

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

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

فرخ قهرمانی نژاد✉: 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

چکیده

جنس گل فراموش‌مکن، 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* با *M. lithospermifolia* ۱ و *M. sparsiflora* قرابت داشته و در یک خوشه قرار می‌گیرند. همچنین، در دو گونه *M. lithospermifolia* ۱ و *M. minutiflora* دی‌مورفیسیم 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 ارائه شده است. همچنین، چندتایی بودن دانه‌های گرده برای نخستین بار از گاوزبانیان در شکل تنوع دانه‌های گرده گونه *M. lithospermifolia* ۱ گزارش می‌شود.

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

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 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 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, *M. ramosissima* and *M. diminuta* with *M. lithospermifolia* 1 and *M. sparsiflora* 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 pseudocolpi, 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-monoecious 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 قهرمانی نژاد و دکتر محمود بیدارلرد ارائه شده به دانشگاه خوارزمی

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

جدول ۱- گونه‌های استفاده شده در مطالعه گرده‌شناسی میکروسکوپ نوری (LM) 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 | <i>Myosotis alpestris</i> F.W.Schmidt | T | Ardebil province: Khalkhal, Sardul, 2800 m | M. Bidarlord 24739 |
| 2 | <i>M. anomala</i> Riedl. | T | Gilan province: Lisar protected area, Subatan, 2200 m | M. Bidarlord 1972 |
| 3 | <i>M. diminuta</i> Grau | TARI | Zanjan province: 45 km from Zanjan to Dandi, Morassa village, 8 km toward Damerlu peak, near an abandoned mine, 2510 m | M. Mahmoodi 99889 |
| 4 | <i>Myosotis</i> sp. | T | Gilan province: Talesh | M. Bidarlord 24740 |
| 5 | <i>M. lithospermifolia</i> 1 | T | Gilan province: Lisar protected area | M. Bidarlord 24746 |
| 6 | <i>M. lithospermifolia</i> (Willd.) Hornem. 2 | FAR | Tehran province: Afjeh Zaygan, 2000 m | Unknown collector 18400 |
| 7 | <i>M. minutiflora</i> Boiss. & Reut. | T | Ardebil province: Khalkhal, Palangah Mt., 2600 m | M. Bidarlord 24741 |
| 8 | <i>M. olympica</i> Boiss. | T | Ardebil province: Khalkhal, Palangah Mt. | M. Bidarlord 24745 |
| 9 | <i>M. propinqua</i> Fisch. & C.A.Mey. | T | Mazandaran province: Sari-Semeskandeh, near Velashed, 160 m | H. Bahrami 11060 |
| 10 | <i>M. ramosissima</i> Rochel ex. Schult. 2 | T | Northern Khorasan province: Esfarayen, Saluk National Park, Joz valley, 1472 m | A. Ezazi 4868 |
| 11 | <i>M. scorpioides</i> L. | T | Gilan province: Lisar protected area, Subatan, 2000 m | M. Bidarlord 24742 |
| 12 | <i>M. sparsiflora</i> J.C.Mikan ex Pohl. | T | Ardebil province: Khalkhal, Shahroud riverside, 1200 m | M. Bidarlord 24743 |
| 13 | <i>M. stricta</i> Link ex Roem. & Schult. | T | Ardebil province: Khalkhal, Aq-Dagh Mt., 2300 m | M. Bidarlord 24744 |
| 14 | <i>M. sylvatica</i> 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 (SEM) 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 | <i>Myosotis lithospermifolia</i> 1 | T | Gilan province: Lisar protected area | M. Bidarlord 27746 |
| 2 | <i>M. lithospermifolia</i> 2 | FAR | Tehran province: Afjeh Zaygan, 2000 m | Unknown collector 18400 |
| 3 | <i>M. stricta</i> | T | Ardebil province: Khalkhal, Aq-Dagh Mt., 2300 m | M. Bidarlord 24744 |
| 4 | <i>M. sparsiflora</i> | T | Ardebil province: Khalkhal, Shahroud riverside, 1200 m | M. Bidarlord 24743 |
| 5 | <i>M. minutiflora</i> | T | Ardebil province: Khalkhal, Palangah Mt. | M. Bidarlord 24741 |
| 6 | <i>Myosotis</i> . sp. | T | Gilan province: Talesh | M. Bidarlord 24740 |
| 7 | <i>M. diminuta</i> | TARI | Zanjan province: 45 km from Zanjan to Dandi, Morassa village, 8 km toward Damerlu peak, near an abandoned mine, 2510 m | M. Mahmoodi 99889 |
| 8 | <i>M. propinqua</i> | T | Mazandaran province: Sari-Semeskandeh near Velashed, 160 m | H. Bahrami 11060 |
| 9 | <i>M. olympica</i> | T | Ardebil province: Khalkhal, Palangah Mt. | M. Bidarlord 24745 |
| 10 | <i>M. anomala</i> | T | Gilan province: Lisar protected area, Subatan, 2200 m | M. Bidarlord 1972 |

