



LATVIJAS
UNIVERSITĀTE
ANNO 1919

**ANATOMISKĀS UN FIZIOLOGISKĀS
IZMAIŅAS MŪŽZAĻAJOS
RODODENDROS TO VEGETATĪVĀS
PAVAIROŠANAS LAIKĀ**

Promocijas darbs

**bioloģijas doktora zinātniskā grāda iegūšanai
augu fizioloģijas apakšnozarē**

Darba autors: Dace Megre

Darba vadītājs: Dr. biol., asoc. prof. Uldis Kondratovičs

Rīga 2011



LATVIJAS
UNIVERSITĀTE
ANNO 1919

Šis darbs izstrādāts ar Eiropas Sociālā fonda atbalstu projektā „Atbalsts doktora studijām Latvijas Universitātē”.

KOPSAVILKUMS

Darba mērķis bija noskaidrot mūžzaļo rododendru spraudeņu anatomiskās un fizioloģiskās izmaiņas rizoģenēzes procesā, kā arī izpētīt to potējumu saaugšanas anatomiskās īpatnības. Darbs izstrādāts Latvijas Universitātes Bioloģijas fakultātes Augu fizioloģijas katedrā, LU Rododendru selekcijas un izmēģinājumu audzētavā “Babīte” un LU Botāniskajā dārzā no 1997. gada līdz 2010. gadam. Mūžzaļo rododendru viengadīgs dzinums sastāv no epidermas, mizas (to detalizētāk iedala plātņu kolenhīmā, mizas parenhīmā, endodermā), lūksnes, kambija, sekundārās koksnes, primārās koksnes un serdes. Adventīvās saknes spraudeņiem veidojas tiešajā apsakņošanās procesā no lūksnes stariem un no kambija šūnām. Vienpumpura spraudeņiem ar lapu vienlaicīgi, bet neatkarīgi viens no otra notiek rizoģenēze un kallusa veidošanās process. Pēc peroksidāzes aktivitātes izmaiņām mūžzaļo rododendru šķirnes ‘Babītes Baltais’ vienpumpura spraudeņu ar lapu pamatnēs variantam bez ISS rizoģenēzes procesu var iedalīt trīs fāzēs: indukcijas, iniciācijas un ekspresijas fāzē. Pastāv būtiska korelācija starp peroksidāzes aktivitāti spraudeņu pamatnēs un lapās, tāpēc vienpumpura spraudeņiem ar lapu šī fermenta aktivitātes izmaiņas lapās var izmantot kā rizoģenēzes fāzu marķieri. Mūžzaļo rododendru šķirnes ‘Cunningham’s White’ potējumu saaugšanas gaitā konstatēti šādi posmi: nekrotiskā šūnu slāņa rašanās, kallusa un kallusa tilta veidošanās, jaunā kambija izveidošanās kallusa tiltā starp potējuma partneriem un sekmīga tā darbība – koksnes un lūksnes veidošana. Vāja potējumu partneru kontakta gadījumā kambijs veidojas arī starp to serdēm. Koksnes elementi, kas šajā rajonā veidojušies gan tieši no kallusa, gan jaunā kambija darbības rezultātā, iespējams, nodrošina papildus mehānisko izturību. Potējumiem uz neapsakņotiem dzinumu spraudeņiem potējumu saaugšana un rizoģenēze notiek pēc rododendriem raksturīgās shēmas, taču abi procesi nenorit vienlaicīgi – vispirms notiek potējumu saaugšana un tikai pēc tam seko rizoģenēze.

ABSTRACT

Rhododendrons are one of the most beautiful introduced ornamental plants in Latvia, where they have been grown in parks and gardens since the beginning 20th century. They can be propagated both by generative or vegetative methods. Effective propagation methods are required to meet growing demand for qualitative rhododendron planting stock. The aim of this study was to investigate the anatomical and physiological changes during rhizogenesis and to examine the anatomical features of grafting. The research was carried out at the Department of Plant Physiology, Faculty of Biology, at the Rhododendron Breeding Nursery 'Babite', and at the Botanical Garden of the University of Latvia from 1997 to 2010. The stem of one year old rhododendron contains epidermis, cortex (in detail lamellar collenchyma, cortical parenchyma and endodermis are present), phloem, cambium, secondary xylem, primary xylem and pith. Adventive roots in cuttings form during direct rooting from phloem rays and cambium cells. In leaf-bud cuttings rhizogenesis and callusogenesis take place simultaneously but independently from each other. The changes of peroxidase activity in stem bases of elepidote rhododendron cultivar 'Babītes Baltais' leaf-bud cuttings without IBA treatment correspond to the three rooting phases – induction, initiation and expression. There is a significant correlation between peroxidase activity in cutting bases and leaves, so the changes of peroxidase activity in leaves can be used as a rooting phase marker in leaf-bud cuttings. During graft union formation in elepidote rhododendron cultivar 'Cunningham's White' different anatomical processes were observed – formation of necrotic cell layer, callus and callus bridge formation, development of new cambium in callus bridge between both grafting partners and formation of xylem and phloem. In case, when connection between both grafting partners is remote, cambium formation occurs also between piths. Xylem elements formed from callus or new cambium in this area possibly provide additional mechanical durability. Graftings on unrooted stem cuttings form graft unions and develop roots by the system characteristic in rhododendrons, but both processes are separated in time. First graft union formation takes place, followed by root formation.

SATURS

IEVADS	7
1. LITERATŪRAS APSKATS	9
1.1. Īss rododendru kā dekoratīvo augu ģints raksturojums	9
1.2. Mūžzaļo rododendru veģetatīvā pavairošana.....	10
1.2.1. Mūžzaļo rododendru spraudeņu apsākņošanās un to ietekmējošie faktori....	11
1.2.2. Mūžzaļo rododendru potēšana un to ietekmējošie faktori	17
1.3. Mūžzaļā rododendra viengadīga dzinuma anatomiskā uzbūve	20
1.4. Spraudeņu rizoģenēzes anatomiski fizioloģiskais raksturojums.....	23
1.4.1. Adventīvo sakņu veidošanās.....	23
1.4.2. Rizoģenēzes anatomiskie posmi	26
1.4.3. Fizioloģiskie procesi spraudeņos kā rizoģenēzes raksturotāji	28
1.5. Potējumu saaugšanas anatomija.....	33
2. MATERIĀLS UN METODIKA.....	36
2.1. Izmantotās mūžzaļo rododendru šķirnes.....	36
2.2. Mūžzaļo rododendru veģetatīvās pavairošanas metodes	37
2.2.1. Pavairošana ar spraudeņiem.....	37
2.2.2. Potēšana kopulējot	39
2.2.3. Potēšana uz neapsākņotiem dzinuma spraudeņiem	41
2.3. Anatomisko preparātu pagatavošana un izpēte.....	42
2.3.1. Materiāla sagatavošana griešanai un griezumu pagatavošana	42
2.3.2. Anatomisko griezumu apstrāde.....	44
2.4. Gvajakola peroksidāzes aktivitātes noteikšana.....	44
2.5. Cietes daudzuma noteikšana	45
3. REZULTĀTI.....	47
3.1. Veģetatīvajā pavairošanā izmantoto mūžzaļo rododendru šķirņu dzinumu anatomiskā uzbūve.....	47
3.2. Spraudeņu sekundārā augšana rizoģenēzes laikā.....	51
3.3. Kallusa veidošanās un attīstība vienpumpura spraudeņiem.....	52
3.4. Adventīvo sakņu veidošanās posmi	57
3.5. Peroksidāzes aktivitātes un cietes daudzuma izmaiņas vienpumpura spraudeņos ar lapu rizoģenēzes laikā	63
3.6. Anatomiskās izmaiņas potējumos to saaugšanas gaitā	66

3.7. Vienlaicīga potējumu saaugšanas un rizoģenēzes procesa norise potējumiem uz neapsakņotiem dzinumu spraudņiem	69
4. DISKUSIJA	72
SECINĀJUMI.....	84
LITERATŪRAS SARAKSTS.....	85

IEVADS

Rododendri ir vieni no skaistākajiem Latvijā introducētajiem dekoratīvajiem augiem, kuri ir kļuvuši par parku un dārzu neatņemamu sastāvdaļu. Lai varētu apmierināt aizvien pieaugošo pieprasījumu pēc kvalitatīviem rododendru stādiem, ir nepieciešamas efektīvas pavairošanas metodes. Kopš 1957. gada LU Botāniskajā dārzā un kopš 1980. gada LU Rododendru selekcijas un izmēģinājumu audzētavā “Babīte” tiek veikts rododendru introdukcijas, selekcijas un pavairošanas darbs.

Rododendrus var pavairot gan ģeneratīvi, gan veģetatīvi. Latvijā ir izaudzētas jau 64 jaunas rododendru šķirnes, tāpēc pastiprināta uzmanība jāveltī rododendru veģetatīvajai pavairošanai. Rododendrus veģetatīvi pavairo ar noliektņiem, ar spraudeņiem, ar dalīšanu, ar potēšanu un ar audu kultūrām. Rododendru pavairošanu ar noliektņiem un dalot izmanto galvenokārt dārzkopji amatieri, kuru vajadzības apmierina neliels iegūto augu daudzums. Lai gan audu kultūru izmantošanai ir plašas iespējas, ne visas šķirnes ir izdevies ievadīt *in vitro*, tāpēc klasiskās pavairošanas metodes – pavairošana ar dzinum spraudeņiem un potēšana – nav zaudējušas savu nozīmi. Literatūrā ir atrodami dati par dažādiem mūžzaļo rododendru spraudeņu veģetatīvās pavairošanas aspektiem, taču trūkst detalizētas informācijas par rizoģenēzes un potējumu saaugšanas anatomiju. Stādaudzētavās aizvien vairāk sāk izmantot tādas zināmas, bet ne tik populāras veģetatīvās pavairošanas metodes, kā pavairošana ar vienpumpura spraudeņiem ar lapu un potēšanu uz neapsakņotiem dzinum spraudeņiem. Tādēļ rodas vēl neatbildēti jautājumi par potējumu saaugšanas un rizoģenēzes procesu anatomisko norisi, piemēram, vai adventīvo sakņu veidošanās tiešajā vai netiešajā procesā ir atkarīga no spraudeņu veida un vai potējumu saaugšana spraudeņpotējumiem ietekmē to rizoģenēzes procesu.

Promocijas **darba mērķis** – noskaidrot mūžzaļo rododendru spraudeņu anatomiskās un fizioloģiskās izmaiņas rizoģenēzes procesā, kā arī izpētīt to potējumu saaugšanas anatomiskās īpatnības.

Lai varētu īstenot darba mērķi, tika izvirzīti šādi **darba uzdevumi**.

1. Noskaidrot mūžzaļo rododendru stumbra anatomisko uzbūvi.
2. Noteikt adventīvo sakņu veidošanās vietas un attīstības gaitu, kā arī izpētīt anatomiskās izmaiņas, kuras netieši saistītas ar adventīvo sakņu veidošanos mūžzaļo rododendru spraudeņiem.

3. Izvērtēt, vai peroksidāzes aktivitātes dinamiku (spraudeņu pamatnēs un lapās) un cietes daudzuma izmaiņas (spraudeņu pamatnēs) var izmantot kā iespējamus marķierus rizoģenēzes fāzu noteikšanai vienpumpura spraudeņiem ar lapu.
4. Noskaidrot mūžzaļo rododendru potējumu saaugšanas procesa anatomiju.
5. Izpētīt potējumu saaugšanas un rizoģenēzes procesus potējumiem uz neapsakņotiem dzinuma spraudeņiem.

1. LITERATŪRAS APSKATS

1.1. Īss rododendru kā dekoratīvo augu ģints raksturojums

Rododendri ir ēriku (*Ericaceae*) dzimtas augi – krūmi, retāk koki, ar mūžzaļām, daļēji mūžzaļām vai vasarzaļām lapām. Sastopamas rododendru sugas, kas paceļas virs zemes tikai dažus centimetrus, veidojot blīvas paklājveida audzes, turpretim citi aug kā krūmi un pat lieli koki, sasniedzot līdz 30 m augstumu. Dažām sugām lapas ir sīkas, tikai 1 cm garas, vairumam to garums ir 10–20 cm, bet citām pat 60 cm un vairāk. Rododendru sugām ir arī liela ziedu izmēru, formas un krāsu dažādība (Kondratovičs 2005). Zemajām, sīklapainajām sugām ziedu diametrs nepārsniedz 1 cm, turpretim citām to lielums sniedzas vairāk nekā 15 cm diametrā (Leach 1961). Ziedi parasti ir riteņveida, piltuvveida, stobrveida vai zvanveida (Albrecht, Sommer 1991). Ziedu krāsas ir dažādas: balta, rožaina, sarkana, violeta, dzeltena, oranža, purpura ar dažādiem pārejas toņiem (Kondratovičs 2005).

Izmantojot morfoloģiskās pazīmes, rododendru ģinti (*Rhododendron* L.) iedala 8 apakšģintīs:

- *Rhododendron* – mūžzaļie rododendri ar mazām lapām un zvīņām lapu apakšpusē (lepidoti), piemēram, rudais rododendrs (*Rh. ferrugineum* L.);
- *Hymenantes* – mūžzaļie rododendri ar lielām lapām un bez zvīņām (elepidoti), piemēram, Katavbas rododendrs (*Rh. catawbiense* Michx.);
- *Pentanthera* – vasarzaļie rododendri (dārza acālijas), piemēram, dzeltenais rododendrs (*Rh. luteum* (L.) Sweet);
- *Tsutsutsi* – mūžzaļās (siltumnīcu) acālijas, piemēram, Indijas rododendrs (*Rhododendron indicum* (L.) Sweet);
- *Azaleastrum* – piecas sugas, piemēram, ollapu rododendrs (*Rh. ovatum* (Lindl.) Maxim.);
- *Candidastrum* – viena suga baltziedu rododendrs (*Rh. albiflorum* Hook.);
- *Mumeazalea* – viena suga pusbārdainais rododendrs (*Rh. semibarbatum* Maxim.);

- *Therorhodium* – viena suga – Kamčatkas rododendrs (*Rh. camtschaticum* Pall.) (Chamberlain et al. 1996).

Rododendru ģints izplatīta galvenokārt Ziemeļu puslodes aukstajos un mērenajos apgabalos, kaut arī tie sastopami gandrīz pa visu zemeslodi. Rododendru speciālisti izdala 7 galvenos rododendru izplatības areālus – Himalaju, Rietumķīnas un Centrālās Ķīnas apgabalu, Ķīnas piekrastes apgabalu, Ziemeļaustrumāzijas apgabalu, Japānas apgabalu, Malajas arhipelāga apgabalu, Eiropas apgabalu un Amerikas apgabalu (Kondratovičs 2005). Pēc Heivuda (Heywood 1978) datiem apmēram 700 rododendru ģints sugu sastopamas Ķīnā, Tibetā, Birmā, Asamā un Nepālā, gandrīz 300 sugas – Jaungvinejā, daudzas – Japānā, tropiskajā Āzijā no Indoķīnas līdz Indonēzijai un Filipīnās, kā arī Eiropā un Ziemeļamerikā. Eiropā savvaļā sastopamas 9 sugas, Ziemeļamerikā – 29 sugas (Kondratovičs 2005). Lai gan rododendri ir samērā jauns kultūraugs, jo tikai 17. gs. vidū Eiropā introducēja pirmo rododendru sugu – skarbmataino rododendru (*Rh. hirsutum* L.) (Street 1988), dažādu valstu selekcionāri ir radījuši jau vairāk nekā 28 000 šķirņu, no kurām daudzas ir ieņēmušas stabilu vietu kokaudzētavu sortimentā (Kondratovičs 2005). Latvijā ir selekcionētas 64 rododendru šķirnes – 33 vasarzaļās un 31 mūžzaļās (Kondratovičs et al. 2010).

1.2. Mūžzaļo rododendru veģetatīvā pavairošana

Veģetatīvā pavairošana ir augu pavairošanas veids, kurā izmanto augu somatiskās šūnas vai no tām veidotās augu daļas. Tā pamatojas uz augu reģenerācijas spēju – spēju atjaunot veselu organismu no atsevišķām auga daļām vai pat no atsevišķām šūnām (Tutajuk 1980). Veģetatīvās pavairošanas rezultātā veidojas mātesaugam identiski pēcnācēji (Hartmann et al. 2002). Rododendrus veģetatīvi pavairo ar noliektniem, ar dalīšanu, ar spraudņiem, ar potēšanu un ar audu kultūrām (Albrecht, Sommer 1991; Nawrocka-Grzeškowiak 2004a).

