رستنیها ۲۵(۱): ۱۸–۱ (۱۴۰۳) – مقاله پژوهشی Rostaniha 25(1): 1–18 (2024) – Research Article
DOI: 10.22092/BOT.J.IRAN.2024.365023.1382

مطالعه گرده‌شناختی برخی از گونه‌های ایرانی جنس گل فراموشم‌مکن*

دریافت: ۱۴۰۲/۱۲/۲۸ ========== بازنگری: ۱۴۰۳/۰۱/۲۵ ========== پذیرش: ۱۴۰۳/۰۲/۰۱

بهاره اکبرنژاد: دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ۱۴۹۱۱-۱۵۷۱۹، ایران

فرخ قهرمانی‌نژاد✉: استاد گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران ۱۴۹۱۱-۱۵۷۱۹، ایران (fgh@khu.ac.ir)

محمود بیدارلرد: استادیار پژوهش، بخش تحقیقات جنگل‌ها، مراتع و آبخیزداری، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان گیلان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (AREEO)، رشت، ایران

مهرشید ریاحی: استادیار گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران ۱۴۹۱۱-۱۵۷۱۹، ایران

احسان حسینی: محقق انجمن زیست‌شناسی ایران، خیابان کلهر، پلاک ۲۸۵، تهران ۶۶۸۵۶-۱۳۴۵۶، ایران

چکیده

جنس گل فراموشم‌مکن، در بیشتر مناطق معتدل هر دو نیم‌کره پراکنش داشته و برخی از گونه‌های آن به عنوان گیاه زینتی به کار گرفته می‌شوند. جهت روشن نمودن روابط آرایه‌شناسی گونه‌های این جنس، دانه‌های گرده ۱۴ گونه به کمک میکروسکوپ نوری (LM) و الکترونی نگاره (SEM) مورد بررسی قرار گرفتند. سی و یک ویژگی نظیر اندازه گرده‌ها، شکل و تزیینات سطحی، نوع دریچه و تعداد و اندازه آن‌ها مورد بررسی قرار گرفتند و با کمک نرم‌افزارهای Past و IQ-TREE آنالیز و درخت‌های تبارشناختی آن ترسیم گردید. در نتیجه مشخص شد که گونه‌هایی نظیر *Myosotis ramosissima* و *M. diminuta* با *M. lithospermifolia* 1 و *M. sparsiflira* قرابت داشته و در یک خوشه قرار می‌گیرند. همچنین، در دو گونه *M. lithospermifolia* 1 و *M. minutiflora* دی‌مورفیسم در شکل دانه‌های گرده تشخیص داده شد. آنالیز PCA و Clustering صفات گرده‌شناسی در خوشه‌بندی گونه‌های مطالعه شده با یکدیگر منطبق بوده و یکدیگر را تایید نمود. صفات طول محور قطبی در نمای استوایی با میکروسکوپ نوری، صفت قطر نمای استوایی یا قطبی با میکروسکوپ نوری، نسبت طول محور قطبی به محور استوایی شیارهای کاذب و صفت وجود اجسام مثلثی موجود در سر قطبی دانه‌های گرده، جهت خوشه‌بندی گروهی از آرایه‌ها در یک خوشه با ارزش بوده و همچنین ساختار دانه‌های گرده گونه‌های *M. lithospermifolia*، *M. sparsiflora*، *Myosotis* sp.، *M. diminuta*، *M. propinqua*، *M. olympica* و *M. anomala* برای نخستین بار از این جنس منتشر می‌گردد. کلید شناسایی گونه‌ها براساس صفات دانه گرده نیز ارایه شده است. همچنین، چندتایی بودن دانه‌های گرده برای نخستین بار از گاوزبانیان در شکل تنوع دانه‌های گرده گونه *M. lithospermifolia* 1 گزارش می‌شود.

واژه‌های کلیدی: آرایه‌شناسی، دانه گرده، درخت تبارشناختی، ریزریخت‌شناسی، گاوزبانیان، *Myosotis*

Palynological study on a number of Iranian species of *Myosotis*

Received: 18.03.2024 ========== Revised: 13.04.2024 ========== Accepted: 20.04.2024

Bahareh Akbarnejad: MSc Graduate, Plant Systematics, Department of Plant Sciences, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran 15719-14911, Iran

Farrokh Ghahremaninejad✉**:** Prof., Department of Plant Sciences, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran 15719-14911, Iran (fgh@khu.ac.ir)

Mahmoud Bidarlord: Research Assistant Prof., Forests and Rangelands and Watershed Research Department, Guilan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran

Mehrshid Riahi: Assistant Prof., Department of Plant Sciences, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran 15719-14911, Iran

Ehsan Hoseini: Researcher, Iranian Biology Society, No. 285, Kalhor Street, Tehran 13456-66856, Iran

Summary

The genus *Myosotis* (forget-me-not), has a global distribution in most of the temperate regions of both the Northern and Southern hemispheres where a number of its species are used as ornamental plants. To clarify the taxonomic relationships of its species, pollen grains of 14 species were prepared from the T and FAR herbaria and examined utilizing a light (LM) - and a scanning electron microscopes (SEM). Thirty-one characteristics such as pollen size, shape, surface type and the type, number and size of apertures studied and analyzed by Past, PCA, and IQ-TREE softwares, and subsequently, phylogenetic trees were drawn. The results indicated that, *M. ramosissima* and *M. diminuta* with *M. lithospermifolia* 1 and *M. sparsiflira* found to be closely related to each other as they were clustered together. Moreover, pollen shape dimorphism was identified in *M. lithospermifolia* 1 and *M. minutiflora* while the results of PCA analysis and clustering on the basis of palynological traits placed these species together. The characteristics of the polar axes length in the equatorial view with a light microscope and diameter of equatorial or polar axes in light microscopy, the relative length of polar axis to equatorial axis of psedocolpi, and the presence of Ubisch bodies in the polar head of pollen grains have been found to be valuable for the clustering of *M. lithospermifolia*, *M. sparsiflora*, *Myosotis* sp., *M. diminuta*, *M. propinqua*, *M. olympica*, and *M. anomala* pollen grains which were studied here for the first time. The identify key is provided based on examined the pollen grains characters. The non-monad of pollen grains from *Boraginaceae* in the form of the diversity of pollens of *M. lithospermifolia* 1 is also reported for the first time.

Keywords: *Boraginaceae*, micromorphology, phylogenetic tree, pollen grain, taxonomy

* مستخرج از پایان‌نامه کارشناسی ارشد نگارنده نخست به راهنمایی آقایان دکتر فرخ قهرمانی‌نژاد و دکتر محمود بیدارلرد ارایه شده به دانشگاه خوارزمی

مقدمه

گاوزبانیان (*Boraginaceae*) دارای حدود ۹۰ جنس و ۱۶۰۰ تا ۱۷۰۰ گونه در جهان هستند (Pourghorban *et al.* 2020). جنس گل فراموشم‌مکن (*Myosotis* L.) پراکنش جهانی داشته و در بیشتر مناطق معتدل هر دو نیم‌کره شمالی و جنوبی می‌روید. گیاهان این آرایه تک‌نیا، گل‌هایی نمایان می‌سازند که کاربرد زینتی دارند (Akbarnejad 2023). این جنس حدود ۸۰ تا ۱۰۰ گونه را شامل می‌شود (Mabberley 2008, Weigend *et al.* 2016). در فلورا ایرانیکا (Riedl 1967) و فلور ایران (Khatamsaz 2002) این جنس به دو زیرجنس *Myosotis* و *Strophiostoma* Popov (Turcz.) تقسیم می‌شود. زیرجنس *Myosotis* خود شامل سه سری به نام‌های *Myosotis*، *Silvatica* Popov و *Arvenses* Popov است (Riedl 1967, Khatamsaz 2002).

مطالعات گرده‌شناسی، ابزار مناسبی در پژوهش‌های سیستماتیک در بسیاری از تیره‌های گیاهی هستند (Pakravan Atazadeh *et al.* 2020, Mohsenzadeh *et al.* *et al.* 2024, 2020, Ranjbar *et al.* 2020). گرده در اعضای گاوزبانیان تنوع ریخت‌شناختی بالایی دارد و به همین دلیل، تیره مذکور یکی از تیره‌های eurypalynous (پرجور-گرده) در نظر گرفته می‌شود (Clarke 1977a). گونه‌های زیادی از این تیره را می‌توان براساس صفات دانه‌های گرده تشخیص داد (Clarke 1977a, Díez & Valdés 1991)، بنابراین، از ریخت‌شناسی گرده می‌توان به عنوان یک ابزار طبقه‌بندی با پتانسیل بالا و خاص استفاده نمود (Nowicke & Ridgway 1973, Nowicke & Skvarla 1974, Nowicke & Miller 1990, Taroda & Gibbs 1986). گرده‌های *Myosotis* به صورت هتروکلپیت با دو نوع دریچه (aperture) واقعی به نام colpori و متناوب با دریچه‌های کاذب (pseudocolpi) (El Ghazali & Krzywinski 1989, Hargrove & Simpson 2003, Weigend *et al.* 2016) هستند که colpori-های آن‌ها از یک دریچه داخلی کوچک‌تر به نام endoaperture و یک دریچه بیرونی بزرگ‌تر به نام ektoaperture تشکیل شده‌اند (El Ghazali & Krzywinski 1989, Díez & Valdés 1991). تاکنون مطالعات زیادی درباره گرده این تیره از جمله جنس *Myosotis* در جهان انجام گرفته است (Avetisian 1956, Hargrove & Simpson 2003, Coutinho *et al.* 2012, Robertson 1989, Robertson 1992, Robertson & Lloyd 1991, Sahay 1979, Robertson & Lloyd 1993, Robertson & MacNair 1995, Brandon 2001, Meudt 2016, Volkova *et al.* 2017, Bigazzi *et al.* 2006, Retief & Van Wyk 1997, Fukuda & Ikeda 2012, Bigazzi & Selvi 1998, Bou 1968, Marticorena 1968, Clarke 1977a,b, Diez 1984, Khatamsaz 2001, Diez & Valdes 1991, Nowicke & Skvarla 1974, Attar *et al.* 2018). مطالعات مذکور در گاوزبانیان در تعیین حدود جنس‌ها و همچنین مطالعه روندهای تکاملی در کل تیره بسیار ارزشمند بوده (Clarke 1979a, Noroozi *et al.* 2022, Sahay 1979) و داده‌های مهمی را در توصیف گونه‌های جنس *Myosotis* و زمینه‌های دیگر مانند روندهای تکاملی در دوره کوارترنری در اختیار قرار می‌دهد که برای طبقه‌بندی این جنس مفید است (Grau & Leins 1968, Grau & Schwab 1982, Díez & Valdés 1991). لذا، این تحقیق با هدف انجام یک مطالعه تبارشناختی روی صفات ریزریخت‌شناسی گرده‌های برخی از گونه‌های ایرانی جنس *Myosotis*، از جمله گونه‌هایی که قبلا مورد مطالعه قرار نگرفته‌اند به منظور درک بهتر طبقه‌بندی این جنس در تیره مورد نظر صورت پذیرفته شده است.