نتیجه

- بررسی شکل دانه‌های گرده با استفاده از میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM) و میکروسکوپ 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 موند (منفرد) و غیرموند (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 معمولاً چهارتایی (تتراد) به هم متصل باقی می‌مانند (برخلاف الگوی رشد معمول گرده‌ها که دیوار کالوز خود را بعد از میوز به چهار محصول هاپلوئید می‌شکنند و میکروسپورهای منفرد قبل از تبدیل به گرده بالغ جدا می‌شوند) (Mulcahy 1981).

تاکنون در گاوژبانیان حالت غیرموند شدن دیده نشده، لذا در بررسی حاضر، حالت غیرموند 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 موند بود، به جز *M. lithospermifolia* 1 که هم شیار منفذ و غیرموند 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* (Mahmoodi et al. 2015) و *Myosotis* sp. از نظر شکل متنوع و به صورت ساعت شنی و باسیلی شکل بودند. در *M. lithospermifolia* 1، گرده‌ها به ساعت شنی شکل و هرمی چهاروجهی بودند، در حالی که در *M. minutiflora* گرده‌ها ساعت شنی شکل و مثلثی ولی در *M. scorpioides*، *M. propinqua*، *M. stricta* و *M. lithospermifolia* 2 فقط ساعت شنی شکل 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* 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 دو گونه *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 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، 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 (اکتودیاگرام) 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 هترویدیاگرام بودند. نوع شیار سطحی (colpus) در تمامی گونه‌های مورد مطالعه کاذب و تعداد آن‌ها در تمامی گونه‌های مورد مطالعه به جز گونه *M. lithospermifolia* 1 که دارای تنوع گرده‌ای بود، در یک نوع سه عدد، در نوعی تعداد 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* 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. diminuta* 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. sylvatica*، *M. alpestris*، *M. anomala*، *M. propinqua*، *M. sparsiflora* با اندازه ۲ میکرومتر بود (جدول ۳).

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

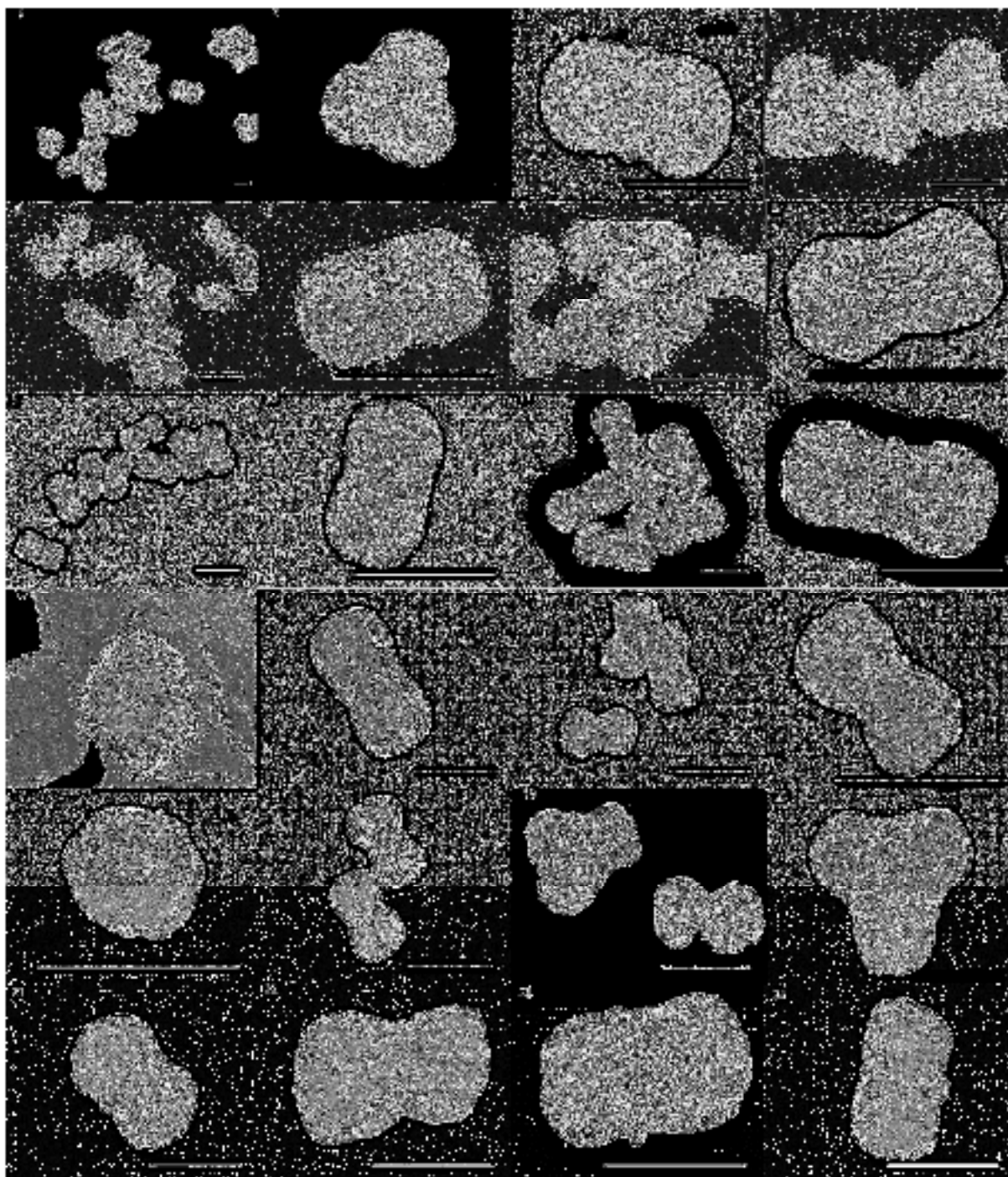
در اندازه‌گیری‌های انجام شده توسط نرم‌افزار ImageJ، از نظر کوتاه‌ترین محور قطبی در نمای استوایی، بزرگ‌ترین متعلق به *M. ramosissima* با اندازه ۹/۵ میکرومتر و کوچک‌ترین متعلق به *M. sparsiflora* با اندازه ۴/۸۲۴ میکرومتر بود. از نظر طولانی‌ترین محور قطبی در نمای استوایی، بزرگ‌ترین متعلق به *M. ramosissima* 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 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 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).

