Plant Prod., 2025, 48(2),173 -187
https://plantproduction.scu.ac.ir/
ISSN (P): 2588-543X; **ISSN (E):** 2588-5979
Doi: 10.22055/ppd.2025.48468.2235
Received: 27 November 2024
Accepted: 01 January 2025

Plant Productions
Research Article

Evaluation of morphological variability of bird's-foot trefoil (*Lotus corniculatus* L.) accessions in Khuzestan province

Zahra Sadat Mousavi [1], Fatemeh Nasernakhaei [2*]

1. M.Sc. Graduate, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
2. Assistant Professor, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

Citation: Mousavi, Z.S., Nasernakhaei, F. (2025). Evaluation of morphological variability of bird's-foot trefoil (*Lotus corniculatus* L.) accessions in Khuzestan province. *Plant Productions,* 48(2),173-187.

Abstract

Introduction

Bird's-foot trefoil (*Lotus corniculatus* L.; Persian: Yonjeh pa'kalaghi) is a salt-tolerant, nitrogen-fixing forage legume from the Fabaceae family, valued for its adaptability to diverse environments and its role in sustainable agriculture. The species exhibits considerable polymorphism and morphological variation across its natural range, with the Mediterranean region recognized as a center of genetic diversity. Despite its ecological and agronomic significance, morphological diversity in natural habitats of Iran remains understudied, especially in the southwest, where no comprehensive evaluation has been conducted. This study addresses this gap by assessing morphological traits in accessions collected from multiple areas of the region to better understand variation under natural conditions.

Material and Methods

This study investigated the morphological diversity of bird's-foot trefoil by collecting 126 genotypes from nine distinct accessions across Khuzestan province. The accessions included Ahvaz, Sheyban, Mollasani, Hamidiyeh, Susangerd, Karun, Minoo Island, Hendijan, and Shavoor. Sample collection was conducted from March 2023 to January 2024 in natural habitats to capture the full range of phenotypic variation. A total of 18 morphological traits were evaluated-14 qualitative and 4 quantitative-selected based on the guidelines of the International Board for Plant Genetic Resources (IBPGR) and previous research findings. The qualitative traits included growth habit, vegetative form, relative size of the three leaflets, leaflet shape, leaflet indumentum, leaflets thickness, leaflet apex, stem firmness, stem cross-sectional shape, stem color, stem indumentum, corolla color, calyx teeth shape, and calyx indumentum. The quantitative traits measured were central leaflet length, central leaflet width, the ratio of calyx teeth to calyx tube length, and plant height. Data were analyzed using multivariate statistical methods. Cluster analysis was performed using Ward's method and the Euclidean distance coefficient to group accessions. The accuracy of clustering was validated through discriminant function analysis using SPSS software. In addition, principal component analysis (PCA) was conducted in R software to identify the key traits contributing to morphological variability and to visualize the relationships among genotypes.

* **Corresponding Author:** Fatemeh Nasernakhaei
E-mail: f.nasernakhaei@scu.ac.ir

© 2025 The Author(s). Published by Shahid Chamran University of Ahvaz. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited

Results and Discussion

Analysis of vegetative form among the studied genotypes revealed that 88.10% of the genotypes were herbaceous, while 11.90% exhibited woody structure. Regarding growth habit, 65.87% of genotypes were decumbent, 22.22% were erect or ascending, and 11.90% were like procumbent or prostrate. The Minoo Island accession was distinct in both vegetative form (woody) and growth habit (similar to procumbent or prostrate plants), setting it apart from the other accessions. Considerable variation was observed in several qualitative traits, including leaflet size (three leaflets per leaf, same or different sizes), leaflet apex, leaflet shape, and corolla color within the accessions, demonstrating high variation even on a single plant. Conversely, certain traits, such as stem color and cross-sectional shape, exhibited no variation. Analysis of variance (ANOVA) indicated that the three of the four quantitative traits were statistically significant at the 5% level. Duncan's multiple range test effectively distinguished homogeneous groups and identified similarities and differences among accessions. Cluster analysis grouped the accessions based on morphological traits, with Minoo Island forming a distinct cluster due to its unique vegetative form and growth habit. These results were further supported by principal component analysis (PCA), which helped visualize trait contributions and genotype relationships. Discriminant function analysis confirmed the accuracy of the cluster groupings. Interestingly, some accessions from geographically distant locations clustered together, suggesting that similar ecological conditions may influence morphological traits. To isolate genetic variation from environmental effects, future evaluations should be conducted under uniform cultivation conditions.

Conclusion

The observed morphological diversity among bird's-foot trefoil accessions highlights the species' adaptability to varying environmental conditions. This variability is particularly valuable for conservation and breeding programs. The unique characteristics of the Minoo Island accession, especially its vegetative form and growth habit, make it a promising candidate for targeted germplasm conservation and further agronomic evaluation.

Keywords: Cluster analysis, Morphological markers, Principal components analysis, Quantitative and qualitative traits

تولیدات گیاهی، ۱۴۰۴، ۴۸(۲)،۱۷۳-۱۸۷
https://plantproduction.scu.ac.ir/
ISSN (P): 2588-543X; **ISSN (E):** 2588-5979
Doi: 10.22055/ppd.2025.48468.2235
تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۹/۰۷
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۰/۱۲

تولیدات گیاهی
مقاله پژوهشی

ارزیابی تنوع صفات ریخت‌شناسی توده‌های یونجهٔ پاکلاغی (*Lotus corniculatus* L.) در استان خوزستان

زهرا سادات موسوی [۱]، فاطمه ناصرنخعی [۲*]

۱- دانش‌آموختهٔ کارشناسی ارشد، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
۲- استادیار، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

چکیده

یونجهٔ پاکلاغی (*Lotus corniculatus* L.)، یک لگوم علوفه‌ای متحمل به شوری است که از لحاظ ریخت‌شناسی بسیار متنوع می‌باشد و بیش‌ترین تنوع ژنتیکی این گیاه در حوزهٔ مدیترانه است. دامنهٔ پراکنش اکولوژیکی بسیار گسترده‌ای برای این گیاه گزارش گردیده است که همین موضوع سبب بروز صفات چندشکلی در آن شده است. با هدف بررسی تنوع ریخت‌شناسی این گیاه در استان خوزستان، جمع‌آوری ۱۲۶ ژنوتیپ متعلق به نه توده از رویشگاه‌های طبیعی آن (شامل اهواز، شیبان، ملاثانی، حمیدیه، سوسنگرد، کارون، جزیرهٔ مینو، هندیجان و شاوور) در بازهٔ زمانی فروردین تا بهمن‌ماه ۱۴۰۲ انجام شد. تعداد ۱۴ صفت کیفی و چهار صفت کمی بر اساس دستورالعمل مؤسسهٔ بین‌المللی ذخایر توارث (IBPGR) و نیز بررسی منابع، انتخاب، کدگذاری و ارزیابی شدند. صفات کیفی مورد بررسی شامل عادت رشدی، فرم رویشی، اندازه سه برگچه نسبت به هم، شکل برگچه‌ها، کرک‌دار بودن برگچه‌ها، ضخامت برگچه‌ها، نوک برگچه‌ها، سفتی ساقه، شکل مقطعی ساقه، رنگ ساقه، کرک بر روی ساقه، رنگ جام گل، شکل دندانه کاسهٔ گل و کرک کاسهٔ گل، و صفات کمی طول دندانه نسبت به لولهٔ کاسهٔ گل، طول برگچهٔ میانی، عرض برگچهٔ میانی و ارتفاع گیاه مورد ارزیابی قرار گرفت. گروه‌بندی توده‌ها با استفاده از آنالیز خوشه‌بندی به روش Ward و ضریب اقلیدسی و تأیید گروه‌بندی انجام شده به کمک آزمون تجزیهٔ تابع تشخیص در نرم‌افزار SPSS و تجزیه به مولفه‌های اصلی در نرم‌افزار R انجام پذیرفت. مشاهدات حاصل از بررسی صفت فرم رویشی در توده‌های مورد مطالعه نشان داد که ۸۸/۱۰ درصد از ژنوتیپ‌ها به صورت علفی و ۱۱/۹۰ درصد به صورت چوبی بودند. همچنین ۶۵/۸۷ درصد ژنوتیپ‌ها عادت رشدی خیزان، ۲۲/۲۲ درصد آن‌ها به صورت راست یا برافراشته و ۱۱/۹۰ درصد آن‌ها شبیه به حالت خوابیده یا گسترده مشاهده شدند. تودهٔ جزیرهٔ مینو بر اساس صفت فرم رویشی چوبی و عادت رشدی شبیه به حالت خوابیده یا گسترده متفاوت از سایر توده‌ها قرار گرفت. از طرف دیگر صفات یکسان بودن یا متفاوت بودن اندازه سه برگچه، نوک برگچه، شکل برگچه‌ها و رنگ جام گل دارای تنوع بالایی در درون توده‌ها بود به طوری که حتی بر روی یک گیاه نیز تنوع بالایی مشاهده گردید؛ اما تنوع صفات مذکور به طور پیوسته در بین توده‌های مختلف تکرار شده و هم‌پوشانی