1.2.1. Mūžzaļo rododendru spraudeņu apsakņošanās un to ietekmējošie faktori

Spraudeņu izmantošana augu pavairošanā ir saimnieciski izdevīgs paņēmieni, jo no viena mātesauga var iegūt daudz spraudeņu (Hartmann et al. 2002). Auga spēja veidot adventīvās saknes ir atkarīga no daudziem faktoriem, taču arī optimālos apstākļos augu rizoģenēzes spējas būtiski atšķiras, tāpēc augus nosacīti mēdz iedalīt šādās grupās.

- Viegli apsakņojamie augi – augi, kuros ir visas sakņu morfoģenēzei nepieciešamās endogēnās vielas, tajā skaitā auksīns. Pagatavojot spraudeņus un nodrošinot tiem optimālus rizoģenēzes apstākļus, saknes izveidojas ātri (Hartmann et al. 2002), pēc 2–4 nedēļām un apsakņojas 70–100 % spraudeņu (Polikarpova 1990).
- Vidēji viegli apsakņojamie augi – augi, kam var notikt dabīgā sakņu morfoģenēze, bet auksīns ir ierobežotā daudzumā. Apstrāde ar eksogēno auksīnu nepieciešama, lai uzlabotu apsakņošanas (Hartmann et al. 2002). Rizoģenēze notiek 6–8 nedēļu laikā (Polikarpova 1990).
- Grūti apsakņojamie augi – augi, kam nav sakņu morfoģenēzes potenciāla un/vai ir nepietiekama šūnu jutība (kompetence) pret morfoģenēzes stimuliem. Šādiem augiem dabiskais auksīns var būt vai arī nebūt pietiekamā daudzumā. Apstrāde ar eksogēno auksīnu dod nelielu uzlabojumu (Hartmann et al. 2002) – apsakņojas mazāk nekā 30 % spraudeņu vairāk nekā 6–8 nedēļas un sakņu sistēma attīstās vāji (Polikarpova 1990) vai arī apsakņošanās nenotiek nemaz (Hartmann et al. 2002).

Sekmīga spraudeņu rizoģenēze ir atkarīga:

- no mātesauga īpašībām, kuras nosaka gan auga genotips, gan apstākļi, kādos tas ir audzis un attīstījies (Hartmann et al. 2002), gan arī no tā apstrādes pirms izejmateriāla iegūšanas (Cameron et al. 2003);
- no spraudeņu fizioloģiskā stāvokļa to pagatavošanas brīdī, atstāto lapu daudzuma, ievainošanas, no augšanas stimulatoru izmantošanas un arī citiem faktoriem (Hartmann et al. 2002);
- no vides apstākļiem apsakņošanās laikā (Hartmann et al. 2002).

Mātesauga vecums. Viens no svarīgākajiem faktoriem, kas ietekmē spraudeņu apsakņošanas, ir mātesauga vecums – spraudeņu rizoģenēzes potenciāls samazinās,

palielinoties mātesauga vecumam (Hartmann et al. 2002; Kibbler et al. 2004; Husen, Pal 2007). Augiem izšķir četras attīstības fāzes: embrionālo, juvenīlo, reprodiktīvo un novecošanas fāzi (Polevoi 1989). Parasti labi apsakņojas spraudeņi, kuri ņemti no juvenīlajā attīstības fāzē esoša mātesauga (McMillan Browse 1983). Pēc speciālistu viedokļa, parasti Smirnova rododendra (*Rh. smirnowii* Trautv.) spraudeņi apsakņojas slikti, bet izmantojot kā izejmateriālu jaunus mātesaugus, apsakņoto spraudeņu skaits palielinās (Czekalski 1988).

Mātesauga apstrāde. Daudz pētījumu ir veltīts mātesauga iepriekšējai apstrādei, kas pozitīvi ietekmē spraudeņu apsakņošanu. Rododendru veģetatīvajā pavairošanā tiek izmantota mātesaugu etiolācija un dzinuma aptīšana (Maynard, Bassuk 1991). Etiolācijas laikā augu mēdz audzēt gan pilnīgas tumsas apstākļos, gan arī stiprā noēnojumā. Dzinuma aptīšanas rezultātā tiek etiolēts dzinuma posms, zem kura tiks nogriezts spraudenis (Hartmann et al. 2002). Spraudeņi no etiolētiem dzinumiem parasti apsakņojas labāk nekā no gaismā augušiem dzinumiem (Hansen, Eriksen 1974). Etiolētos dzinumos notiek dažādas izmaiņas – samazinās hlorofila daudzums (Maynard, Bassuk 1988), peridermas biezums (Maynard, Bassuk 1996) un sekundārās koksnes lignifikācija, samazinās vai aizkavējas sklereīdu veidošanās (Rinallo et al. 1987), kā arī ar sklereīdām bloķēto staru skaits (Doud, Carlson 1977; Maynard, Bassuk 1996). Mātesauga etiolācijas rezultātā pieaug Smirnova rododendra (*Rh. smirnowii*) spraudeņu apsakņošanās procents, bet Jakušimas rododendra (*Rh. yakushmanum* Nakai) spraudeņiem nenovēro būtisku atšķirību starp etiolēto un gaismā augušo spraudeņu apsakņošanās procentu (Maynard, Bassuk 1991). Dzinuma aptīšana uzlabo rododendru šķirņu ‘Corsage’ un ‘Rampo’ spraudeņu apsakņošanu (Davis, Potter 1983). Modificēta dzinuma aptīšanas metode (dzinums pirms aptīšanas ar VelcroTM lenti tiek ievainots un apstrādāts ar 0.8 % indolilsviestskābes (ISS) talka pulveri) palielina Jakušimas rododendra (*Rh. yakushmanum*) apsakņoto spraudeņu skaitu (Maynard, Bassuk 1991). Rododendru šķirnēm ‘Britannia’ un ‘Unknown Warrior’ spraudeņu apsakņošanās procentus palielina arī apvienotā etiolācijas un dzinuma aptīšanas metode (vispirms mātesaugu etiolē, bet dzinuma vietu, zem kuras tiks nogriezts spraudenis, aptin, lai topošā spraudeņa pamatne paliktu etiolēta, jo pēc tam mātesaugu aklimatizē gaismā) (Hansen, Potter 1997).

Lignificēšanās pakāpe. Spēja veidot saknes ir atkarīga arī no kārtējā gada dzinuma lignifikācijas pakāpes (Hartmann et al. 2002). Dažu augu sugu dzinumi labi apsakņojas, ja spraudeņošanu veic auga intensīvas augšanas periodā, citām sugām –

periodā, kad augšana apstājas, bet vēl citām – miera periodā (McMillan Browse 1983). Lielākajai daļai kokaugu dzinumi apsakņošanai jāņem veģetācijas perioda beigās – oktobrī (Komissarov 1964). Arī mūžzaļo rododendru hibrīdus vislabāk pavairot veģetācijas perioda beigās – oktobrī (Sanders 1978; Goreau 1980; Kondratovičs 1993), taču konkrētām sugām/šķirnēm labākais spraudēnošanas laiks var atšķirties, piemēram, lielajam rododendram (*Rh. maximum* L.) – decembris (Czekalski 1996 citēts pēc Nawrocka-Grzeškowiak 2004a), īsaugļu rododendram (*Rh. brachycarpum* ssp. *tigerstedtii*) – janvāris (Ylätuo 1979), ‘Catawbiense Grandiflorum’ – maijs (Czekalski 1981 citēts pēc Nawrocka-Grzeškowiak 2004a).

Spraudēņu lapu nozīme apsakņošanās procesā. Daļēji pārkoksnētu dzinumu rizoģenēzē lapām ir būtiska nozīme, jo spraudēni nav uzkrājuši rezerves vielas un lapas tiem ir fotosintēzes produktu, fitohormonu un arī citu organisko savienojumu avots (Polikarpova 1990). Literatūrā atrodami pretrunīgi dati par fotosintēzes nozīmi rizoģenēzes procesā, visticamāk tāpēc, ka fotosintēze ir jutīga pret vides faktoru – apgaismojuma, ūdens režīma, CO₂ pieejamības u.c. – izmaiņām (Davis 1988, Mesén et al. 1997, Bruce et al. 2001). *Euphorbia pulcherrima* Willd. Ex Klotzsh galotnes spraudēņiem rizoģenēzes sākumā fotosintēzes aktivitāte ir zema, taču tā palielinās laikā, kad kļūst redzamas spraudēņu saknes (Svenson, Davies 1990). Pētījumi par *Hibiscus rosa-sinensis* L. spraudēņiem, parāda, ka fotosintēzei nav ietekmes uz rizoģenēzes procesu, jo spraudēni vienlīdz labi apsakņojas gan tumsā, gan gaismā (Davies et al. 1988). Savukārt pētījumos par *Cordia alliodora* Ruiz & Pavon. konstatēts, ka spraudēņu rizoģenēze ir saistīta ar fotosintēzes aktivitāti, kuru ietekmē mikroklimats un spraudēņa lapas virsmas laukums (Mesén et al. 1997).

Lapas piedalās arī transpirācijā, tāpēc, lai novērstu pārmērīgu ūdens zudumu, spraudēnim ir jāsamazina ne vien lapu skaits, bet arī lapu plātnes. Parasti tās samazina par 1/3 vai 1/2 (Hartmann et al. 2002). Liellapaino rododendru sugu/šķirņu pavairošanā ar spraudēņiem parasti izmanto lapu plātnes samazināšanu par 1/3 (Kondratovičs 1978), taču Bojarčukas (Bojarczuk 1984) pētījumos konstatēts, ka rododendru šķirnes ‘Cunningham’s White’ spraudēni apsakņojas labāk, ja tiem atstāj veselas lapu plātnes.

Spraudēņu ievainošana. Spraudēņu pagatavošanas laikā jau dabīgi izveidojas ievainojums, bet papildus ievainojums (ievainojuma virsmas palielināšana pie spraudēņa pamatnes) uzlabo apsakņošanos noteiktām kokaugu sugām, tai skaitā arī rododendriem (Wells 1981). Ievainojums izraisa dažādas metabolisma izmaiņas

spraudeņa pamatnes šūnās. Vispārinot var teikt, ka ievainojuma rezultātā uzlabojas spraudeņa pamatnes šūnu spēja uztvert auksīnu un citus rizoģenēzei būtiskus savienojumus. Ievainojums palielina arī spraudeņa pamatnes audu saskares virsmu ar rizoģenēzes stimulatoru. Pastāv arī uzskats, ka ievainojuma rezultātā tiek noņemta anatomiskā barjera (sklerenhīmas gredzens), tādejādi uzlabojot apsakņošanas, taču dati par šo hipotēzi ir visai pretrunīgi (Hartmann et al. 2002).

Fitohormoni. Fitohormonu – auksīna, citokinīnu, giberelīnu, etilēna un abscizskābes – savstarpējais līdzsvars ir būtisks rizoģenēzes procesa nodrošināšanā (Hartmann et al. 2002). Metabolisma procesi, kas rodas fitohormonu līdzsvara izmaiņu rezultātā, var inhibēt vai inducēt adventīvo sakņu veidošanos (Husen 2008). Vislielākā nozīme rizoģenēzes procesā ir endogēnajam auksīnam – indoliletiķskābei (IES) (De Klerk et al. 1999), kas sintezējas stumbra apikālajā meristēmā, jaunās lapās un pumpuros, un pēc tam pārvietojas augā pa lūksni vai polārā transporta ceļā (Friml, Palme 2002). Pastāv dažādas hipotēzes par iespējamām atšķirībām brīvās IES transportā un tās uzkrāšanos spraudenī starp viegli un grūti apsakņojamiem augiem. Iespējams, grūti apsakņojamos augos IES metabolizējas ātrāk, nekā viegli apsakņojamos augos, vai arī samazinās tās transports uz spraudeņa pamatni, kā rezultātā tajā izveidojas mazāka brīvās IES koncentrācija (Wilson 1994). Lai notiktu rizoģenēze, šūnām, no kurām veidojas adventīvās saknes, jābūt kompetentām un spējīgām uztvert signālu – auksīnu (Marks et al. 2002). Grūti apsakņojamiem augiem varētu būt samazināta konkrēto šūnu jutība pret auksīnu vai arī mazāka to dediferencēšanās kompetence, salīdzinot ar viegli apsakņojamiem augiem (Wilson 1994). Eksogēnais auksīns var inducēt rizoģenēzi tieši iedarbojoties uz konkrētām šūnām vai arī iesaistoties dabīgajā auksīna metabolismā (Marks et al. 2002). To parāda arī pētījumi par grūti apsakņojamā *Syringa vulgaris* L. spraudeņu pamatnes apstrādi ar [³H] IES un tās tālāko izplatību spraudenī. Daļa no iezīmētā [³H] paliek uz spraudeņa pamatnes, turpretī lielākā daļa no uzņemtā [³H] vienas stundas laikā nonāk spraudeņa lapās, visticamāk, pēc tam auksīns bazipetālā transporta ceļā pārvietojas uz spraudeņa pamatni (Ford et al. 2001).

Augu veģetatīvajā pavairošanā ar spraudeņiem plaši tiek izmantota indolilsviestskābe (ISS), kuru uzskata par universālu apsakņošanās stimulatoru, jo tās ietekmē apsakņojas lielākā daļa augu spraudeņu (Hartmann et al. 2002). Daudzi autori (Lewis, Sizemore 1978; Sanders 1978; Goreau 1980; Hieke 1981; Nawrocka-Grzeškowiak 2004a) uzskata, ka labākais augšanas stimulators mūžzaļajiem

rododendriem ir ISS, kā ietekmē palielinās spraudeņu apsākņošanās procents un sakņu kamola izmērs. Izmantojamā koncentrācija ir robežās no 0.8 % līdz 2 % ISS un tā ir atkarīga no konkrētās sugas vai šķirnes (Hartmann et al. 2002).

Lai varētu notikt rizoģenēzes process, spraudeņiem ir jānodrošina noteikts mikroklimats. Galvenie abiotiskie faktori, kas ietekmē veiksmīgu rizoģenēzi, ir pareiza substrāta izvēle, mitrums, temperatūra un apgaismojums.

Substrāts. Pavairojot augus veģetatīvi, ar spraudeņiem, ļoti svarīgi ir izmantot piemērotu substrātu. To izvēloties ir jāzina auga bioloģiskās īpašības. Substrātam jābūt tādām, lai varētu nodrošināt spraudeņiem nepieciešamo aerāciju, mitrumu, temperatūru un pH līmeni (McMillan Browse 1983). Rododendri labi apsākņojas substrātā, kas sastāv no pussatrūdējušām priežu skujām un sfagnu kūdras (1:1), jo kūdras un skuju maisījumam ir optimāla pH vērtība (pH 4.2) un laba aerācija (Kondratovičs 1993). Līdzīgi rezultāti iegūti arī eksperimentos ar rododendru šķirņu 'P.J.M.', 'Catawbiense Album' un 'Purple Gem' dzinumu spraudeņiem. Tie labāk apsākņojās un veidoja lielākus sakņu kamolus substrātā ar pH vērtību 4.5 (Holt et al. 1998). Kā substrātu var izmantot arī:

- kūdras un perlīta maisījumu vienādās daļās (Kondratovičs 1993);
- pussatrūdējušas kūdras, priežu mizu komposta un dažādu koku zāģu skaidu (1:1:1) maisījumu (Nawrocka-Grzeškowiak 2004a);
- 40 % trūdzemes, 50 % priežu mizas un 10 % rupjas smilts (Beeson 1996);
- rupju smilti bez kaļķakmens piejaukumiem un izsijātu kūdru (1:1) (McMillan Browse 1983).

Mitrums. Ūdens režīmu nosaka attiecība starp transpirāciju un ūdens uzņemšanu. Ūdens deficīts parasti ir viens no galvenajiem spraudeņu bojāejas cēloņiem, jo transpirācijas rezultātā ūdens daudzums spraudeņī samazinās. Sakņu trūkuma dēļ netiek nodrošināta pietiekama ūdens uzņemšana, tāpēc apsākņošanās vidē pēc iespējas jāsamazina spraudeņu transpirācija. Kokaugu spraudeņiem nepieciešamais ūdens daudzums ir atkarīgs no spraudeņu pārkoksnēšanās pakāpes – jo spraudeņi ir vairāk pārkoksnējušies, jo tiem nepieciešams mazāks ūdens daudzums. Palielinot mitruma daudzumu substrātā, samazinās substrāta aerācija, kas var būt par iemeslu dažādām slimībām (Hartmann et al. 2002).

Temperatūra. Grūti ir precīzi definēt optimālo temperatūru, jo temperatūras ietekme ļoti bieži ir saistīta ar citiem vides faktoriem un ar genotipu (Andersen 1986).