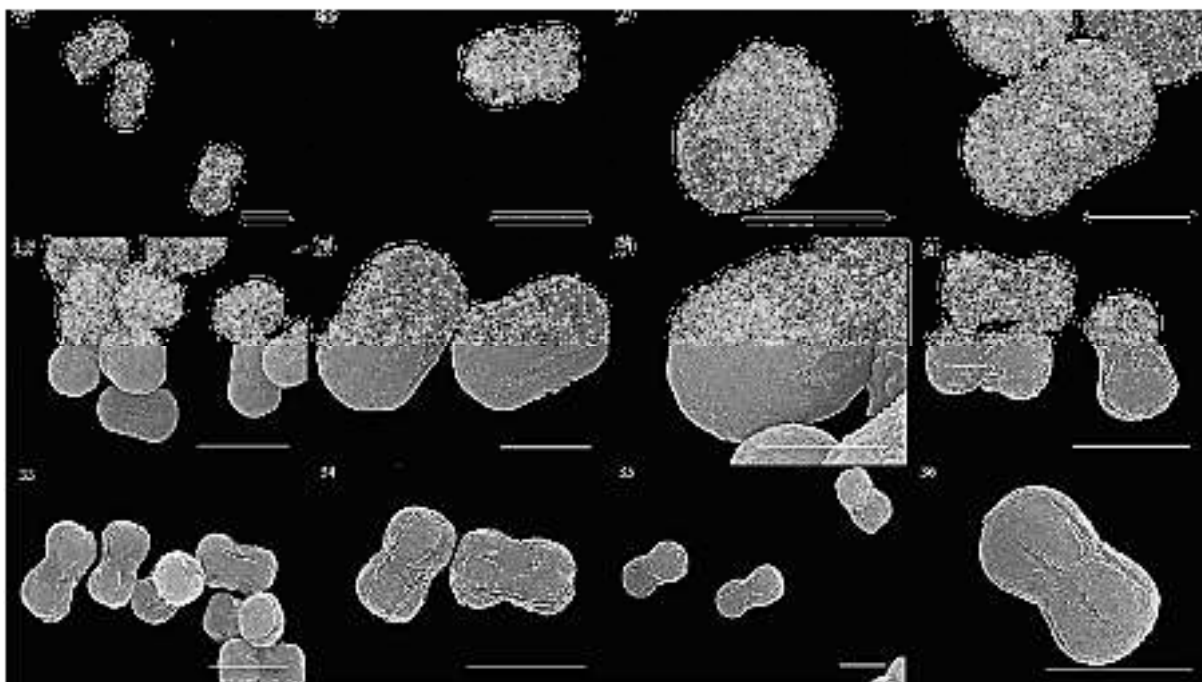
- بررسی تزیین و ساختار گرده‌ها با استفاده از میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM)