* **نویسنده مسئول:** فاطمه ناصرنخعی
رایانامه: f.nasernakhaei@scu.ac.ir

بسیار مشاهده شد؛ درحالی‌که سایر صفات مورد بررسی فاقد تنوع بودند. نتایج تجزیهٔ واریانس نشان داد که صفات کمی طول برگچهٔ میانی، عرض برگچهٔ میانی و ارتفاع گیاه در سطح پنج درصد معنی‌دار بود. همچنین نتایج مقایسهٔ میانگین، توده‌های همگن را از نظر صفات مورد بررسی مشابه یا متفاوت به خوبی شناسایی کرد. در هر دو تجزیهٔ خوشه‌ای و تجزیه به مؤلفه‌های اصلی تودهٔ جزیرهٔ مینو به دلیل فرم رویشی و عادت رشدی در گروه جداگانه‌ای از سایر توده‌ها قرار گرفت. صحت گروه‌بندی انجام شده در تجزیهٔ خوشه‌ای توسط تجزیهٔ تابع تشخیص تأیید گردید. نتایج این پژوهش می‌تواند در مدیریت نگهداری ژرم‌پلاسم تودهٔ جزیرهٔ مینو مؤثر باشد. همچنین نتایج نشان داد که برخی از توده‌ها علی‌رغم فاصلهٔ جغرافیایی در کنار یکدیگر قرار گرفتند که این موضوع می‌تواند گویای اثر شرایط اکولوژیکی بر ریخت‌شناسی باشد. بر این اساس توصیه می‌شود توده‌ها در شرایط کشت یکسان مورد ارزیابی قرار گیرند تا تأثیر شرایط رویشگاه حذف گردد.

کلید واژه‌ها: تجزیه به مؤلفه‌های اصلی، تجزیهٔ خوشه‌ای، صفات کمی و کیفی، نشانگرهای ریخت‌شناسی

مقدمه

یونجهٔ پاکلاغی با نام علمی *Lotus corniculatus* L. (شکل ۱) از تیرهٔ Fabaceae گیاهی چندساله، دگرگشن و تراپلوئید (Beuselinck and Grant, 1995; Drobná, 2010) مربوط به دنیای قدیم است (Steiner and García de los Santos, 2001). این گیاه یک لگوم علوفه‌ای متحمل به شوری می‌باشد (Karimi, 2001) که به خوبی با خاک‌های اسیدی با زهکشی ضعیف سازگار است. همچنین در مرحلهٔ رشد مشابه در مقایسه با علوفه‌های دیگر مانند یونجه از کیفیت علوفه بالاتری برخوردار است (Beuselinck and Grant, 1995; Casler and Undersander, 2019). این گیاه در اکثر مواقع سال پوشش سبز ایجاد می‌کند (USDA, 2024) و رویشگاه آن در خاک‌های مرطوب و کمی شور است (Akhani, 2015). گیاه یونجهٔ پاکلاغی که از لحاظ ریخت‌شناسی بسیار متنوع می‌باشد دارای دامنهٔ پراکنش اکولوژیکی بسیار گسترده‌ای است که همین موضوع سبب بروز خصوصیات چندشکل (پلی‌مورفیسم) در آن شده است (Chrtková-Žertová, 1973). بیش‌ترین تنوع ژنتیکی این گیاه بر اساس گزارش Grant, (1991) از حوزهٔ مدیترانه می‌باشد (Savo Sardaro *et al*., 2008).

وجود تنوع، سبب سازگاری منابع ژنتیکی گیاهی نسبت به شرایط مختلف آب و هوایی می‌شود؛ همچنین تنوع ژنتیکی درون و بین گونه‌های گیاهی، این امکان را برای اصلاح‌کنندگان گیاه فراهم می‌سازد تا ژنوتیپ‌های برتر را انتخاب و از آن‌ها به منظور توسعهٔ ذخایر ژنتیکی برای برنامه‌های دورگه‌گیری یا معرفی انواع محصولات زراعی استفاده کنند. با توجه به تغییرات آب و هوایی، مشکلات زیست محیطی و رشد روزافزون جمعیت و از طرف دیگر کاهش تنوع ژنتیکی در بیش از ۷۵ درصد از منابع ژنتیکی گیاهی و ۹۰ درصد از واریته‌های محصولات زراعی، محافظت از منابع ژنتیکی گیاهی باقی مانده جهت حفظ محصولات کشاورزی حائز اهمیت است (Salgotra and Chauhan, 2023).

یکی از ساده‌ترین و ارزان‌ترین روش‌ها جهت بررسی تنوع صفات چندشکل، استفاده از نشانگرهای ریخت‌شناسی است که پیامد جهش‌های قابل رؤیت در فنوتیپ هستند. این نشانگرها که به آسانی قابل ارزیابی می‌باشند (Naghavi *et al*., 2007)، در بررسی تنوع ژنتیکی گیاهان مختلفی از جمله زیتون (Safipour *et al*., 2021)، انجیر (Bagheri *et al*., 2024) و گل خرزهره (Akhavan Roofigar *et al*., 2024) به کار گرفته شده‌اند. نشانگرهای مذکور اغلب توارث غالب و مغلوب دارند و تحت اثر شرایط محیطی و مرحلهٔ رشد گیاه قرار می‌گیرند (Naghavi *et al*., 2007)؛ بنابراین تنوع حاصل از داده‌های ریخت‌شناسی علاوه بر تغییرات ژنتیکی، گویای تغییرات محیطی غیرقابل توارث نیز می‌باشد (Mohammadi, 2006).