روش بررسی

مطالعه روی نمونه‌های هرباریومی [هرباریوم‌های T دانشگاه خوارزمی (تهران) و FAR دانشگاه خوارزمی (کرج)] صورت گرفت (جدول‌های ۱ و ۲). بساک در پرچم هر نمونه به کمک استریومیکروسکوپ مدل NSZ-405 جداسازی و در یک قطره آب مقطر تقسیم و به خوبی تکان داده شدند. برای بررسی نمونه‌ها توسط میکروسکوپ نوری (LM) مدل Carl Zeiss، استولیز گرده‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در اسید استیک ۵٪ و شستشو به مدت ۵ دقیقه در آب مقطر انجام شد. سپس نمونه‌ها به مدت یک دقیقه در رنگ متیل‌بلو رقیق شده با آب مقطر رنگ‌آمیزی شدند و به وسیله میکروسکوپ نوری با بزرگ‌نمایی 100 X OLE 1.25 مورد مطالعه قرار گرفتند. برای بررسی دقیق‌تر نمونه‌ها توسط میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM) مدل Hitachi SU3500 و نمونه‌های گرده در آزمایشگاه مرکزی (SEM) دانشگاه شهید بهشتی، تصویربرداری شدند. عکس‌های تهیه شده با میکروسکوپ نوری و الکترونی نگاره با نرم‌افزار Imagej 1/5v برای بررسی صفاتی مانند طول و قطر دانه‌های گرده در میکروسکوپ نوری و طول و قطر دانه‌های گرده و طول و درجه دریچه و شیار دانه‌های گرده در میکروسکوپ الکترونی نگاره مورد مطالعه و اندازه‌گیری قرار گرفتند. صفات مورد بررسی پس از کدگذاری، توسط نرم‌افزار Past 4/13v در ابتدا استاندارد گردیده و سپس تحلیل PCA (Principal Components Analysis) و ترسیم درخت آرایه‌شناختی صفات مورد مطالعه (جدول ۳) به روش UPMGA با معیار شباهت Euclidean با Bootstrap Number ۱۰۰۰ ترسیم شد (Bidarlord & Vitek 2020).

شایان ذکر است که برای چهار گونه *M. sylvatica* Hoffm. (Halbritter 2016)، *M. alpestris* F.W.Schmidt (Halbritter *et al*. 2020)، *M. scorpioides* L. (Halbritter & Heigl 2020) و *M. ramosissima* Rochel ex. Schult. 1 (Halbritter *et al*. 2016) از داده‌های میکروسکوپ الکترونی از سایت https://www.paldat.org استفاده گردیده است.

جدول ۱- گونه‌های استفاده شده جنس گل فراموشم‌مکن در مطالعه گرده‌شناسی میکروسکوپ نوری (LM) همراه با اطلاعات آن‌ها

Table 1. Palynological study of the *Myosotis* species with the light microscope (LM) along with their related data

No.	Taxon	Locality, collector & voucher No.	Herbarium Name
1	*Myosotis alpestris* F.W.Schmidt	Ardebil Prov.: Khalkhal, Sardul, 2800 m; M. Bidarlord 24739	T
2	*M. anomala* Riedl.	Gilan Prov.: Lisar protected area, Subatan, 2200 m; M. Bidarlord 1972	T
3	*M. diminuta* Grau	Zanjan Prov.: 45 km from Zanjan to Dandi, Morassa village, 8 km toward Damerlu peak, near an abandoned mine, 2510 m; M. Mahmoodi 99889	TARI
4	*Myosotis* sp.	Gilan Prov.: Talesh; M. Bidarlord 24740	T
5	*M. lithospermifolia* 1	Gilan Prov.: Lisar protected area; M. Bidarlord 24746	T
6	*M. lithospermifolia* 2 (Willd.) Hornem.	Tehran Prov.: Afjeh Zaygan, 2000 m; unknown collector 18400	FAR
7	*M. minutiflora* Boiss. & Reut.	Ardebil Prov.: Khalkhal, Palangah Mt., 2600 m; M. Bidarlord 24741	T
8	*M. olympica* Boiss.	Ardebil Prov.: Khalkhal, Palangah Mt.; M. Bidarlord 24745	T
9	*M. propinqua* Fisch. & C.A.Mey.	Mazandaran Prov.: Sari-Semeskandeh, near Velashed, 160 m; H. Bahrami 11060	T
10	*M. ramosissima* 2 Rochel ex. Schult.	Northern Khorasan Prov.: Esfarayen, Saluk National Park, Joz valley, 1472 m; A. Ezazi 4868	T
11	*M. scorpioides* L.	Gilan Prov.: Lisar protected area, Subatan, 2000 m; M. Bidarlord 24742	T
12	*M. sparsiflora* J.C.Mikan ex Pohl.	Ardebil Prov.: Khalkhal, Shahroud riverside, 1200 m; M. Bidarlord 24743	T
13	*M. stricta* Link ex Roem. & Schult.	Ardebil Prov.: Khalkhal, Aq-Dagh Mt., 2300 m; M. Bidarlord 24744	T
14	*M. sylvatica* Hoffm.	Gilan Prov.: Lisar protected area, Bakro Dag, 2700 m; M. Bidarlord 1984	T

جدول ۲- گونه‌های استفاده شده جنس گل فراموشم‌مکن در مطالعه گرده‌شناسی میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM) همراه با اطلاعات آن‌ها

Table 2. Palynological study of the *Myosotis* species with the scanning electron microscope (SEM) along with their related data

No.	Taxon	Locality, collector & voucher No.	Herbarium Name
1	*Myosotis lithospermifolia* 1	Gilan Prov.: Lisar protected area; M. Bidarlord 24746	T
2	*M. lithospermifolia* 2	Tehran Prov.: Afjeh Zaygan, 2000 m; unknown collector 18400	FAR
3	*M. stricta*	Ardebil Prov.: Khalkhal, Aq-Dagh Mt., 2300 m; M. Bidarlord 24744	T
4	*M. sparsiflora*	Ardebil Prov.: Khalkhal, Shahroud riverside, 1200 m; M. Bidarlord 24743	T
5	*M. minutiflora*	Ardebil Prov.: Khalkhal, Palangah Mt.; M. Bidarlord 24741	T
6	*Myosotis* sp.	Gilan Prov.: Talesh, M. Bidarlord 24740	T
7	*M. diminuta*	Zanjan Prov.: 45 km from Zanjan to Dandi, Morassa village, 8 km toward Damerlu peak, near an abandoned mine, 2510 m; M. Mahmoodi 99889	TARI
8	*M. propinqua*	Mazandaran Prov.: Sari-Semeskandeh near Velashed, 160 m; H. Bahrami 11060	T
9	*M. olympica*	Ardebil Prov.: Khalkhal, Palangah Mt.; M. Bidarlord 24745	T
10	*M. anomala*	Gilan Prov.: Lisar protected area, Subatan, 2200 m; M. Bidarlord 1972	T

نتیجه

- بررسی شکل دانه‌های گرده با استفاده از میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM) و نوری (LM)

در بررسی تطبیقی گرده برخی از گونه‌های *Myosotis* از نظر واحد گرده، تمامی گونه‌های مورد مطالعه، به جز *M. lithospermifolia* 1 که دارای واحدهای گرده موناد (منفرد) و غیرموناد (چندتایی) با تعداد نامعلوم است، سایر گونه‌ها دارای واحد گرده منفرد بودند. دانه‌های گرده به تغییرات ژنتیکی در ژنوتیپ گامتوفیت و همچنین به تنش‌های محیطی غیرجهش‌زا بسیار حساس بوده، به طوری که برای زنده ماندن، میکروسپورها پس از تقسیم میوزی از یکدیگر جدا نشده و به صورت دوتایی و معمولا چهارتایی (تتراد) به هم متصل باقی می‌مانند (برخلاف الگوی رشد معمول گرده‌ها که دیوار کالوز خود را بعد از میوز به چهار محصول هاپلوییید می‌شکنند و میکروسپورهای منفرد قبل از تبدیل به گرده بالغ جدا می‌شوند) (Mulcahy 1981).

تاکنون در گاوزبانیان حالت غیرموناد شدن دیده نشده، لذا در بررسی حاضر، حالت غیرموناد و چسبیده شدن گرده‌ها در *M. lithospermifolia* 1 برای نخستین بار گزارش می‌شوند. از نظر خصوصیات و پراکندگی، همه گونه‌ها، به جز *M. minutiflora* و *M. lithospermifolia* 1 که تنوع گرده در شکل در آن‌ها دیده می‌شود، سایر گرده‌ها تا حدودی یکسان بودند. کلاس گرده در

همه گونه‌ها به صورت شیار منفذ و موناد بود، به جز *M. lithospermifolia* 1 که هم شیار منفذ و غیرموناد با تعداد نامعلوم وجود داشت. از نظر قطبیت، گرده همه گونه‌ها، به جز *M. minutiflora* و *M. lithospermifolia* 1 که حالت هتروپولار و ایزوپولار داشتند، مابقی ایزوپولار بودند. از نظر نسبت P/E (محور قطب به استوا) گرده همه گونه‌ها پرولیت بودند، به جز *M. minutiflora* و *M. lithospermifolia* 1 که علاوه بر پرولیت، گرد بودند. گرده‌های *M. sylvatica*، *M. lithospermifolia* 2، *M. anomala*، *M. olympica* و *Myosotis* sp.، از نظر شکل متنوع و به صورت ساعت شنی و باسیلی شکل بودند (Mahmoodi *et al.* 2015). گرده‌ها در *M. lithospermifolia* 1، ساعت شنی شکل و هرمی چهاروجهی، در *M. minutiflora* ساعت شنی شکل و مثلثی و در *M. scorpioides*، *M. propinqua*، *M. sparsiflora*، *M. stricta* و *M. lithospermifolia* 2 منحصرا ساعت شنی شکل بودند. در بررسی دانه‌های گرده از نظر نمای قطبی، همه گونه‌های مورد مطالعه دارای نمای قطبی و حالت دایره‌ای داشتند، به جز *M. minutiflora* و *M. lithospermifolia* 1 که در *M. minutiflora* به ترتیب دایره‌ای و T شکل و در *M. lithospermifolia* 1 سه‌وجهی و دایره‌ای بود. در بررسی تزیینات شکل سطح گرده توسط میکروسکوپ نوری، همه گونه‌ها صاف بودند (جدول ۳).

- بررسی دانه‌های گرده براساس دریچه با استفاده از میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM)

در بررسی اندازه‌گیری‌های انجام شده سیستم‌های دریچه‌ای، همه گونه‌ها دارای شش هتروکولپیت (دریچه با بیش از یک نوع شیار) بود، اما در *M. lithospermifolia* 1 و *M. minutiflora* به دلیل تنوع در گرده، علاوه بر شش هتروکولپیت، دو مدل دیگر نیز در بررسی تاخوردگی‌ها (گرده خشک) دیده شد، به طوری که دریچه‌های همه گونه‌ها فرورفته و شیار منفذها دو حالت ektoaperture و endoaperture را نشان دادند. تعداد دریچه‌ها در همه گونه‌ها، به جز *M. lithospermifolia* 1 که دارای تنوع گرده‌ای بود، یک نوع دارای سه دریچه، در نوعی تعداد نامشخص و در سایر گونه‌ها سه دریچه وجود داشت. نوع دریچه‌ها در تمامی گونه‌های مورد مطالعه شیار منفذ و از نظر وضعیت دریچه تمامی گونه‌های مورد مطالعه شیار منفذ [دریچه مرکب متشکل از یک شیار (اکتودیافراگم) همراه با یک دریچه داخلی با اندازه و شکل متغیر] دارای سه شیار منفذی بودند.

