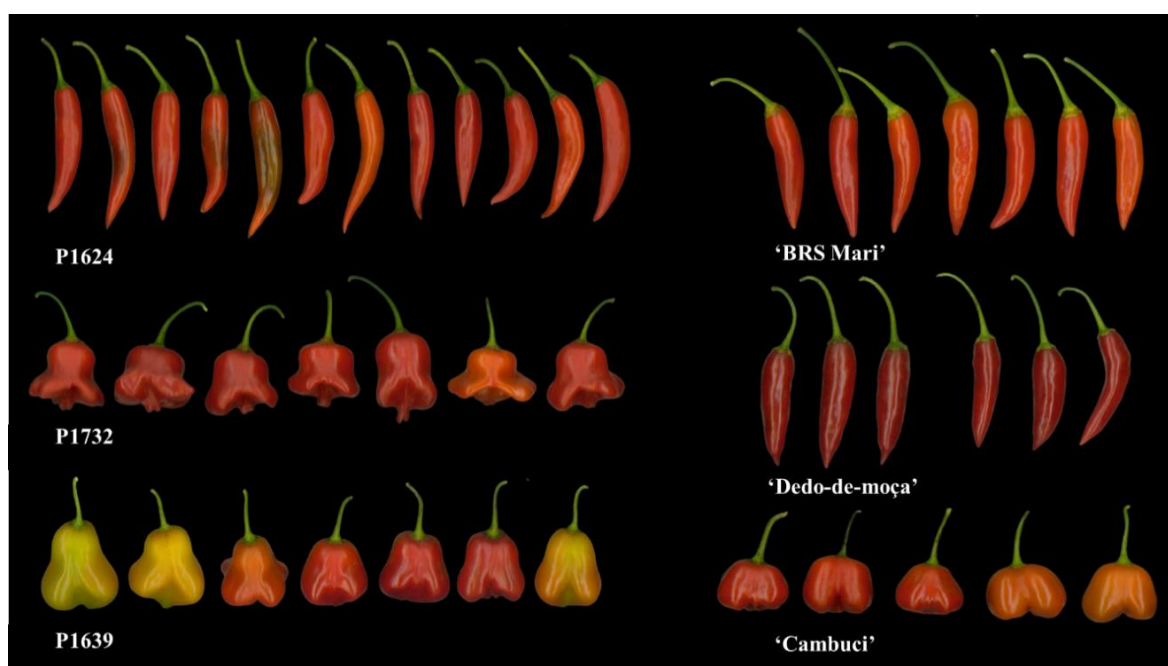


Figura 6. Imagem digital obtida pelo escaneamento de frutos de pimenta com *scanner* de mesa.

O módulo de teste de cor TACT foi projetado para coletar medições objetivas de cores de imagens JPEG e permite a quantificação precisa da cor e da uniformidade de cores dentro dos limites reconhecidos pelo programa e permite ainda que os dispositivos de digitalização sejam calibrados usando padrões de cores (Darrigues et al., 2008). As medições de cores são baseadas no espaço de cores RGB: R (vermelho), G (verde) e B (azul). Os valores RGB médios para cada pixel são obtidos pelo módulo de teste de cores e depois traduzidos para o espaço de cores CIELAB, que usa L^* , a^* , b^* para descrever a

cor de uma forma que se aproxime da percepção visual humana. O módulo de teste de cores calcula os descritores de cores Hue e Croma com base em a^* e b^* . O programa determina automaticamente os limites da fruta em uma imagem digitalizada. O limite do objeto é determinado pelo rastreamento de contorno (Figura 7).



Figura 7. Imagem representativa do processo de medição feito pelo *Tomato Analyzer - Color Test*. Delimitação automática dos frutos e leitura dos *pixels*.

A calibração do *scanner* e do TACT para a análise das imagens foi feita seguindo o protocolo disponibilizado por Rodríguez et al. (2010). Os padrões de cor para calibração do *scanner* foram escolhidos com base na ampla gama de cores observadas na cultura da pimenta. Um gráfico padrão de 48 cores (ColorChecker, X-Rite, SG 140) é mostrado na Figura 8.



Figura 8: Verificador de cores utilizado para calibrar os valores de cores obtidos com *scanner*. Fonte: Adaptado ColorChecker, X-Rite, SG 140.

3.2.2.3. Análise estatística

Com as abordagens de determinação da cor, foi possível especificar as cores usando três coordenadas: L^* (luminosidade) – que varia de zero a 100 (preto/branco); a^* - que diz respeito à intensidade de vermelho/verde (+/-); e b^* - relacionada à intensidade de amarelo/azul (+/-). A partir das coordenadas $L^*a^*b^*$, foi obtido o índice colorimétrico croma (C^*) ou índice croma, que define uma medida de saturação ou intensidade de cor e varia de cores pálidas (valor baixo) para cores vivas (valor alto) e o ângulo de cor hue ($^{\circ}h$), conforme a CIE (Comissão Internacional da Iluminação).

Schanda (2007) define que as coordenadas do sistema CIELAB são obtidas pelas seguintes equações:

$$L^* = 116f\left(\frac{Y}{Y_n}\right) - 16 \qquad a^* = 500\left[f\left(\frac{X}{X_n}\right) - f\left(\frac{Y}{Y_n}\right)\right]$$

$$b^* = 200\left[f\left(\frac{Y}{Y_n}\right) - f\left(\frac{Z}{Z_n}\right)\right] \qquad h = \left(\frac{b^*}{a^*}\right)$$

$$C^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2}$$

$$\text{Onde } f(X/Xn) = (X/Xn)^{1/3} \text{ se } (X/Xn) > (24/116)^3$$

$$f(X/Xn) = (841/108)(X/Xn) + 16/116 \text{ se } (X/Xn) \leq (24/116)^3$$

$$\text{e } f(Y/Yn) = (Y/Yn)^{1/3} \text{ se } (Y/Yn) > (24/116)^3$$

$$f(Y/Yn) = (841/108)(Y/Yn) + 16/116 \text{ se } (Y/Yn) \leq (24/116)^3$$

$$\text{e } f(Z/Zn) = (Z/Zn)^{1/3} \text{ se } (Z/Zn) > (24/116)^3$$

$$f(Z/Zn) = (841/108)(Z/Zn) + 16/116 \text{ se } (Z/Zn) \leq (24/116)^3$$

Todas as análises estatísticas foram feitas no programa Genes (Cruz, 2016). Os dados padrão de cor do colorímetro e do programa foram testados para distribuição normal de Lilliefors ($p < 0,05$) e análise de variância ($p < 0,05$) para obtenção dos parâmetros de variância: variância fenotípica (V_f), variância ambiental (V_a), variância genotípica (V_g) e herdabilidade (h^2). Para determinar a relação entre os dados de cor gerados pelo colorímetro e o *Tomato Analyzer - Color Test*, foi feita análise de regressão simples para testar a significância das regressões.

3.2.4. RESULTADOS

Para verificar se o *Tomato Analyzer - Color Test* oferece vantagens sobre o colorímetro, os frutos de pimenta foram avaliados quanto à cor e uniformidade de cor usando ambas as abordagens. Os valores encontrados para quantificar a cor dos frutos de pimentas foram numericamente próximos para todas as coordenadas de cor $L^*a^*b^*$, incluindo h^0 e C^* para ambos os estádios de maturação, o que era esperado. Os componentes de variância foram estimados para verificar a proporção de variância genotípica associada a cada parâmetro de cor (Tabela 1).

Tabela 1. Estimativa de parâmetros genéticos para medidas de cor em frutos de pimenta *Capsicum baccatum* var. *pendulum* usando colorímetro e *Tomato Analyzer - Color Teste*. UENF, Campos dos Goytacazes, 2022.

Método de mensuração	Parâmetros genéticos	Frutos imaturos					Frutos maduros				
		L*	a*	b*	h°	C*	L*	a*	b*	h°	C*
Tomato Analyzer - Color Test	V _f	36,10	11,89	49,41	32,94	58,32	8,37	4,85	11,41	13,55	13,71
	V _a	2,98	2,32	3,54	11,84	2,54	1,32	0,78	0,86	1,73	1,33
	V _g	33,12	9,57	45,87	21,10	55,77	7,05	4,07	10,54	11,82	12,36
	h ²	0,91	0,80	0,92	0,65	0,96	0,84	0,83	0,92	0,87	0,90
	Média	46,88	21,33	42,07	81,58	46,72	40,06	59,72	28,51	16,38	45,91
Colorímetro	V _f	33,34	10,42	47,06	32,74	55,04	8,08	4,71	11,03	12,57	13,01
	V _a	3,39	2,16	3,25	11,73	2,62	1,30	0,80	1,01	1,70	1,44
	V _g	29,95	8,26	43,81	21,00	52,42	6,77	3,91	10,02	10,89	11,56
	h ²	0,89	0,79	0,93	0,64	0,94	0,83	0,82	0,90	0,86	0,88
	Média	46,93	20,48	41,01	80,68	46,67	39,99	57,97	28,33	16,23	45,86

V_f: variância fenotípica total; V_g: variância genotípica; V_a: variância ambiental; h²: herdabilidade média; L* - luminosidade; a* - varia do vermelho (positivo) para o verde (negativo); b* - varia do amarelo (positivo) para o azul (negativo); h°: ângulo hue; C* - índice de croma;

Levando em consideração os dois métodos de mensuração, a variação fenotípica total variou de 10,42% a 58,32% em frutos imaturos e de 4,71% a 13,71% em frutos maduros. Comparando os dois métodos, observou-se que a V_g entre as variáveis teve pouca diferença entre os métodos para ambos os estádios de maturação, entretanto foi um pouco maior para o TACT para todas as variáveis. Maiores valores de V_g foram encontradas para C^* (55,77% e 12,36%). Consequentemente, a variância ambiental foi menor para este método de mensuração.

Altos e médios valores de herdabilidade média foram encontrados para todas as variáveis relacionadas à cor para ambos os métodos usados. Com o uso do colorímetro, as estimativas de h^2 variaram de 0,64 (h^0 em frutos imaturos) a 0,94 (C^* em frutos imaturos). Porém, a medição das cores por meio do TACT proporcionou a obtenção de maiores índices de h^2 , com variação de 0,65 a 0,96 (h^0 e C^* em frutos imaturos).

A Tabela 2 apresenta as médias das medidas de cor avaliadas nos frutos de pimenta usando o colorímetro e *Tomato Analyzer - Color Teste*. Para frutos imaturos, ambos os métodos de mensuração apresentaram o mesmo padrão de classificação dos genótipos. No entanto, em frutos maduros, foi possível observar uma diferença entre os dois métodos. Para medição da coordenada a^* e do índice C^* no colorímetro, de acordo com a variação de valores encontrados, os genótipos foram agrupados em duas classes diferentes. Com o uso do TACT, podem ser observadas três classes de agrupamento, indicando que este método de medição é capaz de discriminar melhor os genótipos quanto a estas características.