Figure 1. *Lotus corniculatus* L., and its parts; A) root, B) leaf, C) flower, D) fruit

نتایج مطالعهٔ Chrtková-Žertová, (1967) بر روی جنس *Lotus* در ایران و کشورهای همسایه نشان داد که یونجهٔ پاکلاغی از نظر صفات ریخت‌شناسی از قبیل شکل برگچه‌ها، طول دندانه نسبت به لولهٔ کاسهٔ گل، رنگ جام گل و علفی و چوبی بودن (فرم رویشی) متنوع است. در مطالعهٔ Abbott, (1981) تفاوت عمده‌ای در بین جمعیت‌های غربی، شرقی و مرکزی این گیاه در اسکاتلند از نظر رنگ گلبرگ گزارش گردید. بررسی صفات ریخت‌شناسی ۱۰۰ نمونه هرباریومی این گیاه در ترکیه نشان داد که طول ساقه، عرض برگچه، زواید اپیدرمی روی برگچه، طول جام گل، طول کاسهٔ گل و طول بلندترین دندانه کاسهٔ گل به طور معنی‌داری با ارتفاع همبستگی داشتند (Small *et al*., 1984). مطالعهٔ جمعیت‌های بومی و غیربومی یونجهٔ پاکلاغی در شمال اروپا توسط Bonnemaison and Jones, (1986) نشان داد که میانگین و انحراف معیار بین جمعیت‌های مذکور معنی‌دار است. در مطالعهٔ صورت گرفته توسط Steiner and García de los Santos, (2001) تنوع ژنتیکی ۲۸ ژنوتیپ یونجهٔ پاکلاغی جمع‌آوری شده از هشت رویشگاه با شرایط اکولوژیکی متفاوت، بررسی شد. آن‌ها با ارزیابی ۱۸ صفت ریخت‌شناسی در نمونه‌های مورد مطالعه مشاهده کردند که در صفاتی مانند پوشش کرکی گیاه، عادت رشدی، سفتی ساقه، شکل برگ، شکل دندانه کاسهٔ گل، پوشش کرکی کاسهٔ گل و نیز رنگ جام گل تنوع وجود دارد. در پژوهش انجام شده بر روی ۱۰ جمعیت یونجهٔ پاکلاغی از صربستان و بوسنی و هرزگوین توسط (Vuckovic *et al*., 2007) نشان داده شد که جمعیت‌های مورد بررسی در صفاتی نظیر عادت رشدی، طول ساقه اصلی و رنگ جام گل دارای تنوع بودند. مشاهدات Drobná, (2010) بر روی ۱۵ جمعیت این گیاه از اسلواکی نیز گویای وجود تنوع در صفات ریخت‌شناسی می‌باشد. او صفاتی از قبیل عادت رشدی، طول ساقه و طول برگ را سبب ایجاد تنوع میان جمعیت‌ها عنوان کرد.

باتوجه به این‌که تاکنون گزارشی مبنی بر ارزیابی تنوع ریخت‌شناسی توده‌های یونجهٔ پاکلاغی از رویشگاه‌های طبیعی آن در ایران ارائه نشده است؛ پژوهش حاضر با این هدف در استان خوزستان انجام گردید.

مواد و روش‌ها

برای تعیین نقاط پراکنش یونجهٔ پاکلاغی در استان خوزستان، ابتدا محدودهٔ رویشگاه‌های طبیعی گیاه با استفاده از فلور خوزستان (Mozaffarian, 1999; Dinarvand, 2021) و مشاهدهٔ مستقیم مشخص گردید. به منظور مطالعهٔ صفات ریخت‌شناسی در بازهٔ فروردین تا بهمن ماه ۱۴۰۲، تعداد ۱۲۶ ژنوتیپ به

صورت تصادفی از نه توده جمع‌آوری شدند؛ به گونه‌ای که هر توده نمایانگر یک رویشگاه طبیعی مجزا بود. مختصات جغرافیایی هر ژنوتیپ نیز ثبت گردید (جدول ۱). تعداد ۱۴ صفت کیفی و چهار صفت کمی بر اساس دستورالعمل مؤسسهٔ بین‌المللی ذخایر توارثی (IBPGR, 1984) و نیز بررسی منابع (Chrtková-Žertová, 1973; Steiner and García de los Santos, 2001; Jalilian *et al*., 2016) انتخاب و مورد استفاده قرار گرفت. برای اندازه‌گیری صفات کمی از کاغذ مدرج، خط‌کش میلی‌متری، متر و برای اندازه‌گیری طول دندانه و لولهٔ کاسهٔ گل از نرم‌افزار Digimizer ver. 6.4.0 استفاده شد. بررسی پوشش کرکی ساقه، برگ و کاسهٔ گل با استفاده از استریومیکروسکوپ مدل Olympus-SZX12 صورت گرفت. توصیف صفات ریخت‌شناسی کیفی بر اساس (Mozaffarian, 2004) بود. به منظور مقایسهٔ توده‌ها، نمودار میله‌ای صفات ریخت‌شناسی دارای تنوع در نرم‌افزار Excel ترسیم شد. آماره‌های توصیفی (کمینه، بیشینه، میانگین و انحراف معیار)، تجزیهٔ واریانس ANOVA یک‌طرفه و نیز مقایسهٔ میانگین صفات کمی به کمک آزمون دانکن انجام گرفت. به منظور ساده‌سازی گروه‌بندی توده‌ها، صفات کمی به کیفی تبدیل گردید و صفات دارای تنوع به صورت دو یا چند حالته کدگذاری شدند (جدول ۲).

تجزیهٔ خوشه‌ای بر اساس داده‌های استاندارد به روش Ward و ضریب اقلیدسی انجام شد و برای تأیید صحت گروه‌های به دست آمده از تجزیهٔ تابع استفاده گردید. کلیهٔ آنالیزهای آماری مذکور با استفاده از نرم‌افزار SPSS ver. 26 صورت گرفت. همچنین تجزیه به مؤلفه‌های اصلی و تجزیهٔ بای پلات با استفاده از بسته factoextra در نرم‌افزار R ver. 4.3.3 انجام گردید.

نتایج و بحث

در این مطالعه ۱۸ صفت کمی و کیفی در نه توده (۱۲۶ ژنوتیپ) مورد بررسی قرار گرفت. مشاهدات حاصل از این مطالعه در جدول ۲ خلاصه شده است.

Table 1- Geographical locations of the studied accessions

Accession	Accession code	Genotype number	Latitude (N)	Longitude (E)
Ahvaz	A	6	31°21'14.6"	48°44'03.7"
		6	31°20'06.0"	48°37'50.8"
		5	31°18'15.3"	48°39'26.9"
		10	31°16'44.6"	48°36'32.3"
Sheyban	S	8	31°23'29.5"	48°47'14.9"
Mollasani	M	6	31°34'03.1"	48°52'58.6"
		9	31°35'59.9"	48°53'32.3"
Hamidiyeh	H	10	31°28'38.5"	48°26'23.4"
		9	31°28'37.4"	48°26'52.3"
Susangerd	Su	10	31°32'46.9"	48°11'57.4"
		10	31°32'46.2"	48°11'58.7"
Karun	K	10	31°13'13.4"	48°38'49.9"
		4	31°13'37.6"	48°39'09.7"
Minoo Island	Mi	15	30°20'18.9"	48°12'07.9"
Hendijan	Hen	3	30°13'39.2"	49°43'35.8"
Shavoor	Sh	5	32°03'12.1"	48°18'03.7"