در بررسی ویژگی‌های دیگر دریچه گرده همه گونه‌ها مارگو، کشیده و هترودیافراگم بودند. نوع شیار سطحی (colpus) در تمامی گونه‌های مورد مطالعه کاذب و تعداد آن‌ها، به جز *M. lithospermifolia* 1 که دارای تنوع گرده‌ای بود؛ در یک نوع سه عدد، در نوعی نامعلوم و در سایر گونه‌ها، سه دریچه کاذب وجود داشت (جدول ۳).

- بررسی دانه‌های گرده براساس اندازه با استفاده از میکروسکوپ نوری (LM)

در بررسی اندازه‌گیری‌های انجام شده توسط نرم‌افزار ImageJ، از نظر کوتاه‌ترین محور قطبی در نمای استوایی، بیشترین متعلق به *M. lithospermifolia* 1 با اندازه ۹ میکرومتر و کوچک‌ترین متعلق به *M. sparsiflora* و *M. anomala* با اندازه ۴ میکرومتر بود. در اندازه‌گیری طولانی‌ترین محور قطبی در نمای استوایی، بیشترین متعلق به *M. lithospermifolia* 2، *M. ramosissima* 2 و *M. diminuta* با اندازه ۱۰ میکرومتر و کوچک‌ترین متعلق به *M. sparsiflora* و *M. anomala* با اندازه ۵ میکرومتر بود. در بررسی کوتاه‌ترین قطر در نمای استوایی یا قطبی، بیشترین متعلق به *M. dimmiuta* با اندازه ۵ میکرومتر و کوچک‌ترین متعلق به *M. anomala* و *M. sparsiflora* با اندازه ۱ میکرومتر و از نظر طولانی‌ترین قطر در نمای استوایی یا قطبی، بزرگ‌ترین متعلق به *M. dimmiuta* با اندازه ۶ میکرومتر و کوچک‌ترین متعلق به *M. sparsiflora*، *M. propinqua*، *M. anomala*، *M. alpestris* و *M. sylvatica* با اندازه ۲ میکرومتر بود (جدول ۳).

- بررسی دانه‌های گرده براساس اندازه با استفاده از میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM)

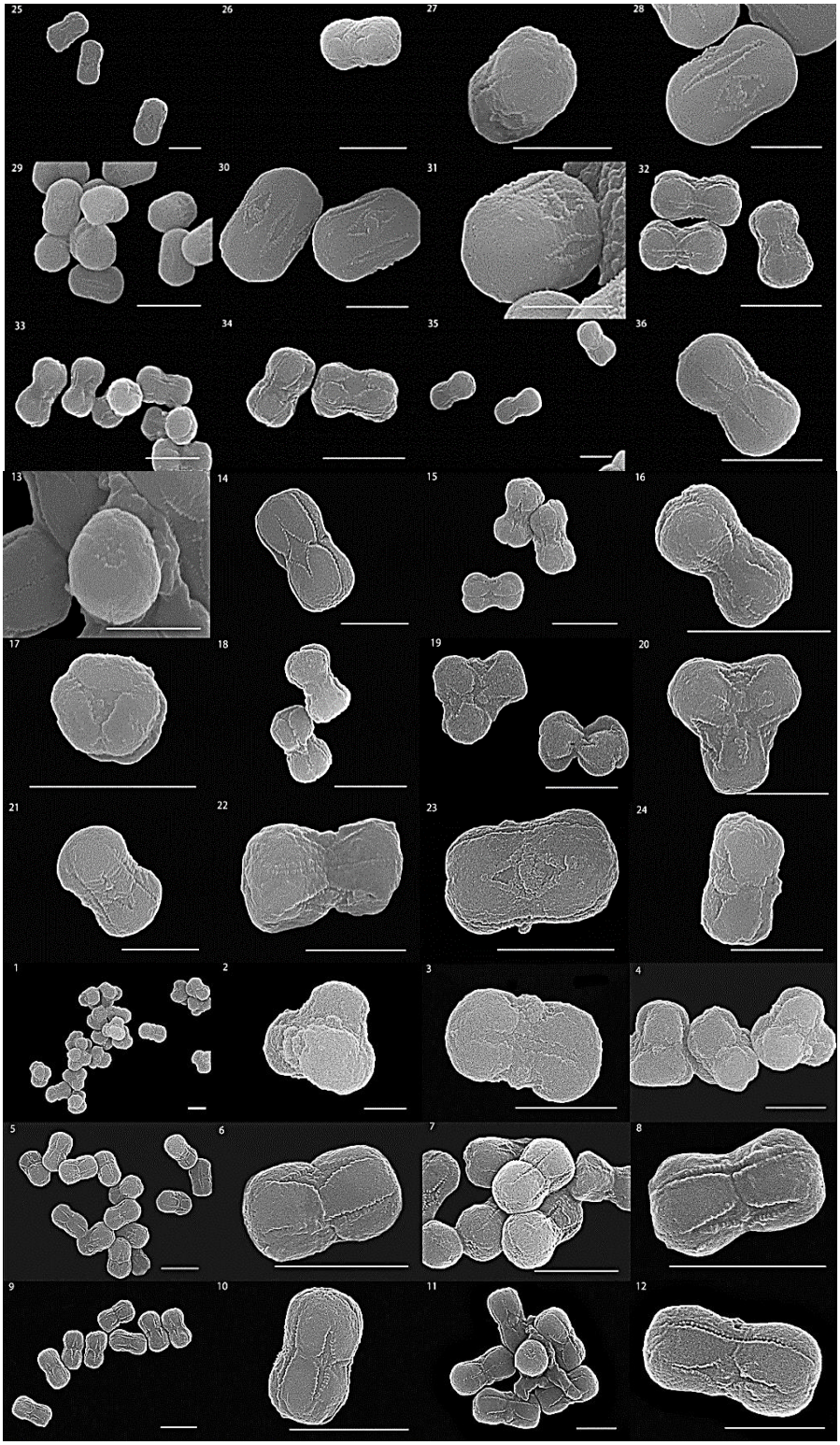
در اندازه‌گیری‌های انجام شده توسط نرم‌افزار Imagej 1/5v، از نظر کوتاه‌ترین محور قطبی در نمای استوایی، بزرگ‌ترین متعلق به *M. ramosissima* 1 با اندازه ۹/۵ میکرومتر و کوچک‌ترین متعلق به *M. sparsiflora* با اندازه ۴/۸۲۴ میکرومتر بود. از نظر طولانی‌ترین محور قطبی در نمای استوایی، بزرگ‌ترین متعلق به *M. ramosissima* 1 با اندازه ۱۰/۸۰۶ میکرومتر و کوچک‌ترین متعلق به *M. lithospermifolia* 2 با اندازه ۵/۵۱۵ میکرومتر بود. در اندازه‌گیری کوتاه‌ترین قطر در نمای استوایی یا قطبی، بزرگ‌ترین متعلق به *M. ramosissima* 1 با اندازه ۶/۲۵۴ میکرومتر و کوچک‌ترین متعلق به *M. lithospermifolia* 2 با اندازه ۲/۰۵۶ میکرومتر بود. در اندازه‌گیری، طولانی‌ترین قطر در نمای استوایی یا قطبی، بزرگ‌ترین متعلق به *M. ramosissima* 1 با اندازه ۶/۷۴۱ میکرومتر و کوچک‌ترین متعلق به *M. sparsiflora* با اندازه ۱/۹۸۵ میکرومتر بود. در بررسی طولانی‌ترین محور قطبی دریچه در نمای استوایی، بزرگ‌ترین متعلق به *M. scorpioides* با اندازه ۸/۱۴۸ میکرومتر و کوچک‌ترین متعلق به *M. sparsiflora* با اندازه ۲/۶ میکرومتر بود. در مطالعه طولانی‌ترین قطر دریچه در نمای استوایی یا قطبی، بزرگ‌ترین متعلق به *M. ramosissima* 1 با اندازه ۳/۵۳۶ میکرومتر و کوچک‌ترین متعلق به *M. lithospermifolia* 2 با اندازه ۰/۹۵۷ میکرومتر بود. در بررسی طولانی‌ترین محور قطبی شیار کاذب در نمای استوایی، بیشترین متعلق به *M. ramosissima* 1 با اندازه ۹/۸۵۹ میکرومتر و کوچک‌ترین متعلق به *M. sparsiflora* با اندازه ۲/۰۰۴ میکرومتر بود. در مطالعه شیار کاذب، طولانی‌ترین قطر در استوا یا نمای قطبی، بزرگ‌ترین متعلق به *M. alpestris* با اندازه ۱/۵۲۸ میکرومتر و کوچک‌ترین متعلق به *M. sparsiflora* با اندازه ۰/۱۰۷ میکرومتر بود (جدول ۳).

- بررسی تزیین و ساختار گرده‌ها با استفاده از میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM)

در مطالعه تزیین گرده در *M. sylvatica*، *M. ramosissima* 1، *M. scorpioides*، *M. alpestris*، *M. anomala*، *M. olympica*، *M. propinqua*، *M. diminuta*، *M. sparsiflora*، *M. stricta* و *M. lithospermifolia* 2، حالت‌های صاف و سوراخ‌دار، اما در *M. Lithospermifolia* 1 و *M. minutiflora* فقط حالت صاف مشاهده گردید.

