Not Final

مطالعه گرده‌شناختی برخی از گونه‌های ایرانی جنس گل فراموشم‌مکن (*Myosotis*)*

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، رشت، ایران

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

احسان حسینی: محقق انجمن زیست شناسی ایران، خیابان کلهر، پلاک ۲۸۵، تهران، 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 میکروسکوپ 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 *M. ramosissima* و *M. diminuta* و گونه‌های *M. lithospermifolia* 1 و *M. sparsiflira* با هم 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 بارزش 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 گردید. کلید شناسایی گونه‌ها براساس صفات دانه گرده نیز ارایه گردید. غیرموناد 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

Not Final

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

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, Iran

---

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

Not Final

Summary

The genus *Myosotis*, or "forget-me-not", has a global distribution in most of the temperate regions of both Northern and Southern hemispheres, a number of its species are used as ornamental plants. In order to clarify the taxonomic relationships of the species of this genus, pollen grains of 14 species were prepared from the T and FAR herbaria and were examined by means of a light microscope (LM) and a scanning electron microscope (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 software, and subsequently, phylogenetic trees are drawn. The results indicated that, the species *M. ramosissima* and *M. diminuta* and the species *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 the two species of *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 microscopeand 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 taxa pollen grains of *M. lithospermifolia*, *M. sparsiflora*, *Myosotis* sp., *M. diminuta*, *M. propinqua*, *M. olympica*, and *M. anomala* were studied for the first time. The identify key is provided based on examined the pollen grains characters. The non-monad of pollen grains for the first time from *Boraginaceae* in the form of the diversity of pollen grains of the species *M. lithospermifolia* 1 was reported.

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

مقدمه

گاوزبانیان (*Boraginaceae* Juss.) دارای ۹۰ جنس و ۱۶۰۰ تا ۱۷۰۰ گونه در جهان است (Pourghorban *et al.* 2020). جنس گل فراموشم‌مکن یا *Myosotis* L. پراکنش جهانی داشته و در بیشتر مناطق معتدل هر دو نیم‌کره شمالی و جنوبی می‌روید. گیاهان این آرایه تک‌نیا گل‌های نمایان می‌سازند که قابلیت کاربرد زینتی را 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 Popov (TURCZ.) *Strophiostoma* تقسیم می‌شود. زیرجنس *Myosotis* 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 (Atazadeh *et al.* 2020؛ Mohsenzadeh *et al.* 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 گاوزبانیان را می‌توان براساس صفات دانه‌های گرده آن‌ها تشخیص داد (Clarke 1977a, Díez & Valdés 1991)، بنابراین، از ریخت‌شناسی گرده می‌توان به عنوان یک ابزار طبقه‌بندی با پتانسیل بالا و خاص برای روشن کردن مسایل طبقه‌بندی این تیره استفاده نمود (Nowicke & Ridgway 1973, Nowicke & Skvarla 1974, Nowicke & Miller 1990, Taroda & Gibbs 1986). گرده‌های *Myosotis* به صورت هتروکلپیت با دو نوع دریچه (Apertuer) واقعی به نام colpori و متناوب با دریچه‌های کاذب (pseudocolpi) (El Ghazali & Krzywinski 1989, Hargrove & Simpson 2003, Weigend *et al.* 2016) هستند که colporiهای 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 صورت پذیرفته شده 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). این مطالعات در گاوزبانیان در تعیین حدود جنس‌ها و همچنین مطالعه روندهای تکاملی در کل تیره ارزشمند بوده است (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 Quaternary در اختیار قرار می‌دهد که برای طبقه‌بندی این جنس مفید است (Grau & Leins 1968, Grau & Schwab 1982, Díez & Valdés 1991). بنابراین، 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 موردنظر صورت پذیرفته شده است.

Not Final

روش بررسی

مطالعه روی نمونه‌های هرباریومی هرباریوم‌های T دانشگاه خوارزمی واحد تهران و FAR دانشگاه خوارزمی واحد کرج صورت گرفت (جدول‌های ۱ و ۲). بساک نمونه‌ها به کمک استریومیکروسکوپ مدل NSZ-405 جدا شدند 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 درصد و سپس شستشو به مدت ۵ دقیقه در آب مقطر انجام شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۱ دقیقه در رنگ متیل‌بلو رقیق شده با آب مقطر رنگ‌آمیزی شدند و سپس به وسیله میکروسکوپ نوری (LM) با بزرگ‌نمایی 100 X OLE 1.25 مورد مطالعه قرار گرفتند. برای بررسی نمونه‌ها با میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM) مدل Hitachi SU3500 (۱۵-۲۰ kV)، نمونه‌های بساک با کمک استریومیکروسکوپ در آب مقطر تقسیم و به خوبی تکان داده شدند و پس از انتقال به آزمایشگاه مرکزی SEM دانشگاه شهید بهشتی، تصاویر آن‌ها تهیه گردید. عکس‌های تهیه شده با میکروسکوپ نوری (LM) و میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM) 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 و صفات مورد بررسی بعد از کدگزاری، 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 Namber ۱۰۰۰ ترسیم گردید (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. Schultes. 1 (Halbritter *et al*. 2016) از داده‌های میکروسکوپ الکترونی از سایت https://www.paldat.org/ استفاده گردیده است.

جدول ۱- گونه‌های استفاده شده در مطالعه گرده‌شناسی میکروسکوپ نوری همراه با اطلاعات آن‌ها

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

No.	Taxon	Herbarium Name	Locality	Collector/Voucher No.
1	*Myosotis alpestris* F.W.Schmidt	T	Ardabil province: Khalkhal, Sardul, 2800 m	M. Bidarlord 24739
2	*M. anomala* Riedl.	T	Gilan province: Lisar protected area, Subatan, 2200 m	M. Bidarlord 1972
3	*M. diminuta* Grau	TARI	Zanjan province: 45 km the road from Zanjan to Dandi, Morassa village, 8km toward summit of Mount Damerlu, near abandoned mine, 2510 m	M. Mahmoodi 99889
4	*Myosotis* sp.	T	Gilan province: Talesh	M. Bidarlord 24740
5	*M. lithospermifolia* 1	T	Gilan province: Lisar protected area	M. Bidarlord 24746
6	*M. lithospermifolia* (Willd.) Hornem. 2	FAR	Tehran province: Afje Zaygan, 2000 m	Without collecte 018400
7	*M. minutiflora* Boiss. & Reut.	T	Ardabil province: Khalkhal, Palangah Mt., 2600 m	M. Bidarlord 24741
8	*M. olympica* Boiss.	T	Ardabil province: Khalkhal, Palangah Mt.	M. Bidarlord 24745
9	*M. propinqua* Fisch. & C.A.Mey.	T	Mazandaran province: Sari-Semeskandeh near Velashed, 160 m	H. Bahrami 11060

