نسخه پذیرفته شده پیش از انتشار

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

DOI: 10.22055/ppd.2025.48468.2235

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

1- **M.Sc. Graduate of Agricultural Biotechnology, Department of Plant Production Engineering and Genetics, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran**
2- ***Corresponding Author: Assistant Professor, Department of Plant Production Engineering and Genetics, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran (Email: f.nasernakhaei@scu.ac.ir)**

Abstract

Introduction

Bird's-foot trefoil (*Lotus corniculatus* L., in Persian: Yonjeh pa'kalaghi), is a salinity-tolerant forage legume belonging to the Fabaceae family. This plant exhibits a wide range of morphological variability and has been reported to have an extensive ecological distribution, contributing to its polymorphism. The highest genetic diversity of bird's-foot trefoil is found in the Mediterranean region. However, there are currently no reports on the morphological variability of this plant from its natural habitats in Iran. This study was conducted in Khuzestan province to address this gap.

Materials and Methods

The morphological variability of this plant was the subject of our investigation in this study. Collection of totals of 126 genotypes belonging to 9 accessions (including Ahvaz, Sheyban, Mollasani, Hamidiyeh, Susangerd, Karun, Minoo Island, Hendijan, and Shavoor) was done from natural habitats in Khuzestan province from March 2023 to January 2024. The 14 qualitative traits and 4 quantitative traits according to the International Board for Plant Genetic Resources (IBPGR) and literature reviews were selected, coded, and evaluated. The qualitative characteristics included growth habit, vegetative form, size of the three leaflets relative to each other, leaflets shape, leaflets indumentum, leaflets thickness, leaflets apex, stem firmness, cross-sectional shape of stem, stem color, stem indumentum, corolla color, calyx teeth shape, and calyx indumentum. The quantitative traits measured included the calyx teeth/calyx tube length, the central leaflet's length, width, and plant height. The accession grouping was done through cluster analysis with the Ward method and the Euclidean coefficient. The grouping was then confirmed using the discriminant function analysis with SPSS software. Principal components analysis was also performed with R software.

Results and Discussion

Observations of vegetative form in the studied accessions showed that 88.10% of the genotypes were herbaceous and 11.90% were woody. The genotypes exhibited different growth habits: 65.87% decumbent, 22.22% erect or ascending, and 11.90% procumbent or prostrate. Qualitative traits showed that the Minoo Island accession differs from others based on vegetative form (woody) and growth habit (like procumbent or prostrate). Considerable variation in leaflet size (three leaflets per leaf, same or different sizes), leaflet apex, leaflet shape, and corolla color was observed within the

accessions, demonstrating high diversity even on a single plant. However, the rest of the traits showed no diversity. ANOVA variance analysis showed that all three quantitative traits (central leaflet length, central leaflet width, and plant height) were significant at 5%. Also, Duncan's test identified homogeneous accessions well and showed which accessions were similar or different from each other in terms of the traits under study. Minoo Island's unique woody vegetative form and procumbent or prostrate growth habit resulted in its classification as a distinct group in the cluster and principal components analysis. The accuracy of the grouping performed in cluster analysis was confirmed by discriminant function analysis. The results also revealed that some accessions were grouped, despite their geographical distance, which could indicate ecological conditions' impact on their morphology. Environmental influences can be removed using the same cultivation conditions when evaluating accessions.

Conclusion

The existence of diversity causes plant genetic resources to adapt to different weather conditions. This can be effective in managing germplasm conservation of the Minoo Island accession.

Keywords: Morphological variation, *Lotus corniculatus*, Bird's-foot trefoil, Principal components analysis, Cluster analysis

پیش از انتشار

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

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

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۲-***نویسنده مسئول:** استادیار، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
(f.nasernakhaei@scu.ac.ir)