صفات کیفی

بررسی فرم رویشی در توده‌های مورد مطالعه نشان داد که ۸۸/۱۰ درصد از ژنوتیپ‌ها به صورت علفی و ۱۱/۹۰ درصد به صورت چوبی بودند. پراکنش توده‌ها بر اساس این صفت در شکل A-۲ نشان داده شده است. در نمودار میله‌ای بر اساس عادت رشدی، توده‌های هندیجان و شاوور تنها به حالت خیزان و تودهٔ جزیرهٔ مینو شبیه به حالت خوابیده یا گسترده[1] مشاهده گردید (شکل B-۲). در توده‌های مورد مطالعه، ۶۵/۸۷ درصد ژنوتیپ‌ها به صورت خیزان[2]، ۲۲/۲۲ درصد آن‌ها به صورت راست[3] یا برافراشته[4] و ۱۱/۹۰ درصد شبیه به حالت خوابیده یا گسترده مشاهده شدند. در نمودار میله‌ای رسم شده بر اساس فرم رویشی (شکل A-۲) و عادت رشدی (شکل B-۲)، تودهٔ جزیرهٔ مینو متفاوت از سایر توده‌ها دیده شد. در مطالعهٔ Drobná, (2010) از عادت رشدی به عنوان صفت مؤثر در ایجاد تنوع نام برده شده است. او بیان می‌کند که اکثر جمعیت‌های مناطق با ارتفاع کم‌تر عادت رشدی خیزان دارند. او تنوع ریخت‌شناسی مشاهده شده در این گیاه را با ویژگی‌های جغرافیایی مکان‌های جمع‌آوری مرتبط دانسته و انعطاف‌پذیری و سازگاری قابل توجه این گیاه با شرایط مختلف محیطی را دلیل این موضوع عنوان کرده است.

در توده‌های مورد مطالعه، بیش‌تر ژنوتیپ‌ها دارای سه برگچه با اندازه‌های متفاوت بودند. اگرچه نمونه‌هایی با سه برگچه با اندازهٔ متفاوت و یکسان نیز بر روی یک ژنوتیپ مشاهده گردید. نوک برگچه‌ها به اشکال نوک تیز[5]، نوک دراز[6] و نوک کند[7] در یک توده رؤیت گردید. همچنین صفات شکل سه برگچه یک برگ و نیز رنگ جام گل تنوع بالایی نشان دادند. تمامی صفات مذکور در درون توده‌ها و حتی بر روی یک گیاه تنوع بالایی داشتند (شکل ۳). تنوع این صفات به طور پیوسته در بین توده‌های مختلف تکرار شده و هم‌پوشانی بسیار مشاهده گردید. سایر صفات از جمله کرک‌دار بودن برگچه‌ها، ضخامت برگچه‌ها، سفتی ساقه[8]، شکل مقطعی ساقه، رنگ ساقه، کرک بر روی ساقه، شکل دندانه کاسهٔ گل و کرک کاسهٔ گل در بین توده‌های مورد مطالعه فاقد تنوع بودند (جدول ۲ و شکل ۳).

صفات کمی

آماره‌های توصیفی صفات کمی ۱۲۶ ژنوتیپ یونجهٔ پاکلاغی محاسبه گردید (جدول ۳). از آن‌جا که صفت طول دندانه نسبت به لولهٔ کاسهٔ گل در هفت توده از نه توده اندازه‌گیری شده بود (به دلیل تعداد زیاد داده‌های گمشده)، این صفت از آنالیزهای بعدی حذف گردید. نمودار میله‌ای برای توده‌های مورد مطالعه بر اساس انحراف معیار سه صفت کمی در شکل ۴ قابل مشاهده است. تودهٔ شیبان بیش‌ترین و تودهٔ شاوور کم‌ترین انحراف معیار را برای صفات طول برگچهٔ میانی (شکل A-۴)، عرض برگچهٔ میانی (شکل B-۴) و ارتفاع گیاه (شکل C-۴) نشان دادند. از آن‌جا که مقادیر زیاد انحراف معیار نشان‌دهندهٔ تغییرات زیاد می‌باشد؛ بنابراین تودهٔ شیبان بیش‌ترین و تودهٔ شاوور کم‌ترین تنوع را از نظر سه صفت کمی داشته است. در بین توده‌های مورد مطالعه، بیش‌ترین مقادیر مربوط به ارتفاع گیاه (۳۵ سانتی‌متر)، طول برگچهٔ میانی (۱۷ میلی‌متر) و عرض برگچهٔ میانی (۶ میلی‌متر) متعلق به تودهٔ شیبان بود. کم‌ترین طول برگچهٔ میانی نیز برای توده‌های شیبان و سوسنگرد (۵ میلی‌متر) و برای عرض برگچهٔ میانی در توده‌های سوسنگرد و اهواز (۲ میلی‌متر) اندازه‌گیری گردید. تودهٔ حمیدیه از کم‌ترین ارتفاع گیاه (۸ سانتی‌متر) برخوردار بود.

بر اساس نتایج تجزیهٔ واریانس این سه صفت کمی در سطح پنج درصد معنی‌دار بودند (جدول ۴). مقادیر ضریب تغییرات نیز حاکی از آن بود که طول برگچهٔ میانی در مقایسه با دو صفت دیگر از تنوع بیش‌تری برخوردار بود (جدول ۴).

1- Similar to procumbent or prostrate
2- Decumbent
3- Erect
4- Ascending
5- Acute
6- Acuminate
7- Obtuse
8- Stem firmness

نتایج مقایسهٔ میانگین صفات (جدول ۵) نشان داد که توده‌های سوسنگرد و شاوور با کم‌ترین میانگین برای طول برگچهٔ میانی و عرض برگچهٔ میانی در گروه A قرار گرفتند. توده‌های کارون و جزیرهٔ مینو با بیش‌ترین میانگین برای طول برگچهٔ میانی در گروه D و برای عرض برگچهٔ میانی در گروه C قرار دارند. از نظر ارتفاع گیاه نیز توده‌های حمیدیه و شاوور با کم‌ترین میانگین در گروه A و کارون با بیش‌ترین میانگین در گروه D قرار گرفتند.

گروه‌بندی

تجزیهٔ خوشه‌ای بر اساس پنج صفت دارای تنوع بین توده‌ای (جدول ۲)، افراد مورد مطالعه را به دو خوشهٔ اصلی (A و B) تقسیم کرد (شکل ۵). نتایج تجزیهٔ تابع تشخیص (جدول ۶) صحت گروه‌های حاصله را تأیید نمود و احتمال جدایی تودهٔ جزیرهٔ مینو را صد در صد نشان داد.