Not Final

Not Final

10	*M. ramosissima* Rochel ex. Schultes. 2	T	Nortern Khorasan province: Esfarayen, Saluk National Park, Joz valley, 1472 m	A. Ezazi 4868
11	*M. scorpioides* L.	T	Gilan province: Lisar protected area, Subatan, 2000 m	M. Bidarlord 24742
12	*M. sparsiflora* J.C.Mikan ex Pohl.	T	Ardabil province: Khalkhal, Shahroud riverside, 1200 m	M. Bidarlord 24743
13	*M. stricta* Link ex Roem. & Schult.	T	Ardabil province: Khalkhal, Aq-Dagh Mt., 2300 m	M. Bidarlord 24744
14	*M. sylvatica* Hoffm.	T	Gilan province: Lisar protected area, Bakro Dag, 2700 m	M. Bidarlord 1984

جدول ۲- گونه‌های استفاده شده در مطالعه گرده‌شناسی میکروسکوپ الکترونی نگاره همراه با اطلاعات آن‌ها

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

No.	Taxon	Herbarium name	Locality	Collector/Voucher No.
1	*Myosotis lithospermifolia* 1	T	Gilan province: Lisar protected area	M. Bidarlord 27746
2	*M. lithospermifolia* 2	FAR	Tehran province: Afje Zaygan, 2000 m	Without collecte 018400
3	*M. stricta*	T	Ardabil province: Khalkhal, Aq-Dagh Mt., 2300 m	M. Bidarlord 24744
4	*M. sparsiflora*	T	Ardabil province: Khalkhal, Shahroud riverside, 1200 m	M. Bidarlord 24743
5	*M. minutiflora*	T	Ardabil province: Khalkhal, Palangah Mt.	M. Bidarlord 24741
6	*Myosotis*. sp.	T	Gilan province: Talesh	M. Bidarlord 24740
7	*M. diminuta*	TARI	Zanjan province: 45 km the road from Zanjan to Dandi, Morassa village, 8 km toward summit of Mount Damerlu, near abandoned mine, 2510 m	M. Mahmoodi 99889
8	*M. propinqua*	T	Mazandaran province: Sari-Semeskandeh near Velashed, 160 m	H. Bahrami 11060
9	*M.olympica*	T	Ardabil province: Khalkhal, Palangah Mt.	M. Bidarlord 24745
10	*M. anomala*	T	Gilan province: Lisar protected area, Subatan, 2200 m	M. Bidarlord 1972

Not Final

نتیجه

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

در بررسی تطبیقی گرده برخی از گونه‌های *Myosotis* با کمک میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM) 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، سایر گونه‌ها دارای واحد گرده منفرد بودند. دانه‌های گرده به تغییرات ژنتیکی در ژنوتیپ گامتوفیت و همچنین به تنش‌های محیطی غیرجهش‌زا بسیار حساس هستند و برای زنده ماندن دست به یک تغییر زده و میکروسپورهای خود را پس از میوز جدا نمی‌کنند بلکه

Not Final

به صورت دوتایی و معمولا چهارتایی (تتراد) به هم متصل باقی می‌مانند. درست برخلاف الگوی رشد معمول گرده‌ها که دیوار کالوز خود را بعد از میوز به چهار محصول هاپلویید می‌شکنند و میکروسپورهای منفرد قبل از تبدیل به گرده بالغ جدا می‌شوند (Mulcahy 1981). تاکنون در گاوزبانیان حالت غیرموناد شدن دیده نشده، لذا برای نخستین بار در جهان در *M. lithospermifolia* 1 جنس گل فراموشم‌مکن، در تحقیق حاضر، حالت غیرموناد شدن و چسبیده شدن گرده‌ها با هم گزارش می‌گردد. 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 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 *lithospermifolia* 1 که حالت هتروپولار و ایزوپولار داشت، 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 نیز بودند. گرده‌های مورد مطالعه در *M. sylvatica*، *M. lithospermifolia* 2، *M. anomala*، *M. olympica*، *Myosotis* sp. و (Mahmoodi *et al*. 2015) از نظر شکل متنوع و به شکل ساعت شنی و باسیلی شکل بودند. در *M. lithospermifolia* 1، گرده‌ها ساعت شنی شکل و هرمی چهار وجهی بودند. درحالی که در *M. minutiflora* گرده‌ها ساعت شنی شکل و مثلثی ولی در *M. scorpioides*، *M. propinqua*، *M. sparsiflora*، *M. stricta* و *M. lithospermifolia* 2 فقط به شکل ساعت شنی بودند. در بررسی دانه‌های گرده از نظر نمای قطبی، همه گونه‌های مورد مطالعه دارای نمای قطبی، حالت دایره‌ای داشتند، به جز *M. minutiflora* و *M. lithospermifolia* 1 که برای *M. minutiflora* به ترتیب دایره‌ای و T شکل ولی در *M. lithospermifolia* 1 سه‌وجهی و دایره‌ای بود. در بررسی تزیینات شکل سطح گرده توسط میکروسکوپ نوری (LM)، همه گونه‌ها صاف بودند (جدول ۳).

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

سیستم‌های دریچه‌ای در همه گونه‌ها شش هتروکولپیت بود، اما در دو گونه *M. lithospermifolia* 1 و *M. minutiflora* به دلیل تنوع در گرده، علاوه بر شش هتروکولپیت (دریچه با بیش از یک نوع شیار)، دو مدل دیگر نیز در بررسی تاخوردگی‌ها (گرده خشک) دیده شد و دریچه‌های همه گونه‌ها فرورفته و شیار منفذها دو حالت ektoaperture و endoaperture را نشان دادند. تعداد دریچه‌ها در همه گونه‌ها به جز گونه *M. lithospermifolia* 1 که دارای تنوع گرده‌ای بود، یک نوع دارای سه دریچه و در یک نوع تعداد دریچه نامشخص و گونه‌های دیگر سه دریچه داشتند. نوع دریچه‌ها در تمامی گونه‌های مورد مطالعه شیار منفذ و از نظر وضعیت دریچه تمامی گونه‌های مورد مطالعه شیار منفذ [درچه 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 بود و تعداد آن‌ها در تمامی گونه‌های مورد مطالعه به جز گونه *M. lithospermifolia* 1 که دارای تنوع گرده‌ای بود، در یک نوع سه عدد و در نوع دیگر تعداد نامعلوم بود. بقیه گونه‌ها دارای سه دریچه کاذب بودند (جدول ۳).