چکیده

یونجه پاکلاغی (*Lotus corniculatus* L.) از تیره Fabaceae یک لگوم علوفه‌ای متحمل به شوری است که از لحاظ ریخت‌شناسی بسیار متنوع می‌باشد و بیش‌ترین تنوع ژنتیکی این گیاه در حوزه مدیترانه است. دامنه 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 ۹ توده از رویشگاه‌های طبیعی آن (شامل اهواز، شیبان، ملاثانی، حمیدیه، سوسنگرد، کارون، جزیره مینو، هندیجان و شاوور) در بازه زمانی فروردین تا بهمن ماه ۱۴۰۲ انجام شد. چهارده صفت کیفی و چهار صفت کمی بر اساس دستورالعمل موسسه 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 کاسه گل و کرک کاسه گل، و صفات کمی طول دندانه نسبت به لوله کاسه گل، طول برگچه میانی، عرض برگچه میانی و ارتفاع گیاه مورد ارزیابی قرار گرفت. گروه‌بندی توده‌ها با استفاده از آنالیز خوشه‌بندی به روش Ward و ضریب اقلیدسی و تائید گروه‌بندی انجام شده به کمک آزمون تجزیه 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 به شبیه به حالت خوابیده یا گسترده مشاهده شدند. توده جزیره مینو بر اساس صفت فرم رویشی چوبی و عادت رشدی 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 بسیار مشاهده شد؛ درحالی‌که سایر صفات مورد بررسی فاقد تنوع بودند. نتایج تجزیه واریانس ANOVA نشان داد که صفات کمی طول برگچه میانی، عرض برگچه میانی و ارتفاع گیاه در سطح ۵ درصد معنی‌دار می‌باشند. همچنین آزمون دانکن توده‌های همگن را به خوبی شناسایی کرد و نشان داد که کدام توده‌ها از نظر صفات مورد بررسی مشابه یا متفاوت از یکدیگر می‌باشند. در هر دو تجزیه خوشه‌ای و تجزیه به مولفه‌های اصلی توده جزیره مینو به دلیل فرم رویشی و عادت رشدی در گروه جداگانه‌ای از سایر توده‌ها قرار گرفت. صحت گروه‌بندی انجام شده در

تجزیه خوشه‌ای توسط تجزیه تابع تشخیص تائید گردید. نتایج این پژوهش می‌تواند در مدیریت نگهداری ژرم‌پلاسم توده جزیره مینو موثر باشد. همچنین نتایج نشان داد که برخی از توده‌ها علی‌رغم فاصله جغرافیایی در کنار یکدیگر قرار گرفتند که این موضوع می‌تواند گویای تاثیر شرایط اکولوژیکی بر ریخت‌شناسی باشد. بنابراین بهتر است که توده‌ها در شرایط کشت یکسان مورد ارزیابی قرار گیرند تا تأثیر شرایط رویشگاه حذف گردد.

کلید واژه: تنوع ریخت‌شناسی، *Lotus corniculatus*، یونجه پاکلاغی، تجزیه به مولفه‌های اصلی، تجزیه خوشه‌ای

نسخه پیش از انتشار

مقدمه

یونجه پاکلاغی با نام علمی *Lotus corniculatus* L. (شکل ۱) از تیره Fabaceae گیاهی چندساله، دگرگشن و تتراپلوئید (Beuselinck & Grant, 1995; Drobná, 2010) مربوط به دنیای قدیم است (Steiner & 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 مرحله رشد مشابه در مقایسه با علوفه‌های دیگر مانند یونجه از کیفیت علوفه بالاتری برخوردار است (Beuselinck & Grant, 1995; Casler & 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 *L. corniculatus* که از لحاظ ریخت‌شناسی بسیار متنوع می‌باشد دارای دامنه پراکنش اکولوژیکی بسیار گسترده‌ای است که همین موضوع سبب بروز خصوصیات چندشکل (پلی-مورفیسم) در آن شده است (Chrtková-Žertová, 1973). بیش‌ترین تنوع ژنتیکی این گیاه بر اساس گزارش Grant, (1991) از حوزه 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 توسعه 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 & Chauhan, 2023).