نتایج تجزیه به مولفه‌های اصلی، خوشه‌بندی را نیز تایید کرد (شکل ۶). در این تحلیل، دو مولفه دارای مقادیر ویژه بزرگ‌تر از یک (عامل معنی‌دار) بودند که در مجموع ۶۵/۳۶ درصد از واریانس کل را تبیین نمودند (جدول ۷). در اولین مؤلفه که ۳۶/۹۲ درصد از واریانس کل را توجیه نمود، صفات عادت رشدی و فرم رویشی ضریب بالایی داشتند. همچنین در مؤلفه دوم دو صفت طول برگچهٔ میانی و عرض برگچهٔ میانی از ضریب بالایی برخوردار بودند و این مؤلفه به تنهایی ۲۸/۴۴ درصد از واریانس کل را توجیه کرد. در گروه A (شکل ۵ و ۶) (شامل توده‌های اهواز، شیبان، ملاثانی، حمیدیه، سوسنگرد، کارون، هندیجان و شاوور) به دلیل هم‌پوشانی صفات حدود توده‌ها مشخص نیست و برخی توده‌ها با وجود فاصلهٔ جغرافیایی در کنار هم قرار گرفتند. دلیل این امر می‌تواند شرایط اکولوژیکی یکسان و سازگاری این گیاه به محیط باشد؛ که با نتایج دیگر محققان نیز هم‌خوانی دارد (Drobná, 2010). مطالعات Steiner and García de los Santos, (2001) نشان داد که شباهت‌های ریخت‌شناسی بین ژنوتیپ‌ها مرتبط با مجاورت جغرافیایی محل‌های جمع‌آوری و نیز اکولوژی زیستگاه‌های محل جمع‌آوری آن‌ها می‌باشد؛ به طوری که ژنوتیپ‌های سازگار با زیستگاه‌های مشابه حتی با وجود فاصلهٔ جغرافیایی، فنوتیپ‌های مشابهی را نشان دادند. آن‌ها این مسئله را به ارتباط میان صفات ریخت‌شناسی خاص و ویژگی‌های اکوجغرافیایی مختلف مرتبط دانستند.

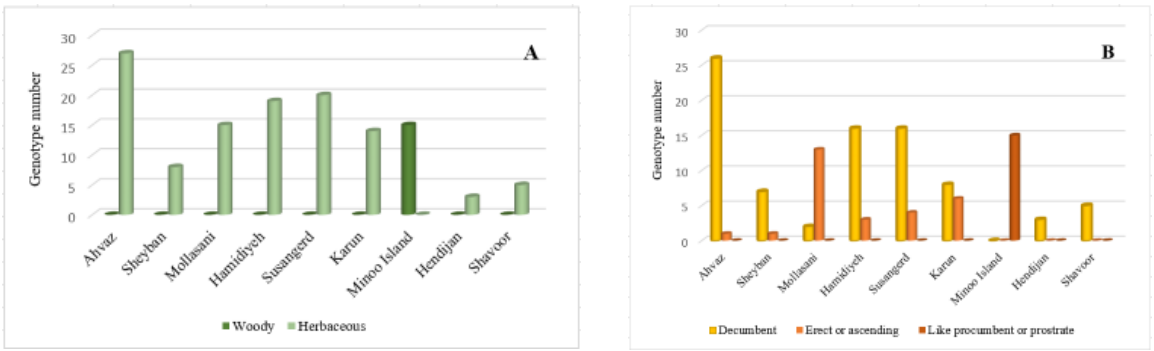


Figure 2. Distribution of the accessions based on A) vegetative forms and, B) growth habits

Table 2. Investigated quantitative and qualitative traits in accessions of bird's-foot trefoil

Character	Character states (Codes)	Observations from this study
Whole plant		
Growth habit*	1. Decumbent 2. Ascending or erect 3. Other	Decumbent, ascending, or erect, and like procumbent or prostrate
Plant height*	1. More than mean 2. Less than mean	8-35 cm
Vegetative form*	1. Herbaceous 2. Woody	Herbaceous, woody
Leaflets		
Size (on one leaf)	1. The same size 2. Different size	Usually, the different sizes
Shape	1. Oblanceolate, lanceolate, obovate to ovate 2. Other	Oblanceolate, lanceolate, obovate to ovate
Indumentum	1. Glabrous 2. Hairy 3. Bristled 4. Ciliated	Glabrous (with dispersed hairs)
Central leaflet length*	1. More than mean 2. Less than mean	5-17 mm
Central leaflet width*	1. More than mean 2. Less than mean	2-6 mm
Thickness	1. Thin 2. Fleshy	Thin
Apex	1. Acute-acuminate-obtuse 2. Other	Acute-acuminate-obtuse
Stem		
Firmness	1. Solid, Hollow 3. Other	Solid in apex and hollow in the base of a stem
The cross-sectional shape	1. Round 2. Quadrangular	Round
Color	1. Green 2. Other	Green
Indumentum	1. Glabrous 2. Medium 3. Dense	Glabrous
Flower		
Corolla color	1. Yellow-orange-red spectrum 2. Other	Yellow, orange, and red spectrum
Calyx teeth/calyx tube length	1. Less than 1.5 mm 2. More than 1.5 mm	0.71-1.31 mm‡ (Less than 1.5 mm), calyx teeth ± as long as calyx tube
Calyx teeth shape	1. Awl shaped 2. Lanceolate 3. Triangular	Lanceolate
Calyx indumentum	1. Glabrous 2. Ciliate 3. Hairy	Glabrous (with dispersed hairy teeth)

* Traits used in grouping

‡ Measurements have been made in 7 accessions out of the 9 accessions

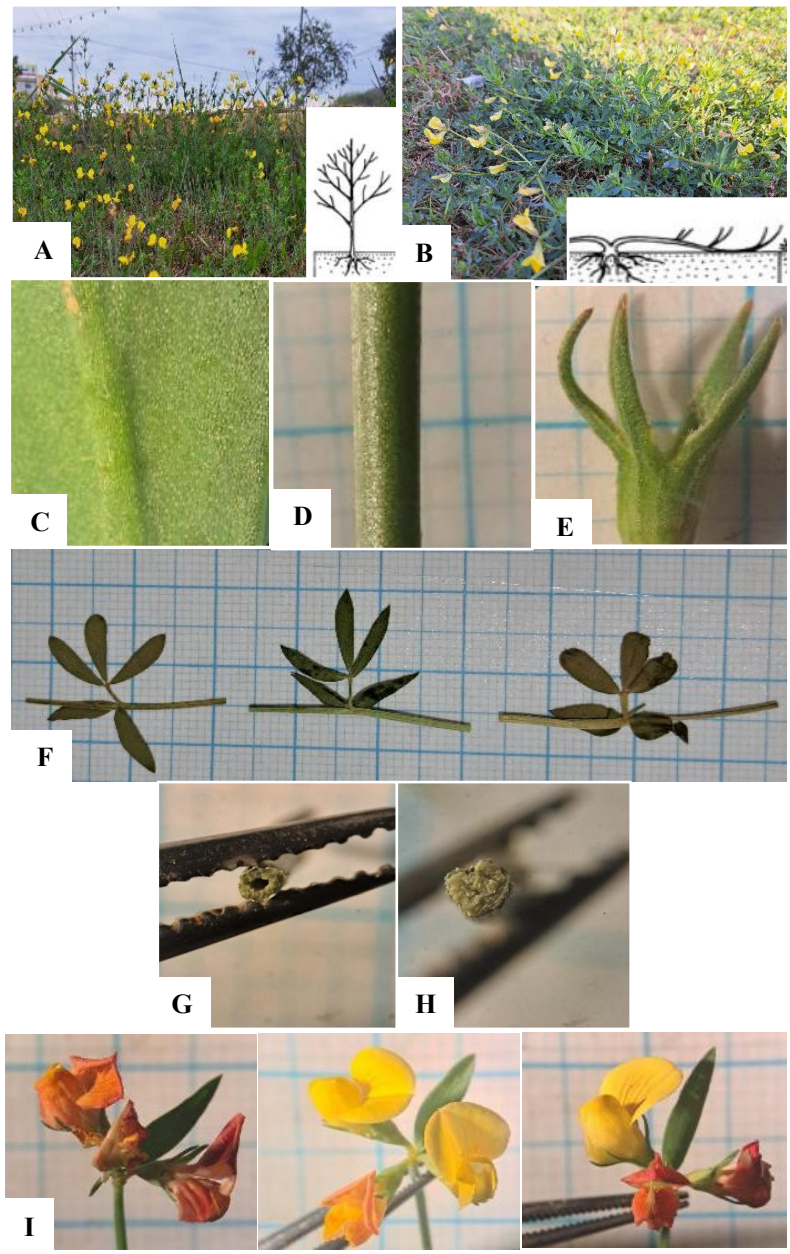


Figure 3. Some morphological traits of bird's-foot trefoil; growth habit A) erect or ascending, B) decumbent; C) leaflets indumentum; D) stem indumentum and color; E) shape of calyx teeth and its indumentum; F) size, shape, and apex variations in some leaflets; G) solid stem in base and H) hollow stem in apex in a plant; I) corolla color variations