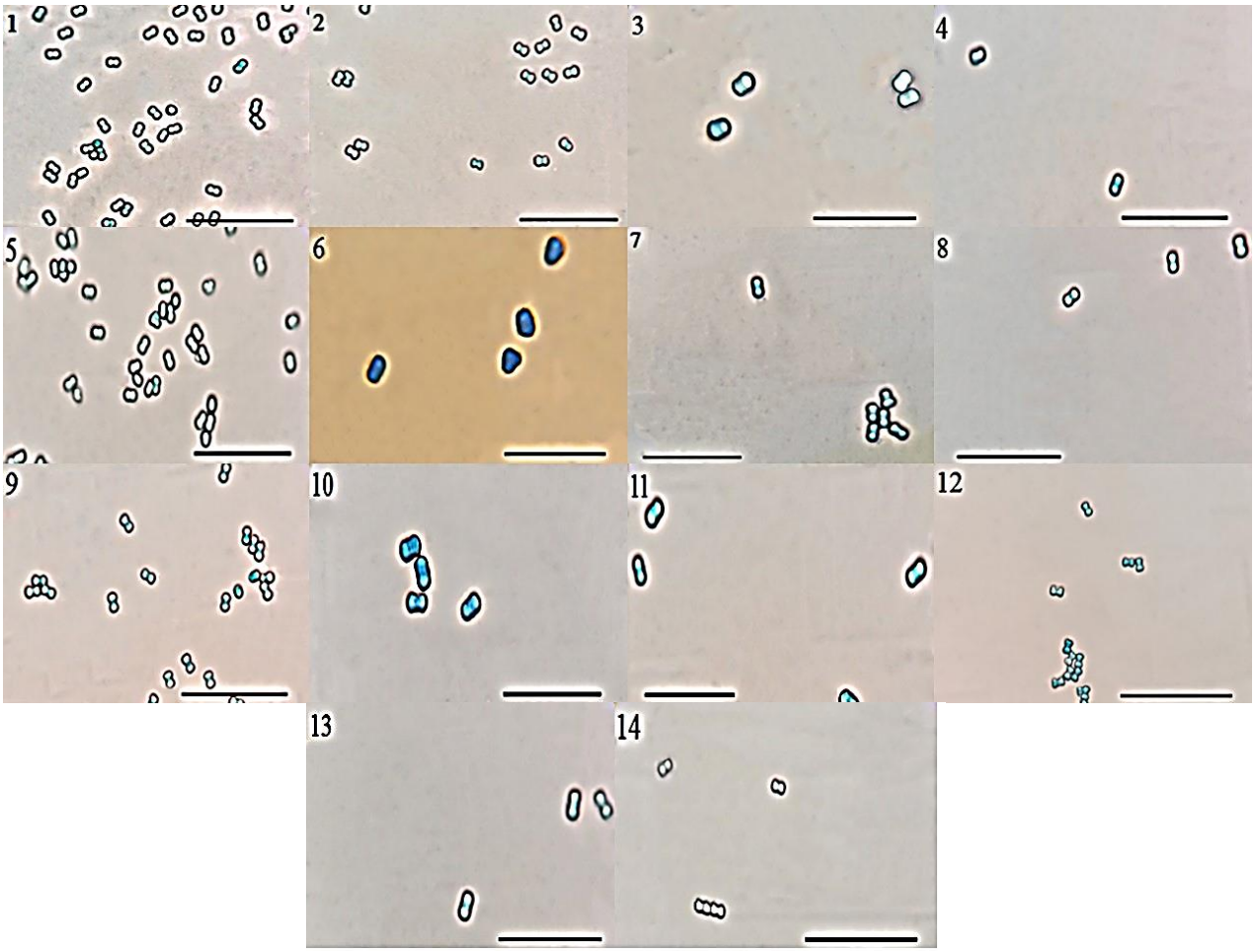
اجسام مثلثی مشبک ریز در ناحیه قطب گرده در *M. sylvatica*، *M. scorpioides*، *M. alpestris*، *M. olympica*، *M. propinqua*، *Myosotis* sp.، *M. sparsifiora*، *M. stricta*، *M. lithospermifoli* 2 و *M. lithospermifolia* 1 دیده شد. در *M. ramosissima* 1، *M. anomala*، *M. olympica*، *M. propinqua*، *M. diminuta*، *M. sparsiflora*، *M. stricta* و *M. lithospermifolia* 2 حالت‌های صاف و سوراخ‌دار ولی در *Myosotis* sp.، *M. minutiflora* و *M. lithospermifolia* 1 فقط حالت صاف مشاهده گردید (جدول ۳).

شکل گرده‌های مورد مطالعه در هر دو میکروسکوپ نوری و الکترونی نگاره در *M. lithospermifolia* 1 و *M. minutiflora* به حالت dimorphism بود (شکل ۱، تصاویر ۱، ۲، ۲۰ و ۲۲ و شکل ۲ تصاویر ۵ و ۶). وجود ناجورشکلی (dimorphism) تاکنون در گرده‌های جنس *Myocotis* گزارش نشده، اما وجود این حالت در اندازه گرده‌های سایر جنس‌های گاوزبانیان گزارش شده است. به عنوان نمونه، وجود ناجورشکلی در اندازه گرده‌ها، در *Lithospermum cobrense* Greene گزارش شده است (Ganders 1979). مثالی از وجود ناجورشکلی در شکل گرده‌ها را می‌توان در روناسیان (*Rubiaceae*) نیز مشاهده نمود (Baker 1956).



شکل ۱- دانه گرده تهیه شده با میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM) جنس *Myosotis*. ۴-۱: 1 *M. lithospermifolia*، ۱۰-۵: 2 *M. lithospermifolia*، ۱۴-۱۱: *M. stricta*، ۱۸-۱۵: *M. sparsiflora*، ۲۲-۱۹: *M. minutiflora*، ۲۸-۲۳: *Myosotis* sp.، ۳۱-۲۹: *M. diminuta*، ۳۴-۳۲: *M. propinqua*، ۳۸-۳۵: *M. olympica*، ۴۱-۳۹: *M. anomala* (مقیاس = ۵ میکرومتر).

Fig. 1. Scanning electron microscope (SEM) micrographs of *Myosotis* pollen grains. 1–4. *M. lithospermifolia* 1, 5–10. *M. lithospermifolia* 2, 11–14. *M. stricta*, 15–18. *M. sparsiflora*, 19–22. *M. minutiflora*, 23–28. *Myosotis* sp., 29–31. *M. diminuta*, 32–34. *M. propinqua*, 35–38. *M. olympica*, 39–41. *M. anomala* (Bar = 5 µm).



شکل ۲- تصاویر میکروسکوپ نوری (LM) گونه‌های *Myosotis* با بزرگنمایی ۱۰۰ برابر. ۱: *M. alpestris*، ۲: *M. anomala*، ۳: *M. diminuta*، ۴: *Myosotis* sp.، ۵: *M. lithospermifolia* 2، ۶: *M. lithospermifolia* 1، ۷: *M. minutiflora*، ۸: *M. olympica*، ۹: *M. propinqua*، ۱۰: *M. ramosissima* 2، ۱۱: *M. palustris*، ۱۲: *M. sparsiflora*، ۱۳: *M. stricta*، ۱۴: *M. sylvatica* (مقیاس = ۵۰ میکرومتر).

Fig. 2. Pollen grains of *Myosotis* species by the light microscope (LM) with 100x. 1. *M. alpestris*, 2. *M. anomala*, 3. *M. diminuta*, 4. *Myosotis* sp., 5. *M. lithospermifolia* 2, 6. *M. lithospermifolia* 1, 7. *M. minutiflora*, 8. *M. olympica*, 9. *M. propinqua*, 10. *M. ramosissima* 2, 11. *M. palustris*, 12. *M. sparsiflora*, 13. *M. stricta*, 14. *M. sylvatica* (Bar = 50 µm).

جدول ۳- مقایسه صفات گرده‌های گونه‌های مطالعه شده جنس گل فراموشم‌مکن با میکروسکوپ نوری (LM) و الکترونی نگاره (SEM)

Table 3. Comparison of pollen characteristics of the studied *Myosotis* species with the light (LM) - and scanning electron microscopes (SEM)

Taxon	POU-APS	DIU/PEC	SPAEV (LM)-LPAEV (LM) µm	SDEPV (LM)-LDEPV (LM) µm	SPAEV (SEM)-LPAEV (SEM) µm	SDEPV (SEM)-LDEPV (SEM) µm	POC-POL	P/ER-SHA
Myosotis scorpioides	Monad-6Heterocolpate	Monad	8–9	3–4	6.556–7.14	2.303–2.58	Colporate/monad-isopolar	Prolate-hourglass-shaped
M. propinqua	Monad-6Heterocolpate	Monad	6–7	2–2	5.081–5.648	2.508–2.797	Colporate/monad-isopolar	Prolate-hourglass-shaped
M. sparsiflora	Monad-6Heterocolpate	Monad	4–5	1–2	4.824–5.747	2.802–1.985	Colporate/monad-isopolar	Prolate-hourglass-shaped
M. stricta	Monad-6Heterocolpate	Monad	8–9	3–4	8.05–8.696	3.88–4.076	Colporate/monad-isopolar	Prolate-hourglass-shaped
M. lithospermifolia 2	Monad-6Heterocolpate	Monad	5–6	3–3	4.905–5.515	2.056–2.87	Colporate/monad-isopolar	Prolate-hourglass-shaped
M. sylvatica	Monad-6Heterocolpate	Monad	5–6	2–3	7.296–7.949	3.704–4.046	Colporate/monad-isopolar	Prolate-hourglass-shaped/bacilli-shaped
M. ramosissima 1 for SEM and 2 LM	Monad-6Heterocolpate	Monad	9–10	4–5	9.5–10.806	6.254–6.741	Colporate/monad-isopolar	Prolate-hourglass-shaped/bacilli-shaped
M. alpestris	Monad-6Heterocolpate	Monad	5–6	2–2	6.954–7.394	3.128-3.93	Cad-isopolar	Prolate-hourglass-shaped/bacilli-shaped
M. anomala	Monad-6Heterocolpate	Monad	4–5	1–2	8.224–8.546	5.246–5.944	Colporate/monad-isopolar	Prolate-hourglass-shaped/bacilli-shaped
M. olympica	Monad-6Heterocolpate	Monad	7–7	3–3	6.78–7.404	3.062–3.728	Colporate/monad-isopolar	Prolate-hourglass-shaped/bacilli-shaped
M. diminuta	Monad-6Heterocolpate	Monad	9-–0	5–5	9.243–9.512	6.189–6.439	Colporate/monad-isopolar	Prolate-hourglass-shaped/bacilli-shaped
Myosotis sp.	Monad-6Heterocolpate	Monad	6–7	3–3	7.251–7.689	3.789–4.29	Colporate/monad-isopolar	Prolate-hourglass-shaped/bacilli-shaped
M. minutiflora	Monad-6Heterocolpate/?	Monad	9–9	3–4	7.173–8.369	4.249–4.32	Colporate/monad-heteropolar/isopolar	Prolate/spheroidal-hourglass-shaped/ outline triangular
M. lithospermifolia 1	Monad/ non monad unknown-6Heterocolpate/?	Monad/ non monad diversity	9–10	3–4	7.735/ 5.627–8.281/ 6.984	4.286/ 4.128–4.598/ 4.486	Colporate/non monad unknown-heteropolar/isopolar	Prolate/spheroidal-hourglass-shaped/pyramidal tetrahedron

Table 3 (contd) **جدول ۳ (ادامه)**

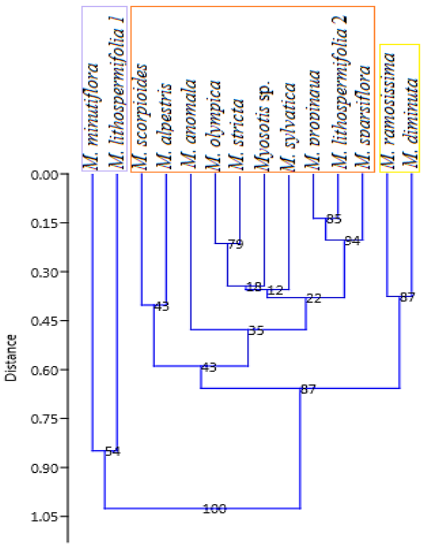
Taxon	OPV-DO (LM)	INF-APN	APT-APC	APP-SUP	ALPAEV (SEM)-ALDEPV (SEM) µm	PSN-COT	PLPAEV (SEM)-PLDEPV (SEM) µm	ORN (SEM)-UBB
Myosotis scorpioides	Circular shape-psilate	Aperture (s) sunken-3	Colporus-colporate/ tricolporus	Lalongate, margo, pseudocolpus, heteroaperturate-polar area with triangular tenuitas	8.148–2.787	3-pseudocolpus	8.714–0.931	Psilate, perforate-present
M. propinqua	Circular shape-psilate	Aperture (s) sunken-3	Colporus-colporate/ tricolporus	Lalongate, margo, pseudocolpus, heteroaperturate-psilate, perforate	3.074–1.035	3-pseudocolpus	3.318–0.195	Psilate, perforate-present
M. sparsiflora	Circular shape-psilate	Aperture (s) sunken-3	Colporus-colporate/ tricolporus	Lalongate, margo, pseudocolpus, heteroaperturate-psilate, perforate	2.6–1.072	3-pseudocolpus	2.004–0.107	Psilate, perforate-present
M. stricta	Circular shape-psilate	Aperture (s) sunken-3	Colporus-colporate/ tricolporus	Lalongate, margo, pseudocolpus, heteroaperturate-psilate, perforate	5.235–1.85	3-pseudocolpus	7.144–0.188	Psilate, perforate-present