Taču pieņemts uzskatīt, ka spraudeņu apsakņošanās laikā substrāta optimālā temperatūra mērenā klimata augiem ir 18 °C – 25 °C, gaisa temperatūra dienā 21 °C – 27 °C, naktī – ap 15 °C (Hartmann et al. 2002). Rododendriem ieteicamā substrāta temperatūra ir 21 °C (McMillan Browse 1983) vai 24 °C (Hartmann et al. 2002). Spraudeņu rizoģenēzes laikā var arī mainīt substrāta temperatūru – sakņu iniciācijas laikā augstāka substrāta temperatūra, savukārt sakņu augšanas un attīstības laikā zemāka (Hartmann et al. 2002). Rododendru spraudeņiem var izmantot šādu shēmu – pirmās 4 nedēļas substrāta temperatūra 20 – 24 °C, pēc tam 18 °C (Bojarczuk 1984).

Gaisma. Apgaismojuma ietekmi uz rizoģenēzes procesu pēta, variējot ar gaismas intensitāti, ilgumu (fotoperiodu) un kvalitāti (spektrālo sastāvu). Pētījumos par apgaismojuma (0 %, 55 %, 95 % noēnojums) ietekmi uz rododendru šķirnes ‘Roseum Elegans’ dzinumū spraudeņu rizoģenēzi neizdevās konstatēt atšķirības starp pētāmajiem variantiem un apsakņoto spraudeņu procentuālo daudzumu, taču pēc 23 nedēļām kopš eksperimenta sākuma 0 %, 55 % un noēnojuma variantos sakņu kamolu diametrs bija lielāks, nekā variantam ar 95 % noēnojumu (Davis, Potter 1987).

Literatūrā atrodama atšķirīga informācija par fotoperioda ietekmi uz rododendru spraudeņu apsakņošanos. Pētījumi par fotoperioda (8, 18 vai dabīgā apgaismojuma 10.5–12.5 h) un augšanas stimulatora (0, 1 % vai 2 % ISS) ietekmi uz rododendru šķirni ‘P.J.M.’ parādīja, ka spraudeņu apsakņošanos ietekmē nevis fotoperiods, bet gan apstrāde ar augšanas stimulatoru (Tallman, Meyer 1980). Savukārt pētījumos par dienasgaismas (eksperimenta sākumā 10.5 h, beigās 16 h) un dienasgaismas plus 8 h zemas intensitātes papildapgaismojuma (no plkst. 20.00 līdz 04.00) (attiecīgi no 18.5 h līdz 24 h) ietekmi uz rododendriem liecināja, ka papildus apgaismojums veicina spraudeņu apsakņošanos *Rh. catawbiense* un šķirnēm ‘Sonata’, ‘Unique’, ‘Mrs.G.W. Leak’, bet neietekmē šķirnes ‘Pink Bountiful’ spraudeņus (French 1983).

Gaismas spektrālā sastāva ietekme uz adventīvo sakņu veidošanos parāda, ka rododendru šķirnes ‘Blue Tit’ un ‘Dora Amateis’ spraudeņu apsakņošanos neveicina zilā gaisma (420–520 nm), bet pozitīvi ietekmē sarkanā (> 620 nm) un pilna spektra gaisma (> 320 nm). Rododendru šķirnes ‘Blue Tit’ spraudeņu rizoģenēzes intensitāti vienlīdz labi ietekmē sarkanā un pilna spektra gaisma, bet šķirnes ‘Dora Amateis’ spraudeņus labāk ietekmē sarkanā gaisma (Yarmoshuk, Yarmoshuk 1983).

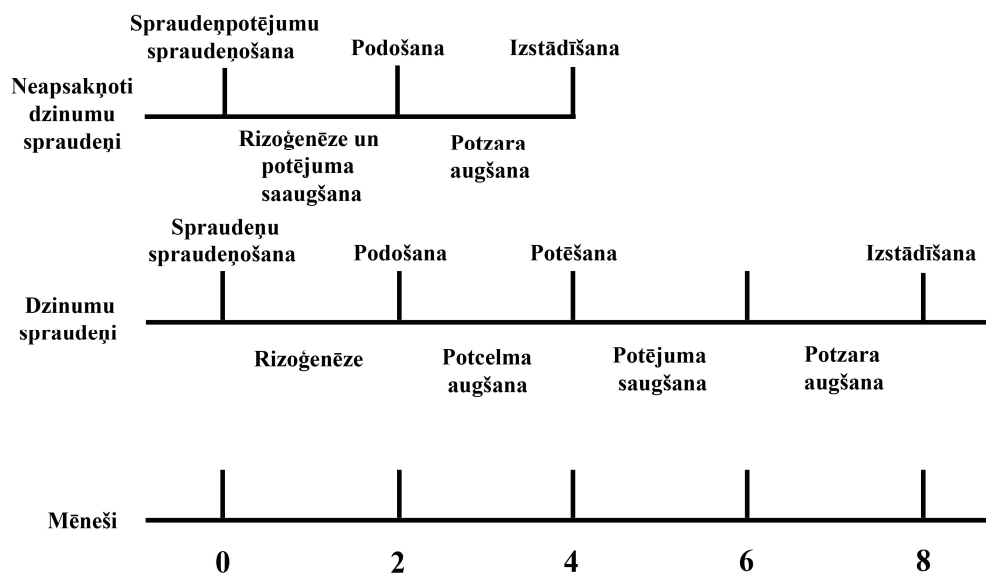
Literatūrā trūkst datu par mūžzaļo rododendru spraudeņu apsakņošanos ietekmējošo faktoru saistību ar adventīvo sakņu veidošanās anatomiju. Piemēram, neskatoties uz daudziem pētījumiem par eksogēno augsni ietekmi uz mūžzaļo

rododendru spraudēņu apsakņošanas un ieteikumiem par izmantojamo augšanas stimulatoru veidu un koncentrāciju (Dirr, Heuser 1987), trūkst anatomisko pētījumu par ISS ietekmi uz adventīvo sakņu attīstību, kā arī par spraudēņu ievainojuma dziļuma ietekmi uz rizoģenēzes procesu.

1.2.2. Mūžzaļo rododendru potēšana un to ietekmējošie faktori

Potēšana ir process, kurā notiek divu augu saudzēšana, kā rezultātā tie kļūst anatomiski un fizioloģiski vienoti un tālāk aug kā viens indivīds (Dickison 2000). Potēšanu kā veģetatīvās pavairošanas metodi izmanto rododendru šķirnēm, kuras grūti pavairot ar spraudējiem (Nawrocka-Grzeškowiak 2004b). Par potcelmiem izvēlas tādas sugas un šķirnes, kurām piemīt konkrētiem klimatiskiem apstākļiem piemērotas īpašības, piemēram, laba ziemcietība (Kondratovičs 1978), tolerance pret sārmainākām augsnēm vai arī izturība pret slimībām, piemēram, fitoforozi (*Phytophthora*) (Miller 1979). Rododendru potēšanā izmanto vairākus veidus: kopulēšanu, kopulēšanu ar iešķēlumu, potēšanu sānu iešķēlumā (Kondratovičs 1978) un sānu iegriezumā (Miller 1979), dažkārt arī acošanu (McGuire et al. 1987). Salīdzinot trīs rododendru potēšanas metodes (kopulēšanu, kopulēšanu ar iešķēlumu un potēšanu sānu iegriezumā) kā potcelmus izmantojot *Rh. catawbiense-Hybridum* un šķirni 'Cunningham's White', bet kā potzarus – viengadīgus *Rh. catawbiense* hibrīdu grupas dažādu šķirņu dzinumus, labākos rezultātus ieguva potējot sānu iegriezumā (Nawrocka-Grzeškowiak 2004b). Savukārt citā pētījumā kā labākā potēšanas metode atzīta rododendru kopulēšana (Bärtels 1982 citēts pēc Nawrocka-Grzeškowiak 2004b). Atsevišķi jāpiemin potēšana uz neapsakņotiem dzinumiem spraudējiem (spraudēņpotējumi), kurā kā potcelmu un potzaru izmanto viengadīgus rododendru dzinumus (Peek 1986). Šī metode saīsina laiku līdz jauna auga iegūšanai, jo vienlaicīgi notiek divi fizioloģiskie procesi – potējumu saaugšana un adventīvo sakņu veidošanās potcelmam (dzinuma spraudenim) (Ackerman et al. 1997) (1. attēls).

POTCELMI



1. attēls. Jaunstādu iegūšanas ilgums, potējot uz apsakņotiem un neapsakņotiem sprauņiem (Ackerman et al. 1997).

Rododendrus uz neapsakņotiem dzinumu sprauņiem potē sānu iegriezumā (Peek 1986; Macdonald 2002) vai gala ķīlgriezumā (Peek 1986).

Augiem potējumu saugšana ir atkarīga no potēšanas partneru fizioloģiskās saderības, pareizas potzara un potcelma savienošanas (potēšanas kvalitāte) (Kollmann et al. 1985), kā arī no vides apstākļiem potējumu saugšanas laikā (Hartmann et al. 2002).

Saderība / nesaderība. Potējuma saderība ir divu augu spēja potēšanas rezultātā izveidot veiksmīgu savienojumu un turpināt attīstīties kā vienam augam (Hartmann et al. 2002). Potējumu var uzskatīt par saderīgu, ja tam cauri izveidojas funkcionēt spējīgi koksnes un lūksnes vadaudi (Moore 1984, Schöning, Kollmann 1997). Potējumu nesaderības mehānisms vēl aizvien nav līdz galam izpētīts, lai gan ir izvirzītas dažādas hipotēzes par iemesliem, kas ietekmē potējuma saugšanu – iedzimta šūnu saderība, plazmodesmu veidošanās, vadaudu veidošanās starp potējuma partneriem un augšanas regulatoru un peroksidāzes klātbūtne (Pina, Errea 2005). Zinātnieki izmanto dažādas metodes, lai noteiktu potējumu agrīnu nesaderību – *in vitro* metodes (Errea et al. 2001), anatomiskos pētījumus (Ermel et al. 1999), izoenzīmu (peroksidāzes, katalāzes aktivitāte) analīzes (Fernandez-Garcia et al. 2004)

un fenolu analīzes (Musacchi et al. 2000; Usenik et al. 2006). Atšķirībā no lakstaugu potējumiem, kokaugiem nesaderīgs potējums var augt vairākus gadus, ārēji neparādot nekādas nesaderības pazīmes un izveidojot funkcionālu vadaudu saistību nesaderīgā potējumā (Hartmann et al. 2002). Prakse ir pierādījusi, ka Smirnova rododendru (*Rh. smirnowii*) hibrīdi, kuri potēti uz Katavbas (*Rh. catawbiense*) vai Pontijas (*Rh. ponticum* L.) rododendru potcelmiem, ar laiku potējuma vietā nolūst (Kondratovičs 1978). Nesaderīgu potējumu gadījumā anatomiskie pētījumi parāda netipisku struktūru attīstību potējuma vietā – vāji izveidotu vai mazdiferencētu vadaudu sistēmu, kambija un vadaudu pārtraukumu potējuma savienojuma vietā (Errea et al. 1994; Hartmann et al. 2002), lūksnes atmiršanu (Herrero 1951), kas ir par iemeslu mehāniski neizturīgam potējumam un turpmākam potējuma partneru atdalīšanās procesam (Errea et al. 2001; Hartmann et al. 2002).

Potēšanas kvalitāte. Potcelma un potzara kambija slāņiem ir jābūt precīzi savienotiem, tā lai varētu izveidoties nepārtraukts kambija slānis starp potējuma partneru kambijiem (Hartmann et al. 2002). Potējuma vietai jābūt labi nostiprinātai tā, lai potējuma partneri būtu cieši savienoti (Kondratovičs 1978). Potēšana jāveic ātri un precīzi, tādējādi nodrošinot potējumu partneru griezumam virsmas neiekalšanu un griezumam virsmas tīrību (McMillan Browse 1983).

Potēšanas laiks. Viedokļi par optimālo laiku mūžzaļo rododendru potēšanai ir atšķirīgi. Par piemērotāko laiku uzskata ziemu un pavasari, no janvāra līdz martam beigām (Macdonald 2002). Pastāv arī viedoklis, ka potēt var sākt jau no rudens – oktobra mēneša (Nawrocka-Grzeškowiak 2004b) vai pat vēl ātrāk – vasaras beigās no augusta vidus līdz septembra vidum, izmantojot kārtējā gada dzinumus, kuri jau beiguši augt (Kondratovičs 1993). Potēšanu uz neapsakņotiem dzinumiem spraudņiem iesaka veikt septembrī vai oktobra sākumā (Peek 1986).

Lai potējumi sekmīgi saaugtu, tiem ir jānodrošina noteikts temperatūras un mitruma režīms.

Mitrums. Ūdens daudzums tieši ietekmē potējuma partneru spēju veidot kallusu. Ja gaisa mitruma daudzums samazinās zem piesātinājuma, tad notiek kallusa attīstības inhibēšana (Hartmann et al. 2002), tāpēc rododendru potējumiem nepieciešamos mitruma apstākļus nodrošina, gatavos potējumus novietojot siltumkastē, kuru pārklāj ar stikla rāmjiem vai polietilēna plēvi (Kondratovičs 1993), vai arī katru potēto augu ievietojot polietilēna maisiņā, kuru apakšējā daļā (zem potējuma) nosien (Kondratovičs 1978).

Temperatūra. Pēc potēšanas substrātā, kurā atrodas potcelma saknes, temperatūrai jābūt 18 – 20 °C, bet gaisa temperatūras svārstības pieļaujamas robežās no 20 līdz 22 °C. Tā ir optimālā temperatūra, kas nodrošina labu potcelma un potzara saaugšanu. Ja gaisa temperatūra paaugstinās, tad var notikt auga izsušana – sāk nobrūnēt potzaru lapu kātu pamatne, vēlāk arī viss kāts un lapa, kā rezultātā lapas nobirst un potzars atmirst (Kondratovičs 1993).

Zināms, ka potējuma kvalitāte būtiski ietekmē potējuma sekmīgu saaugšanu. Praksē ar potējuma kvalitāti parasti saprot precīzu potējuma partneru kambija slāņu savienošānu un potējuma vietas nostiprināšanu, taču aktuāls ir jautājums – cik liels ir pieļaujamais attālums starp potējuma partneriem, lai notiktu sekmīga potējuma saaugšana.

1.3. Mūžzaļā rododendra viengadīga dzinuma anatomiskā uzbūve

Mūžzaļo rododendru viengadīgu dzinumu veido segaudi, miza, lūksne, kambijs, koksne, serde (Strzelecka 2007). Epiderma (primārie segaudi) augu attīstības sākumā sedz visas auga daļas – lapas, stumbru, sakni, izņemot saknes uznavu un augšanas konusu (Bumbura et al. 1967). Galvenās epidermas funkcijas ir audu aizsardzība no pārmērīgas transpirācijas, krasām temperatūras maiņām un sīkiem mehāniskiem bojājumiem, aizsardzība pret mikroorganismiem un kukaiņiem, kā arī gāzu maiņas nodrošināšana starp augu audiem un vidi (Beck 2005). Mūžzaļajiem rododendriem epidermas šūnas vienmēr ir sakārtotas cieši cita pie citas bez starpsūnu telpām. Šķērsgriezumā šūnu forma ieapaļa (Jeremin, Boiko 1998). Epidermas šūnas izdala kutīnu, kas uz šūnas virsmas veido slāni – kutikulu (Strzelecka 2007). Kutikulas sastāvā ietilpst kutīns, augu vasks, celuloze un pektīnvielas (Evert 2006). Daļai mūžzaļo rododendru sugu viengadīgajiem dzinumiem raksturīgi epidermas izaugumi – matiņi (Jeremin, Boiko 1998), piemēram, Smirnova rododendram (*Rh. smirnowii* Trautv.) (Tezgül Çakir et al. 2005).

Primāros segaudus – epidermu vēlāk nomaina sekundārie segaudi – periderma. Parasti tā veidojas pirmajā vai otrajā dzinuma attīstības gadā (Jeremin, Boiko 1998), taču zeltainajam rododendram (*Rh. aureum* Georgi) periderma izveidojas tikai trešajā gadā (Medvedeva 1958).

Periderma raksturīga kokaugiem un tā sastāv no:

- fellogēna (korķa kambija);
- fellodermas (korķa mizas);
- fellēmas (korķa kārtas) (Rudall 2007).