Table 3. The descriptive statistics results of quantitative traits

Traits	Minimum	Maximum	Mean	Std deviation
Plant height (cm)	8	35	16.44	4.01
Central leaflet length (mm)	5	17	11.13	2.88
Central leaflet width (mm)	2	6	3.70	0.83
*Calyx teeth/tube length (mm)	0.71	1.31	0.95	0.18

*Measurements have been made in 7 accessions out of the 9 accessions.

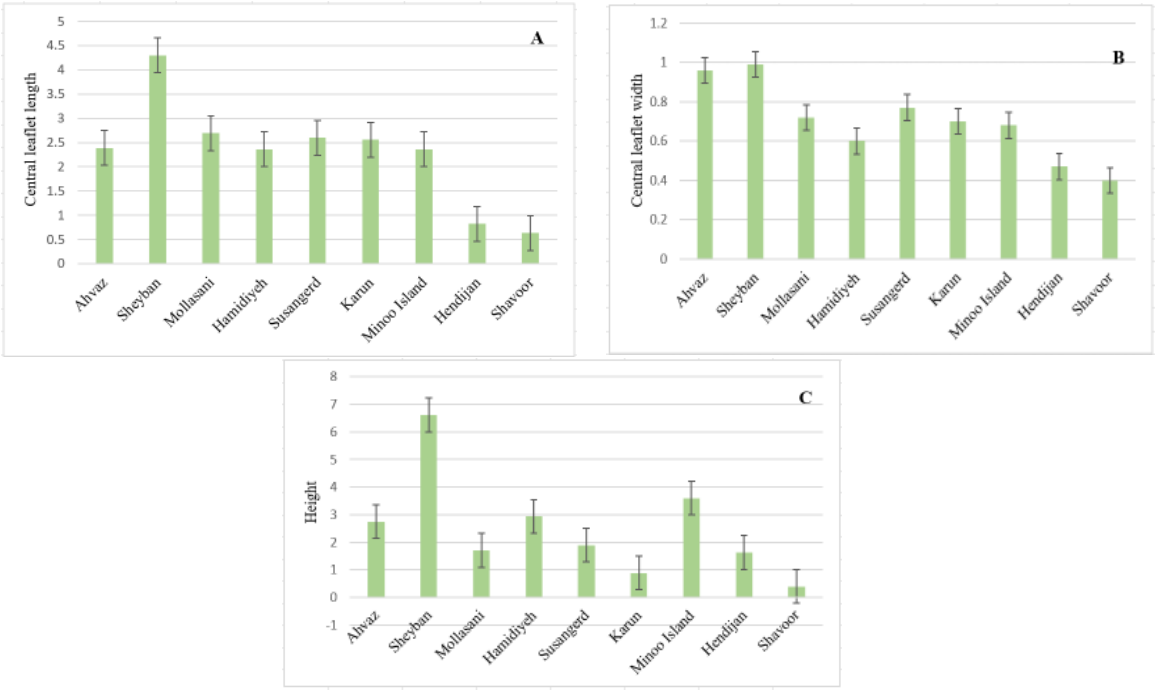


Figure 4. Comparison of A) central leaflet length (mm), B) central leaflet width (mm), and C) plant height (cm) among accessions (The error bars correspond to the standard error)

Table 4. ANOVA analysis of variance results

Traits	Source	df	SS	MS	F	P	CV%
Plant height (cm)	Between groups	8	547.53	68.44	5.45	0.000	19.64
	Within groups	117	1468.54	12.55			
	Total	125	2016.07				
Central leaflet length (mm)	Between groups	8	209.37	26.17	3.70	0.001	23.13
	Within groups	117	828.59	7.08			
	Total	125	1037.97				
Central leaflet width (mm)	Between groups	8	14.47	1.81	2.97	0.005	18.19
	Within groups	117	71.24	0.61			
	Total	125	85.71				

Table 5. Post hoc test of Dunkan's test result in bird's-foot trefoil

Accessions	Plant height (cm)	Central leaflet length (mm)	Central leaflet width (mm)
Ahvaz	17.50^{D}	11.81^{BC}	3.73^{B}
Sheyban	14.00^{AB}	9.50^{AB}	3.63^{AB}
Mollasani	15.31^{BC}	11.07^{AB}	3.67^{AB}
Hamidiyeh	17.29^{CD}	11.53^{BC}	3.71^{B}
Susangerd	12.89^{A}	9.25^{A}	3.20^{A}
Karun	18.50^{D}	12.50^{D}	4.38^{C}
Minoo Island	18.20^{D}	12.40^{D}	4.13^{C}
Hendijan	17.67^{D}	12.00^{CD}	3.85^{BC}
Shavoor	12.00^{A}	8.00^{A}	3.15^{A}