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

در بررسی اندازه‌گیری‌های انجام شده توسط میکروسکوپ نوری (LM) توسط نرم‌افزار ImageJ، از نظر کوتاه‌ترین محور قطبی در نمای استوایی، بیش‌ترین متعلق به *M. lithospermifolia* 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* 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 میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM) و نرم‌افزار ImageJ، 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

Not Final

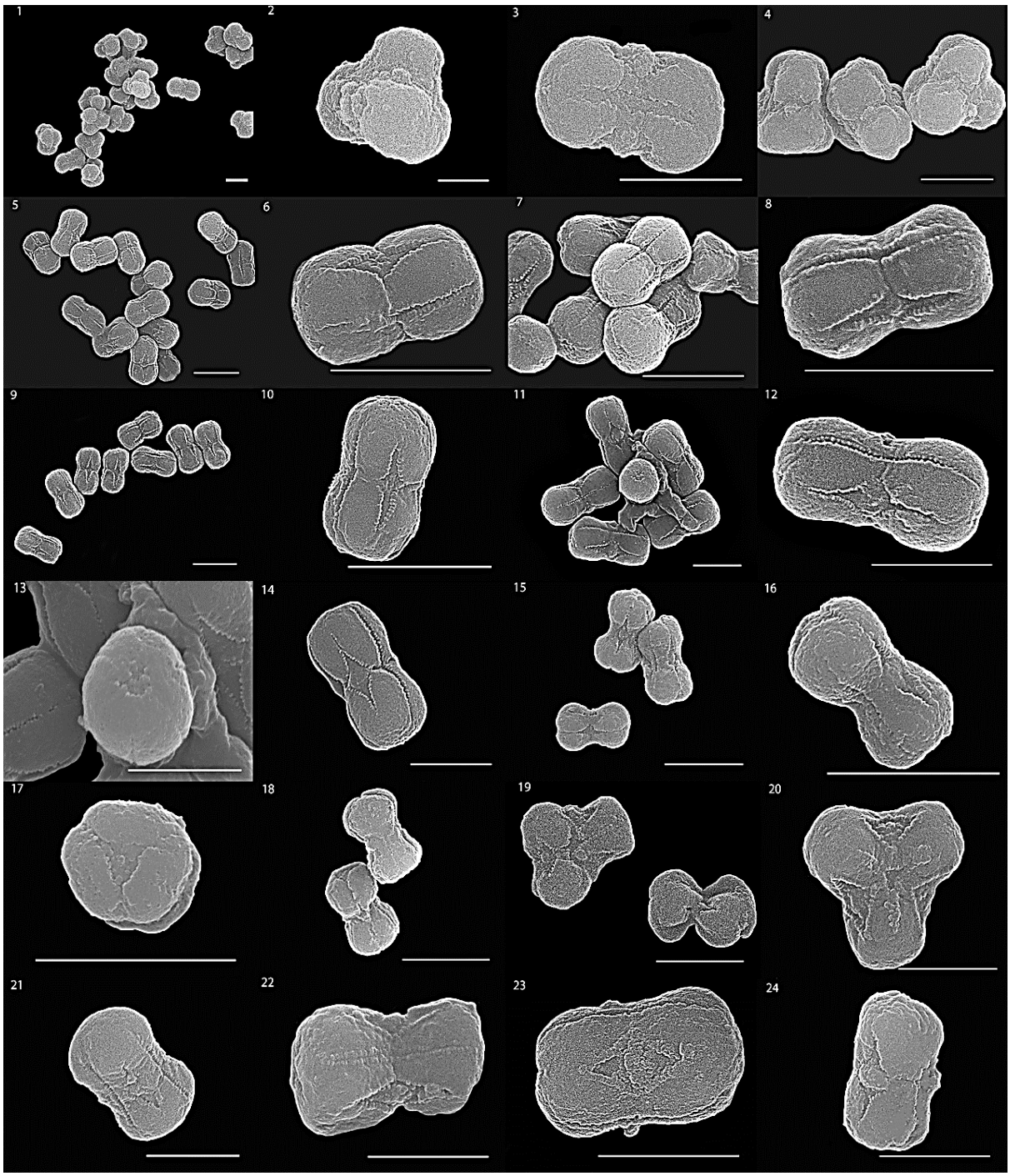
کوچک‌ترین متعلق به *M. lithospermifolia* 2 با اندازه ۵/۵۱۵ میکرومتر بود. در اندازه‌گیری کوتاه‌ترین قطر در نمای استوایی یا قطبی، بزرگ‌ترین متعلق به گونه *M. ramosissima* 1 با اندازه ۶/۲۵۴ میکرومتر و کوچک‌ترین متعلق به *M. lithospermifolia* 2 با اندازه ۲/۰۵۶ میکرومتر بود. در اندازه‌گیری طولانی‌ترین قطر 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 و 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)

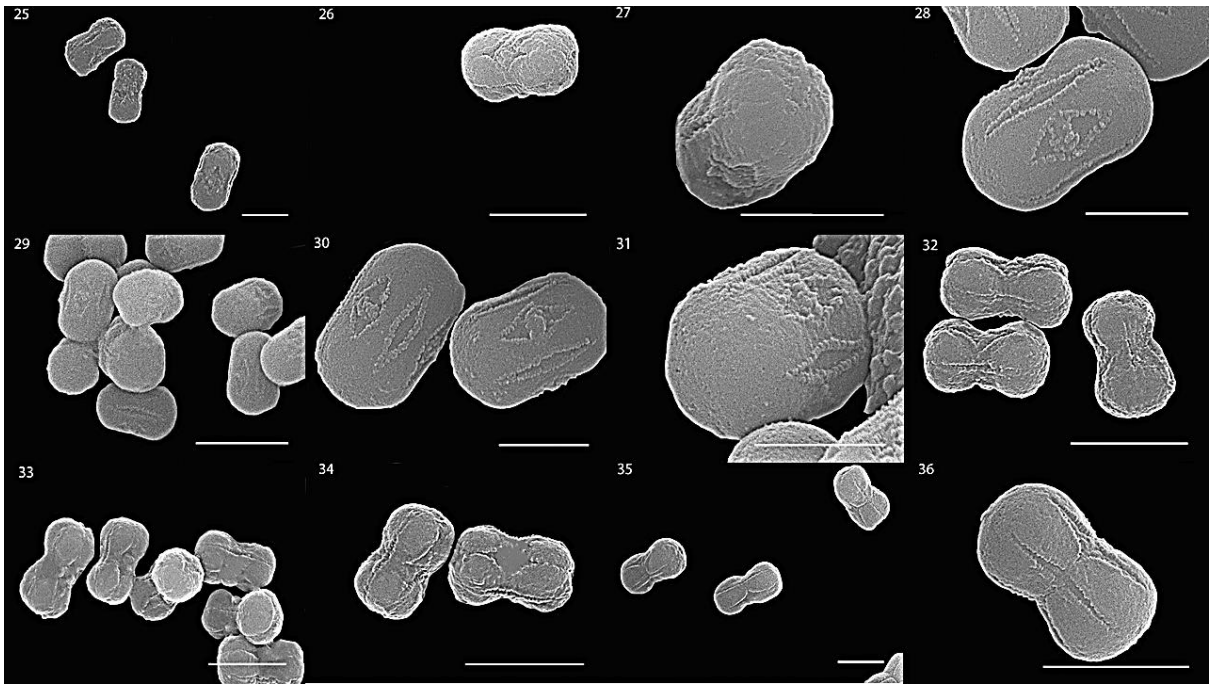
در مطالعه تزیین گرده در *M. sylvatica*، *M. ramosissima* 1 ، *M. scorpioides*، *M. alpestris*، *M. anomala*، *M. olympica*، *M. propinqua*، *M. diminuta*، *M. sparsiflora*، *M. stricta* و *M. lithospermifolia* 2 حالت‌های صاف و سوراخ‌دار دیده شد، اما در *M. lithospermifolia* 1 و *M. minutiflora* حالت صاف نیز 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 رؤیت گردید. در *M. ramosissima* 1، *M. anomala*، *M. olympica*، *M. propinqua*، *M. diminuta*، *M. sparsiflora*، *M. stricta* و *M. lithospermifolia* 2 حالت‌های صاف و سوراخ‌دار دیده شد ولی در *Myosotis* sp.، *M. minutiflora* و *M. lithospermifolia* 1 حالت صاف مشاهده گردید (جدول ۳).