در مطالعه تزیین گرده در *M. sylvatica* 1، *M. ramosissima*، *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* و *M. lithospermifolia* 2، *M. stricta*، *M. sparsiflora*، *Myosotis* sp.، *M. propinqua*، *M. olympica*، *M. alpestris*، *M. scorpioides*، *M. diminuta*، *M. propinqua*، *M. olympica*، *M. anomala*، *M. ramosissima* 1 در *M. lithospermifolia* 1 دیده شد. در *M. lithospermifolia* 2 و *M. stricta*، *sparsiflora*، *Myosotis* sp. و *M. minutiflora* و *M. lithospermifolia* 1 فقط 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 ۵ و شکل ۲ تصاویر ۵ و ۶). وجود ناجور شکلی (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 ناجور شکلی در اندازه گرده‌ها، در *Lithospermum cobrense* Greene گزارش شده است (Ganders 1979). مثالی از وجود ناجور شکلی در شکل گرده‌ها را می‌توان در روناسیان (*Rubiaceae*) نیز مشاهده نمود (Baker 1956).

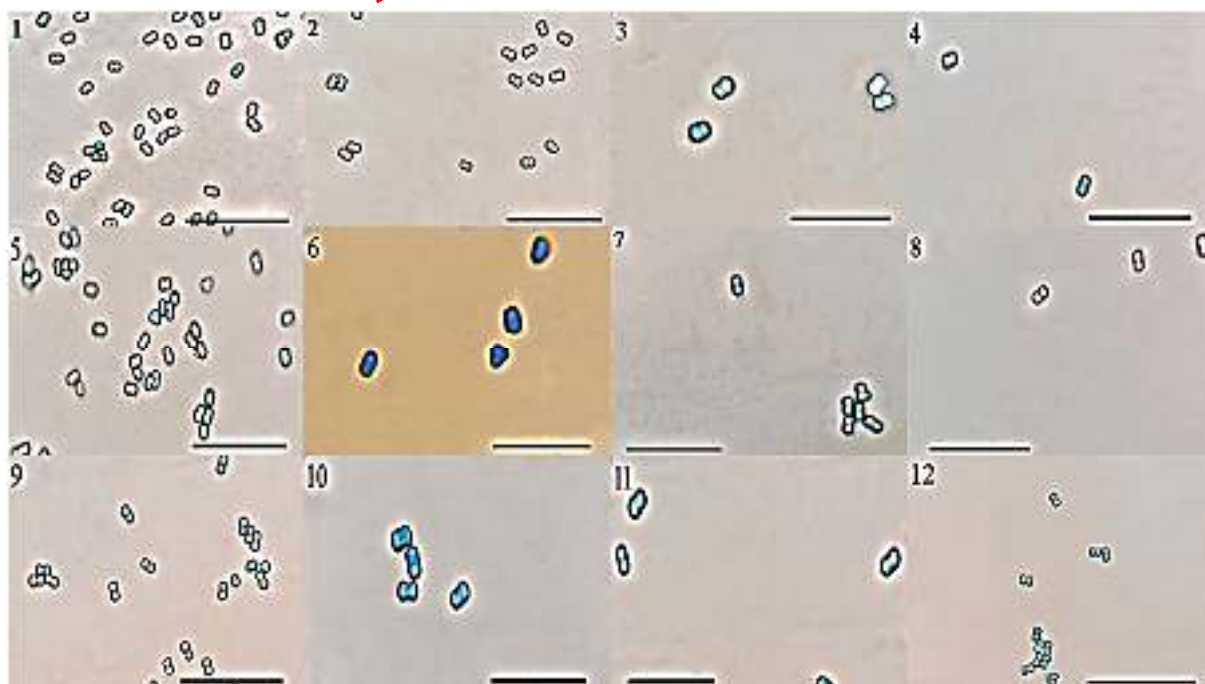
Not Final

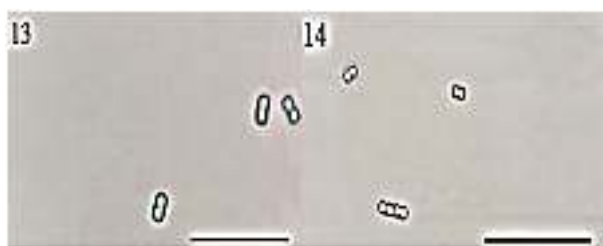




شکل ۱- دانه گرده تهیه شده با میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM) جنس *Myosotis* ۱-۴: *M. lithospermifolia* ۱، ۵-۱۰: *M. lithospermifolia* ۲، ۱۱-۱۴: *M. stricta*، ۱۵-۱۸: *M. sparsiflora*، ۱۹-۲۲: *M. minutiflora*، ۲۳-۲۸: *Myosotis* sp.، ۲۹-۳۱: *M. diminuta*، ۳۲-۳۴: *M. propinqua*، ۳۵-۳۸: *M. olympica*، ۳۹-۴۱: *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 μ m).