یکی از ساده‌ترین و ارزان‌ترین روش‌ها جهت بررسی تنوع صفات چندشکل، استفاده از نشانگرهای ریخت‌شناسی است که پیامد جهش‌های قابل رویت 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 تاثیر شرایط محیطی و مرحله 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 مطالعه Chrtková-Žertová, (1967) بر روی جنس *Lotus* در ایران و کشورهای همسایه نشان داد که *L. corniculatus* از نظر صفات ریخت‌شناسی از قبیل شکل برگچه‌ها، طول دندانه نسبت به لوله کاسه گل، رنگ جام گل و علفی و چوبی بودن (فرم رویشی) متنوع است. در مطالعه 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 کاسه گل و طول بلندترین دندانه کاسه گل به طور معنی‌داری با ارتفاع همبستگی داشتند (Small *et al*., 1984). مطالعه جمعیت‌های بومی و غیربومی *L. corniculatus* در شمال اروپا توسط Bonnemaison & (1986) Jones, نشان داد که میانگین و انحراف معیار بین جمعیت‌های مذکور معنی‌دار است. در مطالعه‌ی صورت گرفته توسط Steiner & De Los Santos, (2001) تنوع ژنتیکی ۲۸ ژنوتیپ *L. corniculatus* 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 کاسه گل، پوشش کرکی کاسه گل و نیز رنگ جام گل تنوع وجود دارد. در پژوهش انجام شده بر روی ده جمعیت *L. corniculatus* از صربستان و بوسنی و هرزگوین توسط (2007) Vuckovic *et al*., نشان داده شد که جمعیت‌های مورد بررسی در صفاتی نظیر عادت رشدی، طول ساقه اصلی و رنگ جام گل دارای تنوع بودند. مشاهدات (2010) Drobná, بر روی پانزده 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 یونجه 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 یونجه پاکلاغی در استان خوزستان، ابتدا محدوده رویشگاه‌های طبیعی گیاه با استفاده از فلور خوزستان (Mozaffarian, 1999; Dinarvand, 2021) و مشاهده مستقیم مشخص گردید. به منظور مطالعه صفات ریخت‌شناسی در بازه فروردین تا بهمن ماه ۱۴۰۲، تعداد ۱۲۶ ژنوتیپ متعلق به ۹ توده به صورت تصادفی از رویشگاه‌های طبیعی جمع‌آوری و مختصات جغرافیایی هر یک از آنان ثبت گردید (جدول ۱). تعداد چهارده صفت کیفی و چهار صفت کمی بر اساس دستورالعمل موسسه بین‌المللی ذخایر توارثی (IBPGR, 1984) و نیز بررسی منابع (Chrtková-Žertová, 1973; Steiner & 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 لوله کاسه گل از نرم‌افزار Digimizer ver. 6.4.0 استفاده شد. بررسی پوشش کرکی ساقه، برگ و کاسه گل با استفاده از استریومیکروسکوپ مدل Olympus-SZX12 صورت گرفت. توصیف صفات ریخت‌شناسی کیفی بر اساس Mozaffarian, (2004) می‌باشد. به منظور مقایسه توده‌ها، نمودار میله‌ای صفات ریخت‌شناسی دارای تنوع در نرم‌افزار Excel ترسیم شد. آماره‌های توصیفی (کمینه، بیشینه، میانگین و انحراف معیار)، تجزیه واریانس ANOVA یک‌طرفه و نیز مقایسه 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).

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"

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

نتایج و بحث

هجده صفت کمی و کیفی در ۹ توده (۱۲۶ ژنوتیپ) مورد بررسی قرار گرفت. مشاهدات حاصل از این مطالعه در جدول ۲ خلاصه شده است.

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 توده جزیره مینو شبیه به حالت خوابیده یا گسترده مشاهده گردید (شکل B-۲). در توده‌های مورد مطالعه، ۶۵/۸۷ درصد ژنوتیپ‌ها به صورت خیزان[1]، ۲۲/۲۲ درصد آن‌ها به صورت راست[2] یا برافراشته[3] و ۱۱/۹۰ درصد شبیه به حالت خوابیده یا گسترده[4] مشاهده شدند. در نمودار میله‌ای رسم شده بر اساس فرم رویشی (شکل A-۲) و عادت رشدی (شکل B-۲)، توده جزیره مینو متفاوت از سایر توده‌ها دیده شد. در مطالعه Drobná, (2010) از عادت رشدی به عنوان صفت موثر 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.