شکل گرده‌های مورد مطالعه هم در میکروسکوپ الکترونی نگاره و هم در میکروسکوپ نوری در *M. lithospermifolia* 1 و *M. minutiflora* به حالت dimorphism بود (شکل ۱، تصاویر ۱، ۲، ۳، ۴ و ۲۲ و شکل ۲ تصاویر ۵ و ۶). وجود dimorphism در شکل تاکنون در گرده‌های جنس *Myocotis* گزارش نشده اما وجود این حالت در اندازه گرده‌های سایر جنس‌های گاوزبانیان گزارش شده است. به عنوان مثال گندرز (Ganders 1979) وجود dimorphism در اندازه گرده‌ها را در *Lithospermum cobrense* Greene exhibits گزارش داد. مثالی از وجود dimorphism در شکل گرده‌ها را می‌توان در روناسیان (*Rubiaceae* Juss.) نیز مشاهده نمود (Baker 1956).

Not Final


1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24

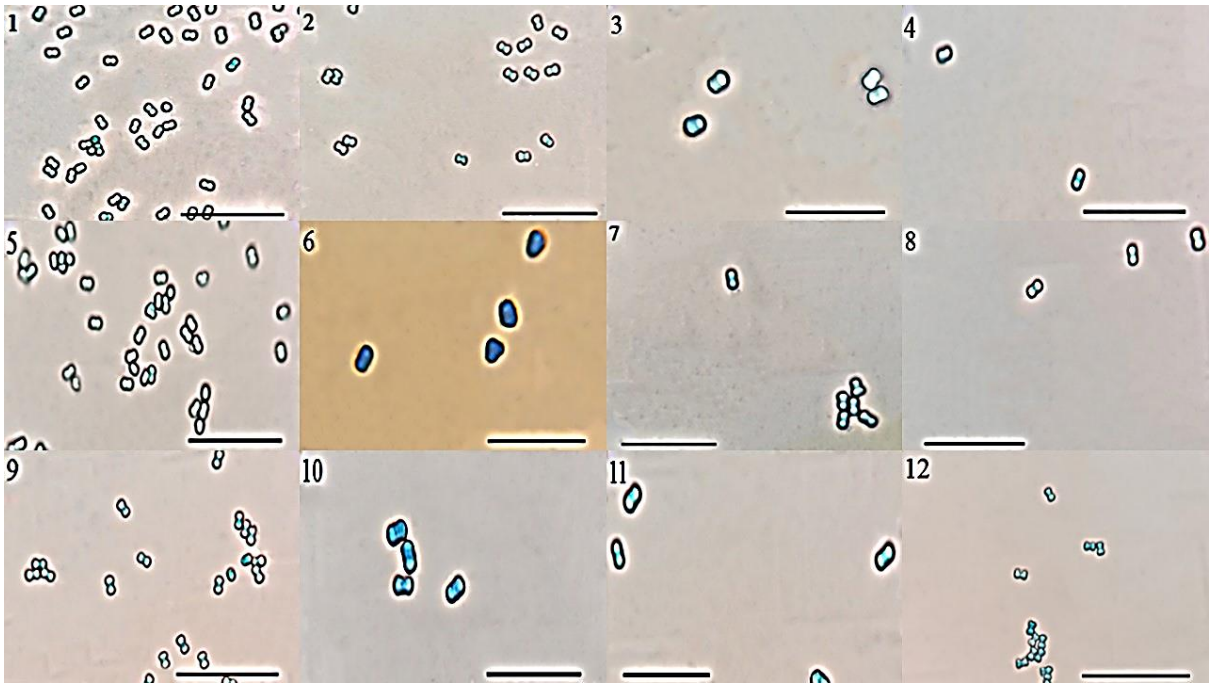
Not Final



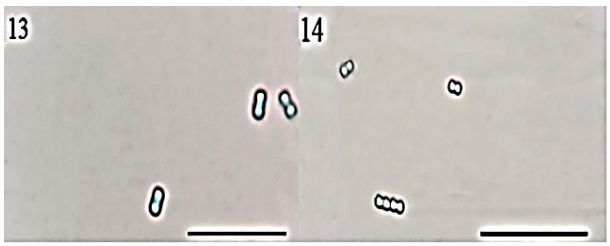
شکل ۱– دانه گرده تهیه شده با میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM) جنس *Myosotis*. ۴-۱: 1 *M. lithospermifolia*، ۱۰-۵: 2 *M. lithospermifolia*، ۱۴-۱۱: *M. stricta*، ۱۸-۱۵: *M. sparsiflora*، ۲۲-۱۹: *M. minutiflora*، ۲۸-۲۳: *Myosotis* sp.، ۳۱-۲۹: *M. diminuta*، ۳۴-۳۲: *M. propinqua*، ۳۸-۳۵: *M. olympica*، ۴۱-۳۹: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

Not Final



Not Final



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 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 با میکروسکوپ نوری (LM) و میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM). صفات: POU (pollen unit)، APS (apertural system)، DIU/PEC (dispersal unit and peculiaritiesd)، SPAEV(LM) (shortest polar axis in equatorial view (LM) um)، LPAEV (LM) (longest polar axis in equatorial view (LM) um)، SDEPV (LM) (shortest diameter in equatorial or polar view (LM) um LDEPV (LM) (longest diameter in equatorial or polar view (LM) um)، LPAEV (SEM) (longest polar axis in equatorial view um)، SPAEV (SEM) (shortest polar axis in equatorial view um)، LDEPV (SEM) (longest diameter in equatorial or polar view um)، SDEPV (SEM) (shortest 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 um)، ALDEPV (SEM) (aperture longest diameter in equatorial or polar view um)، PSN (psedocolpi number)، COT (colpus type)، PLPAEV (SEM) (psedocolpi longest polar axis in equatorial view um)، PLDEPV (SEM) (psedocolpi longest diameter in equatorial or polar view um)، ORN (SEM) (ornamentation SEM) و UBB (Ubisch bodies).