Utilizando o colorímetro como método de medição dos parâmetros de cor, foi possível separar os frutos em três classes para os parâmetros $L^*a^*b^*$, C^* e h^0 . De acordo com a cor (a^* , b^* e h^0): verde (imaturado) (a^* - 3,11 e 5,43; b^* - 29,31 e 29,44; h^0 - 110,99 e 112,89), alaranjado (imaturado) com os valores de a^* variando de 23,59 a 29,18; b^* de 42,12 a 48,97; h^0 de 67,89 a 77,12; e vermelho (maduro) com a^* entre 57,39 a 63,10, b^* entre 24,51 e 32,62; h^0 entre 11,58 e 19,92. Os parâmetros L^* e C^* permitiram a classificação dos frutos de acordo com sua tonalidade e intensidade de cor: claro ou escuro; opaco ou brilhante. Desta forma, os frutos foram classificados da seguinte forma: quando imaturos - P1624 e 'Dedo-de-Moça', verde claro opaco; 'BRS Mari', P1639, P1732 e 'Cambuci',

alaranjado escuro brilhante; quando maduros, P1732, P1639 e 'Cambuci', vermelho claro brilhante; P1624, 'BRS Mari' e "Dedo-de-Moça", vermelho escuro opaco.

Na análise pelo TACT, as mesmas classificações foram verificadas para frutos imaturos, porém uma pequena variação foi observada para os parâmetros a^* e C^* em frutos maduros. No entanto, as diferenças encontradas comparadas com os valores de b^* não interferiram na classificação quanto à cor do fruto, pois os valores estão dentro da faixa aceitável do vermelho, de acordo com o ângulo hue (h°), porém numa saturação menor de cor. Dito isso, os genótipos P1624 e 'Dedo-de-Moça' teriam uma nova classificação: vermelho claro opaco quando maduros.

Tabela 2. Médias das medidas de cor avaliadas em frutos de pimenta *Capsicum baccatum* var. *pendulum* usando colorímetro e *Tomato Analyzer - Color Teste*. UENF, Campos dos Goytacazes, 2022.

Genótipo	Frutos imaturos									
	Colorímetro					<i>Tomato Analyzer - Color Test</i>				
	L*	a*	b*	h°	C*	L*	a*	b*	h°	C*
P1732	52,00 a	29,18 ab	42,12 a	67,89 a	51,78 ab	51,91 a	29,83 ab	41,63 a	67,60 a	51,27 ab
P1624	38,62 b	5,43 b	29,44 b	112,82 b	36,67 d	38,82 b	5,90 b	29,35 b	113,46 b	37,34 d
P1639	50,03 a	28,86 ab	44,99 a	77,12 a	53,03 a	49,99 a	28,66 ab	45,26 a	78,02 a	53,08 a
‘Cambuci’	51,26 a	23,53 a	43,62 a	72,78 a	54,57 a	50,92 a	23,35 a	43,13 a	72,74 a	54,54 a
‘BRS Mari’	49,56 a	25,85 a	48,97 a	71,47 a	45,43 bc	49,62 a	26,12 a	48,89 a	72,41 a	44,96 bc
‘Dedo-de-Moça’	39,83 b	3,11 b	29,31 b	110,99 b	38,85 cd	40,32 b	3,99 b	29,78 b	111,23 ab	38,84 cd

Genótipo	Frutos maduros									
	Colorímetro					<i>Tomato Analyzer - Color Test</i>				
	L*	a*	b*	h°	C*	L*	a*	b*	h°	C*
P1732	40,63 a	57,39 a	29,04 ab	17,61 b	47,49 a	41,17 a	57,49 a	29,33 ab	17,50 b	47,66 ab
P1624	35,54 b	63,10 b	24,51 c	13,70 ab	41,21 b	35,47 b	63,34 bc	34,83 c	13,69 ab	41,09 c
P1639	42,81 a	57,65 a	32,62 a	19,31 b	49,86 a	42,57 a	57,33 a	32,61 a	19,28 b	50,14 a
‘Cambuci’	43,38 a	57,71 a	31,71 a	19,92 b	49,29 a	43,03 a	57,17 a	32,22 a	19,28 b	49,20 ab
‘BRS Mari’	38,59 ab	60,64 ab	26,02 bc	11,58 a	44,99 ab	38,73 ab	66,50 ab	26,06 bc	11,65 a	45,10 bc
‘Dedo-de-Moça’	39,42 ab	63,31 b	26,10 bc	11,14 a	42,35 b	38,96 ab	69,53 c	26,00 bc	11,98 a	41,31 c

Médias seguidas pela mesma letra em uma coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ($P \leq 0.05$).

Foi feita a comparação dos dados coletados pelo colorímetro com os dados gerados pelo TACT para determinar a precisão e a exatidão da mensuração das cores. As regressões dos valores L^* , a^* , b^* , h° e C^* do colorímetro para os valores TACT mostraram uma relação linear significativa ($P < 0,0001$) para todos os parâmetros em ambos os estádios de maturação dos frutos, com coeficientes de correlação superiores a 0,90 (Figuras 9 e 10). A medida do ângulo h° apresentou os mais altos coeficientes de correlação: 0,991 e 0,976 (frutos imaturos e maduros, respectivamente).

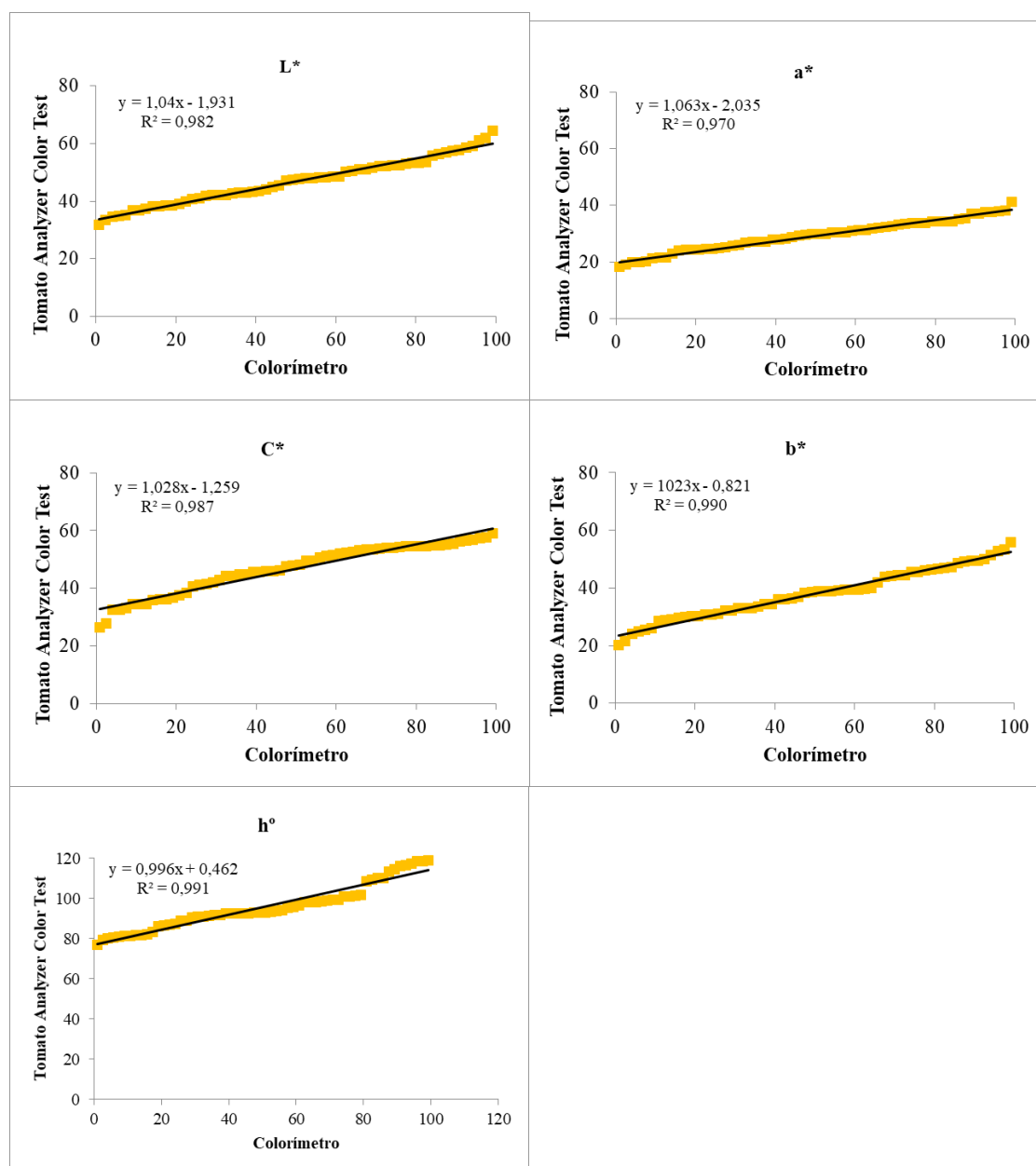


Figura 9. Análise de regressão entre *Tomato Analyzer - Color Test* e colorímetro para os valores L^* , a^* , b^* , h° e C^* do modelo de cores CIELAB, mensurados em frutos imaturos de pimenta.

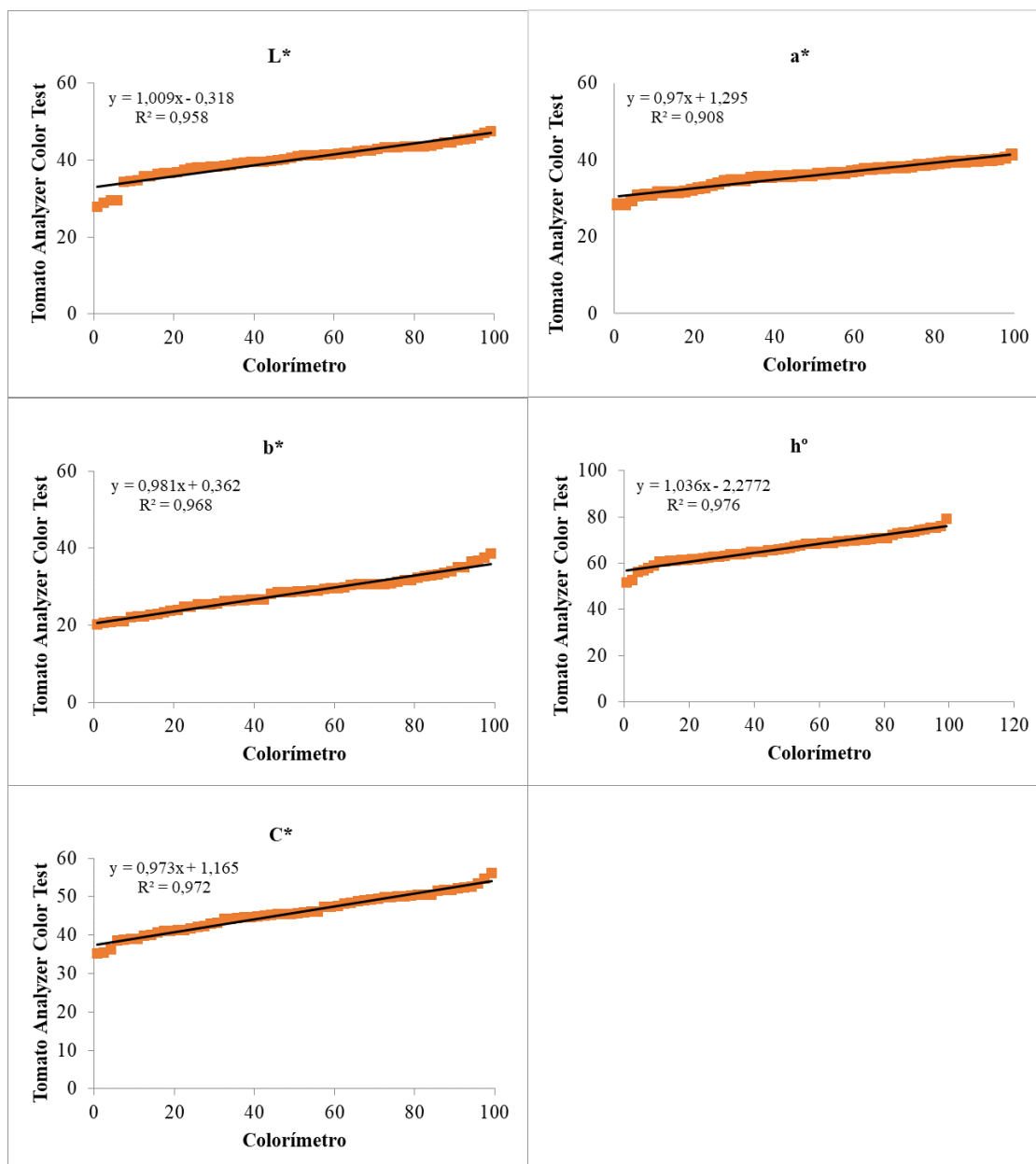


Figura 10. Análise de regressão entre *Tomato Analyzer - Color Test* e colorímetro para os valores L*, a*, b*, h° e C* do modelo de cores CIELAB, mensurados em frutos maduros de pimenta.