Fellogēns ir sekundārā meristēma, kas veidojas subepidermālajā slānī, retāk epidermā, dažkārt mizas dziļākajos slāņos vai arī no lūksnes parenhīmas (Fahn 1990). Mūžzaļajiem rododendriem periderma parasti veidojas lūksnē zem lūksnes šķiedru gredzena (Jeremin, Boiko 1998). Fellogēnam periklināli daloties uz stumbra centru veidojas felloderma, bet uz stumbra perifēriju – fellēma (Dickison 2000). Fellodermu veido dzīvas, parenhimatiskas šūnas, kas ir sakārtotas radiālās rindās, atšķirībā no mizas parenhīmas šūnām, kuras sakārtotas irdeni ar lielām starpšūnu telpām (Evert 2006). Savukārt fellēmu veido radiālās rindās sakārtotas, nedzīvas šūnas, jo šūnu dzīvais saturs ātri atmirst un to dobumus piepilda gaiss. Šūnapvalkos uzkrājas suberīns, kas tos padara gaisa un ūdens necaurīdīgus. Tieši fellēma pasargā augu no pārmērīgiem ūdens zudumiem, no fitopatogēnu iekļūšanas augā un no mehāniskiem bojājumiem (Fahn 1990).

Augu ievainojumu vietās veidojas rētu periderma. Rētu periderma pēc veidošanās un augšanas rakstura ir līdzīga peridermai. Tā arī sastāv no fellogēna, fellodermas un fellēmas (Fahn 1990). Rētu periderma attīstās no dzīvajiem audiem, kas atrodas zem nekrotisko šūnu slāņa. Rētu peridermas funkcija ir pasargāt augu no parazītisko organismu iekļūšanas augā caur ievainojuma vietām (Evert 2006).

Miza ir stumbra daļa, kas atrodas starp epidermu un lūksni (Fahn 1990). Pētījumos par Smirnova rododendru (*Rh. smirnovii*) konstatēts, ka pirmie 3–4 mizas šūnu slāņi izvietoti zem epidermas un tos veido blīvi sakārtotas šūnas bez starpšūnu telpām. Tālāk seko lielas, irdeni sakārtotas parenhīmas šūnas ar plašām starpšūnu telpām. Šūnās satopami kalcija oksalāta kristāli – drūzas (Tezgül Çakir et al. 2005).

Lūksnes uzbūvi var raksturot pēc dažādiem kritērijiem:

- pēc izcelšanās izšķir primāro un sekundāro lūksni (Fahn 1990);
- pēc funkcijām izšķir cieto (lūksnes šķiedras) un mīksto lūksni (sietstobri, pavadītājšūnas un lūksnes parenhīma) (Bumbura et al. 1967);
- pēc novietojuma izšķir vertikālo sistēmu (sietstobri, pavadītājšūnas, lūksnes parenhīma un lūksnes šķiedras) un horizontālo sistēmu (lūksnes staru parenhīma) (Beck 2005).

Mūžzaļo rododendru lūksni veido sietstobri, pavadītājšūnas, lūksnes

parenhīma un lūksnes šķiedras (Jeremin, Boiko 1998). Sietstobri ir prozenhimatisku šūnu (sietstobru posmu) rindas, kuras savstarpēji savienotas ar sietplātnītēm, savukārt pavadītājšūnas ir specializētas parenhīmas šūnas, kuras ir ontogēnētiski un fizioloģiski saistītas ar sietstobru posmiem (Fahn 1990). Sietstobru posmu un pavadītājšūnu komplekss nodrošina asimilātu plūsmu no lapām uz asimilējošiem centriem augā (Lalonde et al. 2003). Lūksnes parenhīmu veido dzīvas izodiametriskas šūnas, kuras aizpilda telpu starp pārējiem lūksnes elementiem. To funkcija ir rezerves barības vielu uzkrāšana. Parenhīmā var uzkrāties lipīdi, ciete u. c. vielas (Fahn 1990). Lūksnes šķiedras (sklarenhīmas šķiedras) ir mehāniskie audi, kuru šūnas ir nedzīvas, ar uzbiezītiem un pārkoksnētiem šūnapvalkiem (Beck 2005). Rododendriem var būt gan pārtraukts, gan nepārtraukts sklarenhīmas gredzens. Lūksnes stari, kuri atrodas lūksnes slānī, var būt vienrindu vai vairākrindu (Jeremin, Boiko 1998).

Stumbra attīstības laikā no prokambija veidojas sekundārie veidotājaudi – kambijs (Fahn 1990), ko veido plāns šūnu slānis (Kitin et al. 2000). Kambija šūnām daloties virzienā uz perifēriju veidojas sekundārā lūksne, bet uz centru – sekundārā koksne (Larson 1994). Mūžzaļo rododendru viengadīgam dzinumam kambija darbības rezultātā sekundārā koksne veidojas biežākā slānī nekā sekundārā lūksne (Tezgül Çakir et al. 2005).

Rododendriem raksturīga difūzā koksne, kura sastāv no trahejām, traheīdām, šķiedrveida traheīdām, koksnes šķiedrām (libriforms) un koksnes parenhīmas šūnām (Merev, Yavuz 2000). Trahejas sastāv no atsevišķiem posmiem, kas savstarpēji savienoti ar perforācijām, veidojot tievus, garus kapilārus, kuri veic ūdens un tajā izšķīdušo vielu transportu. Pieaugušu traheju posmi ir nedzīvi, tiem ir lignificēti šūnapvalki ar sekundāriem uzbiezījumiem un porām (Dickison 2000). Rododendru trahejām raksturīgi īsi posmi ar spirāliskiem uzbiezījumiem, kas parasti savienoti ar kāpņveida perforācijām (Terzioğlu et al. 2001). Pontijas rododendram (*Rh. ponticum*) ir 191–553–802 μm gari traheju posmi, Kaukāza rododendram (*Rh. caucasicum* Pallas) 175–326–580 μm, bet Smirnova rododendram (*Rh. smirnovii*) 252–490–756 μm (Merev, Yavuz 2000). Katra traheīda ir viena nedzīva šūna ar lignificētu šūnapvalku, ar porām un bez perforācijām (Fahn 1990). Pontijas rododendram (*Rh. ponticum*) vidējais traheīdu garums ir 511 μm, Kaukāza rododendram (*Rh. caucasicum*) – 318 μm, bet Smirnova rododendram (*Rh. smirnovii*) – 459 μm (Merev, Yavuz 2000). Traheīdas augos parasti pilda divas funkcijas – ūdens un tajā izšķīdušo vielu transportu, kā arī mehānisko funkciju (Bumbura et al. 1967). Koksnes šķiedru

jeb libriforma šūnas ir garas šūnas ar relatīvi nelielu diametru, biezu šūnapvalku un ar smailu galu (Beck 2005). Koksnes parenhīma rododendriem ir difūzi apotraheāla (Merev, Yavuz 2000) (koksnes parenhīma nav cieši saistītas ar trahejām un gadskārtā izvietotas izklaidus (Beck 2005)). Koksnē izvietoti arī stari, kurus veido dzīvas parenhimatiskas šūnas. Rododendriem ir raksturīgi vienrindas un vairākrindu heterogēni stari, kuros nav konstatēti kalcija oksalāta kristāli (Merev, Yavuz 2000).

Stumbra centrālo daļu sauc par serdi. To veido lielas, irdeni sakārtotas parenhimatiskas šūnas. Serdes parenhīmas šūnās var uzkrāties rezerves barības vielas (Fahn 1990).

1.4. Spraudēju rizoģenēzes anatomiski fizioloģiskais raksturojums

1.4.1. Adventīvo sakņu veidošanās

Rizoģenēzes procesa histoloģisko izpēti veic tādēļ, lai:

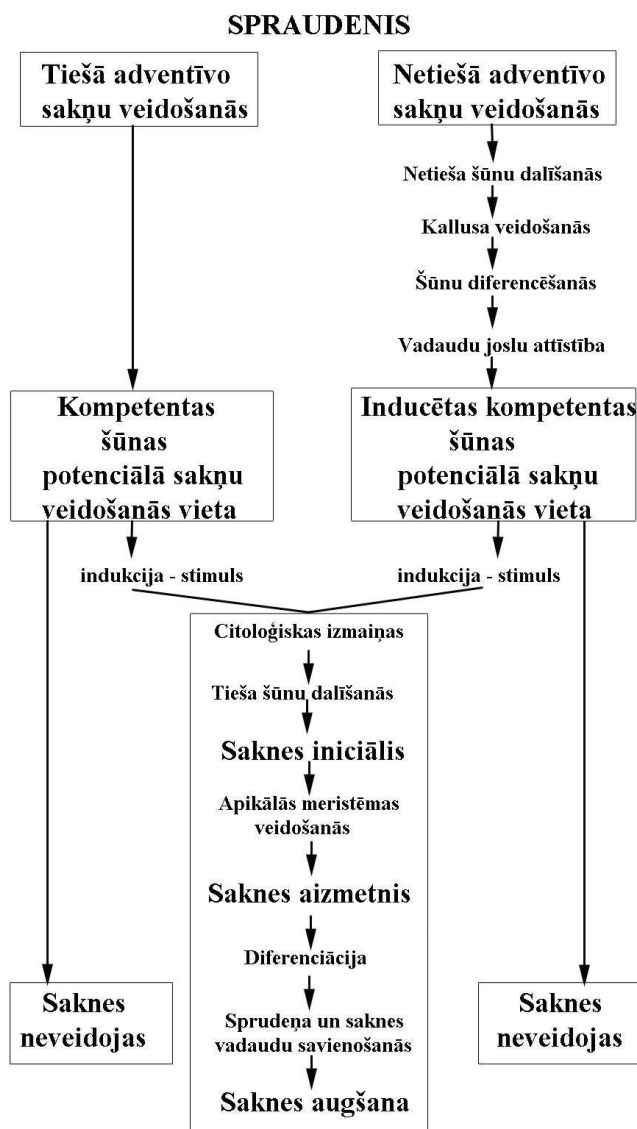
- noteiktu šūnas / audus, no kuriem veidojas adventīvās saknes (šūnas, kuras spēj reaģēt uz auksīnu vai citiem indukcijas signāliem);
- noskaidrotu, vai jau eksistē latentās adventīvās saknes (latentās (dabīgās) adventīvās saknes attīstās stumbrā un saglabājas latentā stāvoklī līdz brīdim, kad no stumbra pagatavo spraudeni un to ievieto sakņu tālākai attīstībai labvēlīgos apstākļos (Hartmann et al. 2002)) vai arī nepieciešama adventīvo sakņu veidošanās stimulācija (Altamura 1996);
- noteiktu, vai rizoģenēze ir saistīta ar dažādu stumbra anatomisko struktūru klātbūtni vai iztrūkumu (sklerenhīmas gredzens);
- sakārtotu vienotā sistēmā anatomiskos adventīvo sakņu veidošanās posmus ar fizioloģiskām un bioķīmiskām izmaiņām rizoģenēzes procesā (Altamura 1996).

Augu veģetatīvā pavairošana ar spraudņiem balstās uz augu reģenerācijas spēju, t.i., spēju veidot adventīvās saknes (par adventīvajām saknēm sauc saknes, kuras veidojas no vasas, atšķirībā no sakņu attīstības ontogēnēzē). Izšķir tiešo un netiešo adventīvo sakņu veidošanos (Hartmann et al. 2002) (2. attēls).

Vieglī apsakņojamiem augiem parasti novērojama tiešā rizoģenēze, bet grūti apsakņojamiem augiem – netiešā rizoģenēze (Hamann 1998), taču arī grūti

apsakņojamiem augiem adventīvās saknes var veidoties tiešajā rizoģenēzes procesā (Altamura 1996).

Tiešās apsakņošanās procesā saknes veidojas no stumbra šūnām, kuras atrodas vadaudu sistēmas tuvumā. Dažām augu sugām tā notiek spontāni, citām vajadzīga apstrāde ar augšanas regulatoru (Hartmann et al. 2002) (2. attēls).



2. attēls. Adventīvo sakņu tiešās un netiešās veidošanās shēma (Hartmann et al. 2002).

Netiešās apsakņošanās procesā saknes veidošanās starpposms ir kalluss (Grönroos, von Arnold 1987) (2. attēls). Adventīvās saknes var veidoties no iekšējā vai ārējā kallusa (Hartmann et al. 2002). Iekšējais kalluss (Lovell, White 1986; Altamura 1996) veidojas, daloties kambija šūnām un izveidojot šūnu slāni uz lūksnes

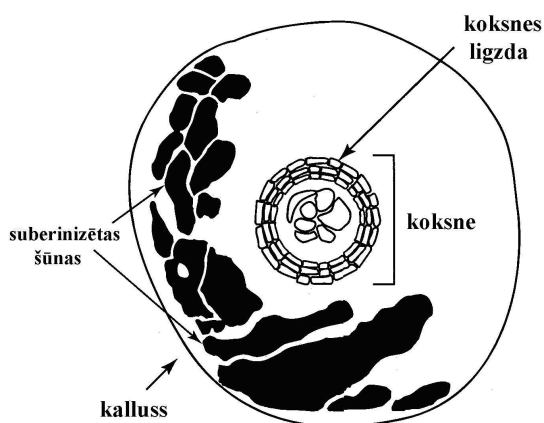
pusi. Pēc tam no kallusa šūnām veidojas saknes meristemoīdi, no kuriem daļa tālākajā attīstības gaitā kļūst par adventīvajām saknēm (Zhou et al. 1992; Altamura 1996).

Ārējā kallusa veidošanās ir raksturīga daudziem kokaugiem, tāpēc tā ir daudz pētīta, kā rezultātā izveidojušies dažādi šī procesa iedalījumi. Piemēram, Hamanns (Hamann 1998), pētot *Pinus taeda* L. spraudeņu rizoģenēzi, izveidoja šādu iedalījumu:

- kallusa veidošanās spraudeņa pamatnē;
- peridermas un ievainojuma vadaudu veidošanās kallusā;
- saknes iniciāļa veidošanās ievainojuma kambija un lūksnes tuvumā;
- saknes meristēmas veidošanās.

Kallusa šūnas var veidoties no stumbra mizas parenhīmas šūnām, kambija vai serdes (Hartmann et al. 2002). Sākumā kallusu veido tikai parenhīmas šūnas, bet, tā šūnām diferencējoties, veidojas ne tikai sakņu iniciāļi, bet arī ievainojuma vadaudi, ievainojuma kambijs un periderma. Ievainojuma kambijs kallusā veidojas puslodes veidā apkārt spraudeņa pamatnei, un tā darbības rezultātā veidojas koksne un lūksne. Savukārt kallusa ārējā esošās šūnas veido peridermu – vispirms fellogēnu, pēc tam arī fellēmu un fellodermu (Hamann 1998).

Pie koksnes vadaudu attīstības kallusā pieskaita arī koksnes ligzdu izveidošanos (Lund et al. 1996), kuras literatūrā tiek sauktas arī par „kallusa koksni”, „koksnes vadaudu ligzdām” (Davies et al. 1982) jeb „traheīdu ligzdām” skuju kokiem (Grönroos, von Arnold 1985) (3. attēls).



3. attēls. Koksnes ligzdas veidošanās kallusā *Ficus pumila* L. spraudeņiem (Hartmann et al. 2002).

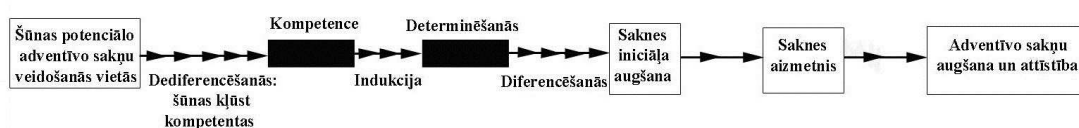
Uzskata, ka koksnes ligzdas ir saistītas ar adventīvo sakņu veidošanos. Pētījumos ar *Pinus sylvestris* L. spraudņiem konstatēta adventīvo sakņu attīstību no traheīdu ligzdām (Grönroos, von Arnold 1985), bet *P. taeda*. spraudņiem novēroja adventīvo sakņu veidošanos traheīdu ligzdu tuvumā, bet ne no tām (Hamann 1998).

1.4.2. Rizogēnēzes anatomiskie posmi

Rizogēnēzes pētījumu rezultātā ir izveidojušies dažādi rizogēnēzes posmu iedalījuma tipi, taču populārākais no tiem izšķir četrus adventīvo sakņu veidošanās posmus:

- audu dediferencēšanās;
- sakņu iniciāļu veidošanās no noteiktām šūnām, kuras atrodas vadaudu tuvumā un dediferenciācijas rezultātā kļuvušas meristematiskas;
- sakņu iniciāļu attīstība par sakņu aizmetņiem;
- sakņu aizmetņu augšana un attīstība (Hartmann et al. 2002).