Table 3 (contd) **جدول ۳ (ادامه)**

M. lithospermifolia 2	Circular shape-psilate	Aperture (s) sunken-3	Colporus-colporate/ tricolporus	Lalongate, margo, pseudocolpus, heteroaperturate-psilate, perforate	3.065–0.957	3-pseudocolpus	3.669–0.253	Psilate, perforate-present
M. sylvatica	Circular shape-psilate	Aperture (s) sunken-3	Colporus-colporate/ tricolporus	Lalongate, margo, pseudocolpus, heteroaperturate-polar area with triangular tenuitas	3.86–2.225	3-pseudocolpus	5.067–0.714	Psilate, perforate-present
M. ramosissima 1 for SEM and 2 LM	Circular shape-psilate	Aperture (s) sunken-3	Colporus-colporate/ tricolporus	Lalongate, margo, pseudocolpus, heteroaperturate-psilate, perforate	6.575–3.536	3-pseudocolpus	9.859–0.576	Psilate, perforate-?
M. alpestris	Circular shape-psilate	Aperture (s) sunken-3	Colporus-colporate/ tricolporus	Lalongate, margo, pseudocolpus, heteroaperturate-polar area with triangular tenuitas	6.554–2.237	3-pseudocolpus	7.683–1.528	Psilate, perforate-present
M. anomala	Circular shape-psilate	Aperture (s) sunken-3	Colporus-colporate/ tricolporus	Lalongate, margo, pseudocolpus, heteroaperturate-psilate, perforate	4.061–2.011	3-pseudocolpus	6.001–0.407	Psilate, perforate-?
M. olympica	Circular shape-psilate	Aperture (s) sunken-3	Colporus-colporate/ tricolporus	Lalongate, margo, pseudocolpus, heteroaperturate-psilate, perforate	5.35–1.407	3-pseudocolpus	5.899–0.152	Psilate, perforate-present
M. diminuta	Circular shape-psilate	Aperture (s) sunken-3	Colporus-colporate/ tricolporus	Lalongate, margo, pseudocolpus, heteroaperturate-psilate, perforate	4.264–1.688	3-pseudocolpus	5.905–0.84	Psilate, perforate-?
Myosotis sp.	Circular shape-psilate	Aperture (s) sunken-3	Colporus-colporate/ tricolporus	Lalongate, margo, pseudocolpus, heteroaperturate-psilate	3.214–1.943	3-pseudocolpus	3.832–0.456	Psilate-present
M. minutiflora	Circular shape/ T-shape-psilate	Aperture (s) sunken-3/3	Colporus-colporate/ tricolporus	Lalongate, margo, pseudocolpus, heteroaperturate-psilate	3.119/3–1.656/ 1.663	3/3-pseudocolpus	6.509/?–0.302/?	Psilate-?
M. lithospermifolia 1	Circular shape/ trihedral-psilate	Aperture (s) sunken-3/?	Colporus-colporate/ tricolporus	Lalongate, margo, pseudocolpus, heteroaperturate-psilate	3.472/?–?/?	3/?-pseudocolpus	4.851/?–0.633/?	Psilate-present/?

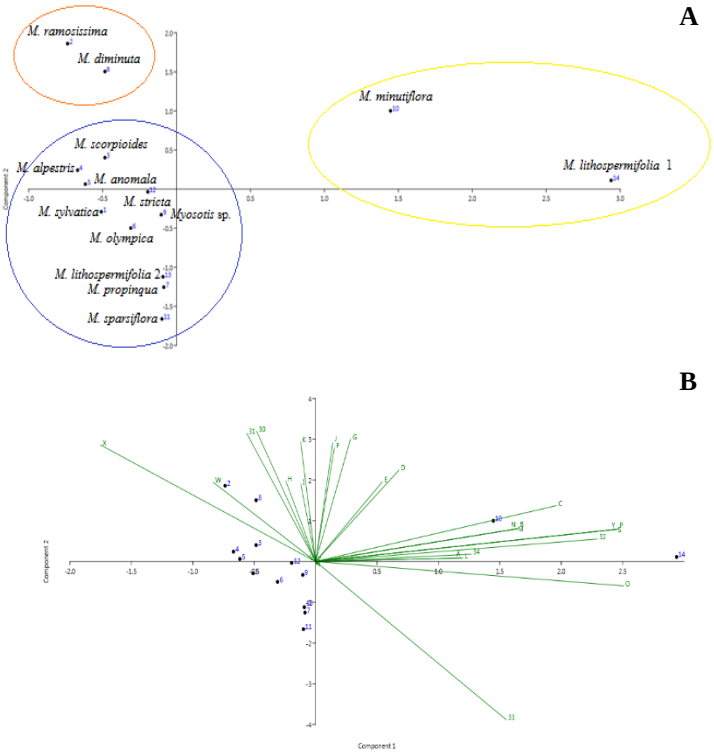
صفات: POU (واحد گرده)، APS (سیستم دریچه)، DIU/PEC (واحد پراکندگی و ویژگی‌ها)، SPAEV (LM) (کوتاه‌ترین محور قطبی در نمای استوایی با میکروسکوپ نوری)، LPAEV (LM) (طولانی‌ترین محور قطبی در نمای استوایی با میکروسکوپ نوری)، SDEPV (LM) (کوتاه‌ترین قطر در نمای استوایی یا قطبی با میکروسکوپ نوری)، LDEPV (LM) (طولانی‌ترین قطر در نمای استوایی یا قطبی با میکروسکوپ نوری)، SPAEV (SEM) (کوتاه‌ترین محور قطبی در نمای استوایی با میکروسکوپ الکترونی نگاره)، LPAEV (SEM) (طولانی‌ترین محور قطبی در نمای استوایی با میکروسکوپ الکترونی نگاره)، SDEPV (SEM) (کوتاه‌ترین قطر در نمای استوایی یا قطبی با میکروسکوپ الکترونی نگاره)، LDEPV (SEM). (طولانی‌ترین قطر در نمای استوایی یا قطبی با میکروسکوپ الکترونی نگاره)، POC (کلاس گرده)، POL (قطبیت)، P/ER (نسبت-P/E)، SHA (شکل)، OPV (طرح کلی در نمای قطبی)، DO (LM) (نوع سطح با میکروسکوپ نوری)، INF (تغییر شکل گرده خشک)، APN (تعداد دریچه)، APT (نوع دریچه)، APC (وضعیت دریچه)، APP (ویژگی‌های دریچه)، SUP (سطح قطبی)، ALPAEV (SEM) (طولانی‌ترین محور قطبی دریچه در نمای استوایی با میکروسکوپ الکترونی نگاره)، ALDEPV (SEM) (طولانی‌ترین قطر دریچه در نمای استوایی یا قطبی با میکروسکوپ الکترونی نگاره)، PSN (تعداد دریچه کاذب)، COT (نوع شیار)، PLPAEV (SEM) (طولانی‌ترین محور قطبی دریچه کاذب در نمای استوایی با میکروسکوپ الکترونی نگاره)، PLDEPV (SEM) (طولانی‌ترین قطر دریچه کاذب در نمای استوایی یا قطبی با میکروسکوپ الکترونی نگاره)، ORN (SEM) (تزیینات با میکروسکوپ الکترونی نگاره) و UBB (اجسام مثلثی شکل موجود در قطب دانه گرده).

Characteristics: POU = pollen unit, APS = apertural system, DIU/PEC = dispersal unit and peculiarities, SPAEV (LM) = shortest polar axis in equatorial view, LPAEV (LM) = longest polar axis in equatorial view, SDEPV (LM) = shortest diameter in equatorial or polar view, LDEPV (LM) = longest diameter in equatorial or polar view (LM), SPAEV (SEM) = shortest polar axis in equatorial view), LPAEV (SEM) = longest polar axis in equatorial view), SDEPV (SEM) = shortest diameter in equatorial or polar view, LDEPV (SEM) = longest diameter in equatorial or polar view um), POC = pollen class, POL = polarity), P/ER=P/E-ratio, SHA = shape, OPV=outline in polar view, DO (LM) = dominant orientation (LM), INF = infoldings (dry pollen), APN = aperture number, APT = aperture type, APC = aperture condition, APP = aperture peculiarities, SUP = surface polar, ALPAEV (SEM) = aperture longest polar axis in equatorial view, ALDEPV (SEM) = aperture longest diameter in equatorial or polar view, PSN = psedocolpi No., COT = colpus type, PLPAEV (SEM) = psedocolpi longest polar axis in equatorial view, PLDEPV (SEM) = psedocolpi longest diameter in equatorial or polar view, ORN (SEM) = ornamentation SEM, and UBB = Ubisch bodies.



شکل ۳- درخت تبارشناختی گونه‌های *Myosotis* توسط صفات بررسی شده در مطالعات میکروسکوپ نوری (LM) و الکترونی نگاره (SEM) با استفاده از نرم‌افزار Past.

Fig. 3. Phylogenetic tree of the species of *Myosotis* by traits obtained by the light (LM) - and scanning electron microscopes (SEM) studies using Past software.



شکل ۴- آنالیز PCA صفات مورد مطالعه (A-B). ۱: *Myosotis sylvatica*، ۲: *M. ramosissima*، ۳: *M. scorpioides*، ۴: *M. alpestris*، ۵: *M. anomala*، ۶: *M.olympica*، ۷: *M. propinqua*، ۸: *M. diminuta*، ۹: *Myosotis* sp.، ۱۰: *M. minutiflora*، ۱۱: *M. sparsiflora*، ۱۲: *M. stricta*، ۱۳: *M. lithospermifolia* 2، ۱۴: *M. lithospermifolia* 1 (جدول ۴).

Fig. 4. PCA analysis of studied traits (A-B). 1. *M. sylvatica*, 2. *M. ramosissima*, 3. *M. scorpioides*, 4. *M. alpestris*, 5. *M. anomala*, 6. *M. olympica*, 7. *M. propinqua*, 8. *M. diminuta*, 9. *Myosotis* sp., 10. *M. minutiflora*, 11. *M. sparsiflora*, 12. *M. stricta*, 13. *M. lithospermifolia* 2, 14. *M. lithospermifolia* 1 (Table 4).