3.2.5. DISCUSSÃO

Muitas pesquisas são conduzidas utilizando o colorímetro digital como instrumento de medição das cores por ser um método muito conhecido e de confiabilidade dos resultados. O programa *Tomato Analyzer - Color Test* é outro método utilizado para mensuração das cores que vem ganhando destaque nesse

cenário. Mesmo que este programa tenha sido desenvolvido a princípio para medir a cor de frutos tomates, ele vem sendo aprimorado, atualizado e adaptado para atender a outras culturas. No entanto, ainda são muitos os estudos envolvendo a cultura do tomate em detrimento de estudos com outras culturas.

A partir das análises feitas, observou-se que tanto o colorímetro quanto o TACT geraram dados colorimétricos confiáveis, ambos podendo ser usados para determinar a cor de frutos de pimenta. No entanto, o TACT apresentou uma pequena vantagem em relação ao colorímetro, pois é um método mais rápido e prático de ser usado, discriminando melhor alguns parâmetros de cor, como observado neste trabalho. Além disso, quando fazemos a medição de muitos frutos, o uso do colorímetro acaba sendo muito cansativo, pois, além das várias leituras que devem ser feitas por fruto, os dados são disponibilizados na tela do aparelho, daí deve-se fazer a anotação imediata, ou então, os dados podem ser impressos em papel térmico. Porém, esses dados também devem ser prontamente transferidos para planilhas, pois, com o tempo, a tinta do papel térmico vai perdendo a cor, ou o papel pode ser danificado e com isso os dados podem ser perdidos. Com o TACT esse problema não acontece, pois, os dados já ficam salvos automaticamente em planilhas no computador. Além disso, após as análises digitais serem capturadas, elas podem ser armazenadas e avaliadas a qualquer momento, em qualquer lugar, dependendo apenas de um computador.

Os parâmetros de variância foram avaliados para verificar qual método pode melhor distribuir a variação fenotípica observada para cor em variâncias genotípicas. Comparado os dados colorimétricos com os dados do TACT, observa-se que a proporção da variância fenotípica total atribuída à variância genotípica foi significativamente melhorada para todos os parâmetros de cor ao coletar dados com TACT, sugerindo que este método de medir as cores consegue fazer uma avaliação mais precisa e minuciosa da variabilidade da coloração presente entre os genótipos. Isso pode ser explicado pelo fato de o TACT medir os parâmetros de cor de uma superfície inteira, enquanto o colorímetro analisa apenas alguns pontos da superfície. A variância ambiental observada com o uso deste método foi menor para todos os parâmetros de cor, indicando que a mensuração da cor foi menos afetada pelo ambiente, sendo, portanto, mais confiáveis. As ferramentas de medição de cor descritas na literatura requerem amplo controle ambiental, principalmente quanto à qualidade e quantidade de luz, sombra e reflexão. Apesar de o colorímetro ser de fácil uso, o simples fato de a área de leitura não estar em contato total com a superfície do fruto pode gerar erros de leitura por causa do feixe de luz emitido para captura dos dados. Em

contraste, o *scanner* de mesa usado para gerar imagens digitais para análise de cores TACT exige apenas uma caixa de papelão como tampa para minimizar o efeito da sombra.

Darrigues et al. (2008) encontraram resultados semelhantes aos observados neste estudo para a análise dos parâmetros de variância ao avaliarem uma população de tomate para cor e uniformidade de cor usando TACT e um colorímetro. Inclusive o trabalho desses autores foi feito com o objetivo de implementar a ferramenta de análise de imagem digital utilizada neste estudo, o *Color Test* (CT), como parte do aplicativo de programa *Tomato Analyzer* (TA).

As estimativas de variâncias genotípicas e fenotípicas são a base para determinar a herdabilidade, que, por sua vez, fornece uma visão sobre o ganho genético esperado em um programa de melhoramento. Maiores estimativas de herdabilidade média foram encontradas para todos os parâmetros de cor medidos com TACT, com o valor mais alto para o índice de croma (C^*) em frutos imaturos. Altos valores de herdabilidade têm sido associados a uma maior variância genética e/ou a uma menor influência ambiental (Pompeu Junior et al., 2013), como observado neste estudo.

Quanto à análise de médias, ambos os métodos de mensuração apresentaram o mesmo padrão de classificação colorimétrico dos genótipos para frutos imaturos de pimenta. No entanto, para frutos maduros, foi possível observar diferença de agrupamento de médias entre os métodos. Com o uso do TACT, foi possível discriminar melhor os genótipos quanto a estas características a^* e C^* , indicando que este método de medição é mais preciso. Ou seja, apesar de os frutos serem vermelhos quando maduros, existe uma maior variabilidade de tonalidade entre eles, o que corrobora os elevados valores de V_g encontrados para C^* . Vale ressaltar que a análise isolada de um parâmetro não informa a cor, sendo necessário fazer a leitura de todos os parâmetros em conjunto para chegar a uma conclusão precisa.

Segundo Ferreira e Spricigo (2017), valores mais elevados de L^* representam cores mais claras, enquanto valores mais baixos, cores mais escuras. Os valores encontrados neste trabalho corroboram esta afirmação. A saturação está ligada diretamente à concentração do elemento corante e representa um atributo quantitativo para intensidade. Quanto maior o croma (C^*), maior a saturação das cores perceptíveis aos humanos. Cores neutras têm baixa saturação, enquanto cores puras têm alta saturação, portanto, mais brilhantes na percepção humana (Pathare et al., 2013). O ângulo Hue (h°) é considerado o atributo qualitativo de cor com as cores que são definidas tradicionalmente como

avermelhadas, esverdeadas, por exemplo. Representa o ângulo entre as coordenadas a^* e b^* . Graficamente consideramos o ângulo de 0° como a cor vermelha, o ângulo de 90° , a amarela, o ângulo de 180° , a verde, e o ângulo de 270° , a cor azul (McGuire, 1992).

As regressões dos valores L^* , a^* , b^* , h° e C^* do colorímetro para os valores TACT mostraram uma relação linear significativa para todos os parâmetros em ambos os estádios de maturação dos frutos. Os valores de R^2 obtidos mostram elevados coeficientes de correlação calculados a partir das cores no sistema $L^*a^*b^*$ obtidas pelos métodos, indicando que a calibração tanto do colorímetro quanto do *scanner* foi feita de forma adequada, uma vez que os valores encontrados para ambos os métodos de medição foram semelhantes, o que era esperado. Darrigues et al. (2008), em seu trabalho, encontraram relação linear, porém os valores entre o colorímetro e o TACT diferiram pelo fato de a inclinação não ter sido igual a 1 e a interceptação y diferente de 0. Assim, a calibração do *scanner* utilizado para gerar imagens digitais poderia ser feita com ajustes simples nas equações usadas para calcular os valores de L^* , a^* e b^* . Além disso, as coordenadas $L^*a^*b^*$ fornecidas pelo colorímetro referem-se às amostras iluminadas por uma fonte com distribuição espectral de potência igual ao iluminante padrão C. No cálculo das coordenadas dos dados do TACT também foi utilizado o iluminante padrão C (2°), que é o recomendado para o caso de imagens digitalizadas (Rodríguez et al., 2010). Portanto, as diferenças nas coordenadas de cores $L^*a^*b^*$ para uma mesma amostra são devidas não apenas aos diferentes métodos utilizados, mas também aos diferentes iluminantes utilizados em cada método.

3.2.6. CONCLUSÕES

O programa *Tomato Analyzer - Color Test* desempenhou papel semelhante na medição de dados colorimétricos em frutos de pimenta, quando comparado ao colorímetro digital. No entanto, para alguns parâmetros, o TACT demonstrou ser um método de mensuração mais robusto e preciso. Ambos os métodos são eficazes e podem ser utilizados para analisar as cores de frutos, o que vai determinar qual método utilizar serão os objetivos e os instrumentos disponíveis para desenvolver a pesquisa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acosta, A.P., Schulz, H.R., Barbosa, K.T., Zanol, G.S., Gallio, E., de Avila Delucis, R., Gatto, D.A. (2020) Dimensional stability and colour responses of *Pinus elliottii* wood subjected to furfurylation treatments. *Maderas Cienc y Tecnol* 22: 303–310.
- Acunha, T. dos S., Crizel, R.L., Tavares, I.B., Barbieri, R.L., Pereira de Pereira, C.M., Rombaldi, C.V., Chaves, F.C. (2017) Bioactive Compound Variability in a Brazilian *Capsicum* Pepper Collection. *Crop Sci* 57: 1611–1623.
- Aguilera, P.M., Debat, H.J., Grabiele, M. (2017) An Integrated Physical Map of the Cultivated Hot Chili Pepper, *Capsicum baccatum* var. *pendulum*. *Int J Agric Biol* 19: 465–469.
- Ahn, Y., Manivannan, A., Karna, S., Jun, T., Yang, E., Choi, S., Kim, J., Kim, D., Lee, E. (2018) Whole Genome Resequencing of *Capsicum baccatum* and *Capsicum annuum* to Discover Single Nucleotide Polymorphism Related to Powdery Mildew Resistance. *Sci Rep* 1–11.
- Albrecht, E., Zhang, D., Mays, A.D., Saftner, R.A., Stommel, J.R. (2012a) Genetic diversity in *Capsicum baccatum* is significantly influenced by its ecogeographical distribution. *BMC Genet.* doi: 10.1186/1471-2156-13-68
- Alcorcés de Guerra, N. (2001) *Estudios cromosómicos de cuatro selecciones de Capsicum chinense* Jacq. *Rev Cient UDO Agric* 1: 34–41.