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* ۲، ۶: *M. lithospermifolia* ۱، ۷: *M. minutiflora*، ۸: *M. olympica*، ۹: *M. propinqua*، ۱۰: *M. ramosissima* ۲، 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 μ m).

Not Final

جدول ۳- مقایسه صفات گرده‌های گونه‌های مطالعه شده با میکروسکوپ نوری (LM) و میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM). 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)، 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 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 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).

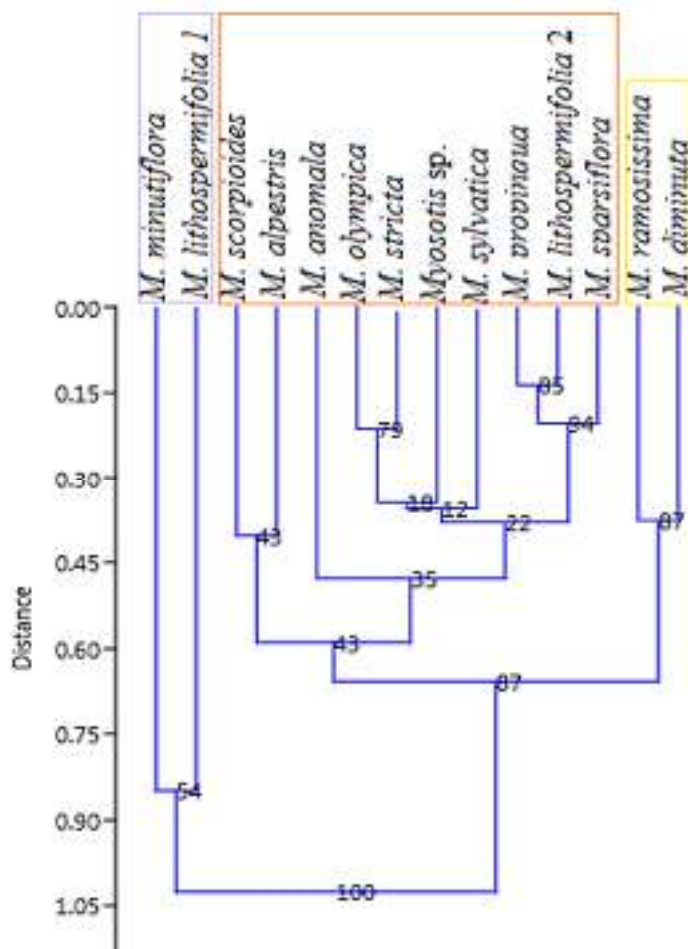
Table 3. Comparison of pollen characteristics of the studied species with light microscope (LM) and scanning electron microscope (SEM). Characteristics: POU=pollen unit, APS=apertural system, DIU/PEC=dispersal unit and peculiarities, SPAEV (LM)=shortest polar axis in equatorial view, LPAEV (LM)=longest 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=pseudocolpi No., COT=colpus type, PLPAEV (SEM)=pseudocolpi longest polar axis in equatorial view, PLDEPV (SEM)=pseudocolpi longest diameter in equatorial or polar view, ORN (SEM)=ornamentation SEM, and UBB=Urbisch bodies.

| 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 |
|--|----------------------|---------|----------------------------|----------------------------|------------------------------|------------------------------|--------------------------|---|
| <i>Myosotis scorpioides</i> | Monad-6Heterocolpate | Monad | 8-9 | 3-4 | 6.556-7.14 | 2.303-2.58 | Colporate/monad-isopolar | Prolate-hourglass-shaped |
| <i>M. propinqua</i> | Monad-6Heterocolpate | Monad | 6-7 | 2-2 | 5.081-5.648 | 2.508-2.797 | Colporate/monad-isopolar | Prolate-hourglass-shaped |
| <i>M. sparsiflora</i> | Monad-6Heterocolpate | Monad | 4-5 | 1-2 | 4.824-5.747 | 2.802-1.985 | Colporate/monad-isopolar | Prolate-hourglass-shaped |
| <i>M. stricta</i> | Monad-6Heterocolpate | Monad | 8-9 | 3-4 | 8.05-8.696 | 3.88-4.076 | Colporate/monad-isopolar | Prolate-hourglass-shaped |
| <i>M. lithospermifolia</i> 2 | Monad-6Heterocolpate | Monad | 5-6 | 3-3 | 4.905-5.515 | 2.056-2.87 | Colporate/monad-isopolar | Prolate-hourglass-shaped |
| <i>M. sylvatica</i> | Monad-6Heterocolpate | Monad | 5-6 | 2-3 | 7.296-7.949 | 3.704-4.046 | Colporate/monad-isopolar | Prolate-hourglass-shaped/bacilli-shaped |
| <i>M. ramosissima</i> 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 |
| <i>M. alpestris</i> | Monad-6Heterocolpate | Monad | 5-6 | 2-2 | 6.954-7.394 | 3.128-3.93 | Cad-isopolar | Prolate-hourglass-shaped/bacilli-shaped |
| <i>M. anomala</i> | Monad-6Heterocolpate | Monad | 4-5 | 1-2 | 8.224-8.546 | 5.246-5.944 | Colporate/monad-isopolar | Prolate-hourglass-shaped/bacilli-shaped |
| <i>M. olympica</i> | Monad-6Heterocolpate | Monad | 7-7 | 3-3 | 6.78-7.404 | 3.062-3.728 | Colporate/monad-isopolar | Prolate-hourglass-shaped/bacilli-shaped |
| <i>M. diminuta</i> | Monad-6Heterocolpate | Monad | 9-0 | 5-5 | 9.243-9.512 | 6.189-6.439 | Colporate/monad-isopolar | Prolate-hourglass-shaped/bacilli-shaped |
| <i>Myosotis</i> sp. | Monad-6Heterocolpate | Monad | 6-7 | 3-3 | 7.251-7.689 | 3.789-4.29 | Colporate/monad-isopolar | Prolate-hourglass-shaped/bacilli-shaped |