[1] Decumbent
[2] Erect
[3] Ascending
[4] Procumbent or prostrate

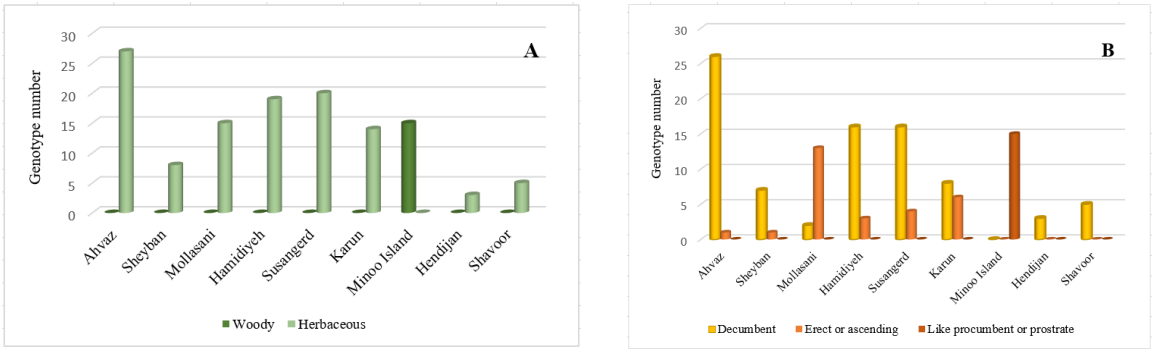

Figure 2- Distribution of the accessions based on A) vegetative forms and, B) growth habits

در توده‌های مورد مطالعه، بیش‌تر ژنوتیپ‌ها دارای سه برگچه با اندازه‌های متفاوت بودند. اگرچه نمونه‌هایی با سه برگچه با اندازه متفاوت و یکسان نیز بر روی یک ژنوتیپ مشاهده گردید. نوک برگچه‌ها به اشکال نوک تیز[1]، نوک دراز[2] و نوک کند[3] در یک توده رویت 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[4]، شکل مقطعی ساقه، رنگ ساقه، کرک بر روی ساقه، شکل دندانه کاسه گل و کرک کاسه گل در بین توده‌های مورد مطالعه فاقد تنوع بودند (جدول ۲ و شکل ۳).

صفات کمی: آماره‌های توصیفی صفات کمی ۱۲۶ ژنوتیپ یونجه پاکلاغی محاسبه گردید (جدول ۳). از آن‌جا که صفت طول دندانه نسبت به لوله کاسه گل در ۷ توده از ۹ 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. توده شیبان بیش‌ترین و توده شاوور کم‌ترین انحراف معیار را برای صفات طول برگچه میانی (شکل A-۴)، عرض برگچه میانی (شکل B-۴) و ارتفاع گیاه (شکل C-۴) نشان دادند. از آن‌جا که مقادیر زیاد انحراف معیار نشان‌دهنده تغییرات زیاد می‌باشد؛ بنابراین توده شیبان بیش‌ترین و توده 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 برگچه میانی (۱۷ میلی‌متر) و عرض برگچه میانی (۶ میلی‌متر) متعلق به توده شیبان بود. کم‌ترین طول برگچه میانی نیز برای توده‌های شیبان و سوسنگرد (۵ میلی‌متر) و برای عرض برگچه میانی در توده‌های سوسنگرد و اهواز (۲ میلی‌متر) اندازه‌گیری گردید. توده حمیدیه از کم‌ترین ارتفاع گیاه (۸ سانتی‌متر) برخوردار بود.

تجزیه واریانس این سه صفت به روش ANOVA یک‌طرفه و مقایسه میانگین به کمک آزمون دانکن انجام گرفت. بر اساس نتایج تجزیه واریانس این سه صفت کمی در سطح ۵ درصد معنی‌دار می‌باشند (جدول ۴). مقادیر ضریب تغییرات نیز حاکی از آن است که طول برگچه میانی در مقایسه با دو صفت دیگر از تنوع بیش‌تری برخوردار است (جدول ۴).

---

[2] Acuminate
[4] Stem firmness
[1] Acute
[3] Obtuse

Table 2- Investigated quantitative and qualitative traits in accessions of *L. corniculatus*