Audu dediferencēšanās. Dediferenciācija ir šūnu spēja atjaunot meristematisko aktivitāti. Pastāv būtiska atšķirība starp šūnām, kuras spēj veidot sakņu iniciāļus un tām, kuras to nespēj (Wilson 1994). Šūnām, no kurām potenciāli veidosies adventīvās saknes, ir jāklūst kompetentām, lai spētu reaģēt uz ķīmisku / metabolisku signālu, kas inducēs turpmāko diferencēšanos un adventīvo sakņu attīstību (Hartmann et al. 2002) (4. attēls).



4. attēls. Adventīvo sakņu organoģenēzes fāzes (Hartmann et al. 2002).

Sakņu iniciāļu veidošanās. Precīzas adventīvo sakņu veidošanās vietas jau gadsimtiem ilgi interesē augu anatomijas pētniekus. Pirmo pētījumu par adventīvo sakņu izcelsmi 1758. gadā veica franču dendrologs Duhamel du Monceau (Hartmann et al. 2002). Kopš tā laika veikti daudzi pētījumi par šo jautājumu un konstatētas dažādas adventīvo sakņu veidošanās vietas (1. tabula).

Adventīvo sakņu veidošanās vietas kokaugu spraudņiem

Veidošanās vieta	Ģints, suga
Kambijs un tā atvasinājumi	<i>Malus potcelmi</i> M26 (Zhou et al. 1992) <i>Juglans regia</i> L. (Falasca et al. 2000) <i>Gardenia jasminoides</i> Ellis (Hatzilazarou et al. 2006)
Lūksne kambija tuvumā	<i>Malus potcelmi</i> MM106 (Naija et al. 2008)
Lūksnes parenhīma	<i>Malus domestica</i> Borkh. 'Gala' (Harbage et al. 1993)
Lūksnes staru šūnas	<i>Hedera helix</i> L. (Girouard 1967) <i>Ficus pumila</i> L. (Davies et al. 1982)
Koksnes parenhīma	<i>Pinus taeda</i> L. hipokotilu spraudņi (Greenwood, Weir 1994)
Iekšējais kalluss	<i>Olea europaea</i> L. (Altamura 1996)
Ārējais kalluss	<i>Pinus strobus</i> L. epikotilu spraudņi bez apstrādes ar eksogēno augsni (Goldfarb et al. 1998) <i>Pinus taeda</i> L. 1–2 gadīgu sējeņu spraudņi (Greenwood, Weir 1994)
Sveķu ailes ārmala	<i>Pinus contorta</i> Dougl. ex Loud. (Grönroos, von Arnold 1987)

Par adventīvās saknes iniciāciju tiek uzskatīta saknes iniciāļa veidošanās, kuru histoloģiski var raksturot kā šūnu grupu, kas sastāv no 5–20 radiāli simetriskām šūnām ar blīvu citoplazmu vai izteiktu kodolu (Blakesley et al. 1991). Literatūrā lieto arī terminu „saknes meristemoīds”, kuru definē kā lokalizētu meristemātisku audu grupu, kura veidojas šūnu periklinālās un antiklinālās dalīšanās rezultātā (Bonnett, Torrey 1966) vai arī kā mazu šūnu grupu, kura aug, šūnām sinhroni daloties (dalīšanās notiek tangenciāli attiecībā pret šūnu grupas centru) (Altamura 1996).

Sakņu iniciāļu attīstība par sakņu aizmetņiem un to augšana un attīstība. Pāreju no adventīvo sakņu iniciāļa uz sakņu aizmetni anatomiski ir grūti noteikt. Par saknes aizmetni sāk uzskatīt saknes iniciāli, kad tam ir izveidojies tipisks saknes aizmetnim raksturīgs izliekums (velve, kupols) (Ballester et al. 1999) vai arī, kad ir

izveidojušās tam raksturīgās sakārtotās šūnu grupas un protoderma (Blakesley et al. 1991) un tas ir šķērsojis sklerenhīmas gredzenu, sasniedzot mizu (Ballester et al. 1999). Sklerenhīmas gredzena šķērsošanai ir būtiska nozīme adventīvo sakņu attīstībā. Grūti apsakņojamo augu stumbru lūksnē var būt izveidojies nepārtraukts sklerenhīmas gredzens, bet viegli apsakņojamiem augiem tas ir pārtraukts vai ir tikai atsevišķas sklerenhīmas šūnu grupas (Hartmann et al. 2002). Pastāv hipotēze, ka nepārtraukts mehānisko audu slānis var darboties kā mehāniska barjera adventīvo sakņu augšanai (Edwards, Thomas 1980). To apstiprina dažādi pētījumi par sakņu aizmetņiem, kas augot saliecas taisnā leņķī, lai varētu šķērsot sklerenhīmas gredzenu tā pārtraukuma vietās (Amisshah et al. 2008) vai arī aug uz spraudeņa pamatni, nevis šķērsu mizu, tas ir, aug gar sklerenhīmas gredzena iekšpusi (Reaño 1940). Pētījumos par adventīvo sakņu veidošanos jauniem un nobriedušiem *Ficus pumila* L. vienpumpura spraudeņiem konstatēja, ka apsakņošanas neietekmē sklerenhīmas gredzena esamību (Davies et al. 1982).

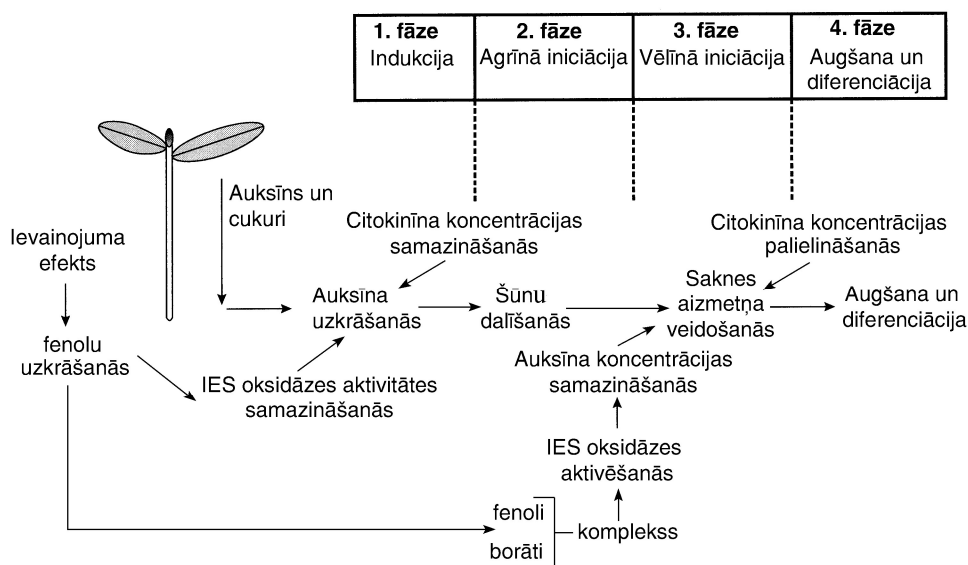
Pēc sklerenhīmas gredzena šķērsošanas saknes aizmetnis aug caur mizu. Šajā laikā notiek saknes aizmetņa anatomiskā attīstība – saknes aizmetņa apikālajā meristēmā var sākt izšķirt prokambiju un pamatmeristēmu, veidojas saknes uzmava (2 vai 3 šūnu slāņi) un vadaudi (sakārtoti perpendikulāri stumbra vadaudiem), kas tālākā attīstības gaitā savienojas ar spraudeņa vadaudiem, izveidojot kopīgu vadaudu sistēmu. Saknes aizmetnim turpinot augt, tas pārplēš epidermu un sāk funkcionēt kā patstāvīga sakne (Ballester et al. 1999).

Literatūrā pieejamā informācija un prakses liecina, ka rododendru spraudeņu apsakņošanās laiks ir 2–4 mēneši (Holt et al. 1998). Šādā laika posmā adventīvo sakņu veidošanās var notikt gan tiešā, gan netiešā rizoģenēzē, taču nav atrodams datu analīzei pietiekams anatomisko pētījumu daudzums par spraudeņu adventīvo sakņu iniciāļu veidošanos.

1.4.3. Fizioloģiskie procesi spraudeņos kā rizoģenēzes raksturotāji

Rizoģenēze ir intensīvi pētīts process, kā rezultātā ir izveidoti dažādi šī procesa iedalījumi, kas savstarpēji saista bioķīmisko un anatomisko pētījumu rezultātus.

Jarvis (1986) rizoģenēzes procesu iedala četrās fāzēs – indukcijas fāze, agrīnās iniciācijas fāze, vēlinās iniciācijas fāze un augšanas un diferenciacijas fāze (5. attēls).



5. attēls. Hipotētiska spraudņu rizoģenēzes shēma (Jarvis 1986).

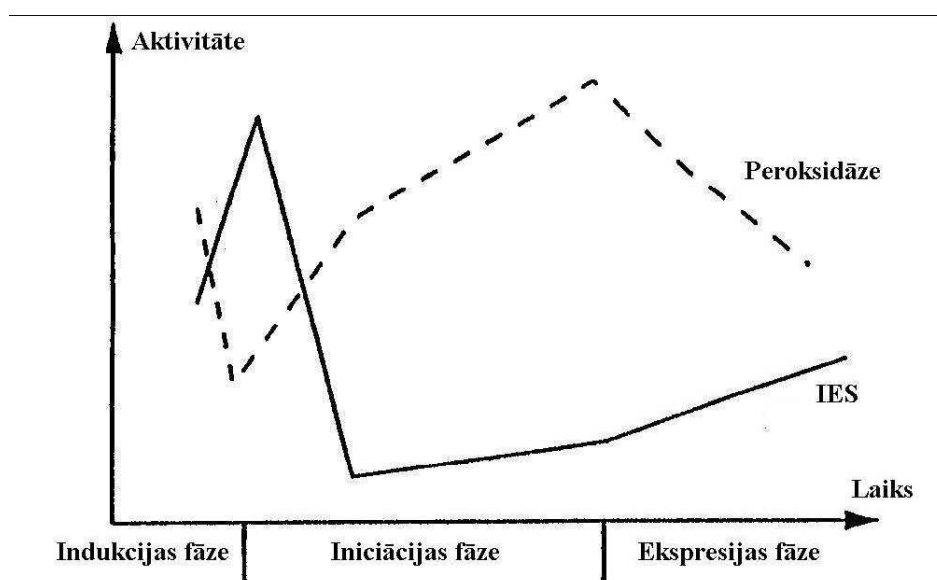
Indukcijas fāzē spraudņa pamatnē notiek endogēnā aukstina strauja uzkrāšanās. Tas saistīts ar endogēnā aukstina plūsmu uz ievainojuma vietu un indoliletīkskābes (IES) oksidāzes aktivitātes samazināšanos fenolu savienojumu ietekmē. Šīs fāzes procesus inhibē etilēns. Agrīnajā iniciācijas fāzē notiek šūnu dalīšanās, bet vēlinajā iniciācijas fāzē – sakņu aizmetņu veidošanās. Iniciācijas fāzēs veidojoties fenolu un borātu kompleksam tiek inaktivēti fenoli, kas kontrolē IES oksidāzes aktivitāti. Tā rezultātā pieaug IES oksidāzes aktivitāte, tādēļ samazinās aukstina koncentrācija. Giberlīnu vai citokinīnu pievienošana augstās koncentrācijās inhibē agrīnās iniciācijas fāzes procesus, bet augstās abscizskābes koncentrācijas tos veicina. Vēlinās iniciācijas fāzes procesus, savukārt, veicina etilēna pievienošana, bet kavē borātu trūkums vai augstās aukstina koncentrācijas. Adventīvo sakņu augšana un attīstība notiek augšanas un diferenciacijas fāzē (Hartmann et al. 2002).

Cits rizoģenēzes modelis saista vienotā sistēmā peroksidāzes aktivitāti, brīvā endogēnā aukstina daudzumu un anatomiskās izmaiņas (Gaspar et al. 1994).

Augu peroksidāze (H_2O_2 oksidoreduktāze E.C.: 1.11.1.7) ir hēmu saturošs ferments, kas oksidē dažādus bioloģiskos substrātus (Dawson 1988) un tās aktivitāti var novērot visu auga dzīves laiku – no dīģšanas līdz novecošanai (Passardi et al. 2005). Peroksidāze piedalās dažādos fizioloģiskajos procesos: aukstina metabolismā

(Gaspar et al. 1994; Passardi et al. 2005), lignīna (Lewis, Yamamoto 1990) un suberīna biosintēzē (Keren-Keiserman et al. 2004), augu aizsardzības reakcijās pret patogēniem (Passardi et al. 2005), ievainojuma reakcijās (Minibayeva et al. 2009) un citos procesos.

Peroksidāzes aktivitātes izmaiņas rizoģenēzes laikā var izmantot kā marķieri, lai sadalītu šo procesu vairākās fāzēs – indukcijas, iniciācijas un ekspresijas (Gaspar et al. 1992). Peroksidāze iesaistās IES katabolisma regulācijā, tāpēc fermenta aktivitātes un brīvās endogēnās IES daudzuma izmaiņas bieži pēta kopējā sistēmā (Gaspar et al. 1997) (6. attēls).

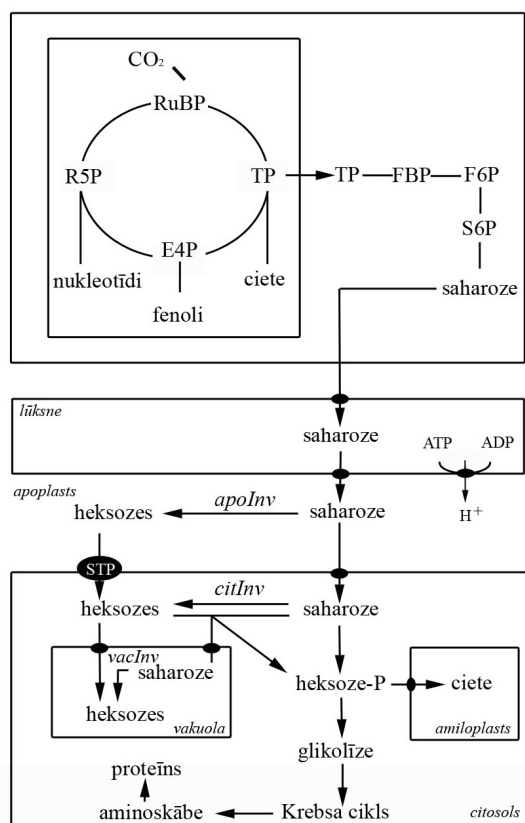


6. attēls. Peroksidāzes aktivitātes un brīvās endogēnās IES daudzuma izmaiņas rizoģenēzes procesā: indukcijas, iniciācijas un ekspresijas fāzē (Gaspar et al. 1997).

Indukcijas fāzē notiek brīvās endogēnās IES daudzuma palielināšanās un peroksidāzes aktivitātes strauja samazināšanās, šajā fāzē nav novērojamas histoloģiskas izmaiņas. Fāzes nobeigumā peroksidāzes aktivitāte samazinās līdz minimumam. Iniciācijas fāzē notiek šūnu dediferencēšanās un dalīšanās. Tās laikā brīvās, endogēnās IES koncentrācija samazinās līdz minimumam, tad pakāpeniski sāk palielināties, bet peroksidāzes aktivitāte pieaug līdz maksimumam. Ekspresijas fāzē, kurā notiek adventīvo sakņu aizmetņu veidošanās un augšana, brīvās endogēnās IES saturs turpina palielināties, bet peroksidāzes aktivitātes līmenis krītas (Gaspar et al. 1994).

Ogļhidrāti rizoģenēzes procesā kalpo gan kā enerģijas avots, gan kā strukturāls komponents (Veierskov 1988). Pētījumi liecina, ka cukuri adventīvo sakņu veidošanos var ietekmēt tieši – inducējot, vai arī netieši, iespējams, aktivējot augsīna un etilēna biosintēzi vai transportu (Takahashi et al. 2003). Lai gan pētījumi par ogļhidrātu un adventīvo sakņu veidošanos turpinās jau daudzus gadu desmitus (Kraus, Kraybill 1918 citēts pēc Veierskov 1988), vēl aizvien nav precīzi zināmas ogļhidrātu funkcijas saistībā ar rizoģenēzes fāzēm (Klopotek et al. 2010). Ciete ir tipiska ogļhidrātu rezerves viela kokaugos (Kozlowski 1992) un to mēdz lieto kā indikatoru, lai raksturotu ogļhidrātu stāvokli tajos (Adams et al. 1986). Histoloģiskie pētījumi ar *Pinus radiata* D. Don liecina, ka spraudņu pagatavošanas laikā to šūnās gandrīz nav sastopami cietes uzkrājumi, izņemot dažas endodermas šūnas. Rizoģenēzes gaitā ciete sāk uzkrāties endodermā, serdes šūnās, ap sveķu ailēm un nedaudz arī mizā. Kad saknes aizmetnis ir izveidojies, cietes daudzums ir samazinājies gan serdē, gan saknes aizmetņa perifērijā, kaut gan daži cietes graudi vēl ir saistīti ar saknes aizmetni (Li, Leung 2000). Lai labāk raksturotu rizoģenēzes procesu *Petunia hybrida* cv. Mitchell spraudņiem, to iedalīja trīs fāzēs:

- atraģējošā centra izveidošanās fāze;
- atjaunošanās fāze;
- uzturēšanas fāze (Ahkami et al. 2009) (7. attēls).