در شکل 4A، گونه‌ها در سه خوشه قرار گرفتند. *M. minutiflora* و *M. lithospermifolia* 1 در یک خوشه، *M. ramosissima* و *M. diminuta* در یک خوشه و همچنین *M. diminuta*، *M. scorpioides*، *M. alpestris*، *M. anomala*، *M. olympica*، *M. propinqua*، *Myosotis* sp.، *M. sparsiflora*، *M. stricta* و *M. lithospermifolia* 2 در خوشه دیگر که همگی به صورت تک‌نیا (مونوفیلتیک) حدبندی شدند، نتیجه خوشه‌بندی صفات مطالعه حاضر را تایید نمود.

در شکل 4B صفت C (واحد پراکندگی و ویژگی‌ها) برای جداسازی *M. minutiflora*، صفات به ترتیب S (تعداد دریچه‌ها)، P (طرح کلی در نمای قطبی)، Y (تعداد شیارهای کاذب) و ۳۲ (تزیینات دانه‌های گرده با میکروسکوب الکترونی نگاره) برای جداسازی *M. lithospermifolia* 1، صفت X (بیشترین قطر دریچه در نمای استوایی یا قطبی) برای جداسازی گونه‌ها به ترتیب *M. ramosissima*، *M. scorpioides*، *M. alpestris*، *M. anomala* و *M. diminuta* و صفات W (طولانی‌ترین محور قطبی در نمای استوایی دریچه)، ۳۱ (طولانی‌ترین قطر در نمای استوایی یا قطبی) و ۳۰ (طولانی‌ترین محور قطبی در نمای استوایی) برای جداسازی *M. ramosissima* و *M. diminuta* مناسب بودند (جدول ۴).

در بررسی صورت گرفته در خصوص نقش صفات بر جداسازی مناسب آرایه‌های مورد بررسی مشخص گردید که صفات کوتاه‌ترین محور قطبی در نمای استوایی و طولانی‌ترین محور قطبی در نمای استوایی با میکروسکوپ نوری *M. scorpiodis* و *M. stricta* را در یک خوشه جدا کرد. همچنین، صفت طولانی‌ترین قطر در نمای استوایی یا قطبی با میکروسکوپ نوری توانست *M. anomala*، *M. propinqua*، *M. sparsiflora* و *M. alpestris*، *M. lithospermifolia* 2، *M. olympica* و *M. sylvatica* که هر سه متعلق به سری *Arvenses* بودند و همچنین *M. scorpiodis* و *M. stricta* را در سه خوشه جدا نماید. صفت طولانی‌ترین محور قطبی در استوایی شیار کاذب، توانست *M. sylvatica* و *M. olympica* که هر دو متعلق به سری *Silvatica* بودند را در یک خوشه جدا نماید و صفت وجود اجسام مثلثی موجود در سر قطبی دانه‌های گرده همه گونه‌های مورد مطالعه را، به جز *M. anomala* و *M. ramosissima* در یک خوشه جدا سازد.

جدول ۴- کدگذاری صفات مورد مطالعه آنالیز PCA در *Myosotis*

Table 4. Coding of traits studied by PCA analysis in *Myosotis*

Characteristic	Code	Characteristic	Code	Characteristic	Code	Characteristic	Code	Characteristic	Code
Pollen unit	A	Apertural System	B	Dispersal unit and peculiarities	C	Shortest polar axis in equatorial view (LM) µm	D	Longest polar axis in equatorial view (LM) µm	E
Shortest diameter in equatorial or polar view (LM) µm	F	Longest diameter in equatorial or polar view (LM) µm	G	Shortest polar axis in equatorial view (SEM) µm	H	Longest polar axis in equatorial view (SEM) µm	I	Shortest diameter in equatorial or polar view (SEM) µm	J
Longest diameter in equatorial or polar view (SEM) µm	K	Pollen class	L	Polarity	M	P/E-ratio	N	Shape	O
Outline in polar view	P	Dominant orientation (LM)	Q	Infoldings (dry pollen)	R	Aperture number	S	Aperture type	T
Aperture condition	U	Aperture peculiarities	V	Aperture longest polar axis in equatorial view (SEM) µm	W	Aperture longest diameter in equatorial or polar view (SEM) µm	X	Psedocolpi number	Y
Colpus type	Z	Psedocolpi longest polar axis in equatorial view (SEM) µm	30	Psedocolpi longest diameter in equatorial or polar view (SEM) µm	31	Ornamentation (SEM)	32	Ubisch bodies	33
Surface polar			34	-		-		-	

بحث

در بین جنس‌های گاوزبانیان، کوچک‌ترین دانه گرده در *Myosotis*، *Trigonotis* Steven و *Cryptantha* Lehm. ex G.Don دیده می‌شود که از نظر شکل ظاهری بیشتر پرولیت و دَمبل شکل هستند (Weigend *et al*. 2014). با وجود تنوع بالای دانه‌های گرده در بین گروه‌های مختلف گیاهان این تیره، به نظر می‌رسد که صفات دانه گرده در آرایه‌شناسی حتی در سطوح پایین‌تر مفید باشد (Noroozi *et al*. 2021).

گرده‌های گیاهان مورد مطالعه در تمامی گونه‌ها منفرد، ۶-هتروکولپیت، شیار منفذی، موناد، ایزوپولار، پرولیت، صاف، شیار منفذ/سه شیار منفذی، کشیده، مارگو، با شیار سطحی کاذب، سوراخ‌دار و با دریچه مرکب بودند. در مقابل، *M. lithospermifolia* 1 و *M. minutiflora* دارای تنوع شکل گرده‌ای درون گونه‌ای و *M. diminuta*، *M. minutiflora*، *M. olympica*، *M. anomala*، *M. alpestris*، *M. ramosissima* و *M. sylvatica* به دلیل تفاوت در قطر، دارای تنوع گرده‌ای درون گونه‌ای از لحاظ اندازه بودند. در مطالعه حاضر، حالت چسبیدگی و غیرموناد شدن با تعداد نامعلوم در گرده *M. lithospermifolia* 1 (جمع‌آوری شده از گیلان) برای نخستین بار در گاوزبانیان گزارش شد. اردتمن (Erdtman 1945)، این حالت را در ۴۱ تیره از گیاهان گل‌دار گزارش داده است. باربر (Barber 1942) حالت چسبندگی دانه‌های گرده را به جای حالت دوتایی یا چهارتایی، به صورت پولینی متشکل از صدها دانه گرده در استبرقیان (*Asclepiadaceae*)، ثعلبیان (*Orchidaceae*) و کهوریان (*Mimosaceae*) گزارش داد. نتایج دییز و والدز (Diez & Valdez 1991) روی ریخت‌شناسی گرده قبیله‌های *Eritrichieae* و *Boraginaceae*, *Cynoglosseae* در شبه‌جزیره ایبری (Iberian Peninsula) بیان داشت که گرده‌های *Myosotis*ها بیضوی تا مستطیلی فشرده و یا غیرفشرده در ناحیه استوایی و در نمای قطبی شش‌ضلعی و نسبت قطب به استوا ساب‌پرولیت به پرپرولیت قابل تشخیص بود که این نتایج در گرده‌های تحقیق حاضر مشاهده نشد. شکل گرده‌های *M. lithospermifolia* توسط خاتم‌ساز (Khatamsaz 2002) ایزوپولار و پرولیت تشخیص داده شده است، در حالی که گرده *M. lithospermifolia* مورد مطالعه در اینجا هتروپولار، ایزوپولار، پرولیت و گرد بود. وُلکا و سِوِروا (Volka & Severova 2013)، طی بررسی‌های خود روی ساختارهای هارمومگاتی گرده (پدیده‌ای که طی آن دانه گرده به منظور حفظ آب به حالت چروکیده در می‌آید)، بیان داشتند که *Myosotis palustris* موناد و ایزوپولار در نمای استوایی و ساعت شنی شکل و در نمای قطبی مانند *M. palustris* دایره‌ای یا مثلثی بودند. هارگرُو و سیمپسون (Hargrove & Simpson 2003) نیز اظهار داشتند که *M. alpestris*، *M. arrensis*، *M. debilis*، *M. decumbens*، *M. discolor*، *M. lamottiana*، *M. laxa*، *M. personii*، *M. lithospermifolia*، *M. secunda*، *M. stricta*، *M. welwitschii*، *M. miniutiflora* و *M. sylvatica* به صورت پرولیت هستند که این حالت در مطالعه حاضر فقط در گونه *M. sylvatica* مشاهده شد.

با وجود این که گرده‌های گل فراموشم‌مکن ایزوپولار هستند (Meudt 2016)، در بررسی حاضر، در *M. lithospermifolia* 1 و *M. minutiflora* این قاعده بر قرار نبود. گرده‌های *Myosotis* نیوزلندی اوبلیت اسفرودیال، گرد یا پرولیت اسفرودیال و به ندرت پرولیت یا اوبلیت در نمای استوایی با انتهای گرد به ندرت مسطح و کروی، چهارضلعی و پنج‌ضلعی در نمای قطبی هستند (Meudt 2016) که با *Myosotis*های ایرانی متفاوت بود. وُلکووا و همکاران (Volkova *et al*. 2017) دانه گرده *M. scorpioides* را موناد، پرولیت، ایزوپولار و ساعت شنی شکل در نمای استوایی و دایره‌ایی در نمای قطبی تشخیص دادند که مانند *M. scorpiodis* ایرانی بود. هائو و همکاران (Hao *et al*. 2017)، دانه گرده *M. wumengensis* را در قسمت بیرونی تقریبا صاف و ساعت شنی شکل تشخیص دادند که مشابه *Myosotis*های در تحقیق حاضر نبود.

ساختار دریچه جنس *Myosotis* در تمام گونه‌های مورد مطالعه به دو صورت درونی و بیرونی دیده شد و شیار سطحی در تمامی گونه‌ها از نوع کاذب بود (El Ghazali & Krzywinski 1989, Díez & Valdés 1991). طبق اظهار هائو و همکاران (۲۰۱۷)، دانه‌های گرده گل فراموشم‌مکن همگی به صورت هتروکلپیت هستند. گرده‌های گونه‌های مطالعه شده مطابق با نتایج مطالعه گرده‌های گل‌های فراموشم‌مکن نیوزلندی (Meudt 2016)، دانه‌های گرده هتروکولپیت با ۸، ۱۰ یا ۱۲ عدد دریچه بودند که می‌توان دریچه‌ها را به دو قسمت endoaperture و ektoaperture تقسیم نمود.

لازم به ذکر است که گاهی، تعداد دریچه‌ها در یک گونه می‌تواند متفاوت باشد، به طوری که دییز و والدز (Diez & Valdez 1991)، تعداد آن‌ها را در *M. ramosissima* و *M. minutiflora*

هشت عدد اما در مطالعه حاضر، شش عدد تشخیص داده شد (شکل ۱).