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

نسخه پیش از انتشار

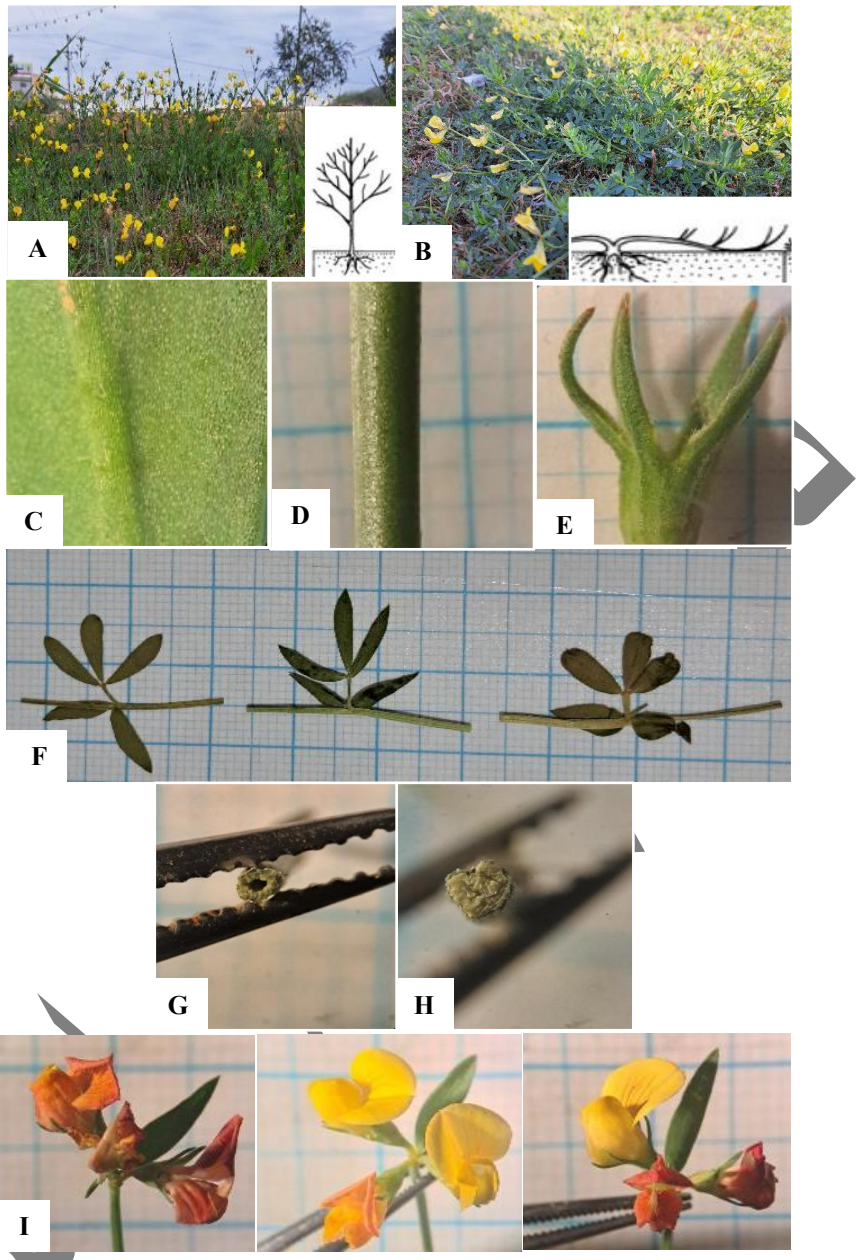

Figure 3- Some morphological traits of *L. corniculatus*; growth habit A) erect or ascending, B) decumbent; C) leaflets indumentum; D) stem indumentum and color; E) shape of calyx teeth and its indumentum; F) size, shape, and apex variations in some leaflets; G) solid stem in base and H) hollow stem 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