| | | | | | | | | |
|------------------------------|--|---------------------------|------|-----|-------------------------|-------------------------|--|---|
| <i>M. minutiflora</i> | 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 |
| <i>M. lithospermifolia</i> 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 |

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) μm | PSN-COT | PLPAEV (SEM)-PLDEPV (SEM) μm | ORN (SEM)-UBB |
|--|--|--------------------------------|--|--|---|--------------------------|---|-----------------------------------|
| <i>Myosotis scorpioides</i> | 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 |
| <i>M. propinqua</i> | 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 |
| <i>M. sparsiflora</i> | 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 |
| <i>M. stricta</i> | 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 |
| <i>M. lithospermifolia</i> 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 |
| <i>M. sylvatica</i> | 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 |
| <i>M. ramosissima</i> 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- ? |
| <i>M. alpestris</i> | 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 |
| <i>M. anomala</i> | 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- ? |
| <i>M. olympica</i> | 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 |
| <i>M. diminuta</i> | 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- ? |
| <i>Myosotis</i> 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 |
| <i>M. minutiflora</i> | 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- ? |
| <i>M. lithospermifolia</i> 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/ ? |

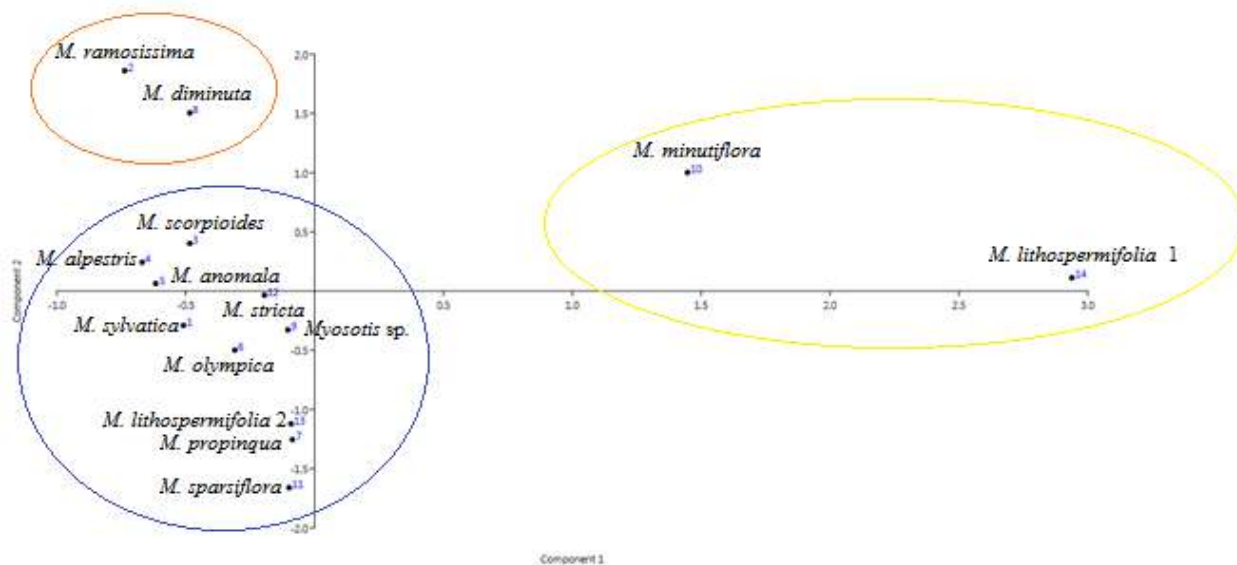


شکل ۳- درخت تبارشناختی گونه‌های *Myosotis* توسط صفات بررسی شده در مطالعات میکروسکوپ نوری (LM) و میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM) با استفاده از نرم‌افزار Past.