7. attēls. Metabolisma procesu shēma rizoģenēzes laikā petūnijai (*Petunia hybrida* cv. Mitchell) (modificēts Ahkami et al. 2009).

Atrāģējošā centra izveidošanās fāzē ievainojums inducē gēnus, kas kodē fermentus, lai apoplastā saharozi pārvērstu heksozēs. Tās pa monosaharīdu transporta ceļu nonāk šūnās un tiek izmantotas kā enerģijas avots ievainojuma dzīšanas un šūnu dalīšanās procesiem. Ievainojuma dēļ izveidojies atrāģējošais centrs iztērē visas rezerves, bet atjaunošanās fāzē tās no jauna uzkrājas; šī fāze beidzas ar sakņu meristemoīdu veidošanos. Uzturēšanas fāzē notiek saharozes transports no lapām uz spraudņu pamatni, tajā saharozi izmanto kā enerģijas avotu, nodrošinot sakņu attīstību, vai arī pārveido par cieti (rezerves C avots), kuru pēc tam izmanto turpmākajā sakņu veidošanas procesā (Ahkami et al. 2009).

Optimāla rizoģenēzes fāzu bioķīmiskā marķiera atrašana mūžzaļo rododendru spraudņiem, ļautu izprast un risināt ar rizoģenēzi saistītās problēmas – sakņu iniciāļu un aizmetņu veidošanos, audu diferenciāciju tajos, vielu maiņas stabilizēšanos, normālu fizioloģisko funkciju atjaunošanos.

1.5. Potējumu saaugšanas anatomija

Anatomiski potējumu saaugšanas gaitu var iedalīt noteiktos posmos. Literatūrā pastāv dažādi šī procesa iedalījumi (Braun 1959; Moore 1984; Garner 1990), taču kopējo pārskatu ir izveidojis Hartmans (Hartmann et al. 2002):

- atbildes reakcija uz ievainojumu;
- kallusa tilta veidošanās;
- kambija un ievainojuma vadaudu veidošanās kallusa tiltā;
- jaunizveidotā kambija darbība – sekundārās koksnes un lūksnes veidošanās kallusa tiltā.

Nekrotiskais šūnu slānis veidojas, potējuma partneru saskarsmes vietā atmirstot ievainotajiem audiem. To veido šūnas, kuras tiek bojātas, pagatavojot potcelmu un potzaru (Hartmann et al. 2002). Potējuma saaugšanas gaitā tas pazūd (Stoddard, McCully 1980) vai paliek kallusa „kabatās” (Hartmann et al. 2002). Sākotnējo potējumu salipšanu var izskaidrot ar šūnapvalka materiālu uzkrāšanos un vēlāku polimerizāciju, kas notiek kā atbildes reakcija uz ievainojumu, un tā nav tieši atkarīga no potējumu saderības vai nesaderības (Moore 1984). Arī kallusa veidošanās ir atbildes reakcija uz ievainojumu, kas raksturīga gan saderīgiem, gan nesaderīgiem potējumiem (Moore, Walker 1981). Kallusa veidošanās notiek no potzara un potcelma dzīvām, nebojātām parenhīmas šūnām, kā arī no kambija un tā atvasinājumu šūnām (Hartmann et al. 2002). Anatomiskajos pētījumos par *P. sylvestris* un *Picea abies* L. potējumiem konstatēts, ka šūnu dalīšanās intensitāte dažādiem augu audiem ir atšķirīga (Dormling 1963) (2. tabula).

Ja potējuma partneri ir vienāda lieluma, tad potzars veido vairāk kallusa nekā potcelms (dabīgā polaritāte). Savukārt, ja potzars ir lielāks par potcelmu, tad potcelms veido lielāku kallusa masu (Hartmann et al. 2002).

Kallusa šūnas pakāpeniski aizpilda telpu starp potcelmu un potzaru, gala rezultātā izveidojot kallusa tiltu (Hartmann et al. 2002). Pētījumos ar *Picea sitchensis* (Bong.) Carr. noskaidrots, ka uz potcelma un potzara kallusa šūnu šūnapvalka veidojas lodveidīgi izaugumi. Tie ir 1–5 µm diametrā un sastāv no homogēnas masas (to veido pektīns, ogļhidrāti, proteīni, taukskābes) un šķiedrveida / vezikulārām iekšējām sastāvdaļām (veido galvenokārt ogļhidrāti un pektīns). Iespējams, ka šīs struktūras ne tikai nodrošina potējuma partneru kallusa šūnu salipšanu, bet arī piedalās šūnu atpazīšanas procesā, nodrošinot veiksmīgu audu saplūšanu (Miller, Barnett 1993b).

Šūnu dalīšanās intensitāte dažādos audos *Pinus sylvestris* L. un *Picea abies* L.
potējumos (Dormling 1963)

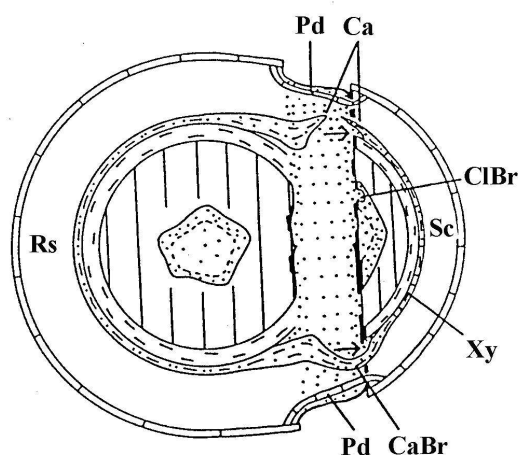
Audi	<i>Pinus sylvestris</i>	<i>Picea abies</i>
Periderma	–	–
Miza, pamataudi	+++	+++ ^a
Miza, sveķu ailes	++++	++++ ^a
Lūksne, stari	++++	++++ ^a
Lūksne, vertikālā parenhīma	++	++ ^a
Lūksne, pilnībā diferencējušies sietstobri	–	–
Kambija rajons, stari	+++	+++
Kambija stari, citas nediferencētas vai daļēji diferencētas šūnas	++	++
Koksne, stari	+	– (+)
Koksne, sveķu ailes	+	–
Koksne, pilnībā diferencējušās traheīdas	–	–
Serde, lapu un zaru žākles	++	–

a	Audus ietekmē lapu un zaru pēdas – palielinās šūnu dalīšanās aktivitāte
++++	Ļoti augsta šūnu dalīšanās intensitāte
+++	Augsta šūnu dalīšanās intensitāte
++	Šūnu dalīšanās intensitāte variē; <i>Pinus sylvestris</i> serdē, lapu un zaru žākles šūnu dalīšanās notiek agrīnā attīstības stadijā vai arī reizē ar šūnu dalīšanos apkārtējos audos
+	Dalīšanās var notikt mainīgam šūnu daudzumam, bet biežāk tā nenotiek
(+)	Gadījumos, kad potēšana veikta vēlu (potēšanas perioda beigās), jaunās koksnes staru šūnas var dalīties
–	Šūnu dalīšanās nenotiek

Līdzīgi arī citi autori (Moore 1983; Kollmann, Glockmann 1991) ir konstatējuši ārpusšūnas vielas (visticamāk pektīnvielas) uz potējuma partneru kallusu šūnu šūnapvalkiem, kas iesaistās primāro mehānisko kontaktu veidošanā starp tiem. Potējuma partneru kallusa šūnām saskaroties notiek plazmodesmu veidošanās, kas

nodrošina nepārtrauktu, simplastisku kontaktu starp tām (Jefree, Yeoman 1983; Kollmann et al. 1985; Hartmann et al. 2002).

Koksnes un lūksnes elementi, kā arī kambiji attīstās tieši no kallusa šūnām tām diferencējoties. Jaunais kambija slānis veidojas starp potējuma partneru kambijiem caur kallusa tiltu, līdz savieno potcelma un potzara kambijus (Hartmann et al. 2002) (8. attēls).



8. attēls. Potējuma saugšanas gaita *Populus* potējumiem. Rs – potcelms, Sc – potzars, Pd – rētu periderma, Ca – kambiji, kas attīstās potzara virzienā (bulta), CIBr – kallusa tilts, CaBr – kambija tilts, Xy – potzara koksnes veidošanās (modificēts Braun 1959).

Jaunizveidotajam kambijam piemīt tipiska kambiālā aktivitāte, kā rezultātā no tā sāk veidoties sekundārā koksne un sekundārā lūksne. Sekundāros vadaudus kambijs veido pēc nepārtrauktības principa – kambija radīto šūnu veids ir atkarīgs no tā, kādas šūnas atrodas blakus tam. Piemēram, jaunās koksnes staru šūnas veidojas tajās vietās, kurās kambijs saskaras ar potcelma koksnes stariem (Hartmann et al. 2002).

Literatūrā ir atrodama informācija par rododendru potēšanas dažādiem aspektiem, bet trūkst pētījumu par potējumu saugšanas anatomiju.

2. MATERIĀLS UN METODIKA

2.1. Izmantotās mūžzaļo rododendru šķirnes

Darbā izmantoto mūžzaļo rododendru šķirņu raksturojums.

‘Babītes Baltais’. Šķirni izveidojis Rihards Kondratovičs, krustojot šķirnes ‘Cunningham’s White’ un ‘Elisabeth’. Tā izdalīta 1983. gadā. Šīs šķirnes augi veido līdz 3 m augstus un 4 m platus, stāvi augošus krūmus. Zied maija beigās, jūnija sākumā ar baltiem ziediem. Uz augšējās vainaglapas zieda iekšpusē ir dzeltenzaļš lāsojums (punkti nesaplūst) (Kondratovičs 2005).

‘Catawbiense Grandiflorum’. Šķirni izaudzējis Antonijs Voterers (Anthony Waterer) (Albrecht, Sommer 1991). Šīs šķirnes rododendri veido līdz 4 m augstus un 1.5–2 m platus krūmus. Zied maija beigās, jūnija sākumā. Ziedi purpurvioleti, ar dzelteniem sarkanu lāsojumu (Leslie 2004).

‘Cunningham’s White’. Tā ir pazīstamākā Kaukāza rododendru hibrīdu grupas šķirne, ko 1850. gadā izaudzējis Džeimss Kaningems (James Cunningham). Par šīs šķirnes izcelsmi īstas skaidrības nav, jo selekcionārs nav izpaudis krustojuma vecākus. Vairums rododendru speciālistu uzskata, ka ‘Cunningham’s White’ ir Kaukāza rododendra (*Rh. caucasicum* Pall.) un Pontijas rododendra baltās formas (*Rhododendron ponticum* var *album* (Sweet) Zbl.) krustojums. Rododendru šķirne ‘Cunningham’s White’ ir mūžzaļš, līdz 2 m augsts krūms. Ziedi balti ar dzeltenu lāsojumu, zied agri. Ziemcietīgs, pieticīgs, piemērots audzēšanai blīvos, necirptos dzīvžogos. Šīs šķirnes spraudēni labi apsakņojas, tādēļ arī tos izmanto kā labāko potcelmu daudzām mūžzaļo rododendru šķirnēm (Kondratovičs 1978).

‘Ginta’. Šķirne iegūta no Katavbas rododendra (*Rh. catawbiense* Michx.) brīvās apputeksnēšanās sējeņiem. Tā izdalīta 1975. gadā. Šīs šķirnes rododendri veido līdz 2 m augstus un 2 m platus, kompakus krūmus. Zied maija beigās, jūnija pirmajā pusē ar rožainiem ziediem. Augšējai vainaglapai zieda iekšpusē neuzkrītošs ķieģeļsarkans lāsojums (Kondratovičs 2005).

‘Lavanda’. Šķirne iegūta no Katavbas rododendra (*Rh. catawbiense* Michx.) brīvās apputeksnēšanās sējeņiem. Tā izdalīta 1979. gadā. Šīs šķirnes rododendri veido līdz 2 m augstus, kompakus krūmus. Zied maija beigās, jūnija pirmajā pusē ar lavandas krāsas ziediem. Zieda iekšpusē uz augšējās vainaglapas dzeltens lāsojums (Kondratovičs 2005).

2.2. Mūžzaļo rododendru veģetatīvās pavairošanas metodes

Promocijas darba eksperimentus veica un to rezultātus analizēja Latvijas Universitātes Bioloģijas fakultātes Augu fizioloģijas katedrā, LU Rododendru selekcijas un izmēģinājumu audzētavā “Babīte” un LU Botāniskajā dārzā no 1997. gada līdz 2010. gadam. Mūžzaļos rododendrus veģetatīvi pavairoja, izmantojot LU Rododendru selekcijas un izmēģinājumu audzētavā “Babīte” un LU Botāniskajā dārzā izstrādātās metodes.

Rizoģenēzes anatomiskos pētījumus veica triju mūžzaļo rododendru šķirņu spraudņiem:

1. šķirnei ‘Cunningham’s White’:
 - kontroles un 1 % ISS apstrādes varianta dzinumumu spraudņiem – no 1997. līdz 2000. gadam;
 - 1 % ISS apstrādes varianta vienpumpura spraudņiem ar lapu – no 2003. līdz 2004. gadam;
2. šķirnei ‘Ginta’ 1 % ISS apstrādes varianta vienpumpura spraudņiem ar lapu – 2006. gadā;
3. šķirnei ‘Lavanda’ 1 % ISS apstrādes varianta vienpumpura spraudņiem ar lapu – 2008. gadā.

Bioķīmiskos (gvajakola peroksidāzes aktivitātes un cietes daudzuma noteikšanu) un rizoģenēzes pētījumus šķirnes ‘Babītes Baltais’ vienpumpura spraudņiem ar lapu variantos ar un bez ISS veica 2007. gadā.

Potējumu saaugšanas anatomiskos pētījumus šķirnes ‘Cunningham’s White’ potējumiem veica no 2001. līdz 2002. gadam.

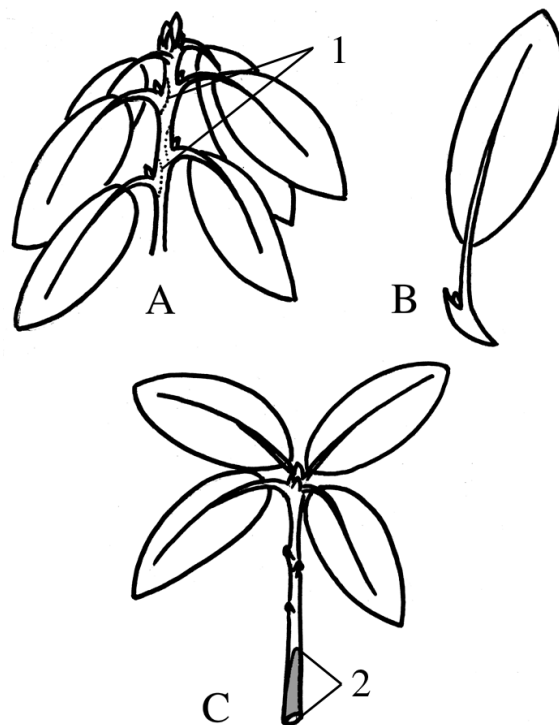
Anatomiskos pētījumus par potējumu saaugšanu un rizoģenēzi mūžzaļo rododendru ‘Cunningham’s White’ / ‘Catawbiense Grandiflorum’ potējumiem uz neapsakņotiem dzinuma spraudņiem veica no 2003. līdz 2004. gadam .

2.2.1. Pavairošana ar spraudņiem

Viena no mūžzaļo rododendru veģetatīvās pavairošanas metodēm ir pavairošana ar spraudņiem. Darba gaitā izmantoja divus spraudņu veidus:

- dzinumumu spraudņus;

- vienpumpura spraudeņus ar lapu (vienpumpura spraudeņi) (9. attēls).



9. attēls. Mūžzaļo rododendru spraudeņu veidi un to pagatavošana. A – rododendra dzinums, B – vienpumpura spraudenis ar lapu, C – dzinuma spraudenis; 1 – griezuma līnijas vienpumpura spraudeņu ar lapu iegūšanai, 2 – dzinuma spraudeņa pamatnes ievainojums (Kondratoviča 1981).