Table 3. Comparison of pollen characteristics of the studied species with light microscope (LM) and scanning electron microscope (SEM). Characteristics: POU (pollen unit), APS (apertural system), DIU/PEC (dispersal unit and peculiarities), SPAEV (LM) (shortest polar axis in equatorial view (LM) um), LPAEV (LM) (longest polar axis in equatorial view (LM) um, SDEPV (LM) (shortest diameter in equatorial or polar view (LM) um, LDEPV(LM) (longest diameter in equatorial or polar view (LM) um), SPAEV (SEM) (shortest polar axis in equatorial view um), LPAEV (SEM) (longest polar axis in equatorial view um), SDEPV (SEM) (Shortest diameter in equatorial or polar view um, 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 um), ALDEPV (SEM) (aperture longest diameter in equatorial or polar view um), PSN (psedocolpi number), COT (colpus type), PLPAEV (SEM) (psedocolpi longest polar axis in equatorial view um), PLDEPV (SEM) (psedocolpi longest diameter in equatorial or polar view um), ORN (SEM) (ornamentation SEM), and UBB (Ubisch bodies).

Not Final

Not Final

Taxon	POU-APS	DIU/PEC	SPAEV (LM)-LPAEV (LM)	SDEPV (LM)-LDEPV (LM)	SPAEV (SEM)-LPAEV (SEM)	SDEPV (SEM)-LDEPV (SEM)	POC-POL	P/ER-SHA
Myosotis scorpioides	Monad-6Heterocolpate	Monad	0.008-0.009	0.003-0.004	6.556-7.14	2.303-2.58	Colporate/monad-isopolar	Prolate-hourglass-shaped
M. propinqua	Monad-6Heterocolpate	Monad	0.006-0.007	0.002-0.002	5.081-5.648	2.508-2.797	Colporate/monad-isopolar	Prolate-hourglass-shaped
M. sparsiflora	Monad-6Heterocolpate	Monad	0.004-0.005	0.001-0.002	4.824-5.747	2.802-1.985	Colporate/monad-isopolar	Prolate-hourglass-shaped
M. stricta	Monad-6Heterocolpate	Monad	0.008-0.009	0.003-0.004	8.05-8.696	3.88-4.076	Colporate/monad-isopolar	Prolate-hourglass-shaped
M. lithospermifolia 2	Monad-6Heterocolpate	Monad	0.005-0.006	0.003-0.003	4.905-5.515	2.056-2.87	Colporate/monad-isopolar	Prolate-hourglass-shaped
M. sylvatica	Monad-6Heterocolpate	Monad	0.005-0.006	0.002-0.003	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	0.009-0.01	0.004-0.005	9.5-10.806	6.254-6.741	Colporate/monad-isopolar	Prolate-hourglass-shaped/bacilli-shaped
M. alpestris	Monad-6Heterocolpate	Monad	0.005-0.006	0.002-0.002	6.954-7.394	3.128-3.93	Cad-isopolar	Prolate-hourglass-shaped/bacilli-shaped
M. anomala	Monad-6Heterocolpate	Monad	0.004-0.005	0.001-0.002	8.224-8.546	5.246-5.944	Colporate/monad-isopolar	Prolate-hourglass-shaped/bacilli-shaped
M. olympica	Monad-6Heterocolpate	Monad	0.007-0.007	0.003-0.003	6.78-7.404	3.062-3.728	Colporate/monad-isopolar	Prolate-hourglass-shaped/bacilli-shaped
M. diminuta	Monad-6Heterocolpate	Monad	0.009-0.01	0.005-0.006	9.243-9.512	6.189-6.439	Colporate/monad-isopolar	Prolate-hourglass-shaped/bacilli-shaped
Myosotis sp.	Monad-6Heterocolpate	Monad	0.006-0.007	0.003-0.003	7.251-7.689	3.789-4.29	Colporate/monad-isopolar	Prolate-hourglass-shaped/bacilli-shaped
M. minutiflora	Monad-6Heterocolpate/?	Monad	0.009-0.009	0.003-0.004	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	0.009-0.01	0.003-0.004	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

Not Final

Not Final

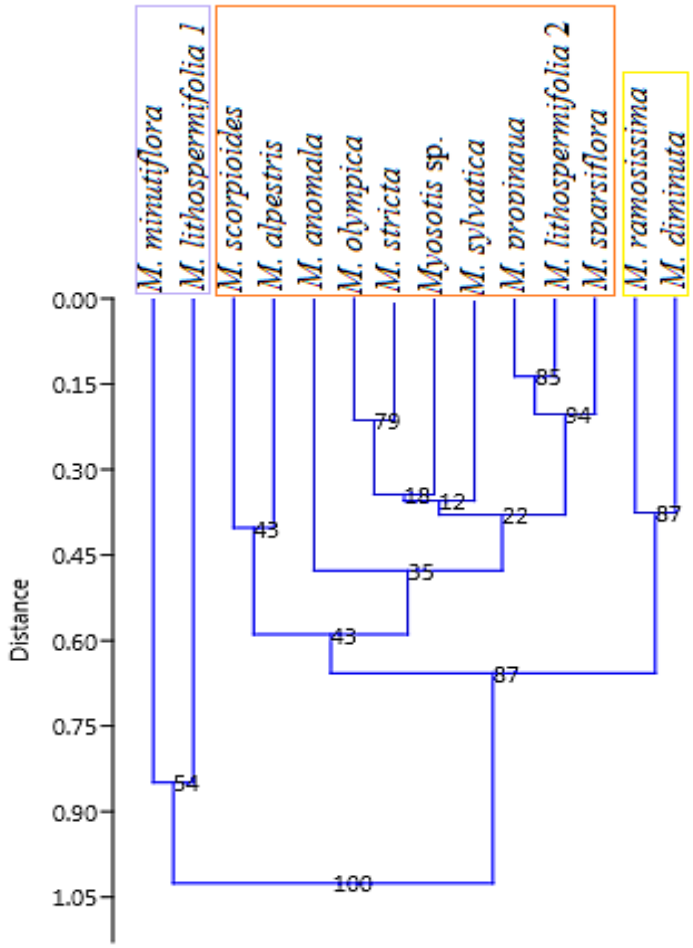
جدول ۳ (ادامه)– مقایسه صفات گرده‌های گونه‌های بررسی شده با میکروسکوپ نوری (LM) و میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM)

Table 3 (contd). Comparison of pollen characteristics of the studied species with light microscope (LM) and scanning electron microscope (SEM)

Taxon	OPV-DO (LM)	INF-APN	APT-APC	APP-SUP	ALPAEV (SEM)-ALDEPV (SEM)	PSN-COT	PLPAEV (SEM)-PLDEPV (SEM)	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-pseudo colpus	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-pseudo colpus	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-pseudo colpus	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-pseudo colpus	7.144-0.188	Psilate, perforate-present
M. lithospermifolia 2	Circular shape-psilate	Aperture (s) sunken-3	Colporus-colporate/ tricolporus	Lalongate, margo, pseudocolpus, heteroaperturate-psilate, perforate	3.065-0.957	3-pseudo colpus	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-pseudo colpus	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-pseudo colpus	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-pseudo colpus	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-pseudo colpus	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-pseudo colpus	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-pseudo colpus	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-pseudo colpus	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-pseudo colpus	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/?-pseudo colpus	4.851/?-0.633/ ?	Psilate-present/ ?