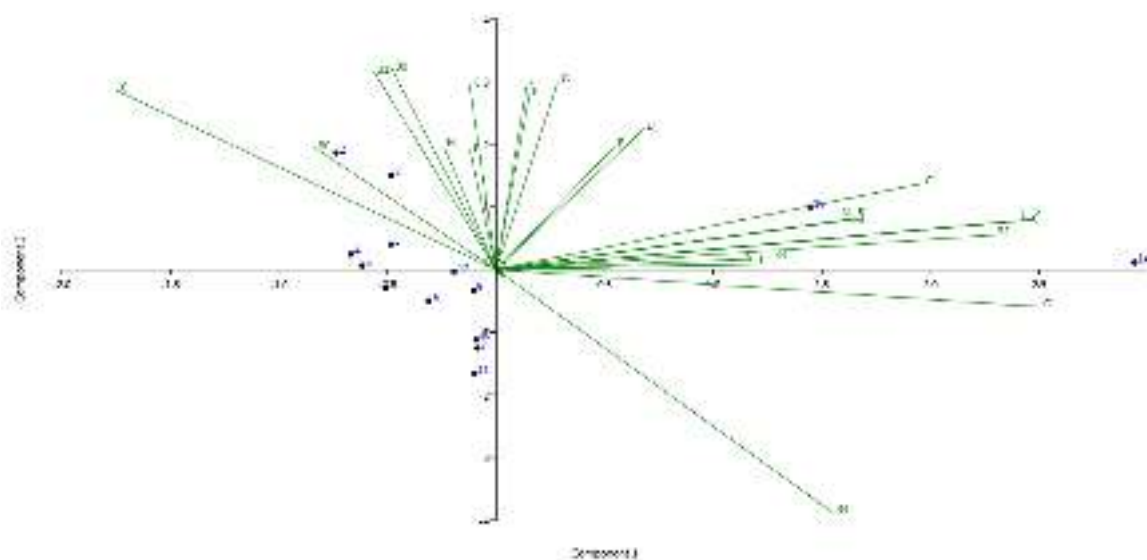
Fig. 3. Phylogenetic tree of the species of *Myosotis* by traits obtained by light (LM) and scanning electron microscopy (SEM) studies using Past software.

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. scorpioides*، *M. alpestris*، *M. anomala*، *M. olympica*، *M. stricta*، *M. sparsiflora*، *Myosotis sp.*، *M. propinqua* 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 در نظر 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 لوکالیت *M. lithospermifolia 1* و *M. lithospermifolia 2* در درخت تبارشناختی را می‌توان وجود دی‌مورفیسم دانه‌های گرده در لوکالیت استان گیلان این گونه عنوان داشت.

A



B



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

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 1 *M. lithospermifolia*، صفت X (بیش‌ترین قطر دریچه در نمای استوایی یا قطبی) برای جداسازی گونه‌های به ترتیب *M. M. diminuta* و *M. anomala*، *M. alpestris*، *M. scorpioides*، *M. ramosissima* 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. stricta* و *M. scorpioidis* را در یک خوشه جدا کرد. همچنین، صفت طولانی‌ترین قطر در نمای استوایی یا قطبی با میکروسکوپ نوری توانست *M. propinqua*، *M. anomala*، *M. sparsiflora* و *M. alpestris*، *M. lithospermifolia* 2، *M. olympica* و *M. sylvatica* که هر سه متعلق به سری *Arvenses* بودند و همچنین *M. stricta* و *M. scorpioidis* 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*

| 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 | Pseudocolpi number | Y |
| Colpus type | Z | Pseudocolpi longest polar axis in equatorial view (SEM) μm | 30 | Pseudocolpi longest diameter in equatorial or polar view (SEM) μm | 31 | Ornamentation (SEM) | 32 | Ubisch bodies | 33 |
| Surface polar | | | 34 | | | | | | |