The same letters indicate homogeneous groupings for each trait

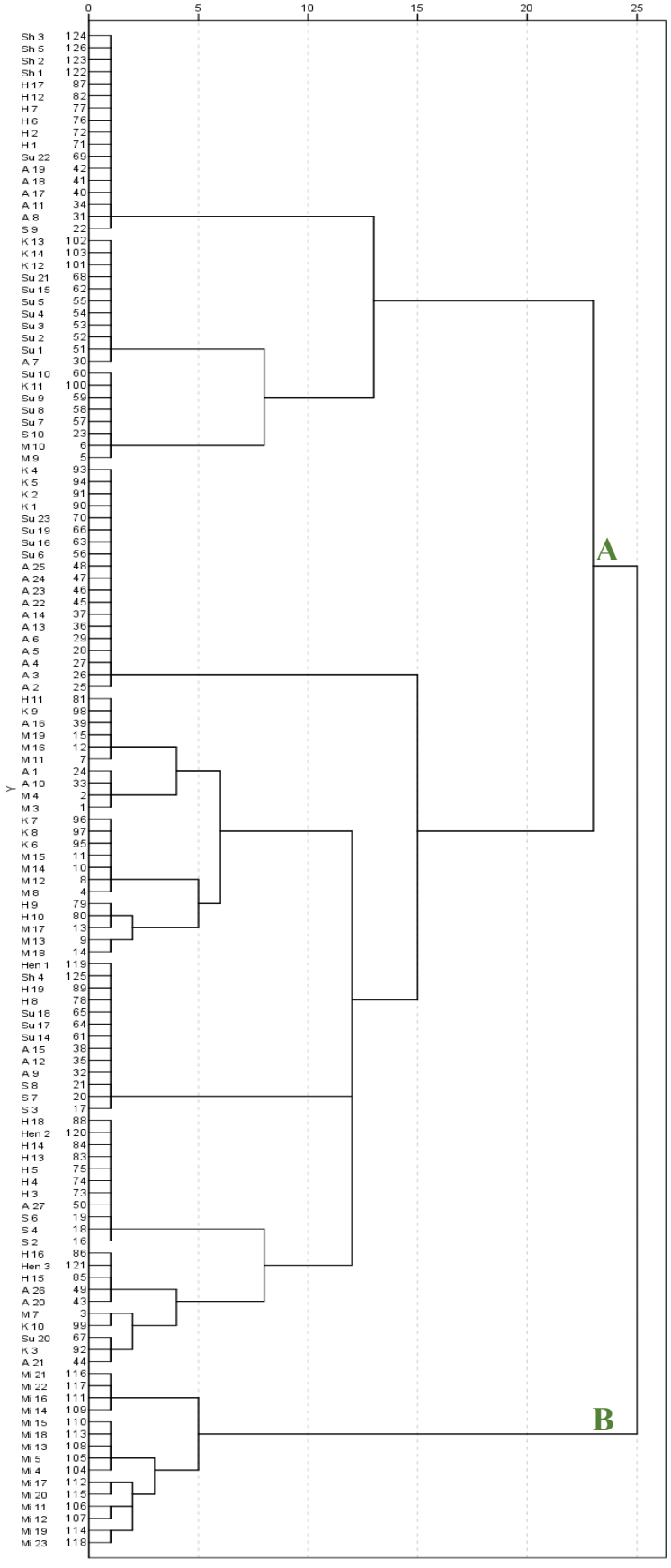


Figure 5. Cluster analysis of 126 genotypes based on morphological traits using Ward method

Table 6. Results of discrimination function analysis for grouping 9 accessions

Main groups	Predicted groups		Percent
	A	B	
Group A	111	108	97.3
Group B	15	15	100

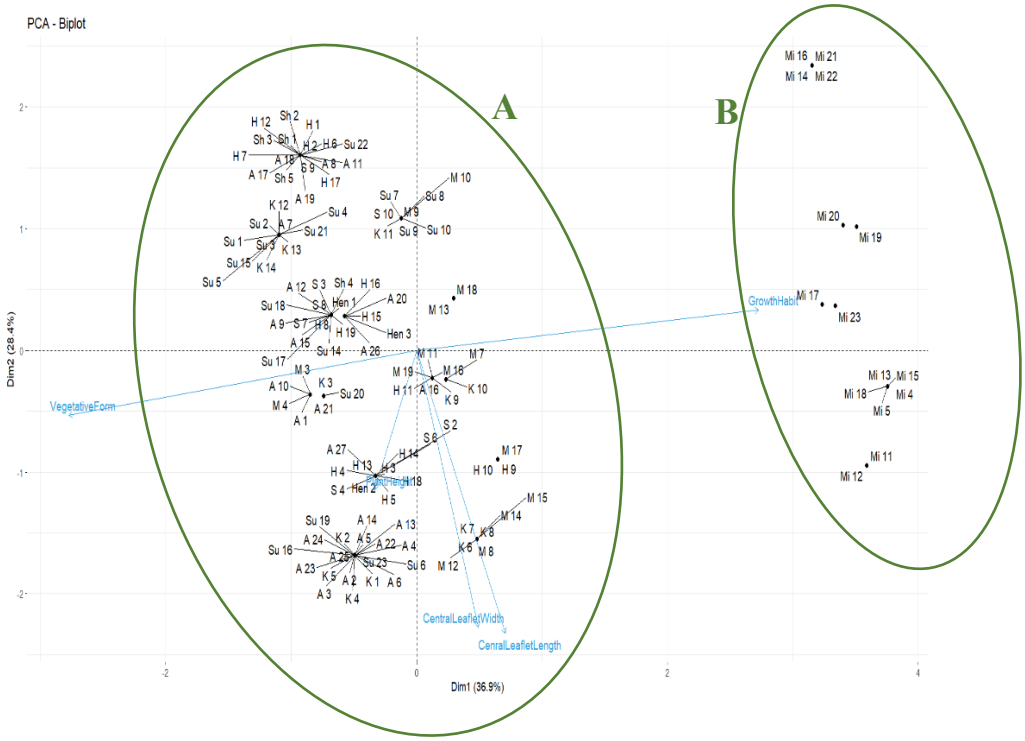


Figure 6. Principal components analysis of the studied accessions

Table 7. Eigenvalue, variance, and cumulative variance percentage for main factors of bird's-foot trefoil morphological traits

Factor	Eigenvalue	Variance %	Cumulative variance %
1	1.85	36.92	36.92
2	1.42	28.44	65.36
3	0.98	19.60	84.96
4	0.60	11.91	96.87
5	0.16	3.13	100.00

یافته‌های آن‌ها نشان داد که صفات ریخت‌شناسی در سازگار شدن ژنوتیپ‌ها با رویشگاه‌ها مهم هستند. نتایج تجزیه به مؤلفه‌های اصلی در مطالعه Xie *et al.*, (2023) نشان داد که صفاتی از قبیل ارتفاع گیاه از عوامل اصلی ایجاد تنوع در افراد مورد مطالعه آن‌ها بود. در گروه B، تودهٔ جزیرهٔ مینو (شکل ۵ و ۶) متمایز از سایر توده‌ها قرار گرفت که فرم رویشی (چوبی بودن) و عادت رشدی (شبیه به خوابیده یا گسترده) سبب تمایز آن از سایر توده‌ها گردید. در بررسی Vuckovic *et al.*, (2007) تفاوت‌های زیاد میان جمعیت‌های مورد مطالعه متأثر از پوشش‌های گیاهی مختلف،

انواع خاک و اقدامات حفاظتی طولانی‌مدت اعمال شده در مکان‌های آزمایشی معرفی شده است. همچنین Giagourta *et al*., (2015) گزارش کرد که گیاهان یونجهٔ پاکلاغی مورد مطالعهٔ آن‌ها در علفزارها، به طور قابل توجهی دارای سطح برگ، محیط برگ، طول برگ، عرض برگ و طول میانگرهٔ کم‌تری بودند، در حالی که رنگ گل تیره‌تری نسبت به مناطق جنگلی داشتند. آن‌ها این تمایز مشاهده شده را به زیستگاه‌های متفاوت، مرتبط دانستند. بررسی روابط فنتیکی و سطوح تغییرات درون و بین‌گونه‌ای در ۱۹ گونه *Lotus* در مصر با استفاده از آنالیز ۲۴ صفت ریخت‌شناسی نشان داد که برخی از صفات از جمله ویژگی‌های برگچه‌های بالایی و پایینی، کاسهٔ گل، طول تاج گل ویژگی‌های قابل توجهی را در حدود گونه نشان می‌دهد (Gaafar *et al*., 2021).