- Ali, A., Bordoh, P.K., Singh, A., Siddiqui, Y., Droby, S. (2016) Post-harvest development of anthracnose in pepper (*Capsicum* spp): Etiology and management strategies. *Crop Prot* 90: 132–141.
- Amaro, G. B.; Reifschneider, F. J. B.; Henz, G. P.; Ribeiro, C. S. C. *Mercado da Pimenta*. Agência Embrapa de Informação Tecnológica. Disponível em:< <https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/pimenta/arvore/CONT000gn05zz5y02wx5ok0liq1mq6ank2j1.html>>. Acesso em: 04 mar. 2022.
- AOAC. (1992) *Official methods of analysis of the Association of Agricultural Chemists*. 13.ed. Washington 627–845p.
- AOAC. (2012) *Official methods of analysis*. 13.ed. Gaithersburg, Maryland, USA
- Araújo, J. C. (2010). *A lei de proteção de cultivares: análise de sua formação e conteúdo*. In: Câmara dos Deputados. Edições Câmara Brasília, DF. 137p.
- Araújo, L.M., Neves, L.G., Sousa, D.A., Zeviani, W.M., Silva, L. da R., Marostega, T.N. (2019) Biochemical descriptors: Importance of the genetic divergence study in peppers. *Hortic Bras* 37: 210–214.
- Arimboor, R., Natarajan, R.B., Menon, K.R., Chandrasekhar, L.P., Moorkoth, V. (2015) Red pepper (*Capsicum annuum*) carotenoids as a source of natural food colors: analysis and stability—a review. *J Food Sci Technol* 52: 1258–1271.
- Aviani, D.D.M. (2011) Requisitos para Proteção. In: *Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Proteção de Cultivares no Brasil / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Desenvolvimento Agropecuário e Cooperativismo*. Brasília: Mapa/ACS, p. 37–43 37–43
- Aviani, D.M., Santos, F.S. (2011) Uso de Marcadores Moleculares em Proteção de Cultivares. In: *Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Proteção de Cultivares no Brasil / Secretaria de Desenvolvimento Agropecuário e Cooperativismo*., Mapa/AC. Brasília: p. 155- 160. 155-160.
- Azevedo, L.F.M., Marlônio, E., Lucena, P. De. (2018) Physical, chemical, microbiological and sensory characterization of *Manipuça jellies* for municipal school meals of Fortaleza-CE. *Rev Bras Frutic, Jaboticabal* 40: 1–7.

- Bae, H., Jayaprakasha, G.K., Crosby, K., Yoo, K.S., Leskovar, D.I., Jifon, J., Patil, B.S. (2014) Ascorbic acid, capsaicinoid, and flavonoid aglycone concentrations as a function of fruit maturity stage in greenhouse-grown peppers. *J Food Compos Anal* 33: 195–202.
- Barrett, D.M., Beaulieu, J.C., Shewfelt, R. (2010) Color, flavor, texture, and nutritional quality of fresh-cut fruits and vegetables: Desirable levels, instrumental and sensory measurement, and the effects of processing. *Crit Rev Food Sci Nutr* 50: 369–389.
- Becher, S.A., Steinmetz, K., Weising, K., Boury, S., Peltier, D., Renou, J.-P., Kahl, G., Wolff, S. (2000) Microsatellites for cultivar identification in *Pelargonium*. *Theor Appl Genet* 101: 643–651.
- Bello, T.B., Costa, A.G., da Silva, T.R., Paes, J.L., de Oliveira, M.V.M. (2020) Tomato quality based on colorimetric characteristics of digital images. *Rev Bras Eng Agric e Ambient* 24: 567–572.
- Bento, C.S., de Souza, A.G., Sudré, C.P., Pimenta, S., Rodrigues, R. (2017) Research Article Multiple genetic resistances in *Capsicum* spp. *Genet Mol Res*. doi: 10.4238/gmr16039789
- Bento, C.S., Rodrigues, R., Gonçalves, L.S.A., Oliveira, H.S., Santos, M.H., Pontes, M.C., Sudré, C.P. (2013) Inheritance of resistance to Pepper yellow mosaic virus in *Capsicum baccatum* var. *pendulum*. *Genet Mol Res* 12: 1074–1082.
- Bertin, N. (2000) Seasonal Evolution of the Quality of Fresh Glasshouse Tomatoes under Mediterranean Conditions, as Affected by Air Vapour Pressure Deficit and Plant Fruit Load. *Ann Bot* 85: 741–750.
- Bertolini, C. (2010) *Sistema para medição de cores utilizando espectrofotômetro*. Universidade Regional de Blumenau 96p.
- Betancourth, L.R., Quintero, C., Cuásquer, J., Graterol, E., García, M. (2020) Botánica comparación morfo-agronómica y molecular de catorce variedades de arroz (*Oryza sativa*) CON LAS Morpho-agronomic and molecular comparison of fourteen varieties of rice (*Oryza sativa*) with the lines that gave them the origin. *Acta Biológica Colomb* 27: 5–16.

- Bianchi, P.A., Silva, L.R.A. Da., Alencar, A.A.S. da., Santos, P.H.A., Pimenta, S., Sudré, C., Corte, L.E., Gonçalves, L.S., Rodrigues, R. (2020) Biomorphological Characterization of Brazilian *Capsicum chinense* Jacq. Germplasm. *Agronomy-Basel* 10: 1–17.
- Blat, S.F., Braz, L.T., Arruda, A.D.S. (2007) Avaliação de híbridos duplos de pimentão. *Hortic Bras* 25: 350–354.
- Bocianowski, J., Nowosad, K., Wróbel, B., Szulc, P. (2021) Identification of associations between ssr markers and quantitative traits of maize (*Zea mays* L.). *Agronomy* 11: 1–9.
- Bortolin, R.C., Caregnato, F.F., Divan Junior, A.M., Zanotto-Filho, A., Moresco, K.S., de Oliveira Rios, A., de Oliveira Salvi, A., Ortmann, C.F., de Carvalho, P., Reginatto, F.H., Gelain, D.P., Fonseca Moreira, J.C. (2016) Chronic ozone exposure alters the secondary metabolite profile, antioxidant potential, anti-inflammatory property, and quality of red pepper fruit from *Capsicum baccatum*. *Ecotoxicol Environ Saf* 129: 16–24.
- Bosland, P. (1996) *Capsicums: Innovative uses of an ancient crop*. Arlington 479-487.p.
- Botelho, M.R., Dalmolin, R.S.D., Pedron, F.D.A., De Azevedo, A.C., Rodrigues, R.B., Miguel, P. (2006) Medida da cor em solos do Rio Grande do Sul com a carta de Munsell e por colorimetria. *Cienc Rural* 36: 1179–1185.
- Braga, T.R., Pereira, R.C.A., Silveira, M.R.S., Silva, L.R., Silva, A.R., Oliveira, M.M.T. (2013) Caracterização físico-química de progênies de pimentas cultivadas em Paraipaba-CE. *Sci Plena* 9: 9–14.
- Brasil. (1997) Decreto-lei 9456 de 28 de abril de 1997. In: *Lei de proteção de cultivares*. *Diário oficial [da República Federativa do Brasil]*, 79.ed. Brasília: p. 8241–8246 8241–8246
- Brasil. (2006) Ato n.º2 de 22 de março de 2006. In: *Instruções para execução dos ensaios de distinguibilidade, homogeneidade e estabilidade de cultivares de pimentão e pimenta (Capsicum spp.)*, seção 1. Brasília: Diário oficial [da República Federativa do Brasil], p. 7 7
- Brasil. (2011) Proteção de Cultivares no Brasil. In: *Ministério da Agricultura*,

Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Desenvolvimento Agropecuário e Cooperativismo. Brasília: Mapa/ACS. 202, p. 30–39

Brasil. (2022) Cultivares registradas. In: Ministério da Agric. Pecuária e Abastecimento. https://sistemas.agricultura.gov.br/snpc/cultivarweb/cultivares_registradas. Acesso em 8 de fevereiro de 2022.

Brilhante, B.D.G., Santos, T. de O., Santos, P.H.A.D., Kamphorst, S.H., Neto, J.D.S., Rangel, L.H., Valadares, F.V., de Almeida, R.N., Rodrigues, R., Santos Júnior, A.C., Moulin, M.M. (2021) Phenotypic and molecular characterization of brazilian *Capsicum* germplasm. *Agronomy*. doi: 10.3390/agronomy11050854

Buso, G., Ciampi, A.Y., Moretzsohn, M. de C., Pedrosa, Z.A.D.S., Brondani, R.V. (2003) Marcadores Microssatélites em Espécies Vegetais. *Rev Biotechnol Ciência e Desenvol* 1–6.

Buso, G.S.C., Reis, A.M.M., Amaral, Z.P.S., Ferreira, M.E. (2016) Novel and highly informative *Capsicum* SSR markers and their cross-species transferability the Creative Commons Attribution ShareAlike (CC BY-SA) 4.0 License. *Genetics and Molecular Research*, vol 15-3. DOI <http://dx.doi.org/10.4238/gmr.15038689>

Cabral, N.S.S., Medeiros, A.M., Neves, L.G., Sudré, C.P., Pimenta, S., Coelho, V.J., Serafim, M.E., Rodrigues, R. (2017) Genotype x environment interaction on experimental hybrids of chili pepper. *Genet Mol Res* 16: 1–9.

Caixeta, F., Vilela, É., Pinho, D.R. Von., Guimarães, R.M., Henrique, P., Rezende, A., Cesar, H., Moreira, R. (2014) Physiological and biochemical alterations during germination and storage of habanero pepper seeds. *African J Agric Res* 9: 627–635.

Caliman, F.R., Henriques da Silva, D.J., Stringheta, P.C., Rezende Fontes, P.C., Rodrigues Moreira, G., Chartuni Mantovani, E. (2010) Quality of tomatoes grown under a protected environment and field conditions. *Idesia (Arica)* 28: 75–82.

Camargos, J.A. a., Gonçalez, J.C. (2001) A colorimetria aplicada como instrumento na elaboração de uma tabela de cores de madeira. *Bras Florest*

71: 30–41.