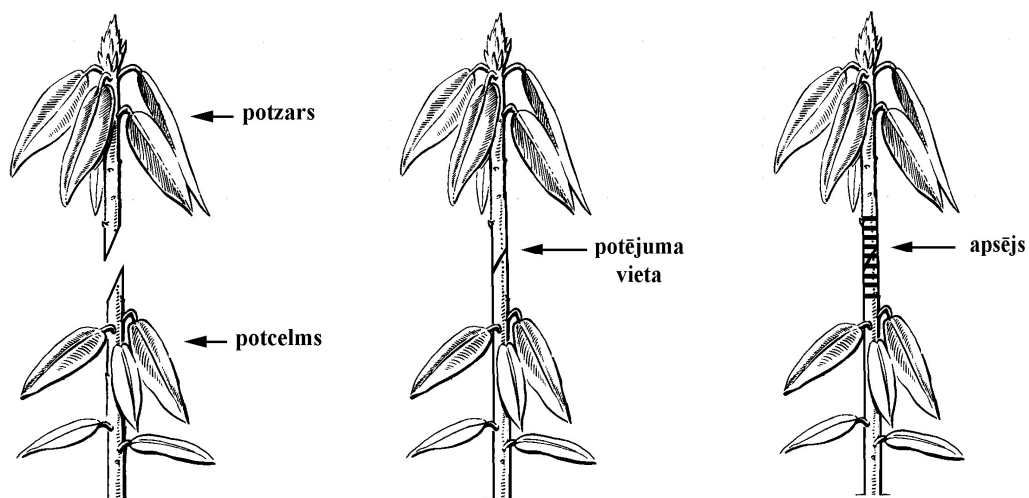
Mūžzaļo rododendru dzinumu spraudeņus ieguva no mātes augiem tieši pirms spraudeņošanas, izmantojot viengadīgus, nobriedušus dzinumus. To garums bija apmēram 10 cm. Spraudeņiem atstāja 4–5 galotnes lapas un to apakšējā daļā izdarīja 0.7–1.5 cm garu mizas griezumu līdz kambija slānim (9. C attēls). No viengadīgiem, nobriedušiem dzinumiem ieguva 3 vai 4 vienpumpura spraudeņus (9. A attēls). Tie sastāvēja no pieaugušas lapas ar paduses (sānu) pumpuru un 2–3 cm garu dzinuma fragmentu (no epidermas līdz serdei) (9. B attēls). Gan vienpumpura spraudeņiem, gan dzinumu spraudeņiem lapu plātnes saīsināja par 1/3, lai samazinātu transpirācijas virsmu. 1 % ISS apstrādes varianta spraudeņiem pirms spraudeņošanas griezuma vietu (dzinuma spraudeņiem) vai spraudeņa apakšējo trešdaļu (vienpumpura spraudeņiem) apstrādāja ar stimulatoru 1 % indolilsviestskābes (ISS) talka pulveri (ISS apstrādes variants jeb variants ar ISS), bet kontroles varianta spraudeņiem – ar talka pulveri (kontroles variants jeb variants bez ISS).

Mūžzaļo rododendru spraudeņus spraudeņoja plastmasas dēstu kastītēs (30 × 60 × 10 cm), kā substrātu izmantojot kūdras un pussatrūdējušu skuju maisījumu (pH 4.2), kuru pirms spraudeņošanas samitrināja. Katrā kastītē izvietoja 40 dzinuma spraudeņus vai 45 vienpumpura spraudeņus. Spraudeņošanas dziļums dzinuma spraudeņiem 2–3 cm, vienpumpura spraudeņiem 1–2 cm. Ap spraudeņus substrātu nedaudz sablīvēja – tā, lai viegli pavelkot aiz lapas/lapām, spraudeņi stingri turētos substrātā. Lai nodrošinātu spraudeņu izturību pret sēņu izraisītām slimībām, tos apsmidzināja ar fungicīda šķīdumu (0.2 % Ditāna M45 šķīdumu). Kastītes apvilka ar polietilēna plēvi un 1997./1998. gada eksperimentā novietoja – laboratorijas telpā istabas temperatūrā, dabīgā apgaismojumā, bet turpmākajos eksperimentos – audzēšanas telpā, spraudeņiem nodrošinot 23 °C temperatūru dienā un 20 °C naktī, ar 16 h ilgu fotoperiodu. Par normālu mitruma režīmu apsegtajās kastītēs liecināja ūdens kondensāta pilieni uz plēves iekšējās virsmas. Anatomisko preparātu pagatavošanai izmantoja 3–5 spraudeņus no katra pētāmā varianta.

2.2.2. Potēšana kopulējot

Mūžzaļos rododendrus potēja kopulējot (klasiskā potēšana) (10. attēls). Par potcelmiem izmantoja mūžzaļo rododendru šķirnes ‘Cunningham’s White’ apsakņotus spraudeņus, kurus pārstādīja atsevišķos podos un ievietoja audzēšanas telpā uz 2 nedēļām (18–20 °C), lai sagatavotu augus potēšanai (augi atsāka / turpināja augt). Par potzariem izmantoja šīs pašas šķirnes apmēram 10 cm garus viengadīgus dzinumus. Lai notiktu sekmīga potējumu saaugšana, potcelmam un potzaram jābūt vienāda diametra vai arī potcelms var būt mazliet resnāks.

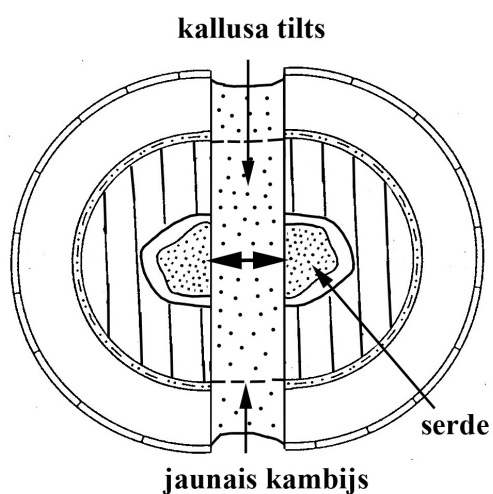
Kopulēšanas procesā gan potcelmam, gan potzaram izdarīja vienādi slīpus griezumus un savienoja tos tā, lai potējuma partneru kambija gredzeni novietotos viens pret otru. Pēc tam potējuma vietu nosēja ar elastīgu gumijas lenti, tā, lai nesaspīestu audus un nenobīdītu potzaru no potcelma (10. attēls).



10. attēls. Mūžzaļo rododendru potēšana kopulējot (Berg, Heft 1991).

Mitrumu potējumiem palīdzēja nodrošināt polietilēna maisiņi, kurus uzlika katram uzpotētajam augam. Augus ievietoja audzēšanas telpā, kurā bija 23 °C temperatūra dienā, 20 °C naktī un 16 h garš fotoperiods. Paraugus (5 potējumus) ievāca 3, 6, 9, 12, 15, 18, 25, 32 un 69 dienā pēc potēšanas.

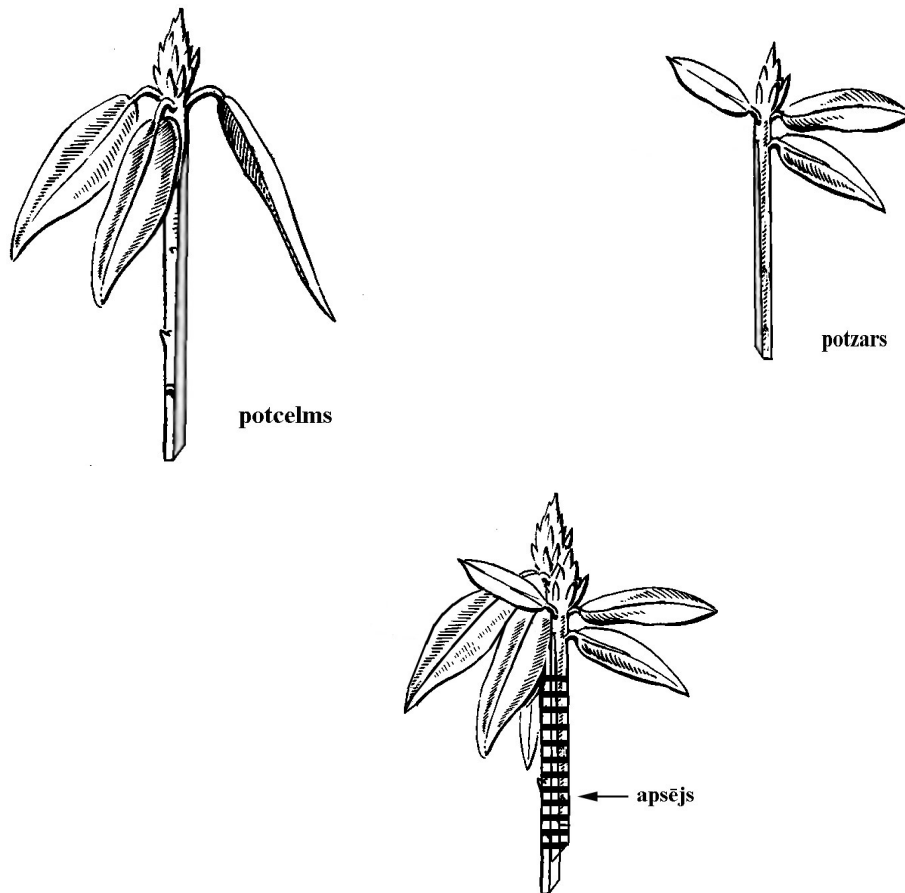
Attālumu starp potējuma partneriem (kallusa slāņa biezumu) potējumu preparātos noteica, izmantojot darba staciju Dell Precision (tm) T7400 un datorprogrammu Image-Pro Plus v. 6.2 (11. attēls).



11. attēls. Attāluma noteikšana starp potcelmu un potzaru (modificēts Braun 1959).

2.2.3. Potēšana uz neapsakņotiem dzinumu spraudeņiem

Mūžzaļo rododendru potēšanu uz neapsakņotiem dzinumu spraudeņiem (spraudeņpotējumi) veica, potējot sānu iegriezumā (12. attēls). Par potcelmiem izmantoja mūžzaļo rododendru šķirnes ‘Cunningham’s White’ viengadīgus, nobriedušus apmēram 10 cm garus dzinumus atstājot tiem 2 vai 3 galotnes lapas. Par potzaru izmantoja mūžzaļo rododendru šķirnes ‘Catawbiense Grandiflorum’ viengadīgus, nobriedušus apmēram 8 cm garus dzinumus, atstājot tiem 2 vai 3 galotnes lapas. Potējot ar šo metodi, potcelma un potzara diametram jābūt vienādam.



12. attēls. Potēšana uz neapsakņotiem dzinumu spraudeņiem (modificēts Berg, Heft 1991).

Potējot sānu iegriezumā, potcelmam izdarīja griezumu gandrīz visā tā garumā (apmēram 3/4 daļas no griezuma veidoja potējuma vieta, bet apmēram 1/4 – apakšējās daļas ievainojums) tā, lai tas skartu kambija slāni (12. attēls). Arī potzaram izveidoja šādu griezumu (12. attēls). Potējuma partnerus savienoja tā, lai saskares virsma būtu maksimāli liela un to kambija gredzeni novietotos viens pret otru. Pēc tam potējuma

vietu nosēja ar vilnas diegu (12. attēls).

Spraudeņpotējumu potcelmiem pirms spraudeņošanas ievainojuma vietu apstrādāja ar talka pulveri un pēc tam tos spraudeņoja plastmasas dēstu kastītēs, kā substrātu izmantojot kūdras un pussatrūdējušu skuju maisījumu (pH 4.2), kuru pirms spraudeņošanas samitrināja. Katrā kastītē izvietoja 20 spraudeņpotējumus. Spraudeņošanas dziļums 2–3 cm. Ap potējumiem uz neapsakņotiem dzinumiem substrātu nedaudz sablīvēja – tā, lai viegli pavelkot aiz lapām, tie stingri turētos substrātā. Lai nodrošinātu izturību pret sēņu izraisītām slimībām, spraudeņpotējumus apsmidzināja ar fungicīda šķīdumu (0.2 % Ditāna M45 šķīdumu). Kastītes apvilka ar polietilēna plēvi un novietoja audzēšanas telpā, kurā bija 23 °C temperatūra dienā un 20 °C naktī, ar 16 h fotoperiodu. Par normālu mitruma režīmu apsegtajās kastītēs liecināja ūdens kondensāta pilieni uz plēves iekšējās virsmas. Paraugus (2 – 3 spraudeņpotējumus) ievāca katru otro dienu 58 dienu periodā kopš eksperimenta uzsākšanas.

2.3. Anatomisko preparātu pagatavošana un izpēte

2.3.1. Materiāla sagatavošana griešanai un griezumu pagatavošana

Spraudeņus fiksēja 70 % etanola šķīdumā: šo fiksēšanas metodi izmantoja periodā no 1997. līdz 2000. gadam. Turpmāk kā fiksatoru izmantoja FEE šķīdumu – 37 % formalīns, ledus etiķskābe, 96 % etanols, destilēts ūdens (10:5:50:35, v/v/v/v) (Ruzin 1999). No svaiga vai fiksēta materiāla pagatavoja anatomiskos šķērsgriezumus, kuru iegūšanai izmantoja divas metodes – ar rokas mikrotomu un bārdas nazi un ar rotācijas mikrotomu (Leica RM 2145 – Rotary Microtome, Leica Microsystems Nussloch GmbH).

Rokas mikrotoms. Objektu ievietoja rokas mikrotomā un griezumus griez ar bārdas nazi. Šķērsgriezumu sēriju veica pēc nolīdzinošā griezuma. Katram objektam konkrētā sērijā veica vidēji 20 griezumus, no kuriem 5 griezumus izmantoja pastāvīgo preparātu pagatavošanai.

Rotācijas mikrotoms. Lai griezumu pagatavošanai varētu izmantot rotācijas mikrotomu, objekts vispirms jāieslēdz blīvā vidē – histovaskā (kristāliskā parafīna un

sintētisko polimēru maisījumā). Tā kā histovasks ir hidrofobs vielu maisījums, tad pētāmais objekts pirms ieslēgšanas tajā ir pilnīgi jāatūdeņo (jādehidrē), jo pretējā gadījumā histovaska infiltrācija audos nav iespējama un rezultātā var rasties pētāmo struktūru bojājumi. FEE fiksētos paraugus pakāpeniski atūdeņoja etanola (EtOH) un terc-butanola (TBA) šķīdumos (3. tabula).

3. tabula

Pakāpeniska atūdeņošana ar terc-butanola maisījumiem (Ruzin 1999)

Atūdeņošanas etaps, Nr. p. k.	96 % EtOH (ml)	100 % EtOH (ml)	TBA (ml)	Vazelīneļļa (ml)	Ekspozīcijas laiks (h)
1.	50		50		12
2.		25	75		2 – 4
3.		25	75		2 – 4
4.			100		2 – 4
5.			100		2 – 4
6.			67	33	12

Turpmākajā darba gaitā veica histovaska infiltrāciju pēc šādas shēmas.

1. Nolēja 1/3 tilpuma TBA un vazelīneļļas maisījuma un aizstāja to ar tādu pašu tilpumu tīra izkausēta histovaska, trauku bez vāka ievietoja termostatā 58 °C.
2. Pēc 12 h nolēja 1/2 maisījuma tilpuma un aizstāja ar tādu pašu tilpumu tīra izkausēta histovaska.
3. Iepriekšējā punktā minētās darbības atkārtoja divas reizes ik pēc 12 h.
4. Nolēja visu TBA un vazelīneļļas maisījumu un aizstāja ar tīru izkausētu histovasku. Minēto darbību atkārtoja trīs reizes ik pēc 4 h (Ruzin 1999).

No infiltrētajiem objektiem ar žileti izgriezta apmēram 2 mm garus fragmentus, ielika tos metāla veidnītēs, pārlēja ar izkausētu histovasku un ļāva sacietēt. Bloku ar iecietināto materiālu montēja uz rotācijas mikrotoma (Leica RM 2145 – Rotary Microtome, Leica Microsystems Nussloch GmbH) un pagatavoja griezumus sērijas. Šķērsriezumu biezums bija 25 μm. Griezumus ievietoja ūdenī 50 °C un no tā izņēma ar priekšmetstikliem, kas jau iepriekš bija noklāti ar olas baltumu.