نتیجه‌گیری

تنوع ژنتیکی به عنوان مهم‌ترین عامل بقا گیاهان در برابر تغییرات محیطی و تنش‌های زیستی می‌باشد. باتوجه به یافته‌های محققان مبنی بر وجود تنوع ریخت‌شناسی در گیاه یونجهٔ پاکلاغی، دستاورد این مطالعه نیز وجود تنوع در صفاتی همچون اندازهٔ برگچه‌ها، شکل برگچه‌ها، نوک برگچه‌ها و رنگ جام گل را نشان می‌دهد که به طور پیوسته در بین توده‌ها در حال تکرار می‌باشند. لذا بر اساس نتایج حاصله، این گونه از نظر صفات کیفی از تنوع بین توده‌ای کمی برخوردار است که این پدیده می‌تواند در ارتباط با شرایط یکسان اکولوژیکی توده‌ها باشد. بر اساس نتایج تجزیهٔ خوشه‌ای و تجزیه به مؤلفه‌های اصلی، تنها صفاتی که توده‌های مورد مطالعه را به دو گروه اصلی (A و B) تقسیم نمود؛ صفت مربوط به فرم رویشی (علفی و چوبی) و عادت رشدی بوده است و تودهٔ جزیرهٔ مینو به دلیل داشتن این صفات، متمایز از سایر توده‌ها قرار گرفت که نتایج این پژوهش می‌تواند در مدیریت نگهداری ژرم‌پلاسم این توده مؤثر باشد. همچنین برخی از توده‌ها علی‌رغم فاصلهٔ جغرافیایی، در آنالیز صفات در کنار یکدیگر قرار گرفتند که این موضوع نیز می‌تواند گویای اثر شرایط اکولوژیکی بر ریخت‌شناسی باشد. برای بررسی دقیق‌تر این موضوع پیشنهاد می‌شود که توده‌ها در شرایط کشت یکسان نیز مورد ارزیابی قرار گیرند تا تأثیر شرایط رویشگاه حذف گردد. همچنین جهت تعیین تنوع این گونه، نمونه‌های بیش‌تری از ایران ارزیابی گردد.

سپاس‌گزاری

از حمایت مالی معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه شهید چمران اهواز در قالب پژوهانه به شماره SCU.AA1402.165 در انجام این تحقیق تشکر و قدردانی می‌گردد. همچنین نگارندگان از مشاوره آماری جناب آقایان دکتر موسی مسکرباشی و دکتر حسین پاشا زانوسی تشکر می‌کنند.

References

Abbott, R. J. (1981). The keel petal colour polymorphism of *Lotus corniculatus* L. in Scotland. *New Phytologist*, *88*(3), 549-553.

Akhani, H. (2015). Plants and vegetation of north-west persian gulf: the coasts and islands of Khore Musa, Mahshahr and adjacent areas. University of Tehran Press. [In Persian]

Akhavan Roofigar, A., Avaz Zadeh, A. M., & Hamzeh'ee, B. (2024). Morphological diversity and numerical taxonomy of *Nerium* L. populations in Iran. *Taxonomy and Biosystematics*, *16*(1), 47-60. [In Persian]

Bagheri, M. H., Alizadeh, M., Jafari, M., Seifi, E., & Zaynali Nezhad, K. (2024). Morphological evaluation of some Caprifig accessions in South Khorasan Razavi. *Plant Productions*, 1-16. [In Persian]

Beuselinck, P., & Grant, W. (1995). Birdsfoot trefoil. *Forages*, 1, 237-248.

Bonnemaison, F., & Jones, D. A. (1986). Variation in alien *Lotus corniculatus* L. 1. Morphological differences between alien and native British plants. *Heredity*, 56(1), 129-138.

Casler, M. D., & Undersander, D. J. (2019). Identification of temperate pasture grasses and legumes. *Horse Pasture Management*, 11-35.

Chrtková-Žertová, A. (1967). The variability of critical species of *Lotus* L. in Iran and in the neighbouring countries I. The circle of *L. corniculatus* L. and *L. gebelia* Vent. *Folia Geobotanica et Phytotaxonomica*, 2, 283-310.

Chrtková-Žertová, A. (1973). A monographic study of *Lotus corniculatus* L. 1. Central and Northern Europe. *Rozpravy Ceskoslovenske Akademie*, 83, 1-94.

Dinarvand, M. (2021). Flora of Khuzestan province. Reaserch Institute of Forests and Rangelands. [In Persian]

Drobná, J. (2010). Morphological variation in natural populations of *Lotus corniculatus* in association to geographical parameters of collecting sites. *Biologia*, 65(2), 213-218.

Gaafar, A., Abd El-Ghani, M., El Hadidy, A., & Hussein, E. (2021). A multivariate morphometric analysis of the genus *Lotus* L., 1753 (Fabaceae, Loteae) from egypt. *Bulletin of the Iraq Natural History Museum*, 16(4), 509-533.

Giagourta, P., Abraham, E. M., Parissi, Z. M., & Kyriazopoulos, A. P. (2015). Phenotypic variation of *Lotus corniculatus* L. natural populations in relation to habitat type and management regimes. *Archives of Biological Sciences,* 67(3), 841-848.

Grant, W. F. (1991). Chromosomal evolution and aneuploidy in Lotus. Elsevier.

IBPGR. (1984). Forage Legume Descriptors.

Jalilian, N., Nemati Paykani, M., & Assadi, M. (2016). A taxonomic revision of the genus *Lotus* L.(Fabaceae) in Iran. *The Iranian Journal of Botany*, 22(1), 16-20.

Karimi, H. (2001). Weeds of Iran (Vol. 1). Academic Publishing Center. [In Persian]

Mohammadi, A. (2006). Analysis of molecular data from the point of view of genetic diversity. *The 9th Congress of Agricultural Sciences and Plant Breeding of Iran*, 96-119. [In Persian]

Mozaffarian, V. (1999). Flora of Khuzistan. Member of the Scientific Staff of Forests & Rangelands Reaserch Institute. [In Persian]

Mozaffarian, V. (2004). Plant classification (book 1: morphology and taxonomy). Amir Kabir Publications Tehran. [In Persian]

Naghavi, M. R., Ghareyazie, B., & Hosseini Salekdeh, G. (2007). *Molecular markers*. University of Tehran Press. [In Persian]

Safipour, S., Khaleghi, E., & Moallemi, N. (2021). Evaluation of genetic diversity of different Olive genotypes in some cities of Khuzestan province using morphological marker. *Plant Productions*, 44(1), 1-12. [In Persian]

Salgotra, R. K., & Chauhan, B. S. (2023). Genetic diversity, conservation, and utilization of plant genetic resources. *Genes*, 14(1), 174.

Savo Sardaro, M. L., Atallah, M., Tavakol, E., Russi, L., & Porceddu, E. (2008). Diversity for AFLP and SSR in natural populations of *Lotus corniculatus* L. from Italy. *Crop Science*, 48(3), 1080-1089.

Small, E., Grant, W. F., & Crompton, C. (1984). A taxonomic study of the *Lotus corniculatus* complex in Turkey. *Canadian Journal of Botany*, 62(5), 1044-1053.

Steiner, J. J., & García de los Santos, G. G. (2001). Adaptive ecology of *Lotus corniculatus* L. genotypes: I. Plant morphology and RAPD marker characterizations. *Crop Science*, 41(2), 552-563.

USDA, N. (2024). The PLANTS Database (http://plants.usda.gov). National Plant Data Team, Greensboro.

Vuckovic, S., Stojanovic, I., Prodanovic, S., Cupina, B., Zivanovic, T., Vojin, S., & Jelacic, S. (2007). Morphological and nutritional properties of birdsfoot trefoil (*Lotus corniculatus* L.) autochthonous populations in Serbia and Bosnia and Herzegovina. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 54, 421-428 .

Xie, W. H., Zhao, W. W., Wang, L. T., Zhao, L. L., & Wang, P. C. (2023). Genetic diversity analysis of 22 *Lotus corniculatus* germplasm resources based on phenotypic quantitative traits. *Acta Agrestia Sinica,* 31(1), 173.