هارگرُو و سیمپسون (۲۰۰۳)، طی مطالعه خود روی گاوزبانیان بیان داشتند که ساختار دریچه *M. alpestris*، *M. arvensis*، *M. debilis*، *M. decumbens*، *M. lamottiiana*، *M. laxa*، *M. minutiflora*، *M. ramosissima*، *M. seuunda*، *M. stricta*، *M. sylvatica* و *M. welwitschii* از نوع هتروکولپیت و با سه شیار منفذی و سه شیار کاذب قابل تشخیص است که به جز نوع تنوع گرده در *M. lithospermifolia* 1 که تعداد دریچه نامشخص بود، در باقی نمونه‌های مورد مطالعه به این حالت مشاهده شد (شکل ۱). این در حالی است که تعداد دریچه‌ها در *M. discolor* و *M. personii*، چهار تا شش عدد تشخیص داده شده است (هارگرُو و سیمپسون ۲۰۰۳) که با تحقیق حاضر هم‌سویی نداشت.

دانه‌های گرده در *M. scorpioides*، زنوکولپیت و هتروکولپیت با سطح اگزین در نمای استوایی صاف و در نمای قطبی سوراخ‌دار و همچنین دانه‌های گرده دارای سه شیار منفذ متناوب با سه دریچه کاذب بود که می‌توان این حالت از صفات گرده را در نتایج وُلکووا و همکاران (۲۰۱۷) که روی تکامل هتروکولپیت این گونه انجام گرفته بود نیز ملاحظه نمود.

در تحقیقی که وُلکووا و سِوِروا (Volka & Severova 2013) روی ساختار هارمومگاتی گرده *M. palustrris* انجام دادند مشخص گردید که گرده‌ها زنوکولپورات، هتروکولپیت و سطح اگزین در ناحیه استوایی صاف بود که با تحقیق حاضر که هم صاف و هم سوراخ‌دار بودند، هم‌خوانی نداشت، در حالی که در داشتن دانه‌های گرده هتروکولپیت با سه شیار و نیز سه دریچه کاذب متناوب و هر دو قطب با نواحی متخلخل مثلثی شکل، با نتایج حاضر مطابقت داشت.

در انتخاب صفات برتر جهت آرایه‌شناسی گونه‌ها، آنالیز PCA می‌تواند مفید باشد (Bidarlord & Vitek 2020). در تحقیق حاضر می‌توان اظهار داشت که صفات تعداد دریچه‌ها، طرح کلی در نمای قطبی، تعداد شیارهای کاذب، تزیینات دانه‌های گرده با میکروسکوپ الکترونی نگاره، بیشترین قطر دریچه در نمای استوایی یا قطبی، طولانی‌ترین محور قطبی در نمای استوایی دریچه، طولانی‌ترین قطر در نمای استوایی یا قطبی دانه گرده و طولانی‌ترین محور قطبی در نمای استوایی دانه گرده در جداسازی گونه‌های جنس مورد مطالعه حایز اهمیت هستند. همچنین، در جنس چشم ونوس (*Omphalodes* Mill.) عضو دیگری از گاوزبانیان، صفات نوع دانه گرده، شیار منفذی بودن، حداکثر عرض دانه گرده، دریچه حلقه مانند، دریچه کاذب و تزیینات حاشیه با ارزش هستند (Coutinho *et al.* 2012). صفات قطر قطبی، قطر استوایی، طول و عرض شیارها، میزوکولپیوم و ضخامت اگزین در مطالعه PCA جداسازی گونه‌های جنس آفتاب‌پرست (*Heliotropium* Tourn. ex L.) متعلق به همین تیره ارزشمند هستند (Yousaf *et al.* 2022). در مطالعه PCA خواجویی نسب و همکاران (Khajoei Nasab *et al.* 2023) روی دانه‌های گرده برخی از گونه‌های ایرانی جنس زنگوله‌ای (*Onosma* L.) از تیره مذکور، اشاره نمودند که طول محور قطبی، طول شیار سطحی، طول محور استوایی، شکل دانه گرده به عنوان مهم‌ترین صفات جهت جداسازی گونه‌ها در این جنس دارای اهمیت به سزایی هستند.

در مطالعات صورت گرفته برخی از دانه‌های گرده مربوط به آرایه‌های متعدد گاوزبانیان می‌توان گفت که دانه‌های گرده در *Echium vulgare* L. بیضوی با سه شیار منفذی، *Moltkia petraea* (Tratt.) Griseb. گرد با هشت شیار منفذی و با سطح دهانه دریچه خاردار، *Nonea vesicaria* (L.) Rchb. با هشت شیار منفذی و مشبک که با تغییر تزیینات اگزین به سمت سطح استوایی، *Alkanna hirsutissima* (Bertol.) A.DC. گلابی شکل و با سه شیار منفذی، با *Myosotis*های ایرانی کاملا متفاوت بود. در *Trigonotis rockii* I.M.Johnst. شش دریچه (شیارهای ساده و شیار منفذی با دریچه متناوب)، *Eritrichium nanum* (L.) Gaudin سه شیار منفذی متناوب و سه دریچه کولپیت، *Cynoglossum creticum* Mill. شش دریچه، *Solenanthus watieri* Batt. & Maire دو نوع دریچه ساده و مرکب و *Myosotis azorica* H.C.Watson ساعت شنی شکل، شش هتروکلپیتی همانند برخی از گونه‌های مورد مطالعه تحقیق حاضر قابل مشاهده بود (Weigend *et al.* 2016). در مطالعه دانه‌های گرده هشت جنس از این تیره (*Paracaryum* Boiss.، *Mattiastrum* (Boiss.) Brand، *Microparacaryum* (Popov ex Riedl) Hilger & Podlech، *Rindera* Pall.، *Cynoglossum* L.، *Solenanthus* Ledeb.، *Trachelanthus* Klotzsch و *Lindelofia* Lehm.)، مشخص شد که شکل دانه‌های گرده غالبا پرولیت، ساب‌پرولیت، پرولیت گرد و پرپرولیت است که به جز تنوع *M. lithospermifolia* 1 و *M. miniutiflora*، پرولیت مانند *Myosotis* های مورد مطالعه در تحقیق حاضر بود. تزیینات دانه‌های گرده تمامی هشت جنس فوق، صاف-نقطه‌دار، صاف-سوراخ‌دار با گرانول‌های ریز، نقطه نقطه-ریز شبکه، مشبک و سوراخ‌دار ولی در گونه‌های *Myosotis* صاف-سوراخ‌دار و صاف بودند (Attar *et al.* 2018).

کلید شناسایی گونه‌های مورد مطالعه جنس گل فراموشم‌مکن (*Myosotis*) براساس صفات دانه‌های گرده (با استفاده از صفات SEM)

۱- کلاس گرده شیار منفذی، موناد و غیرموناد ..... *M. lithospermifolia* 1

- کلاس گرده شیار منفذی و موناد ۲

۲- قطبیت دانه گرده ایزوپولار و هتروپولار ..... *M. minutiflora*

- قطبیت دانه گرده ایزوپولار ۳

۳- سطح دانه گرده صاف ..... *Myosotis* sp.

- سطح دانه گرده صاف و سوراخ‌دار ۴

۴- دانه‌های گرده ساعت شنی و باسیلی شکل ۵

- دانه‌های گرده ساعت شنی شکل ۶

۵- سطح ناحیه قطبی گرده با اجسام مثلثی شکل ۷

- سطح ناحیه قطبی گرده بدون اجسام مثلثی شکل ۸

۶- قطر در نمای استوایی یا قطبی دانه گرده بیش از ۳ میکرومتر ..... *M. stricta*

- قطر در نمای استوایی یا قطبی دانه گرده کمتر از ۳ میکرومتر ۱۱

۷- محور قطبی در نمای استوایی دریچه بین ۳ تا ۴ میکرومتر ..... *M. sylvatica*

- محور قطبی در نمای استوایی دریچه بین ۶ تا ۷ میکرومتر ..... *M. alpestris*

۸- محور قطبی در نمای استوایی شیار کاذب بیش از ۸ میکرومتر ..... *M. ramosissima*

- محور قطبی در نمای استوایی شیار کاذب کمتر از ۸ میکرومتر ۹

۹- قطر دریچه در نمای استوایی یا قطبی بیش از ۲ میکرومتر ..... *M. anomala*

- قطر دریچه در نمای استوایی یا قطبی کمتر از ۲ میکرومتر ۱۰

۱۰- قطر در نمای استوایی یا قطبی دانه گرده بیش از ۵ میکرومتر ..... *M. diminuta*

- قطر در نمای استوایی یا قطبی دانه گرده کمتر از ۵ میکرومتر ..... *M. olympica*

۱۱- محور قطبی در نمای استوایی دریچه بیش از ۵ میکرومتر ..... *M. scorpiodis*

- محور قطبی در نمای استوایی دریچه کمتر از ۵ میکرومتر ۱۲

۱۲- محور قطبی در نمای استوایی شیار کاذب کمتر از ۳ میکرومتر ..... *M. sparsiflora*

- محور قطبی در نمای استوایی شیار کاذب بیش از ۳ میکرومتر ۱۳

۱۳- قطر در نمای استوایی یا قطبی شیار کاذب کمتر از ۰/۲۲ میکرومتر ..... *M. propinqua*

- قطر در نمای استوایی یا قطبی شیار کاذب بیش از ۰/۲۲ میکرومتر ..... *M. lithospermifolia* 2

سپاسگزاری

نگارندگان از مسئولان محترم هرباریوم‌های دانشگاه خوارزمی تهران (T) و کرج (FAR)، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان گیلان، باغ گیاه‌شناسی ملی ایران (TARI)، آزمایشگاه مرکزی SEM دانشگاه شهید بهشتی و همچنین کلیه محققان محترم که در انجام این پژوهش همکاری‌های لازم را به عمل آوردند، سپاسگزاری و قدردانی می‌نمایند.

References

Akbarnejad, B. 2023. Taxonomic study of some species of *Myosotis* using morphological and molecular characters. MSc thesis. Kharazmi University. Tehran. 221 pp. (In Persian).

Attar, F., Esfandani-Bozchaloyi, S., Mirtadzadini, M. & Ullah, F. 2018. Taxonomic identification in the tribe Cynoglosseae (Boraginaceae) using palynological characteristics. Flora 249: 97–110. DOI: 10.1016/j.flora.2018.10.003.

Atazadeh, N., Sheidai, M., Attar, F., Ghahremaninejad, F. & Koohdar, F. 2020. A palynological study of genus *Cousinia* Cass. (Family Asteraceae), sections *Cynaroideae* Bunge and *Platyacanthae* Rech.f. Grana 59(6): 428–443. DOI: 10.1080/00173134.2020.1781247.

Baker, H.G. 1956. Pollen dimorphism in the Rubiaceae. Evolution 10(1): 23–31. DOI: 10.2307/2406093.

Barber, H.N. 1942. The pollen-grain division in the Orchidaceae. Journal of Genetics 43: 97–103. DOI: 10.1007/BF02982748.

Bidarlord, M. & Vitek, E. 2020. Palynological study of some species of *Anthemis* genus and its systematic implications. Rostaniha 21(2): 278–291. DOI: 10.22092/BOTANY.2021.352043.1223.

Bigazzi, M. & Selvi, F. 1998. Pollen morphology in the Boragineae (Boraginaceae) in relation to the taxonomy of the tribe. Plant Systematics and Evolution 213(1–2): 121–151. DOI: 10.1007/BF00988912.