Not Final

Not Final



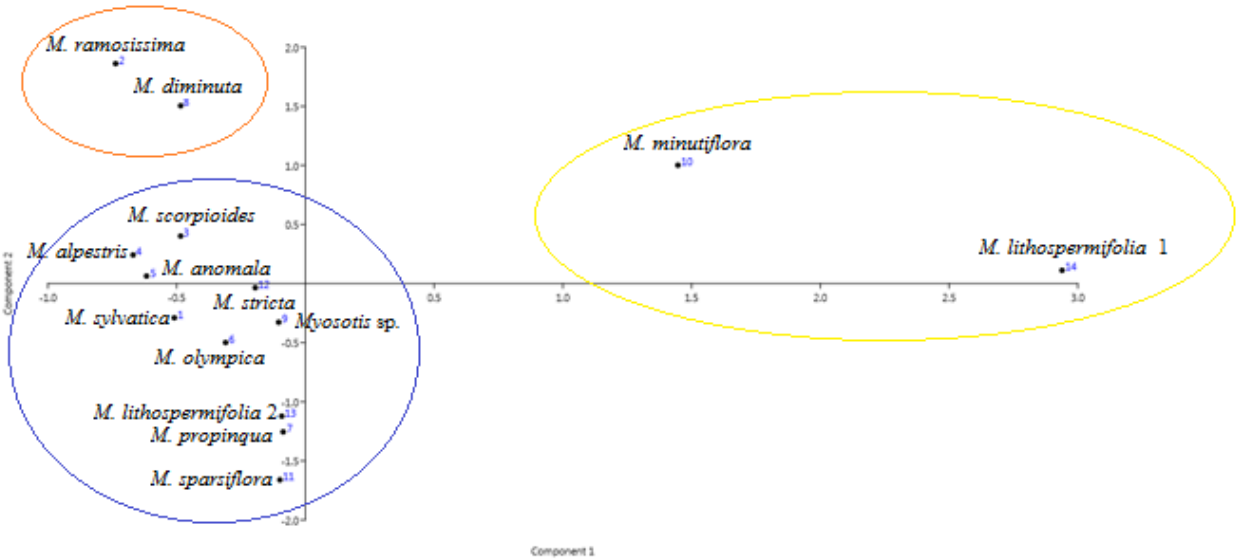
شکل ۳- درخت تبارشناختی گونه‌های *Myosotis* توسط صفات بررسی شده در مطالعات میکروسکوپ نوری (LM) و میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM) با استفاده از نرم‌افزار Past.

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

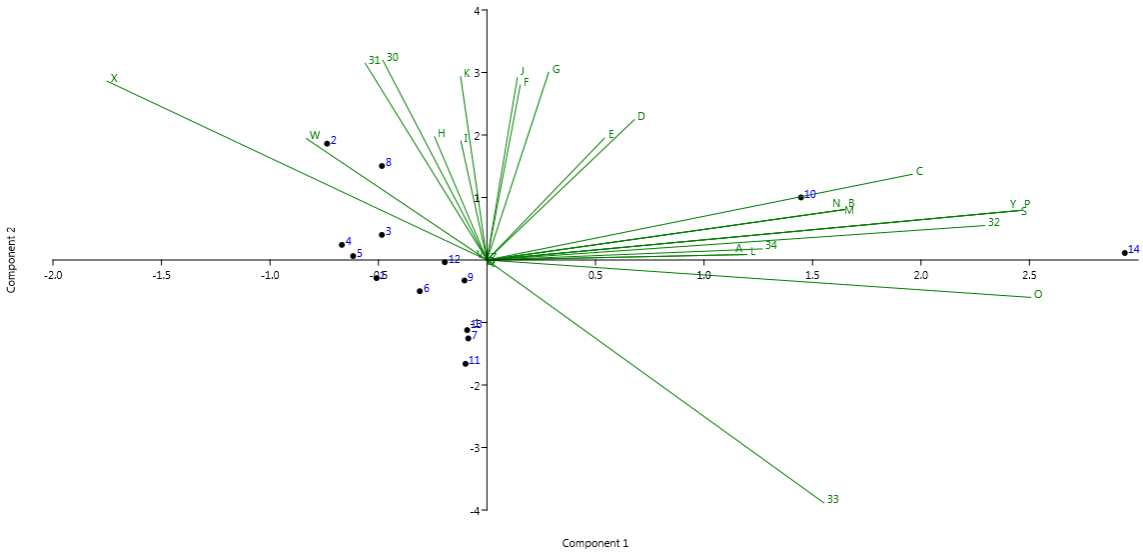
Not

در مطالعه روابط آرایه‌شناختی صفات گرده در گونه‌های جنس *Myosotis*، می‌توان گفت که صفات بررسی شده روی گونه‌های مختلف در تحقیق حاضر، در سه خوشه جدا گردید به این ترتیب که *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 یک خوشه (در اینجا همه گونه‌ها به صورت تک‌نیا) مجزا حدبندی شدند. میزان ضریب صحت درخت رسم شده با استفاده از شباهت Euclidean به روش UPGMA ۰/۹۱۱۴ بود که میزان مناسبی درنظر گرفته شد به این صورت که هر چه این عدد به ۱ نزدیک‌تر باشد حاکی از مناسب بودن صفات انتخابی و درست بودن رسم درخت تبارشناختی در بررسی حاضر است. علت تفاوت در قرابت دو لوکالیته *M. lithospermifolia* 1 و *M. lithospermifolia* 2 در درخت تبارشناختی را می‌توان وجود دی‌مورفیسم دانه‌های گرده در لوکالیته استان گیلان این گونه عنوان داشت.

A



B



شکل ۴- آنالیز PCA صفات مورد مطالعه (جدول ۴). 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.

Fig. 4. PCA analysis of studied traits (Table 4). 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.