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

گرده‌های گیاهان مورد مطالعه در تمامی گونه‌ها منفرد، ۶-هتروکولپیت، شیار منفذی، موند، 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. sylvatica*، *M. ramosissima* و *M. minutiflora* به دلیل تفاوت در قطر، دارای تنوع گرده‌ای درون گونه‌ای از لحاظ اندازه بودند. در مطالعه حاضر، حالت چسبیدگی و غیرموند شدن با تعداد نامعلوم در گرده *M. lithospermifolia* 1 (جمع‌آوری شده از گیلان) برای نخستین بار در گاوزبانیان گزارش شد. 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 دیز و والدز (Diez & Valdez 1991) روی ریخت‌شناسی گرده قبیله‌های *Eritrichieae* و *Cynoglosseae* در شبه‌جزیره ایبری (Iberian Peninsula) بیان داشت که گرده‌های *Myosotis* بیضی تا مستطیلی فشرده و یا غیرفشرده در ناحیه استوایی و در نمای قطبی شش ضلعی و نسبت قطب به استوا ساب‌پرولیت به پرولیت 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. ولکا و سیورووا (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* موند و ایزوپولار در نمای استوایی و ساعت شنی شکل و در نمای قطبی مانند *M. palustris* دایره‌ای یا مثلثی بودند. هارگرو و سیمپسون (Hargrove & Simpson 2003) نیز اظهار داشتند که گونه‌های *M. alpestris*، *M. arrensis*، *M. debilis*، *M. stricta*، *M. secunda*، *M. lithospermifolia*، *M. personi*، *M. laxa*، *M. lamottiana*، *M. discolor*، *M. decumbens*، *M. sylvatica* و *M. minutiflora*، *welwitschii* به صورت پرولیت هستند که این حالت در مطالعه حاضر فقط در گونه *M. sylvatica* دیده شد.

با وجود این که گرده‌های گل فراموش‌مکن ایزوپولار هستند (Meudt 2016)، در بررسی حاضر، در *M. lithospermifolia* 1 و *M. minutiflora* این قاعده برقرار 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. ولکووا و همکاران (Volkova et al. 2017) دانه گرده *Myosotis scorpioides* را موند، پرولیت، ایزوپولار و ساعت شنی شکل در نمای استوایی و دایره‌ای در نمای قطبی تشخیص دادند که مانند *M. scorpioidis* ایرانی بود. هائو و همکاران (Hao et al. 2017)، دانه گرده *M. wumengensis* را در قسمت بیرونی تقریباً 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 فراموش‌مکن همگی به صورت هتروکولپیت هستند. گرده‌های گونه‌های مطالعه شده مطابق با نتایج مطالعه گرده‌های گل‌های فراموش‌مکن 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 دیز و والدز (Diez & Valdez 1991)، تعداد آن‌ها را در گونه‌های *M. ramosissima* و *M. minutiflora* هشت عدد اما در مطالعه حاضر، این تعداد شش عدد تشخیص داده شد (شکل ۱).

هارگرو و سیمپسون (۲۰۰۳)، طی مطالعه خود روی گاوزبانیان بیان داشتند که ساختار دریچه *M. arvensis*, *M. alpestris* 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. sylvatica*, *M. stricta*, *M. minutiflora*, *M. seuunda*, *M. ramosissima*, *M. laxa*, *M. lamottiana*, *M. decumbens*, *M. debilis* است که تعداد دریچه‌ها در *M. personii* و *M. discolor* چهار تا شش عدد تشخیص داده شده است (Hargrove & Simpson 2003) این در حالی 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 وُلکووا و همکاران (۲۰۱۷) که روی تکامل هتروکولپیت این گونه انجام گرفته بود نیز ملاحظه نمود.

در تحقیقی که وُلکووا و سیوروا (Volka & Severova 2013) روی ساختار هارمومگاتی گرده *M. palustris* 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 چشم‌ونوس (*Omphalodes* Mill.) عضو دیگری از گاوزبانیان، صفات نوع دانه گرده، شیار منفذی بودن، حداکثر عرض دانه گرده، دریچه حلقه‌مانند، دریچه کاذب و تزیینات حاشیه با ارزش هستند (Coutinho et al. 2012). صفات قطر قطبی، قطر استوایی، طول و عرض شیارها، میزوکولپیتوم 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 هستند.

در مطالعات صورت گرفته برخی از دانه‌های گرده مربوط به آرایه‌های متعدد گاوزبانیان می‌توان گفت که دانه‌های گرده در گونه‌های *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 کاملاً 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 هتروکولپیتی 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.) Brand (*Solenanthus*، *Cynoglossum* L.، *Rindera* Pall.، *Microparacaryum* (Popov ex Riedl) Hilger & Podlech (Boiss.) Brand، *Lindelofia* Lehm. و *Trachelanthus* Klotzsch, Ledeb. مشخص شد که شکل دانه‌های گرده غالباً پرولیت، ساب‌پرولیت، پرولیت گرد و پرپرولیت است که به جز تنوع *M. lithospermifolia* 1 و *M. minutiflora*، 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 هستند (Attar et al. 2018).

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

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

سپاسگزاری

نگارندگان از هرباریوم‌های T دانشگاه خوارزمی (تهران) و FAR دانشگاه خوارزمی (کرج)، 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 آن‌ها 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. 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.

- 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, Manawatū, 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.
- Diez, 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. *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.
- 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 Blüte zur Gliederung der Gattung *Myosotis*. *Mitt. Bot. 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. & Zumbunn, 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.

- 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 (chief 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.

- 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 harmonogamy: 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