- Cardoso, R., Ruas, C.F., Giacomini, R.M., Ruas, P.M., Ruas, E.A., Barbieri, R.L., Rodrigues, R., Gonçalves, L.S.A. (2018) Genetic variability in Brazilian *Capsicum baccatum* germplasm collection assessed by morphological fruit traits and AFLP markers. *PLoS One* 13: 1–15.
- Carvalho, S.I.C. De., Bianchetti, L.D.B. (2009) Registration and protection of cultivars in Brazil: The experience of Embrapa Vegetables ' *Capsicum* breeding program. doi: 10.1590/S0102-05362009000200002
- Carvalho, S.I.C. De., Henz, G.P., Reifschneider, F.J.B. (2009) 'BRS Mari': nova cultivar de pimenta dedo-de-moça para processamento. *Hortic Bras* 2005: 571–573.
- Carvalho, M.S., de Oliveira Moulin Carias, C.M., Silva, M.A., da Silva Ferreira, M.F., de Souza, T.L.P.O., Posse, S.C.P., Ferreira, A. (2020) Genetic diversity and structure of landrace accessions, elite lineages and cultivars of common bean estimated with SSR and SNP markers. *Mol Biol Rep* 47: 6705–6715.
- Casquete, R., Velazquez, R., Hernandez, A., de Guia Cordoba, M., Aranda, E., Bartolome, T., Martin, A. (2021) Evaluation of the quality and shelf-life of cayenne (*Capsicum* spp.). *LWT - Food Sci Technol* 145: 111338.
- Chapa-Oliver, A., Mejía-Teniente, L. (2016) Capsaicin: From Plants to a Cancer-Suppressing Agent. *Molecules* 21: 931.
- CIE, Commission Internationale de l'Éclairage (2007) *Colorimetria*. Parte 4: CIE 1976 L*a*b* Espaço de cor. Norma CIE S014–4/E: Commission Internationale de l'Éclairage Viena, Áustria
- Chitarra, M.I.F., Chitarra, A.B. (2005) *Pós-colheita de frutos e hortaliças: Fisiologia e manuseio*. Lavras; ESAL/FAEPE 320p.
- Costa, R.A., Rodrigues, R., Sudré, C.P. (2002) Resistência genética à mancha bacteriana em genótipos de pimentão. *Hortic Bras* 20: 86–89.
- Costa, D.V. da., Paiva, C.L. de A., Bento, C. dos S., Sudré, C.P., Cavalcanti, T.F.M., Gonçalves, L.S.A., Viana, A.P., Rodrigues, R. (2021a) Breeding for Pepper yellow mosaic virus resistance and agronomic attributes in

- recombinant inbred lines of chili pepper (*Capsicum baccatum* L.) using mixed models. *Sci Horti* (Amsterdam). doi: 10.1016/j.scienta.2021.110025
- Costa, R.C. do N., Ferreira, N.L.B., De Andrade, R.O. (2021b) Physicochemical and Microbiological Analysis of Passion Fruit and Cachaça Jelly Added from Albedo as a Source of Pectin, and Molasses as a Source of Sugar. *J Culin Sci Technol* 00: 1–17.
- Crisosto, C.H., Crisosto, G.M., Metheney, P. (2003) Consumer acceptance of “Brooks” and “Bing” cherries is mainly dependent on fruit SSC and visual skin color. *Postharvest Biol Technol* 28: 159–167.
- Crispim, J.G., Rêgo, E.R., Rêgo, M.M., Nascimento, N.F.F., Barroso, P.A. (2017) Stigma receptivity and anther dehiscence in ornamental pepper. *Hortic Bras* 35: 609–612.
- Cruz, C.D. (2016) Programa Genes – Ampliado e integrado aos aplicativos R, Matlab e Selegen. *Acta Sci - Agron* 38: 547–552.
- Daher, R.F., Pereira, M.G., Pereira, A. Vander., Amaral Jr., A.T. do. (2002) Genetic divergence among elephantgrass cultivars assessed by RAPD markers in composit samples. *Sci Agric* 59: 623–627.
- Dana, W., Ivo, W. (2008) Computer image analysis of seed shape and seed color for flax cultivar description. *Comput Electron Agric* 61: 126–135.
- Darrigues, A., Hall, J., Van Der Knaap, E., Francis, D.M., Dujmovic, N., Gray, S. (2008) Tomato analyzer-color test: A new tool for efficient digital phenotyping. *J Am Soc Horti Sci* 133: 579–586.
- Dassie, L.A., Cabral Aleman, C., Carolina Mônico Moreira, A., Alessandra Mignacca, F., Roberta Leme Zanfolin, P., Reiners Carvalho, P. (2017) Produção irrigada de mudas d pimenta dedo de moça (*Capsicum baccatum*). *Colloq Agrar* 13: 128–131.
- DeWitt, D., Bosland, P.W. (2009) *The Complete Chile Pepper Book – A Gardener’s Guide to Choosing, Growing, Preserving and Cooking*. London: Portland.: Timber Press, 336p.
- Dhaliwal, M.S., Jindal, S.K., Gaikwad, A.K., Singh, K. (2013) Genetic Diversity

- Analysis and DNA Fingerprinting of Elite Chilli Pepper Lines Using SSR Markers. *Int J Veg Sci* 19: 207–216.
- Dhondt, S., Wuyts, N., Inzé, D. (2013) Cell to whole-plant phenotyping: The best is yet to come. *Trends Plant Sci* 18: 428–439.
- Dias, R., Curi, P.N., Pio, R., Bianchini, F.G., de Souza, V.R. (2018) Subtropical region cambuci accessions: Characterization and jam processing potential. *Rev Cienc Agron* 49: 307–314.
- Domenico, C.I., Coutinho, J.P., Godoy, H.T., de Melo, A.M.T. (2012) Caracterização agrônômica e pungência em pimenta de cheiro. *Hortic Bras* 30: 466–472.
- Doyle, J.J.; Doyle, J.L. (1987) A rapid DNA isolation method for small quantities of fresh tissues. *Phytochemistry*, 19: 11-15.
- Du, C.J., Sun, D.W. (2004) Recent developments in the applications of image processing techniques for food quality evaluation. *Trends Food Sci Technol* 15: 230–249.
- Durmus, D. (2020) CIELAB color space boundaries under theoretical spectra and 99 test color samples. *Color Res Appl* 45: 796–802.
- Ergüneş, G., Tarhan, S. (2006) Color retention of red peppers by chemical pretreatments during greenhouse and open sun drying. *J Food Eng* 76: 446–452.
- Eshbaugh, W.H. (1970) A Biosystematic and Evolutionary Study of *Capsicum baccatum* (Solanaceae). *Brittonia* 22: 31.
- Faleiro, F.G. (2007) *Marcadores genético-moleculares aplicados aos programas de 20 conservação e uso de recursos genéticos*. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 102p.
- FAOSTAT. (2014) Database results. Food and Agriculture Organization (FAO) of the United Nations, Rome, Italy. <http://faostat3.fao.org/faostat-gateway/go/to/browse/Q/QC/E>. Accessed 27 Dec 2018
- Fernandes, A.C. (2002) *Protótipo de visualizador para modelos de cor para medições de objetos em espectrofotômetros por reflectância*. Universidade

Regional de Blumenau 76p.

- Ferraz, R.M., Ragassi, C.F., Heinrich, A.G., Lima, M.F., Peixoto, J.R., Reifschneider, F.J. (2016) Caracterização morfoagronômica preliminar de acessos de pimentas cumari. *Hortic Bras* 34: 498–506.
- Ferreira, V. L. P.; Almeida, T. C. A. De; Pettinelli, M. L. C. De V.; Silva, M. A. A. P. Da; Chaves, J. B. P.; Barbosa, E. M. De M. (2000) *Análise sensorial: testes discriminativos e afetivos*. manual: série qualidade. Campinas, SBCTA. 127p.
- Ferreira, M.E. (2008) Genotipagem de coleções de germoplasma vegetal. In: Faleiro, F.G., Farias Neto, A.L., Ribeiro Júnior, W.Q. (ed) *Pré-melhoramento, melhoramento e pós-melhoramento: estratégias e desafios*. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, p. 75- 89. 75-89.
- Ferreira, M.D., Spricigo, P.C. (2017) *Colorimetria: Princípios e aplicações na agricultura*. Instrumentação em frutas e hortaliças 209–220.
- Fialho, L. M. de, Ferreira, R.L., li, G., Brito, V., Silva, D., Rodrigues, E., Iii, M., Celis, Â., Lopes, A., Ana, I., Peron, P. (2014) Potential for ornamental use of pepper accessions. *Ciência Rural* 44: 2010–2015.
- Figura, L.; Teixeira, A. A. (2007) Física dos alimentos: propriedades físicas- medição e aplicações. *Springer Science e Business Media*,
- Filgueira, F.A.R. (2012) *Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças*. 3.ed. Viçosa: UFV, 420p.
- Frank, C.A., Nelson, R.G., Simonne, E.H., Behe, B.K., Simonne, A.H. (2001) Consumer preferences for color, price, and vitamin C content of bell peppers. *HortScience* 36: 795–800.
- Fraser, B., Murphy, C., Bunting, F. (2005) *Color Management*. 2ª edição. United States of America 612p.
- Geleta, L.F., Labuschagne, M.T. (2006) Combining ability and heritability for vitamin C and total soluble solids in pepper (*Capsicum annuum* L.). *J Sci Food Agric* 86: 1317–1320.
- Gilliland, T.J., Gensollen, V. (2010) Review of the Protocols Used for Assessment of DUS and VCU in Europe – Perspectives. In: Huyghe C. (eds) *Sustainable*

- use of Genetic Diversity in Forage and Turf Breeding*. Dordrecht: Springer,
- Gomes, G.P., Constantino, L.V., Corte, L.E.-D., Riger, C.J., Chaves, D.S. de A., Gonçalves, L.S. (2019) Characterization of biochemical compounds and antioxidant activity of “dedo-de-moça” chili pepper accessions. *Hortic Bras* 37: 429–436.
- Gomes, G.P., Zeffa, D.M., Constantino, L.V., Baba, V.Y., Silvar, C., Pomar, F., Rodrigues, R., Gonçalves, L.S.A. (2022) Diallel analysis of the morphoagronomic, phytochemical, and antioxidant traits in *Capsicum baccatum* var. *pendulum*. *Hortic Environ Biotechnol* 62: 435–446.
- Gonçalves, L.S.A., Rodrigues, R., Bento, C. dos S., Robaina, R.R., Júnior, A.T. do A. (2011) Herança de caracteres relacionados à produção de frutos em *Capsicum baccatum* var. *pendulum* com base em análise dialélica de Hayman. *Rev Cienc Agron* 42: 662–669.
- Gonçalves, R.A.T. (2001) Utilização da tecnologia em colorimetria para controle da qualidade de tintas industriais. Faculdade de Engenharia Química de Lorena - FAENQUIL 89p.
- Gonzalo, M.J., Brewer, M.T., Anderson, C., Sullivan, D., Gray, S., Van Der Knaap, E. (2009) Tomato fruit shape analysis using morphometric and morphology attributes implemented in tomato analyzer software program. *J Am Soc Hortic Sci* 134: 77–87.
- Goulart, I.C.G.R., Merotto Junior, M.A., Nunes, A.L., Bered, F. (2011) Otimização da utilização de marcadores moleculares microssatélites e sua aplicação em estudos com plantas daninhas. *Planta Daninha* 29: 1175–1181.
- Gower, J. C. (1971). A General Coefficient of Similarity and Some of Its Properties International Biometric Society Stable. *International Biometric Society*, 27(4), 857–874. <https://doi.org/10.1021/acsami.7b04235>
- Granger, M., Eck, P. (2018) *Dietary Vitamin C in Human Health*. 1.ed. Elsevier Inc., 281–310p.
- Guadarrama-Lezama, A.Y., Jaramillo-Flores, E., Gutiérrez-López, G.F., Pérez-Alonso, C., Dorantes-Álvarez, L., Alamilla-Beltrán, L. (2014) Effects of Storage Temperature and Water Activity on the Degradation of Carotenoids