در شکل ۴A نمودار فوق گونه‌ها در سه خوشه قرار گرفتند. گونه‌های *M. minutiflora* و *M. lithospermifolia* 1 در یک خوشه، گونه‌های *M. ramosissima* و *M. diminuta* در یک خوشه و همچنین گونه‌های *M. diminuta*، *M. scorpioides*، *M. alpestris*، *M. anomala*، *M. olympica*، *M. propinqua*، *Myosotis* sp.، *M. sparsiflora*، *M. stricta* و *M. lithospermifolia* 2 در یک خوشه که همه به صورت تک‌نیا یا مونوفیلیتیک حدبندی شدند، نتیجه خوشه‌بندی صفات مطالعه حاضر را تایید نمود.

Not Final

در شکل ۴B صفت C (واحد پراکندگی و ویژگی‌ها) برای جداسازی گونه *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 گونه *M. lithospermifolia* 1، صفت X (بیش‌ترین قطر دریچه در نمای استوایی یا قطبی) برای جداسازی گونه‌های 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 به جز *M. anomala* و *M. ramosissima* را 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*

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

Not Final

Not Final

بحث

در بین جنس‌های گاوزبانیان، کوچک‌ترین دانه گرده در *Myosotis*، *Trigonotis* Steven و *Cryptantha* Lehm. ex G.Don دیده می‌شود. دانه‌های گرده در این تیره غالبا پرولیت و دمبلی شکل است (Weigend *et al.* 2014). با وجود تنوع بالای دانه‌های گرده در بین گروه‌های مختلف گیاهان تیره مذکور، صفات دانه گرده در آرایه‌شناسی تیره حتی در سطوح پایین‌تر نیز مفید باشد (Noroozi *et al.* 2021).

گرده‌های گیاهان مورد مطالعه در تمامی گونه‌ها منفرد، ۶-هتروکولپیت، شیار منفذی، موناد، ایزوپولار، پرولیت، صاف، شیار منفذ/تری 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 گونه‌ایی و *M. minutiflora*، *M. diminuta*، *M. olympica*، *M. anomala*، *M. alpestris*، *M. ramosissima* و *M. sylvatica* به دلیل تفاوت در قطر، دارای تنوع گرده‌ای درون گونه‌ایی در اندازه بودند. در مطالعه حاضر، حالت چسبیدگی و غیرموناد شدن با تعداد نامعلوم در گرده گونه *M. lithospermifolia* 1 لوکالیته گیلان برای نخستین بار در گاوزبانیان گزارش شد. اردتمن (Erdtman 1945) این حالت را در ۴۱ تیره از گیاهان گل‌دار گزارش داد. باربر (Barber 1942) حالت چسبندگی دانه‌های گرده را نه به حالت دوتایی یا چهارتایی بلکه به صورت پولینیا متشکل از صدها دانه گرده در استبرقیان (*Asclepiadaceae* Borkh.)، ثعلبیان (*Orchidaceae*) و کهوریان (*Mimosaceae*) گزارش داد.

نتایج دیز والدز (Diez & Valdez 1991) روی ریخت‌شناسی گرده قبایل *Eritrichieae* و *Boraginaceae, Cynoglosseae* در شبه‌جزیره ایبری بیان داشت که گرده‌های *Myosotis*ها بیضوی تا مستطیلی فشرده و یا غیرفشرده در ناحیه استوایی و در نمای قطبی شش‌ضلعی بودند و نسبت قطب به استوا را ساب پرولیت به پرپرولیت تشخیص داده بودند که این نتایج در گرده‌های مورد مطالعه ایران مشاهده نشد. شکل گرده‌های *M. lithospermifolia* توسط خاتم‌ساز (Khatamsaz 2002) ایزوپولار و پرولیت تشخیص داده شده بود، درحالی که گرده *M. lithospermifolia* مورد مطالعه هتروپولار، ایزوپولار، پرولیت و گرد بود. وولکا و سوروا (Volka & Severova 2013) طی بررسی‌های خود روی ساختارهای هارمومگاتی گرده (پدیده‌ای که در گیاهان رطوبت پسند رخ می‌دهد و 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 به شکل ساعت شنی و در نمای قطبی دایره‌ایی یا مثلثی بودند که همانند با *M. palustris* بود. هارگرو و سیمپسون (Hargrove & Simpson 2003) نیز اظهار داشتند که گونه‌های *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* دیده 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 تشخیص داد (Meudt 2016) که با *Myosotis*های ایرانی متفاوت بود. ولکووا و همکاران (Volkova *et al.* 2017) دانه گرده *Myosotis scorpioides* را موناد، پرولیت، ایزوپولار و ساعت شنی شکل در نمای استوایی و دایره‌ایی در نمای قطبی تشخیص داده بودند که مانند *M. scorpiodis* ایرانی بود. هائو و همکاران (Hao *et al.* 2017) دانه گرده *M. wumengensis* را در قسمت بیرونی تقریبا صاف و به شکل ساعت شنی تشخیص داده که همانند *Myosotis*های در تحقیق حاضر نبود.

ساختار دریچه جنس *Myosotis* در تمام گونه‌های مورد مطالعه از دو نوع endo و ektoaperture و نیز شیار سطحی در تمامی گونه‌ها شیار سطحی کاذب بود (El Ghazali & Krzywinski 1989, Díez & Valdés 1991) دانه‌های گرده گل فراموشم‌مکن به صورت هتروکلپیت هستند (Hao *et al.* 2017). 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 (Meudt 2016) که می‌توان دریچه‌ها را به دو قسمت endoaperture و ektoaperture تقسیم کرد. لازم به ذکر است که گاهی، تعداد دریچه‌ها در یک گونه می‌تواند متفاوت باشد، به طوری که دیز و والدز (۱۹۹۱)، شیار گرده‌های *M. ramosissima* و *M. minutiflora* را با هشت دریچه تشخیص دادند اما در مطالعه حاضر، شیارها شش عدد بود (شکل ۱).

Not Final

هارگرو 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. ramosissima*، *M. seuunda*، *M. minutiflora*، *M. stricta*، *M. sylvatica* و *M. welwitschii* از نوع هتروکولپیت بوده 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 بود (Hargrove & Simpson 2003) که با تحقیق حاضر هم‌سویی نداشت.

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

در تحقیقی که ولکووا و سوروا (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. دانه‌های گرده هتروکولپیت با سه عدد شیار و نیز سه عدد دریچه کاذب متناوب و هر دو قطب دارای نواحی متخلخل مثلثی شکل بود که با تحقیق 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 چشم‌ونوس (*Omphalodes* Mill.) 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 آفتاب پرست (*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 می‌باشند.