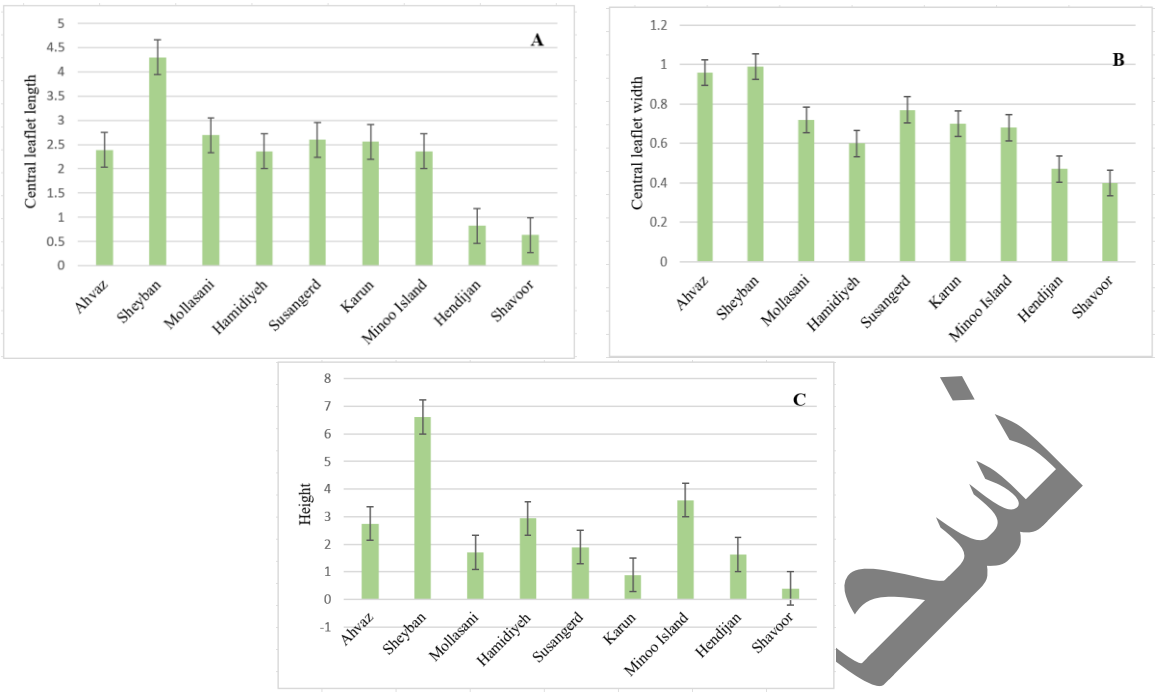

Figure 4- Comparison of A) central leaflet length (mm), B) central leaflet width (mm), and C) plant height (cm) among accessions (The error bars correspond to the standard error)

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				

نتایج مقایسه میانگین صفات (جدول ۵) نشان داد که توده‌های سوسنگرد و شاوور با کم‌ترین میانگین برای طول برگچه میانی و عرض برگچه میانی در گروه A قرار گرفتند. توده‌های کارون و جزیره مینو با بیش‌ترین میانگین برای طول برگچه میانی در گروه D و برای عرض برگچه 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

تجزیه خوشه‌ای بر اساس ۵ صفت دارای تنوع بین توده‌ای (جدول ۲)، افراد مورد مطالعه را به دو خوشه اصلی (A و B) تقسیم کرد (شکل ۵). نتایج تجزیه تابع تشخیص (جدول ۶) صحت گروه‌های حاصله را تائید نمود و احتمال جدایی توده جزیره مینو را صد در صد نشان داد. نتایج حاصل، خوشه‌بندی را تایید کرد (شکل ۶). در تجزیه به مولفه‌های اصلی صفات مورد بررسی، دو مولفه دارای مقادیر ویژه بزرگ‌تر از یک (عامل معنی‌دار) بودند

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

و این دو مولفه در مجموع ۶۵/۳۶ درصد از واریانس کل صفات را توجیه نمودند (جدول ۷). در اولین مولفه که ۳۶/۹۲ درصد از واریانس کل را توجیه نمود، صفات عادت رشدی و فرم رویشی ضریب بالایی داشتند. همچنین در مولفه دوم دو صفت طول برگچه میانی و عرض برگچه میانی از ضریب بالایی برخوردار بودند و این مولفه به تنهایی ۲۸/۴۴ درصد از واریانس کل 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 فاصله 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 & 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 فاصله جغرافیایی، فنوتیپ‌های مشابهی را نشان دادند. آن‌ها این مسئله را به ارتباط میان صفات ریخت‌شناسی خاص و ویژگی‌های اکوجغرافیایی مختلف مرتبط دانستند. یافته‌های آن‌ها نشان داد که صفات ریخت‌شناسی در سازگار شدن ژنوتیپ‌ها با رویشگاه‌ها مهم هستند. نتایج تجزیه به مولفه‌های 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، توده جزیره 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 متاثر 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 *L. corniculatus* مورد مطالعه آن‌ها در علفزارها، به طور قابل توجهی دارای سطح برگ، محیط برگ، طول برگ، عرض برگ و طول میانگره کم‌تری بودند، در حالی که رنگ گل تیره تری نسبت به مناطق جنگلی داشتند. آن‌ها این تمایز مشاهده شده را به زیستگاه‌های متفاوت، مرتبط دانستند. بررسی روابط فنتیکی و سطوح تغییرات درون و بین‌گونه ای 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، کاسه گل، طول تاج گل ویژگی‌های قابل توجهی را در حدود گونه نشان می‌دهد (Gaafar *et al*., 2021).