- Contained in Microencapsulated Chili Extract. *Dry Technol* 32: 1435–1447.
- Guimarães, L. (2001) *A Cor Como Informação: a construção biofísica, lingüística e cultural da simbologia das cores*. 3 ed, 151 pag.
- Gupta, V., Dorsey, G., Hubbard, A.E., Rosenthal, P.J., Greenhouse, B. (2010) Gel versus capillary electrophoresis genotyping for categorizing treatment outcomes in two anti-malarial trials in Uganda. *Malar J* 9: 1–8.
- Hata, S., Miyashita, Y.e Hanafusa, H. Human (1996) Sensitivity of color defects inspection. Proceedings of the 1996 IEEE IECON 22nd International Conference on Industrial Electronics, Control, and Instrumentation, 713–718.
- Hafsah, S., Firdaus, F. (2020) Correlation between Qualitative Characteristics and Genotype Resistance of Local and Introduced Pepper Varieties Against Anthracnose Disease. *J Trop Hortic* 3: 43.
- Hernández, M.S., Barrera, J., Martínez, O., Fernández-Trujillo, J.P. (2009) Postharvest quality of arazá fruit during low temperature storage. *LWT - Food Sci Technol* 42: 879–884.
- Howard, I. R., Smith, R. T., Wagner, A. B., Villalon, B., Burns, E. E. (1994) Provitamin A and Ascorbic Acid Content of Fresh Pepper Cultivars (*Capsicum annuum*) and Processed Jalapeños. *J Food Sci* 59: 362–365.
- Hue, H.T., Nghia, L.T., Minh, H.T., Anh, L.H., Trang, L.T.T., Khanh, T.D. (2018) Evaluation of Genetic Diversity of Local-Colored Rice Landraces Using SSR Markers. *Int Lett Nat Sci* 67: 24–34.
- Huh, J.H., Kang, B.C., Nahm, S.H., Kim, S., Ha, K.S., Lee, M.H., Kim, B.D. (2001) A candidate gene approach identified phytoene synthase as the locus for mature fruit color in red pepper (*Capsicum* spp.). *Theor Appl Genet* 102: 524–530.
- Hurtado-Hernandez, H., Smith, P.G. (1985) Inheritance of mature fruit color in *Capsicum annuum* L. *J Hered* 76: 211–213.
- IBGE. (2017) *Censo agropecuário de 2017*. In: Censo agropecuário de 2017. <https://sidra.ibge.gov.br/home/estatística/economia/agropecuaria/censoagro/2017/agropecuario.pdf>. Accessed 27 Dec 2018

- Icorcés de Guerra, N. (2001) Estudios cromosómicos de cuatro selecciones de *Capsicum chinense* Jacq. *Rev Cient UDO Agric* 1: 34–41.
- Indrabi, S.A., Malik, A.A., Malik, G., Hussain, K., Narayan, S., Nabi, A., Akhter, A., Sultan, A., Javeed, I. (2021) Genetic divergence among chilli (*Capsicum annum* L.) genotypes based on qualitative and quantitative traits. *Pharma Innov J* 10: 1033–1038.
- ISF. (2012) *View on Intellectual Property*. In: Int. Seed Fed. [http://www.worldseed.org/isf/onintellectualproperty.html.View_on_Intellectual_Property_2012\(2\).pdf](http://www.worldseed.org/isf/onintellectualproperty.html.View_on_Intellectual_Property_2012(2).pdf). Accessed 10 Dec 2018
- Islam, M.M., Hoque, M.E., Rabi, S.M.H.A., Ali, M.S. (2020) DNA Fingerprinting and Diversity Analysis of BRRI Hybrid Varieties and their Corresponding Parents. *Plant Tissue Cult e Biotech* 21: 189–198.
- ITAL. (2014) *Brasil ingredients trends 2020*. 1ª ed. Campinas, SP 389p.
- Jackman, P., Sun, D.W., Allen, P. (2011) Recent advances in the use of computer vision technology in the quality assessment of fresh meats. *Trends Food Sci Technol* 22: 185–197.
- Jones, H., Norris, C., Smith, D., Cockram, J., Lee, D., Sullivan, D.M.O., Mackay, I. (2012) Evaluation of the use of high-density SNP genotyping to implement UPOV Model 2 for DUS testing in barley. doi: 10.1007/s00122-012-2024-2
- Justino, E., Fonseca, M., Ferreira, M., Boiteux, L., Silva, P., Nascimento, W. (2018) Research Article Estimate of natural cross-pollination rate of *Capsicum annum* using a codominant molecular marker associated with fruit pungency. *Genet Mol Res*. doi: 10.4238/gmr16039887
- Kim, J.S., An, C.G., Park, J.S., Lim, Y.P., Kim, S. (2016) Carotenoid profiling from 27 types of paprika (*Capsicum annum* L.) with different colors, shapes, and cultivation methods. *Food Chem* 201: 64–71.
- Kläsener, G.R., Ribeiro, N.D., Casagrande, C.R., Arns, F.D. (2019) Consumer preference and the technological and nutritional quality of different bean colours. *Acta Sci - Agron* 42: 1–12.
- Krause, W., Viana, A.P., Cavalcante, N.R., Ambrósio, M., Santos, E.A., Vieira,

- H.D. (2017) Digital phenotyping for quantification of genetic diversity in inbred guava (*Psidium guajava*) families. *Genet Mol Res* 16: 1–11.
- Krutz, G. W; Gibson, H. G; Cassens, D. L; Zhang, M. (2000) Colour vision in forest and wood engineering. *Landwards*. V. 55, p. 2-9.
- Kuehni R.G. (2004) *Color: An Introduction to Practice and Principles*. Vol 2, Wiley, 216p.
- Kwon, Y.S., Lee, J.M., Yi, G.B., Yi, S.I., Kim, K.M., Soh, E.H., Bae, K.M., Park, E.K., Song, I.H., Kim, B.D. (2005) Use of SSR markers to complement tests of distinctiveness, uniformity, and stability (DUS) of pepper (*Capsicum annuum* L.) varieties. *Mol Cells* 19: 428–435.
- Kyrtziz, A.C., Skarlatos, D.P., Menexes, G.C., Vamvakousis, V.F., Katsiotis, A. (2017) Assessment of vegetation indices derived by UAV imagery for durum wheat phenotyping under a water limited and heat stressed Mediterranean environment. *Front Plant Sci* 8: 1–14.
- Lannes, S.D., Finger, F.L., Schuelter, A.R., Casali, V.W.D. (2007) Growth and quality of Brazilian accessions of *Capsicum chinense* fruits. *Sci Hortic (Amsterdam)* 112: 266–270.
- Leão, A.C. (2005) *Gerenciamento de cores para imagens digitais*. Universidade Federal de Minas Gerais 135p.
- Leão, A.C., Araújo, A. de A.; Souza, L.A.C. *Implementação de Sistema de Gerenciamento de Cores para Imagens Digitais*. In: De Paula, H.B. (Editor). Escola Regional de Informática de Minas Gerais 2006. Editora PUC-Minas, Belo Horizonte, MG, Brazil, ISBN no. 85 7669 093 4, cap. 16, 2006, pp 414-442.
- Lee, S. Bin., Kim, J.E., Kim, H.T., Lee, G.M., Kim, B.S., Lee, J.M. (2020) Genetic mapping of the c1 locus by GBS-based BSA-seq revealed Pseudo-Response Regulator 2 as a candidate gene controlling pepper fruit color. *Theor Appl Genet* 133: 1897–1910.
- Lee, H.S. (2000) Objective measurement of red grapefruit juice color. *J Agric Food Chem* 48: 1507–1511.

- Lefebvre, V., Goffinet, B., Chauvet, J.C., Caromel, B., Signoret, P., Brand, R., Palloix, A. (2001) Evaluation of genetic distances between pepper inbred lines for cultivar protection purposes: Comparison of AFLP, RAPD and phenotypic data. *Theor Appl Genet* 102: 741–750.
- Leite, F.N. (2006) *Calibração de dispositivos a cores utilizando uma câmera digital*. Universidade de Brasília 60p.
- Leite, P.S.S., Rodrigues, R., Silva, R.N.O., Pimenta, S., Medeiros, A.M., Bento, C.S., Gonçalves, L.S.A. (2016) Molecular and agronomic analysis of intraspecific variability in *Capsicum baccatum* var. *pendulum* accessions. *Genet Mol Res* 15: 1–16.
- León, J.J., López Elías, J., Huez López, M.A., García López, A.M., Soto Ortiz, R., Escoboza García, L.F. (2013) Postharvest quality and shelf life of green pepper (*Capsicum annuum* L.) grown under open-field and greenhouse conditions *Calidad. Idesia* 31: 35–42.
- León, K., Mery, D., Pedreschi, F., León, J. (2006) Color measurement in L*a*b* units from RGB digital images. *Food Res Int* 39: 1084–1091.
- Liotta, E., Pelicci, P.G., Titta, L. (2017) *A dieta smart food: Os 30 alimentos que estimulam a longevidade*. 1.ed. Rio de Janeiro 1–15p.
- List, T.P. (2013) *The Plant List*. In: Version 1.1.
- López, A., Piqué, M.T., Boatella, J., Romero, A., Ferrán, A., García, J. (1997) Influence of drying conditions on the hazelnut quality: III. Browning. *Dry Technol* 15: 989–1002.
- Lucinda, N., Nagata, T. (2012) Complete genome sequence of pepper yellow mosaic virus, a potyvirus, occurring in Brazil. *Arch Virol* 157: 1397–1401.
- Luz, P.B., Dos Santos, A.A.B., Ambrosio, V.C., Neves, L.G., Tavares, A.R. (2018) Selection of indexes to evaluate the genetic variability aiming ornamental use of peppers accessions. *Ornam Hortíc* 24: 7–11.
- Machado, R.Z. (2011) Elaboração de diretrizes de distinguibilidade, homogeneidade e estabilidade (DHE). In: *Proteção de cultivares no Brasil/Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de*

- Desenvolvimento Agropecuário e Cooperativismo*. Brasília: Mapa/ACS., p. 121- 142. 121-142.
- Maciel, G.M., Oliveira, C.S. de., Siquieroli, A.C.S., Melo, E.I. de., Oliveira, A.H.G. de. (2016) Genetic Dissimilarity Among the Physiochemical Characteristics of Fruit From Pepper Accessions. *Biosci J* 32: 978–985.
- Maciel, G.M., Gallis, R.B. de A., Barbosa, R.L., Pereira, L.M., Siquieroli, A.C.S., Peixoto, J.V.M. (2020) Image phenotyping of lettuce germplasm with genetically diverse carotenoid levels. *Bragantia* 79: 224–235.
- Mahajan, S., Das, A., Sardana, H.K. (2015) Image acquisition techniques for assessment of legume quality. *Trends Food Sci Technol* 42: 116–133.
- Maia, J.H., Ferreira, L.M.M., Castro, V.G. de. (2020) Influência dos extrativos na cor de madeiras da Caatinga. *Adv For Sci* 7: 1043–1048.
- Martinez, A.L.A., Araújo, J.S.P., Ragassi, C.F., Ceres, C., Janeiro, R. De. (2017) Variability among *Capsicum baccatum* accessions from Goiás, Brazil, assessed by morphological traits and molecular markers. *Genet Mol Res* 16: 1–13.
- Mascarenhas Maciel, G., Gallis, R.B. de A., Barbosa, R.L., Pereira, L.M., Siquieroli, A.C.S., Vitória Miranda Peixoto, J. (2019) Image phenotyping of inbred red lettuce lines with genetic diversity regarding carotenoid levels. *Int J Appl Earth Obs Geoinf* 81: 154–160.
- Mattos, D.G., de Oliveira Paiva, P.D., Mundim, A.S., dos Reis, M.V., Nery, E.M., Araújo, N.A.F., de Britto, J.M., da Silva, D.P.C. (2020) Digital images and in-person evaluation of anthurium “tropical” postharvest quality. *Ornam Hortic* 26: 166–176.
- McCaig, T.N. (2002) Extending the use of visible/near-infrared reflectance spectrophotometers to measure colour of food and agricultural products. *Food Res Int* 35: 731–736.
- McGuire, R.G. (1992) Reporting of Objective Color Measurements. *HortScience* 27: 1254–1255.
- Medeiros, A.M. (2012) Capacidade combinatória e potencial agrônômico de

