

## Peculiar genetic traits in black chickpeas from Apulia, Italy

Nicoletta Bardaro<sup>1</sup>, Concetta Lotti<sup>2</sup>, Rosa Mazzeo<sup>1</sup>, Claudio De Giovanni<sup>1</sup>, Cinzia Montemurro<sup>1</sup>, Luigi Ricciardi<sup>1</sup>, Stefano Pavan<sup>1</sup>

Plant genetics and breeding group of the LeGeReTe Team – University of Bari Aldo Moro<sup>1</sup> and University of Foggia<sup>2</sup>

Chickpea (*Cicer arietinum* L.) is one of the most important legumes worldwide. It represents a source of essential amino acids and proteins. Two commercial types of chickpea, differing for seed morphology, are grown globally: *desi* and *kabuli*. *Desi* seeds, small and dark-coloured, are mainly grown in Asia and Ethiopia, whereas *kabuli* seeds, large and cream-coloured, are generally produced in the Mediterranean area and Mexico. A third, uncommon type of chickpea has a centuries-long tradition of cultivation in the region of Apulia in the southeast of Italy and was recently reported to be darker and bigger than common *desi* types. It is called black chickpea (cece nero, in Italian) (Fig.1) and gained the “Slow-food” quality mark in 2013.



Fig.1. Apulian black-seeded chickpea

Similarly to several traditional landraces, Apulian black chickpea is being replaced by modern cultivars, selected for improved agronomic and commercial traits, and is thus seriously at risk of genetic erosion.

The study of genetic diversity is of great importance for the efficient safeguard of plant germplasm and its utilization for breeding purposes.

The main objective of this work was the characterization of a global chickpea germplasm collection, including several Italian landraces and, for the first time, the Apulian black chickpea by the application of a modern molecular analysis tool, referred to as genotyping-by-sequencing (GBS).

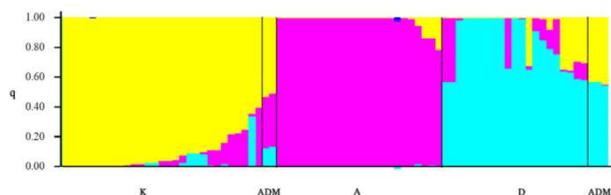


Fig. 2. Population structure analysis of cultivated chickpea germplasm. Results are shown for K=3, which corresponds to the number of subpopulations, named K, A and D as they mostly group *Kabuli*, Apulian black chickpea, and *desi* genotypes.

Genetic diversity analyses indicated the identification of a genetic cluster corresponding to Apulian black chickpeas, which was clearly distinct at both genetic and phenotypic levels from *desi* and *kabuli* accessions (Figs. 2-3).

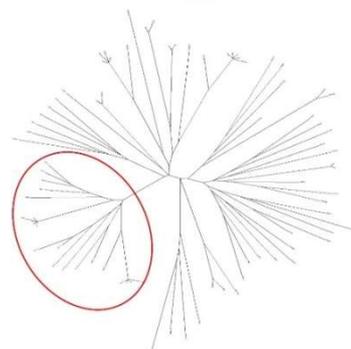


Fig. 3. Neighbor-joining tree obtained from GBS analysis. A clade only containing Apulian black chickpea accessions is circled.

Interestingly, we found that four Apulian black chickpea accessions were genetically close to the cream-coloured seed *Kabuli* genotypes and grouped in K (*Kabuli*) subpopulation. Apart from the color, seeds of these accessions are similar to *kabuli* types (Fig. 4), therefore we conclude that these accessions might originate from artificial or natural crosses between the Apulian black chickpea and *kabuli* genotypes.

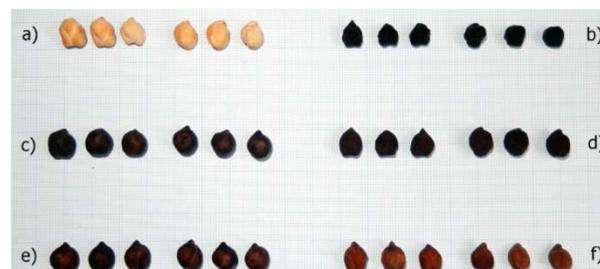


Fig. 4. Seed phenotype of a typical *kabuli* accession (a), a typical accession of Apulian black chickpea (b) and the four accessions of black chickpea (c), (d), (e) and (f), genetically closed to *Kabuli* genotypes.

Overall, our findings provide information on genetic relationships within cultivated chickpea and highlight a gene pool of great interest for the scientific community and chickpea breeding, which is limited by the low genetic diversity available in the primary gene pool. In addition, within the LeGeReTe project, this study allowed the selection of a *core collection* of accessions representing diversity destined to further molecular, biochemical and nutritional characterization.