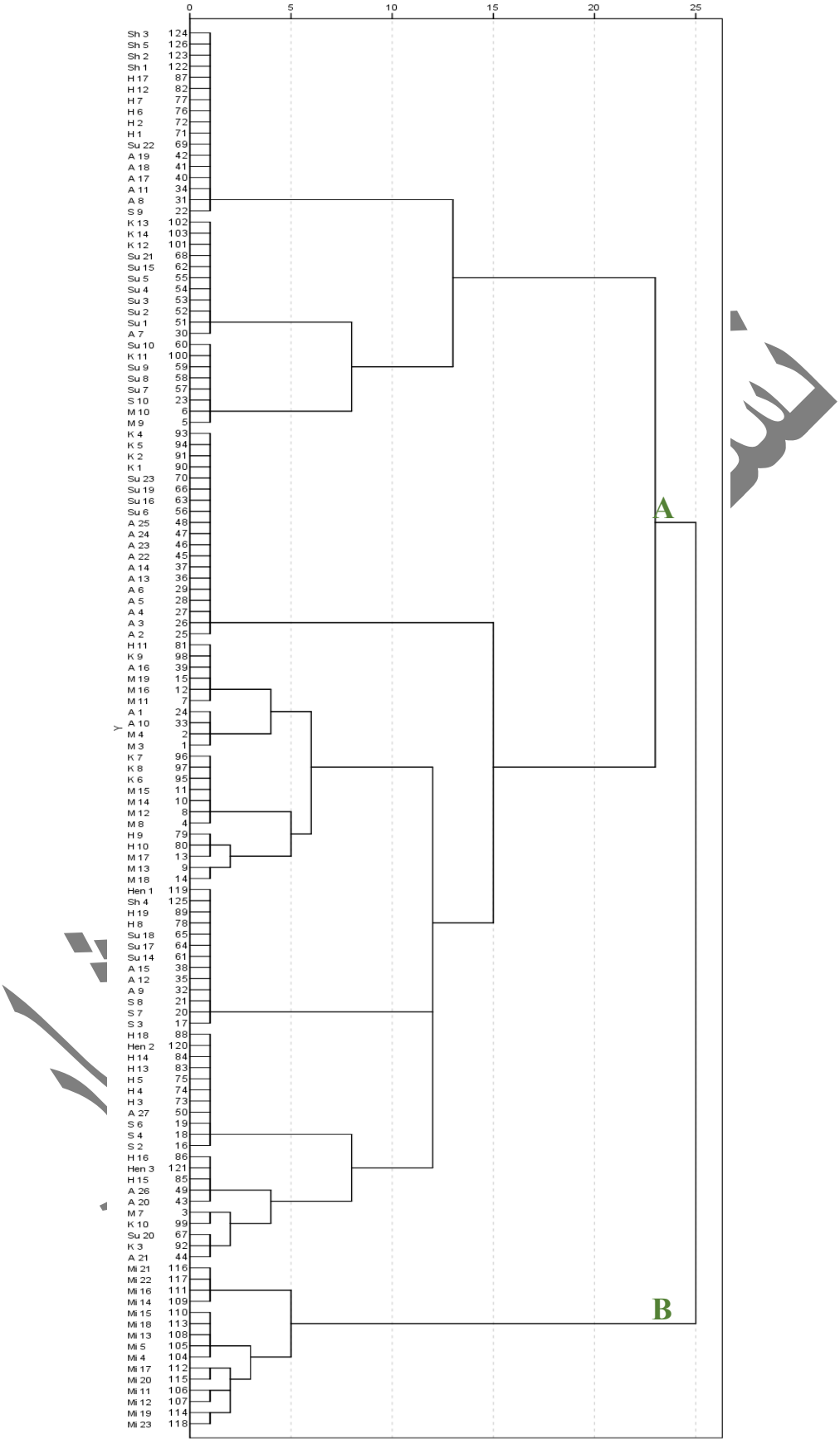

Figure 5- Cluster analysis of 126 genotypes based on morphological traits using Ward method