- híbridos de *Capsicum baccatum* var. *pendulum* nas condições da região Norte Fluminense. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, RJ. 1–63p.
- Medeiros, A.M., Rodrigues, R., Gonçalves, L.S.A., Sudré, C.P., Oliveira, H.S. de., Santos, M.H. dos. (2014) Gene effect and heterosis in *Capsicum baccatum* var. *pendulum*. *Ciência Rural* 44: 1031–1036.
- Medeiros, A.M., Rodrigues, R., Costa, D.V., Pimenta, S., Oliveira, J.G. (2018) Non-parametric indexes in selecting hybrids of chili pepper. *Hortic Bras* 36: 27–32.
- Medeiros, A.D. De., Martins, M.S., Silva, L.J. Da., Pereira, M.D., León, M.J.Z., Dias, D.C.F. dos S. (2020) X-ray imaging and digital processing application in non-destructive assessing of melon seed quality André. *J Seed Sci* 42: 1–13.
- Meléndez-Martínez, A.J., Vicario, I.M., Heredia, F.J. (2005) Instrumental measurement of orange juice colour: A review. *J Sci Food Agric* 85: 894–901.
- Menksen, K.; Kahl, G. *Handbook of plant genome mapping*. Weinheim: Wiley, 2005. v. 1. 403 p.
- Minolta, K. (2007) *Precise Color Communication*. Japão 58p.
- Mitcham, B., Kader, A.A. (2000) Methods for determining quality of fresh commodities. *Perishables Handl Newsl* 2–5.
- Moe, K.T., Zhao, W., Song, H.S., Kim, Y.H., Chung, J.W., Cho, Y. Il., Park, P.H., Park, H.S., Chae, S.C., Park, Y.J. (2010) Development of SSR markers to study diversity in the genus *Cymbidium*. *Biochem Syst Ecol* 38: 585–594.
- Mojena, R. (1977) Hierarchical grouping methods and stopping rules: an evaluation. *Comput J* 20: 359–363.
- Moreira, A.F.P., Maurício, P., Fátima, C. De., Yumi, V., Giordani, W., Mendonça, I., Rodrigues, R. (2018) Genetic diversity, population structure and genetic parameters of fruit traits in *Capsicum chinense*. *Sci Hort (Amsterdam)* 236: 1–9.
- Moscone, E.A., Scaldaferrro, M.A., Grabiele, M., Cecchini, N.M., García, Y.S., Jarret, R., Daviña, J.R., Ducasse, D.A., Gloria, E., Ehrendorfer, F. (2007) The

- Evolution of Chili Peppers (*Capsicum* – Solanaceae): a Cytogenetic Perspective *. 137–170.
- Moulin, M.M., Rodrigues, R., Ribeiro, S., Gonçalves, L., Bento, C.S., Sudré, C.P., Vasconcelos, I.M., Gomes, V.M. (2014) Trypsin inhibitors from *Capsicum baccatum* var. *pendulum* leaves involved in pepper yellow mosaic virus resistance. *Genet Mol Res* 13: 9229–9243.
- Moulin, M.M., Rodrigues, R., Bento, C.S., Gonçalves, L.S.A., Santos, J.O., Sudré, C.P., Viana, A.P. (2015a) Genetic dissection of agronomic traits in *Capsicum baccatum* var. *pendulum*. *Genet Mol Res* 14: 2122–2132.
- Moulin, M.M., Rodrigues, R., Ramos, H.C.C., Bento, C.S., Sudré, C.P., Gonçalves, L.S.A., Viana, A.P. (2015b) Construction of an integrated genetic map for *Capsicum baccatum* L. *Genet Mol Res* 14: 6683–6694.
- Nankar, A.N., Tringovska, I., Grozeva, S., Todorova, V., Kostova, D., Pereira-Dias, L., Fita, A., Vilanova, S., Sánchez-López, E., Rodríguez-Burruezo, A. (2020) Application of high-throughput phenotyping tool Tomato Analyzer to characterize Balkan *Capsicum* fruit diversity. *Sci Hortic (Amsterdam)* 260: 109245.
- Nascimento, W.M. (2011) *Hortaliças: Tecnologia de Produção de Sementes*. Brasília, DF 316p.
- Neto, H.Z., Borsuk, L.G. da M., Dos Santos, L.R.F., Angeli, H.S., Berton, G.S., Sousa, L.L. de. (2020) Genetic diversity and population structure of sugarcane (*Saccharum* spp.) accessions by means of microsatellites markers. *Acta Sci - Agron* 42: 1–10.
- Oliveira, A.C.M., Balaban, M.O. (2006) Comparison of a colorimeter with a machine vision system in measuring color of Gulf of Mexico sturgeon fillets. *Am Soc Agric Biol Eng* 22: 583–587.
- Oliveira, H.S. de., Rodrigues, R., Bento, S., Mendes, A., Pombo, C., Farias, M., Pio, A. (2015) Towards a new strategy to breed an autogamous plant : A case of study in *Capsicum baccatum* var. *pendulum*. *Sci Hortic (Amsterdam)* 192: 279–286.
- Orellana-Escobedo, L., Ornelas-Paz, J.J., Olivas, G.I., Guerrero-Beltran, J.A.,

- Jimenez-Castro, J., Sepulveda, D.R. (2012) Determination of Absolute Threshold and Just Noticeable Difference in the Sensory Perception of Pungency. *J Food Sci* 77: 135–139.
- Paran, I., Van Der Knaap, E. (2007) Genetic and molecular regulation of fruit and plant domestication traits in tomato and pepper. *J Exp Bot* 58: 3841–3852.
- Pathare, P.B., Opara, U.L., Al-Said, F.A.J. (2013) Colour Measurement and Analysis in Fresh and Processed Foods: A Review. *Food Bioprocess Technol* 6: 36–60.
- Peña-Yam, L.P., Muñoz-Ramírez, L.S., Avilés-Viñas, S.A., Canto-Flick, A., Pérez-Pastrana, J., Guzmán-Antonio, A., Santana-Buzzy, N., Aguilera-Cauich, E.A., Mijangos-Cortés, J.O. (2019) Analysis of Genetic Parameters of Habanero Pepper (*Capsicum chinense* Jacq.) in the Yucatan, Mexico. *HortScience* 54: 429–433.
- Pereira-Dias, L., Fita, A., Vilanova, S., Sánchez-López, E., Rodríguez-Burruezo, A. (2020) Phenomics of elite heirlooms of peppers (*Capsicum annum* L.) from the Spanish centre of diversity: Conventional and high-throughput digital tools towards varietal typification. *Sci Hortic (Amsterdam)* 265: 109245.
- Pérez-Grajales, M., Martínez-Damián, M.T., Cruz-Alvarez, O., Potrero-Andrade, S.M., Peña-Lomelí, A., González-Hernández, V.A., Villegas-Monter, A. (2019) Content of capsaicinoids and physicochemical characteristics of manzano hot pepper grown in greenhouse. *Not Bot Horti Agrobot Cluj-Napoca* 47: 119–127.
- Perry, L., Perry, L., Dickau, R., Zarrillo, S., Holst, I., Pearsall, D.M., Piperno, D.R., Berman, M.J., Cooke, R.G., Rademaker, K., Ranere, A.J., Raymond, J.S., Sandweiss, D.H., Scaramelli, F. (2014) Starch fossils and the domestication and dispersal of chili peppers (*Capsicum* spp. L.) in the Americas. 986: 10–13.
- Pickersgill, B. (1997) Genetic Resources and Breeding of Aubergine.pdf. *Euphytica* 93: 129–133.
- Pidigam, S., Thuraga, V., Munnam, S.B., Amarapalli, G., Kuraba, G., Pandravada, S.R., Nimmarajula, S., Sudini, H.K. (2021) Genetic diversity, population

- structure and validation of SSR markers linked to Sw-5 and I-2 genes in tomato germplasm. *Physiol Mol Biol Plants* 27: 1695–1710.
- Pilon, L., Guedes, J.S., Bitencourt, B.S., Melo, R.A. de C., Vendrame, L.P.C., Amaro, G.B. (2021) Quality characterization, phenolic and carotenoid content of new orange, cream and yellow-fleshed sweetpotato genotypes. *Hortic Bras* 39: 299–304.
- Pimenta, S., Rodrigues, R., Sudré, C.P., Moraes, J.G.T., Bento, C. dos S., Medeiros, A.M. (2016) Protecting vegetable cultivars in Brazil: a chili pepper case-study research Samy. *Hortic Bras* 34: 247–253.
- Ping, E.Y.S., Uthairatanakij, A., Laohakunjit, N., Jitareerat, P. (2019) Effects of Drying Temperature and Time on Color , Bioactive Compounds , and Antioxidant Activity in ‘ Hua Ruea ’ Chili Fruit (*Capsicum annum*). *Food and Applied Bioscience Journal*, 7(3), 1–15. Retrieved from <https://li01.tci-thaijo.org/index.php/fabjournal/article/view/176595>
- Pompeu Junior, J., Blumer, S., De Resende, M.D.V. (2013) Avaliação genética de seleções e híbridos de limões cravo, volkameriano e Rugoso como porta-enxertos para laranjeiras Valência na presença da morte súbita dos citros. *Rev Bras Frutic* 35: 199–209.
- Popovsky, S., Paran, I. (2000) Molecular genetics of the y locus in pepper: Its relation to capsanthin- capsorubin synthase and to fruit color. *Theor Appl Genet* 101: 86–89.
- Potokina, E.K., Alekseeva, E.A., Lysenko, N.S., Eggi, E.E. (2012) Genetic diversity of russian advanced wheat cultivars revealed with SSR markers. *J Stress Physiol Biochem* 8: 2012.
- Quevedo, R.A., Aguilera, J.M., Pedreschi, F. (2010) Color of salmon fillets By computer vision and sensory panel. *Food Bioprocess Technol* 3: 637–643.
- Ramalho, M.A.P., Toledo, F.H.R.B., Souza, J.C. (2010) Melhoramento genético de plantas no Brasil. In: JC; Teixeira, R. (eds). (ed) *Competências em melhoramento genético de plantas no Brasil*. Viçosa: Arka, p. 17–37 17–37
- Reategui-Betancourt, J.L., Alvarenga Arriel, D.A., Caldeia, S.F., Higa, A.R., Marques, R.M., Gonçalves, I.D.S., Martinez, D.T. (2021) Morphological