در مطالعات صورت گرفته برخی از دانه‌های گرده گونه‌های جنس‌های گاوزبانیان می‌توان عنوان داشت که دانه‌های گرده در گونه‌های *Echium vulgare* L. بیضوی با ۳ 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، 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 چشم کبکو، ماتیاستروم، میکروپاراکاریوم، ریندرا لاناتا، سگ‌زبان، گل‌عقربی، بنت قنسول و ریه هیمالیا (*Paracaryum* Boiss.، *Mattiastrum* (Boiss.) Brand، *Microparacaryum* (Popov ex Riedl) Hilger & Podlech، Rindera Pall.، *Cynoglossum* L.، *Solenanthus* Ledeb.، *Trachelanthus* Klotzsch و *Lindelofia* Lehm.)، همگی متعلق به گاوزبانیان، 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 همانند *Myosotis*های مورد مطالعه در تحقیق حاضر است. تزیینات دانه‌های گرده همه هشت جنس فوق، صاف-نقطه‌دار، صاف-سوراخ‌دار با گرانول‌های ریز، نقطه نقطه-ریز شبکه، مشبک و سوراخ‌دار بود که در گونه‌های *Myosotis* صاف-سوراخ‌دار و صاف است (Attar *et al.* 2018).

Not Final

Not Final

کلید شناسایی گونه های مورد مطالعه *Myosotis* براساس صفات دانه‌های گرده

۱-۱-کلاس گرده شیار منفذی، موناد و غیرموناد ..... *M. lithospermifolia* 1
۱-۲-کلاس گرده شیار منفذی و موناد ۲
۲-۱- قطبیت دانه گرده ایزوپولار و هتروپولار ..... *M. minutiflora*
۲-۲- قطبیت دانه گرده ایزوپولار ۳
۳-۱- سطح دانه گرده صاف ..... *Myosotis*. sp.
۳-۲- سطح دانه گرده صاف و سوراخدار ۴
۴-۱- دانه‌های گرده ساعت شنی و باسیلی شکل ۵
۴-۲- دانه‌های گرده ساعت شنی شکل ۶
۵-۱- سطح ناحیه قطبی گرده با اجسام مثلثی شکل ۷
۵-۲- سطح ناحیه قطبی گرده بدون اجسام مثلثی شکل ۸
۶-۱- قطر در نمای استوایی یا قطبی دانه گرده بالای ۳ میکرومتر ..... *M. stricta*
۶-۲- قطر در نمای استوایی یا قطبی دانه گرده زیر ۳ میکرومتر ۱۱
۷-۱- محور قطبی در نمای استوایی دریچه بین ۳ تا ۴ میکرومتر ..... *M. sylvatica*
۷-۲- محور قطبی در نمای استوایی دریچه بین ۶ تا ۷ میکرومتر ..... *M. alpestris*
۸-۱- محور قطبی در نمای استوایی شیار کاذب بالای ۸ میکرومتر ..... *M. ramosissima* 1
۸-۲- محور قطبی در نمای استوایی شیار کاذب زیر ۸ میکرومتر ۹
۹-۱- قطر دریچه در نمای استوایی یا قطبی بالای ۲ میکرومتر ..... *M. anomala*
۹-۲- قطر دریچه در نمای استوایی یا قطبی بالای ۲ میکرومتر ۱۰
۱۰-۱- قطر در نمای استوایی یا قطبی دانه گرده بالای ۵ میکرومتر ..... *M. diminuta*
۱۰-۲- قطر در نمای استوایی یا قطبی دانه گرده زیر ۵ میکرومتر ..... *M. olympica*
۱۱-۱- محور قطبی در نمای استوایی دریچه بالای ۵ میکرومتر ..... *M. scorpiodis*
۱۱-۲- محور قطبی در نمای استوایی دریچه زیر ۵ میکرومتر ۱۲
۱۲-۱- محور قطبی در نمای استوایی شیار کاذب زیر ۳ میکرومتر ..... *M. sparsiflora*
۱۲-۲- محور قطبی در نمای استوایی شیار کاذب بالای ۳ میکرومتر ۱۳
۱۳-۱- قطر در نمای استوایی یا قطبی شیار کاذب زیر ۰/۲۲ میکرومتر ..... *M. propinqua*
۱۳-۲- قطر در نمای استوایی یا قطبی شیار کاذب بالای ۰/۲۲ میکرومتر ..... *M. lithospermifolia* 2

سپاسگزاری

نگارندگان از مسئولان محترم هرباریوم‌های T دانشگاه خوارزمی تهران و FAR دانشگاه خوارزمی کرج، از آزمایشگاه بیوسیستماتیک و سیستماتیک مولکولی گیاهی دانشگاه خوارزمی، از مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان گیلان، از باغ گیاه شناسی ملی ایران، از آزمایشگاه مرکزی SEM دانشگاه شهید بهشتی و از کلیه محققان محترمی که ما را در انجام این پژوهش یاری نمودند نهایت تشکر و قدردانی خود را ابراز می‌نمایند.

References

Akbarnejad, B. 2023. Taxonomic study of some species of *Myosotis* using morphological and molecular characters. Master's 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.

Not Final

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.

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

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

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

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.

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.

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.

Clarke, G.C.S. 1977a. *Boraginaceae*. Review of Palaeobotany and Palynology 24(2): A59–A101.

Clarke, G.C.S. 1977b. Northwest European pollen flora. 10. Boraginaceae. Review of Palaeobotany and Palynology 24: 59–101.

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.

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.

Erdtman, G. 1945. Pollen morphology and plant taxonomy. V. Svensk Bot. Tidskr 39: 286–297.

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

Ganders, F.R. 1979. Heterostyly in *Lithospermum cobrense* (Boraginaceae). American Journal of Botany 66(6): 746–748.

Grau, J. & Leins, P. 1968. Pollenkorntypen und Sektionegliederung der Gattung *Myosotis*. Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft 81(3–4): 107–115.

Grau, J. & Schwab, A. 1982. Mikromerkmale der bltite zur gliederung der Gattung Myosotis. Mitt. Bot. Miinchen 18: 9–58.

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. 2016. *Myosotis sylvatica*. *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.

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

Not Final

Not Final

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.

Khatamsaz, M. 2002. *Myosotis*. Pp. 244–272. *In*: M.Assadi (ed.), 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 (ed. 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.

Meudt, H.M. 2016. Pollen morphology and its taxonomic utility in the southern hemisphere bracteate-prostrate forget-me-nots (*Myosotis*, Boraginaceae). New Zealand Journal of Botany 54(4): 475–497.

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

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

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.

Nowicke, J.W. & Ridgway, J.E. 1973. Pollen studies in the genus *Cordia* (Boraginaceae). American Journal of Botany 60(6): 584–591.

Nowicke, J.W. & Skvarla, J.J. 1974. A palynological investigation of the genus *Tournefortia* (Boraginaceae). American Journal of Botany 61(9): 1021–1036.

Popov, M.G. 1953. Boraginaceae. Pp. 97–691. *In*: Flora USSR (Shishkin, B.K. & Bobrov, E., eds). 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.

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

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

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.

Not Final

Not Final

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

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.

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

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.

Weigend, M., Selvi, F., Thomas, D.C. & Hilger, H.H. 2016. Boraginaceae. Pp. 41–102. *In*: Flowering Plants. Eudicots. Springer, Cham.

Not Final