## Le caratteristiche genetiche uniche del cece nero della Murgia Carsica

Nicoletta Bardaro<sup>1</sup>, Concetta Lotti<sup>2</sup>, Rosa Mazzeo<sup>1</sup>, Claudio De Giovanni<sup>1</sup>, Cinzia Montemurro<sup>1</sup>, Luigi Ricciardi<sup>1</sup>, Stefano Pavan<sup>1</sup>

Gruppo di genetica e miglioramento genetico del LeGeReTe Team – Università degli Studi di Bari Aldo Moro<sup>1</sup> ed Università di Foggia<sup>2</sup>

Il cece o *Cicer arietinum* L. è la seconda leguminosa maggiormente prodotta a livello mondiale e rappresenta una componente importante nella dieta umana per l'elevato contenuto in proteine ed aminoacidi essenziali. Ad oggi l'India si conferma Paese leader nella produzione di ceci, seguito da Pakistan, Turchia, Etiopia e Messico. Vi sono essenzialmente due tipologie commerciali di cece, i *desi* e i *kabuli*, che si distinguono per le caratteristiche morfologiche dei semi. I *desi* presentano semi piccoli, spigolosi e scuri e sono maggiormente prodotti in Asia ed Etiopia, mentre i *kabuli*, dai semi grandi e di colore beige, sono generalmente prodotti nelle regioni del Mediterraneo e in Messico. Una terza tipologia è costituita dal "Cece nero della Murgia Carsica" (Fig.1) che si distingue per le caratteristiche peculiari dei semi, che presentano dimensioni intermedie rispetto a quelle di *desi* e *kabuli*, e sono di colore nero. I ceci neri, tradizionalmente coltivati in Puglia, sono diventati presidio Slow-Food nel 2013.



F1. Cece nero della Murgia carsica

Come per altre varietà locali, il cece nero è seriamente esposto al rischio di erosione genetica, dovuto all'affermarsi di cultivar commerciali moderne.

Recenti attività condotte dal Gruppo di genetica e miglioramento genetico del LeGeReTe Team sono state incentrate sulla caratterizzazione di una collezione mondiale di germoplasma di cece, attraverso l'utilizzo di un moderno strumento di analisi molecolare quale il *genotyping-by-sequencing* (GBS). I risultati hanno evidenziato come i ceci neri costituiscano un pool genico peculiare rispetto a *desi* e *kabuli* (Figg. 2-3), e quindi siano distinguibili non solo morfologicamente, ma anche geneticamente.

Le analisi genetiche hanno anche mostrato come quattro accessioni di cece nero entrino a far parte nel cluster genetico riferibile alla tipologia *kabuli*. In effetti, i semi di queste accessioni, sebbene siano di colore scuro, presentano una morfologia molto simile a quella dei *kabuli* (Fig. 4). Ciò suggerisce che esse si siano originate in seguito ad incroci

naturali o artificiali tra genotipi appartenenti alle popolazioni di cece nero e *kabuli*.

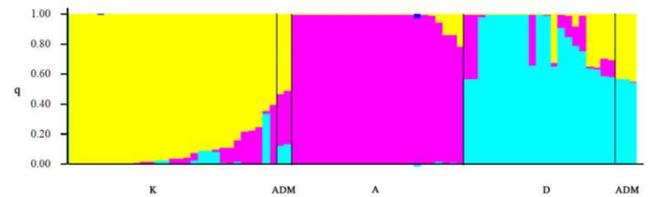


Fig. 2. Analisi di struttura della popolazione sulla collezione di germoplasma di cece. I risultati mostrano la presenza di tre sottopopolazioni ( $K=3$ ) K, A e D appartenenti rispettivamente ai gruppi *Kabuli*, cece nero e *desi*.

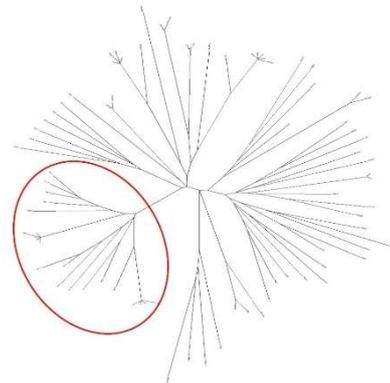


Fig. 3. Albero filogenetico ottenuto dall'analisi GBS. La *clade* contenente solo ceci neri pugliese è cerchiata.

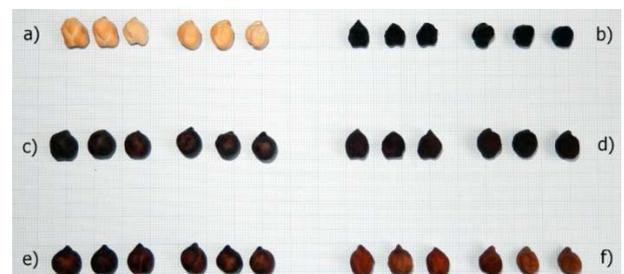


Fig. 4. Semi di accessioni di *Kabuli* e cece nero: a) accessione di un *kabuli* (cv. Cometa); b) accessione di cece nero; c), d), e) e f) accessioni di cece nero che ricadono nel gruppo dei *kabuli*.

In generale, i risultati dello studio offrono informazioni riguardo alle relazioni genetiche presenti nel germoplasma di cece, e individuano un pool genico di grande interesse per la comunità scientifica e il miglioramento genetico.

Inoltre, nell'ambito del Progetto LeGeReTe, l'analisi di diversità genetica ha consentito la selezione di una *core collection* costituita da accessioni rappresentative della diversità e meritorie di ulteriori studi molecolari e nutrizionali.