- descriptors for the characterisation of teak clones cuttings (*Tectona grandis* L.f.). *Rev Arvore* 45: 1–10.
- Reddy, U.K., Almeida, A., Abburi, V.L., Alaparthy, S.B., Unselt, D., Hankins, G., Park, M., Choi, D., Nimmakayala, P. (2014) Identification of gene-specific polymorphisms and association with capsaicin pathway metabolites in *Capsicum annuum* L. collections. *PLoS One* 9: 1–10.
- Rego, C.H.Q., França-Silva, F., Gomes-Junior, F.G., de Moraes, M.H.D., de Medeiros, A.D., da Silva, C.B. (2020) Using multispectral imaging for detecting seed-borne fungi in cowpea. *Agric* 10: 1–12.
- Rêgo, E.R. do., Rêgo, M.M. do., Cruz, C.D., Casali, F.L.F., Dias, V.W. (2011) Phenotypic diversity, correlation and importance of variables for fruit quality and yield traits in Brazilian peppers (*Capsicum baccatum*). *Genet Resour Crop Evol* 58: 909–918.
- Régula, L.M. (2004) *Padrões Virtuais e Tolerâncias Colorimétricas no Controle Instrumental das Cores*. Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro 20p.
- Reis, D.R., Barbosa, C.M.D., Silva, F.S., Porto, A.G., Soares, E.J.O. (2015) Summary for Policymakers. In: Intergovernmental Panel on Climate Change. (ed) *Climate Change 2013 - The Physical Science Basis*. Cambridge: Cambridge University Press, p. 1–30 1–30
- Reis, L.C.R. dos., Facco, E.M.P., Flôres, S.H., Rios, A. de O. (2018) Stability of functional compounds and antioxidant activity of fresh and pasteurized orange passion fruit (*Passiflora caerulea*) during cold storage. *Food Res Int* 106: 481–486.
- Reis, R.C., Viana, E.D.S., Fonseca, N., Almeida, J.M., Filho, J.A.D.A.R., Guedes, I.S.A. (2021) Physical, chemical and sensory attributes of fruits of ten mango varieties grown under organic production system¹. *Rev Caatinga* 34: 452–459.
- Rex, F., Hirschler, A., Scharfenberger-Schmeer, M. (2020) SSR-Marker Analysis—A Method for *S. cerevisiae* Strain Characterization and Its Application for Wineries. *Fermentation* 6: 101.

- Ribeiro, C., Reifschneider, F., Carvalho, S. (2020) *Embrapa's Capsicum Breeding Program — Looking back ... into the Future. 2: 1–26.*
- Ribeiro, C.S. da C., Carvalho, S.I.C. de., Heinrich, A.G., Reifschneider, F.J.B. (2018) New cultivar BRS Tui: a new Biquinho-type pepper cultivar released by Embrapa. *Hortic Bras* 36: 526–528.
- Ribeiro, C.S.C. (2012) Qualidade de páprica. *Hortic Bras* 30: 8405–8409.
- Ribeiro, C.S.C., Lopes, C.A., Carvalho, S.I.C., Henz, G.P., Reifschneider, F.J.B. (2000) *Pimentas Capsicum*. Brasília, DF: EMBRAPA Hortaliças, 200p.
- Rigon, A., Leonardi, B., Miron, D., Schapoval, E., Rodrigues, J., Oliveira, D., Gosmann, G. (2012) Antioxidant and anti-inflammatory properties of *Capsicum baccatum*: From traditional use to scientific approach. *J Ethnopharmacol* 139: 228–233.
- Rodrigues, R., Gonçalves, L.S., Bento, C. dos S., Sudré, C.P., Robaina, R.R., Amaral Júnior, A.T. do. (2012) Combining ability and heterosis for agronomic traits in chili pepper. *Hortic Bras* 30: 226–233.
- Rodrigues, I., Rodrigues, N., Marx, Í.M.G., Veloso, A.C.A., Ramos, A.C., Pereira, J.A., Peres, A.M. (2020) Discrimination of sweet cherry cultivars based on electronic tongue potentiometric fingerprints. *Appl Sci* 10: 1–11.
- Rodríguez, G.R., Moysenko, J.B., Robbins, M.D., Morejón, N.H., Francis, D.M., van der Knaap, E. (2010) Tomato analyzer: A useful software application to collect accurate and detailed morphological and colorimetric data from two-dimensional objects. *J Vis Exp* 1–12.
- Saito, M., Yoneshiro, T. (2013) Capsinoids and related food ingredients activating brown fat thermogenesis and reducing body fat in humans. *Curr Opin Lipidol* 24: 71–77.
- Salgotra, R.K., Neal Stewart, C. (2020) Functional markers for precision plant breeding. *Int J Mol Sci* 21: 1–33.
- Sampaio, J.A., França, S.C.A., Braga, P.F.A. (2007) *Tratamento de Minérios: práticas laboratoriais*. 570p.
- Sanmart, P., Gambino, M., Fuentes, E., Serrano, M. (2020) A Simple, Reliable,

- and Inexpensive Solution for Contact Color Measurement in Small Plant Samples. *Sensors (Switzerland)* 20: 1–19.
- Santa-Catarina, R., Vettorazzi, J.C.F., Cortes, D.F.M., Santana, J.G.S., Poltronieri, T.P. de S., Miranda, D.P., Pirovani, A.A.V., Moreira, N.F., Vivas, M., Pereira, M.G. (2020) Phenotypic characterization of recurrent selection S1 Papaya (*Carica papaya* L.) families by multivariate approach. *Euphytica* 216: 1–13.
- Sant’Anna, C.Q.S.S., de Oliveira, T.R.A., Gravina, G. de A., da Cruz, D.P., Gomes, A.B.S., Daher, R.F., Vivas, M., de Oliveira, G.H.F., Entringer, G.C., Coelho, F.C. (2020) Distinctness, uniformity and stability and GT biplot tests for the selection of snap bean lines. *Hortic Bras* 38: 370–377.
- Santos, J.X., Vieira, H.C., Souza, D.V., Costa, P.A.B., Muñiz, G.I.B., Soffiatti, P., Nisgoski, S. (2021) Characterization of wood popularly known as “louros” in the brazilian amazon by visible spectroscopy and cielab parameters. *For Syst.* doi: 10.5424/FS/2021302-17943
- Sasmita, E., Restiwijaya, M., Yulianto, E., Yuliani., Arianto, F., Kinandana, A.W., Nur, M. (2019) Effect of ozone technology applications on physical characteristics of red cayenne pepper (*Capsicum frutescens* L.) preservation. *J Phys Conf Ser* 1217: 012007.
- Schanda, J. (2007) *Colorimetry: understanding the CIE system*. Inc., Hoboken, New Jersey 1–459p.
- Sharmin, A., Hoque, M.E., Haque, M.M., Khatun, F. (2018) Molecular Diversity Analysis of Some Chilli (*Capsicum* spp.) Genotypes Using SSR Markers. *Am J Plant Sci* 09: 368–379.
- Soares, R.S., Ribeiro, C.S. da C., Ragassi, C.F., de Carvalho, S.I.C., Maldonade, I.R., Filho, J.G. da S., Braz, L.T., Reifschneider, F.J.B. (2020) New Brazilian lines of Habanero pepper (*Capsicum chinense*): Morpho-agronomic and biochemical characterization in different environments. *Sci Hortic (Amsterdam)* 261: 108941.
- Soethe, C., Steffens, C.A., Mattos, L.M., Ferreira, N.A., Mayer, D.M. (2016) Postharvest quality and functional compounds in “dedo-de-moça” ‘BRS Mari’ pepper fruit at different stages of maturity. *Ciência Rural* 46: 1322–1328.

- Stangerlin, I.M., da Costa, A.F., Gonçalves, J.C., Pastore, T.C.M., Garlet, A. (2013) Monitoramento da biodeterioração da madeira de três espécies amazônicas pela técnica da colorimetria. *Acta Amaz* 43: 429–438.
- Tripodi, P., Greco, B. (2018) Large Scale Phenotyping Provides Insight into the Diversity of Vegetative and Reproductive Organs in a Wide Collection of Wild and Domesticated Peppers (*Capsicum* spp.). *Plants* 7: 103.
- UPOV. (2013) Document TGP/15 Guidance on the use of biochemical and molecular markers in the examination of Distinctness, Uniformity and Stability (DUS). In: Int. UNION Prot. NEW Var. PLANTS. Document TGP/15 Guidance on the use of biochemical and molecular markers in the examination of Distinctness, Uniformity and Stability (DUS) http://www.upov.int/edocs/tgpdocs/en/tgp_15.pdf %3E. Accessed 13 Dec 2018
- Vásquez, R.H. (2015) *Comparação da medida de cor de pescado entre sistema de visão computacional e colorímetro convencional no frescor do pescado*. Universidade Federal do Rio Grande 1–81p.
- Vélez, M.D., Ibáñez, J. (2012) Assessment of the uniformity and stability of grapevine cultivars using a set of microsatellite markers. *Euphytica* 186: 419–432.
- Vieira, D.A. de P., Caliari, M., de SOUZA, E.R.B., Soares Júnior, M.S. (2020) Methods for and pigments extraction and determination of color in Tomato for processing cultivars. *Food Sci Technol* 40: 11–17.
- Villadiego, F., Alvis, A., Arrázola, G.S. (2019) Evaluation of firmness and relationship with color coordinates cielab of the papaya (*Carica papaya* L.) Tainung f1 cultivated in the high sinú (Córdoba – Colombia). *Rev Ital Ciência dos Aliment* 13–20.
- Villela, J.C.B., Barbieri, R.L., Castro, C.M., Neitzke, R.S., Vasconcelos, C.S., Mistura, C.C., Priori, D. (2014) Caracterização molecular de variedades crioulas de pimentas (. *Hortic Bras* 32: 131–137.
- Wang, D., Bosland, P.W. (2006) The genes of *Capsicum*. *HortScience* 41: 1169–1187.

- Werner, S.S., Coelho, S.R.M.H., Poncio, A.P., Ferreira, L. (2009) Use of digital images for color evaluation in “banana prata” submitted to different post-harvest treatments. *Semin Agrar* 30: 381–388.
- Wu, D., Sun, D.W. (2013) Colour measurements by computer vision for food quality control - A review. *Trends Food Sci Technol* 29: 5–20.
- Xiao, H.-W., Law, C.-L., Sun, D.-W., Gao, Z.-J. (2014) Color Change Kinetics of American Ginseng (*Panax quinquefolium*) Slices During Air Impingement Drying. *Dry Technol* 32: 418–427.
- Yam, K.L., Papadakis, S.E. (2004) A simple digital imaging method for measuring and analyzing color of food surfaces. *J Food Eng* 61: 137–142.
- Yang, X.H., Deng, L.Z., Mujumdar, A.S., Xiao, H.W., Zhang, Q., Kan, Z. (2018) Evolution and modeling of colour changes of red pepper (*Capsicum annuum* L.) during hot air drying. *J Food Eng* 231: 101–108.
- Yarnes, S.C., Ashrafi, H., Reyes-Chin-Wo, S., Hill, T.A., Stoffel, K.M., Van Deynze, A. (2013) Identification of QTLs for capsaicinoids, fruit quality, and plant architecture-related traits in an interspecific *Capsicum* RIL population. *Genome* 56: 61–74.
- Zhao, Y., Wang, Y., Wang, L., Zhang, D. (2020) Molecular identification of mung bean accessions (*Vigna radiata* L.) from Northeast China using capillary electrophoresis with fluorescence-labeled SSR markers. *Food Energy Secur* 9: 1–29.