Bigazzi, M., Nardi, E. & Selvi, F. 2006. Palynological contribution to the systematics of *Rindera* and the allied genera *Paracaryum* and *Solenanthus* (Boraginaceae-Cynoglosseae). Willdenowia 36(1): 37–46. DOI: 10.3372/wi.36.36103.

Brandon, A.M. 2001. Breeding systems and rarity in New Zealand *Myosotis*. Ph.D. thesis, Massey University, Manawat_u, New Zealand.

Chacón, J., Luebert, F., Hilger, H.H., Ovchinnikova, S., Selvi, F., Cecchi, L. & Weigend, M. 2016. The borage family (Boraginaceae s.str.): A revised infrafamilial classification based on new phylogenetic evidence, with emphasis on the placement of some enigmatic genera. Taxon 65(3): 523–546. DOI: 10.12705/653.6.

Clarke, G.C.S. 1977a. Boraginaceae. Review of Palaeobotany and Palynology 24(2): A59–A101. DOI: 10.1016/0034-6667(77)90034-3.

Clarke, G.C.S. 1977b. Northwest European pollen flora. 10. Boraginaceae. Review of Palaeobotany and Palynology 24: 59–101. DOI: 10.1016/0034-6667(77)90034-3.

Coutinho, A.P., Castro, S., Carbajal, R., Ortiz, S. & Serrano, M. 2012. Pollen morphology of the genus *Omphalodes* Mill. (Cynoglosseae, Boraginaceae). Grana 51(3): 194–205. DOI: 10.1080/00173134.2012.665943.

Díez, M.J. & Valdés, B. 1991. Pollen morphology of the tribes Eritrichieae and Cynoglosseae (Boraginaceae) in the Iberian Peninsula and its taxonomic significance. Botanical Journal of the Linnean Society 107(1): 49–66. DOI: 10.1111/j.1095-8339.1991.tb00214.x.

Erdtman, G. 1945. Pollen morphology and plant taxonomy. Svensk Botanisk Tidskrift 39: 286–297.

Fukuda, T. & Ikeda, H. 2012. Palynological analysis and taxonomic position of the genus *Mertensia* (Boraginaceae). Botany 90(8): 722–730. DOI: 10.1139/b2012-024.

Ganders, F.R. 1979. Heterostyly in *Lithospermum cobrense* (Boraginaceae). American Journal of Botany 66(6): 746–748. DOI: 10.1002/j.1537-2197.1979.tb06279.x.

Grau, J. & Leins, P. 1968. Pollenkorntypen und Sektionegliederung der Gattung *Myosotis*. Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft 81(3–4): 107–115. DOI: 10.1111/j.1438-8677.1968.tb02108.x.

Grau, J. & Schwab, A. 1982. Mikromerkmale der bltite zur gliederung der Gattung *Myosotis*. Mitteilungen der Botanischen Staatssammlung München 18: 9–58.

Halbritter, H. 2016. *Myosotis sylvatica*. *In*: PalDat - A Palynological Database.

Halbritter, H., Auer, W. & Sonnleitner, M. 2020. *Myosotis alpestris*. *In*: PalDat - A Palynological Database.

Halbritter, H. & Heigl, H. 2020. *Myosotis palustris*. *In*: PalDat - A Palynological Database.

Halbritter, H., Svojtka, M., Fabbro, Th. & Zumbrunn, Th. 2016. *Myosotis ramosissima*. *In*: PalDat - A Palynological Database.

Hao, J. C., Liu, Q.R., Gong, Y.X. & Wei, L. 2017. *Myosotis wumengensis* sp. nov. (Boraginaceae) from central Yunnan, southwest China. Nordic Journal of Botany 35(3): 257–261. DOI: 257–261. 10.1111/njb.01463.

Hargrove, L. & Simpson, M.G. 2003. Ultrastructure of heterocolpate pollen in *Cryptantha* (Boraginaceae). International Journal of Plant Sciences 164(1): 137–151. DOI: 10.1086/344548.

Khajoei Nasab, F., Nejad Falatoury, A. & Mehrabian, A. 2023. Pollen morphology in Iranian species of *Onosma* (Boraginaceae). Plant Biosystems. An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology 157(2): 437–454. DOI: 10.1080/11263504.2023.2165555.

Khatamsaz, M. 2002. *Myosotis*. Pp. 244–272. *In*: M. Assadi (chief editor), Flora of Iran 39. Research Institute of Forests and Rangelands. Tehran (In Persian).

Khatamsaz, M. 2001. Pollen morphology of Iranian Boraginaceae family and its taxonomic significance. Iranian Journal of Botany 9(1): 27–40.

Mabberley, D.J. 2008. Mabberley's Plant-book: a portable dictionary of plants, their classifications and uses (edn 3). Cambridge University Press.

Mahmoodi, M., Ghahremaninejad, F. & Maassoumi, A.A. 2015. A new record of the genus *Myosotis* (Boraginaceae) for the flora of Iran: Rediscovery of a rare plant. The Iranian Journal of Botany 21(1): 43–46. https://10.22092/IJB.2015.101451.

Meudt, H.M. 2016. Pollen morphology and its taxonomic utility in the southern hemisphere bracteate-prostrate forget-me-not (*Myosotis*, Boraginaceae). New Zealand Journal of Botany 54(4): 475–497. DOI: 10.1080/0028825X.2016.1229343.

Mohsenzadeh, S., Sheidai, M., Ghahremaninejad, F. & Koohdar, F. 2020. A palynological study of the genus *Plantago* (Plantaginaceae). Grana 59(6): 454–465. DOI: 10.1080/00173134.2020.1736147

Mulcahy, D.L. 1981. Pollen tetrads in the detection of environmental mutagenesis. Environmental Health Perspectives 37: 91–94. DOI: 10.1289/ehp.813791.

Noroozi, M., Ghahremaninejad, F., Bogler, D., Witherspoon, J.M., Ryand, G.L., Miller, J.S., Riahi, M. & Cohen, J.I. 2022. Parsing a plethora of pollen: the role of pollen size and shape in the evolution of Boraginaceae. Cladistics 38(2): 204–226. DOI: 10.1111/cla.12488.

Nowicke, J.W. & Miller, J.S. 1990. Pollen morphology of the Cordioideae (Boraginaceae): *Auxemma*, *Cordia*, and *Patagonula*. Pp. 103–121. *In*: Morphology, development, and systematic Relevance of Pollen and Spores. Springer Vienna. DOI: 10.1007/978-3-7091-9079-1_9.

Nowicke, J.W. & Ridgway, J.E. 1973. Pollen studies in the genus *Cordia* (Boraginaceae). American Journal of Botany 60(6): 584–591. DOI: 10.1002/j.1537-2197.1973.tb05961.x.

Nowicke, J.W. & Skvarla, J.J. 1974. A palynological investigation of the genus *Tournefortia* (Boraginaceae). American Journal of Botany 61(9): 1021–1036. DOI: 10.1002/j.1537-2197.1974.tb14042.x.

Pakravan, M., Safavi, S.R., Zarei, R., Tavakoli, Z., Ghahremaninejad, F, Noroozi, M., Nazem Bokaee, Z., Alimadadi, M., Ghodusian, N., Hosseini, F. &

Moradi, F. 2024. Palynological investigation of some genera of Cichorieae (Asteraceae) in Iran. Microscopy Research & Technique. DOI: 10.1002/jemt.24663.

Popov, M.G. 1953. Boraginaceae. Pp. 97–691. *In*: Shishkin, B.K. & Bobrov, E. (eds), Flora USSR Vol. 19. Izdatel'stvo Akademii Nauk SSSR, Moskva and Leningrad.

Pourghorban, Z., Salmaki, Y. & Weigend, M. 2020. Phylogenetic relationships within the subtribe Cynoglossinae (Cynoglossoideae: Boraginaceae): new insights from nuclear and plastid DNA sequence data. Plant Systematics and Evolution 306(2): 45. DOI: 10.1007/s00606-020-01671-x.

Ranjbar, M., Ezazi, A. & Ghahremaninejad, F. 2020. Contribution to the pollen morphology of *Convolvulus* (Convolvulaceae). Phytotaxa 439(3): 199–216. DOI: 10.11646/phytotaxa.439.3.3.

Retief, E. & Van Wyk, A.E. 1997. Palynology of Southern African Boraginaceae: the genera *Lobostemon*, *Echiostachys* and *Echium*. Grana 36(5): 271–278. DOI: 10.1080/00173139709362616.

Riedl, H. 1967. *Myosotis*. Pp. 255–266. *In*: K.H. Rechinger (ed.), Flora Iranica 48. Akademische Druck-U. Verlagsanstalt, Graz.

Robertson, A.W. & Lloyd, D.G. 1991. Herkogamy, dichogamy and self-pollination in six species of *Myosotis* (Boraginaceae). Evolutionary Trends in Plants 5: 53–63.

Robertson, A.W. & Lloyd, D.G. 1993. Rates of pollen deposition and removal in *Myosotis colonsoi*. Functional Ecology 7: 549–559. DOI: 10.2307/2390131.

Robertson, A.W. & MacNair, M.R. 1995. The effects of floral display size on pollinator service to individual flowers of *Myosotis* and *Mimulus*. Oikos 72: 106–114. DOI: 10.2307/3546044.

Robertson, A.W. 1989. Evolution and pollination of New Zealand *Myosotis* (Boraginaceae). Ph.D. thesis, University of Canterbury, Christchurch, New Zealand.

Robertson, A.W. 1992. The relationship between floral display size, pollen carryover and geitonogamy in *Myosotis colensoi* (Kirk) Macbride (Boraginaceae). Biological Journal of the Linnean Society. Linnean Society of London 46: 333–349. DOI: 10.1111/j.1095-8312.1992.tb00868.x.

Sahay, S.K. 1979. Palynotaxonomy of Boraginaceae and some other families of Tubiflorae. Membrane Biology 4(1–2): 117–205.

Taroda, N. & Gibbs, P.E. 1986. Revision of the Brazilian species of *Cordia* subgenus *Varronia* (Boraginaceae). Notes from the Royal Botanic Garden Edinburgh 44(1) 105–140.

Yousaf, Z., Zafar, M., Ahmad, M., Sultana, S., Rozina, Ozdemir, F.A. & Abidin, S.Z.U. 2022. Palyno-anatomical microscopic characterization of selected species of Boraginaceae and Fabaceae. Microscopy Research and Technique 85(4): 1332–1354. DOI: 10.1002/jemt.23999.

Volkova, O., Severova, E. & Polevova, S. 2017. Development of heterocolpate pollen in *Myosotis scorpioides* L. (Cynoglosseae, Boraginaceae). Grana 56(5): 368–376. DOI: 10.1080/00173134.2016.1276211.

Volkova, O.A., Severova, E.E. & Polevova, S.V. 2013. Structural basis of harmomegathy: evidence from Boraginaceae pollen. Plant Systematics and Evolution 299: 1769–1779. DOI: 10.1007/s00606-013-0832-8.

Weigend, M., Selvi, F., Thomas, D.C. & Hilger, H.H. 2016. Boraginaceae. Pp. 41–102. *In*: J.W., Kadereit & V. Bittrich (eds), The Families and Genera of Vascular Plants. Vol. XIV. Flowering Plants. Eudicots' Springer Publishing: Cham, Switzerland.