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

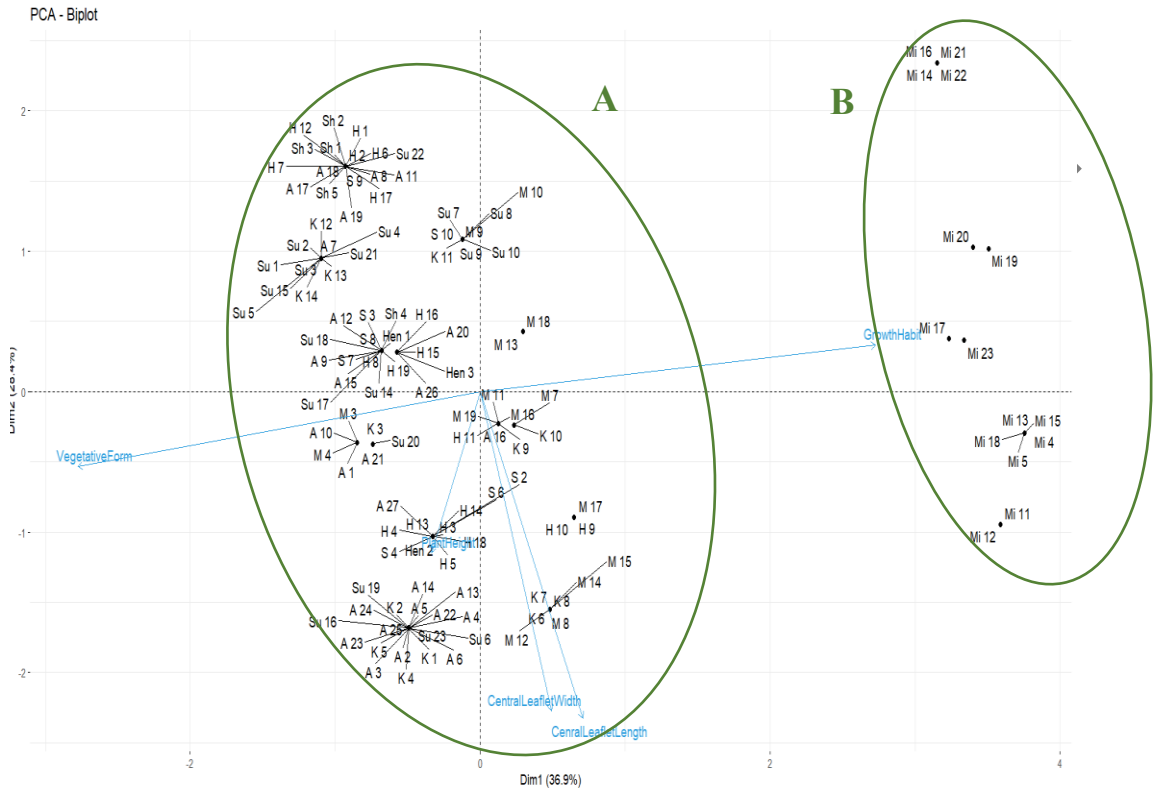

Figure 6- Principal components analysis of the studied accessions

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

نتیجه‌گیری کلی

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 یونجه پاکلاغی، دستاورد این مطالعه نیز وجود تنوع در صفاتی همچون اندازه 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 تجزیه خوشه‌ای و تجزیه به مولفه‌های 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 توده جزیره مینو به دلیل داشتن این صفات، متمایز از سایر توده‌ها قرار گرفت که نتایج این پژوهش می‌تواند در مدیریت نگهداری ژرم‌پلاسم این توده موثر باشد. همچنین برخی از توده‌ها علی‌رغم فاصله جغرافیایی، در آنالیز صفات در کنار یکدیگر قرار گرفتند که این موضوع نیز می‌تواند گویای تاثیر شرایط اکولوژیکی بر ریخت‌شناسی باشد. برای بررسی دقیق‌تر این موضوع پیشنهاد می‌شود که توده ها 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 جناب آقایان دکتر موسی مسکرباشی و دکتر حسین پاشا زانوسی به دلیل مشاورت‌های آماری تشکر می‌کنند.

نسخه پیش از انتشار

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] https://doi.org/10.22055/ppd.2024.46624.2160

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., & 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. 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.

نسخه پیش از انتشار