2.3.2. Anatomisko griezumu apstrāde

Anatomisko griezumu tālākā apstrāde bija atkarīga no griezumu pagatavošanas veida. Ja objekta šķērs griezumus pagatavoja ar rotācijas mikrotomu, tad vispirms bija jānodrošina histovaska izšķīdināšana (deparafinēšana). Priekšmetstiklus ar griezumiem ievietoja priekšmetstiklu turētājā un apstrādāja ar šādām vielām un šķīdumiem: ksilols (10 min) 2×, absolūtais spirts : ksilols (1:1) (2 min), 96 % etanols (2 min), 70 % etanols (2 min), destilētais H₂O (2 min). Pēc deparafinēšanas veica griezumu krāsošanu. Ja objekta šķērs griezumi bija pagatavoti ar rokas mikrotomu un bārdas nazi, tad sagriezto materiālu uzreiz krāsoja. Krāsošanai izmantoja astra zilā un safranīna maisījumu (astra zilais 0.5 % etiķskābē : safranīns ūdenī, 5:1, v/v). To lietoja pārkoksnēto un nepārkoksnēto šūnapvalku vienlaicīgai kontrastēšanai. Krāsošanas ilgums 2 minūtes. Tās rezultātā ieguva griezumus, kuros nepārkoksnētie šūnapvalki bija nokrāsojušies koši zili, pārkoksnētie – sarkani, vāji pārkoksnētie – violeti (Braune et al. 1999). Pēc krāsošanas griezumus skaloja un pēc tam atūdeņoja. To darīja ar pieaugošas koncentrācijas etanolu: 50 % etanols (2 min), 96 % etanols (2×) (2 min), absolūtais spirts (2 min), tad turpināja ar absolūto spirtu : ksilolu (1:1) (2 min) un pabeidza ar tīru ksilolu (2 min). Griezumus ieslēdza Kanādas balzāmā, tādējādi nodrošinot preparātu ilgstošu uzglabāšanu.

Preparātu izpēti un fotografēšanu veica ar gaismas mikroskopu Olympus CH30RF200, un fotoaparātu Canon PowerShot S70, kā arī mikroskopu Leica DM5500B ar digitālo kameru Leica DFC490. Iegūto attēlu apstrādi veica, izmantojot darba staciju Dell Precision (tm) T7400 un datorprogrammu Image-Pro Plus v. 6.2.

2.4. Gvajakola peroksidāzes aktivitātes noteikšana

Gvajakola peroksidāzes aktivitāti šķirnes ‘Babītes Baltais’ vienpumpura spraudņiem ar lapu noteica spektrofotometriski (Andersons, Ievinsh 2002). Paraugus (4 bioloģiskos atkārtojumus) ievāca pirmajā dienā, kā arī 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 dienas pēc spraudņošanas. Tās noteikšanai izmantoja mūžzaļo rododendru lapas (iesvars 0.5 g) un spraudņu pamatnes (iesvars 0.25 g). Auga materiālu sasaldēja šķidrā slāpekļī un saberza ar piestu porcelāna tīģelī. Fermentus ekstrahēja 15 min 4 °C temperatūrā ar

25 mmol l⁻¹ HEPES/KOH buferi (pH 7.2), kas saturēja 1 mmol l⁻¹ EDTA, 3 % polivinilpolipirrolidona un 0.8 % Triton X-100. Uz 1 g audu izmantoja 5 ml bufera. Homogenātu filtrēja un centrifugēja 4 °C temperatūrā 15 min, ar paātrinājumu 15000 g_n.

Peroksidāzes aktivitāti mērīja spektrofotometriski 470 nm viļņu garumā. Reakcijas šķīdums sastāvēja no 2 ml 50 mmol l⁻¹ Na₂HPO₄/NaH₂PO₄ bufera (pH 7.0) ar 10 mmol l⁻¹ gvajakola, 0.5 ml 0.03 mol l⁻¹ H₂O₂ un 0.1 ml fermentu ekstrakta. Reakciju iniciēja, pievienojot H₂O₂. Fermenta aktivitāti aprēķināja kā absorbcijas izmaiņas minūtē uz 1 g audu svaigās masas.

Iegūtos datus apstrādāja ar programmu SPSS. Korelācijas būtiskuma pakāpi noteica pēc Pīrsona sadalījuma.

2.5. Cietes daudzuma noteikšana

Cietes daudzumu noteica ar Bertrama metodi (Strong, Koch 1974). Paraugus (3 bioloģiskos atkārtojumus) ievāca pirmajā dienā, kā arī 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 dienas pēc spraudēšanas. Paraugus 15 min fiksēja ūdens tvaikos, tad žāvēja termostatā 50–60 °C temperatūrā līdz gaissausam stāvoklim. 0.5 g spraudēņu pamatnes audus saberza porcelāna tīģelī ar 5 ml 80 % Ca(NO₃)₂ šķīduma, pārnesa 50 ml koniskā kolbā, pievienojot 20 ml 80 % Ca(NO₃)₂ šķīduma, nosedza kolbu ar piltuvi un vārīja 3–5 min. Ekstraktu pārnesa 50 ml mērkolbā un šķīdumu papildināja ar destilētu H₂O līdz atzīmei, pēc tam filtrēja. Pie 8 ml filtrāta pievienoja 2 ml 0.5 % I/KI šķīduma, 15 min izgulsnēja un 3 min centrifugēja 3000 apgriezīenos minūtē. Nogulsnes 3–4 x skaloja ar šķīdumu, kas satur 5 % Ca(NO₃)₂ un 0.01 % KI, pēc tam tās apstrādāja ar 5 ml 0.5 N K₂Cr₂O₇ šķīdumu (nogulsnes izšķīda). Lai paātrinātu reakciju, šķīdumu karsēja ūdens vannā, pievienoja 70 ml destilēta H₂O un atdzesēja. Šķīdumam pievienoja 5 ml 20 % KI un dažus pilienus cietes (indikators), un titrēja ar 0.1 N Na₂S₂O₃.

Cietes procentuālo saturu noteica pēc formulas:

$$X = \frac{0.675 \times B \times k \times (a-b)}{v \times n}$$

X – cietes saturs (%);

B – kopējais pētāmā šķīduma tilpums (ml);

v – šķīduma tilpums, kas ņemts cietes izgulsnēšanai (ml);

a – 0.1 n tiosulfāta tilpums, kas ņemts kontroles titrēšanai (ml);

b – 0.1 n tiosulfāta tilpums, kas ņemts analīzes titrēšanai (ml);

k – tiosulfāta normalitāte (0.1 n);

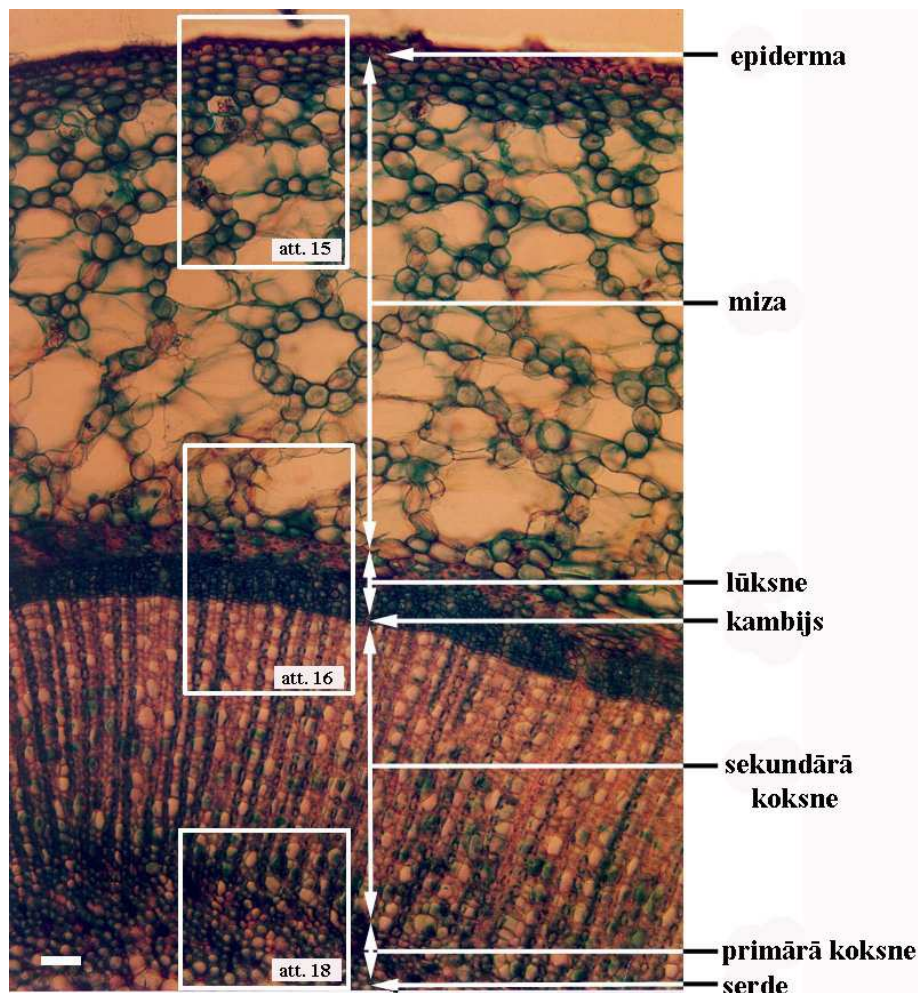
n – iesvars (g);

0.675 – cietes normālais titrs pārrēķināšanai procentos.

3. REZULTĀTI

3.1. Veģetatīvajā pavairošanā izmantoto mūžzaļo rododendru šķirņu dzinumu anatomiskā uzbūve

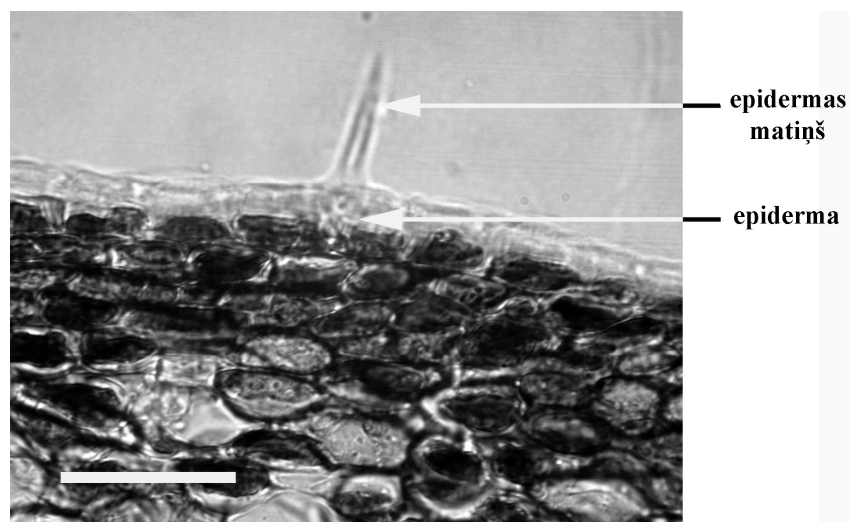
Stumbra anatomisko uzbūvi pētīja piecām mūžzaļo rododendru šķirnēm – ‘Cunningham’s White’, ‘Catawbiense Grandiflorum’, ‘Babītes Baltais’, ‘Ginta’, ‘Lavanda’. Šīm šķirnēm dzinuma anatomiskā uzbūve ir līdzīga, tāpēc kā modeļobjektu izvēlējās šķirni ‘Cunningham’s White’. Viengadīgs dzinums sastāvēja no epidermas, mizas, lūksnes, kambija, sekundārās koksnes, primārās koksnes un serdes (13. attēls).



13. attēls. Viengadīga mūžzaļo rododendru šķirnes ‘Cunningham’s White’ dzinuma anatomiskā uzbūve. Nogrieznis atbilst 50 μ m.

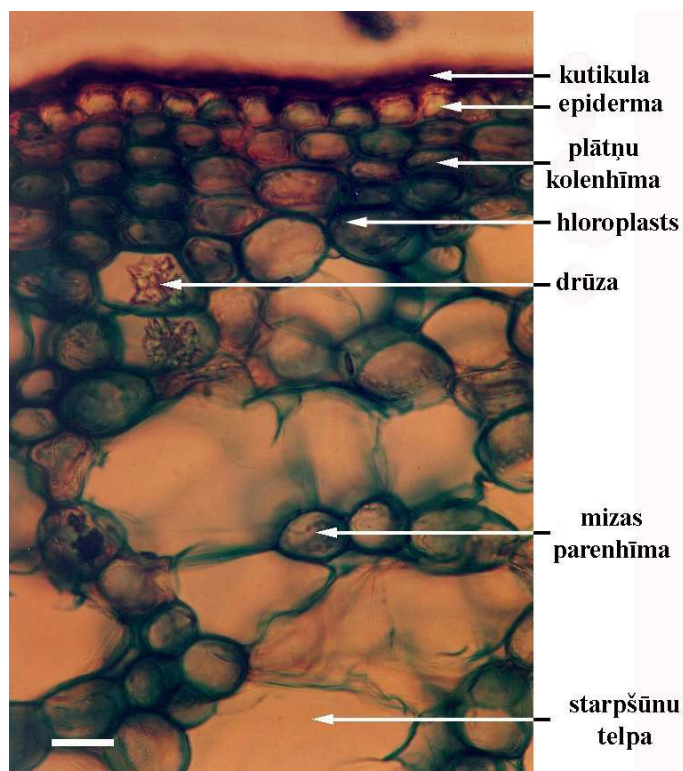
Epidermu veidoja viena šūnu kārtā ar nevienmērīgi uzbiezinātiem šūnapvalkiem. To klāja kutikula, uz kuras virsmas saskatāmas šūnu robežas. Tikai

šķirnei 'Catawbiense Grandiflorum' novēroja epidermas viensūnas matiņus (14. attēls).



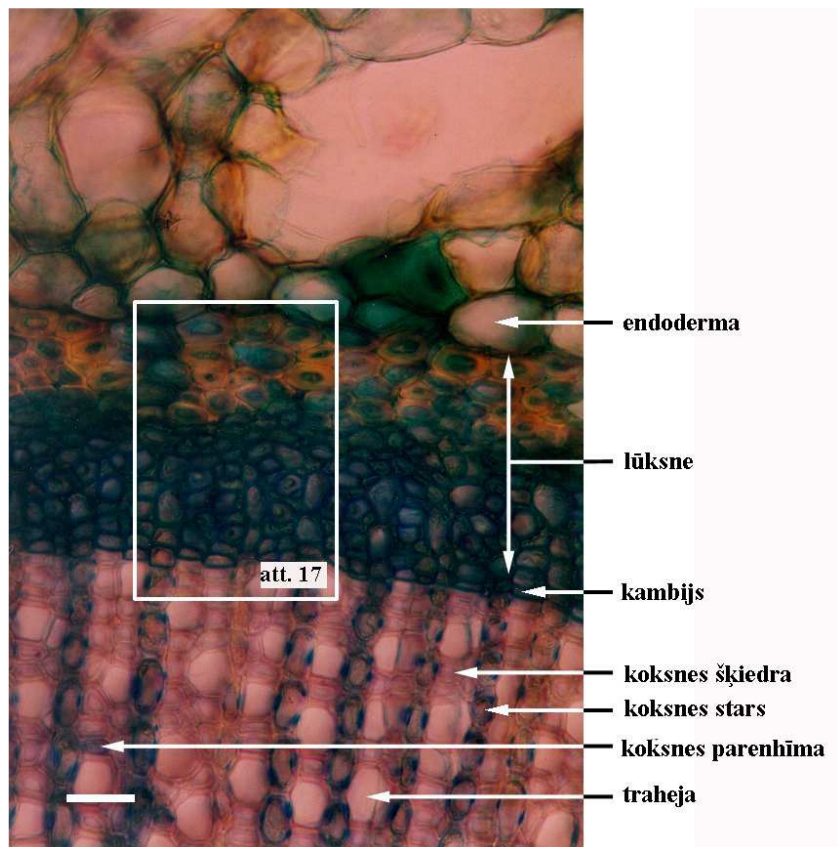
14. attēls. Viengadīga mūžzaļo rododendru šķirnes 'Catawbiense Grandiflorum' dzinuma epiderma. Nogrieznis atbilst 50 μm .

Mizu veidoja kolenhīma, mizas parenhīma un endoderma (15., 16. attēls). Tieši zem epidermas izvietota plātņu kolenhīma, kas sastāvēja no 3 vai 4 šūnu kārtās blīvi novietotām šūnām ar tangenciāli uzbiezinātiem šūnapvalkiem (15. attēls).



15. attēls. Viengadīga mūžzaļo rododendru šķirnes 'Cunningham's White' dzinuma anatomiskā uzbūve. Nogrieznis atbilst 25 μm .

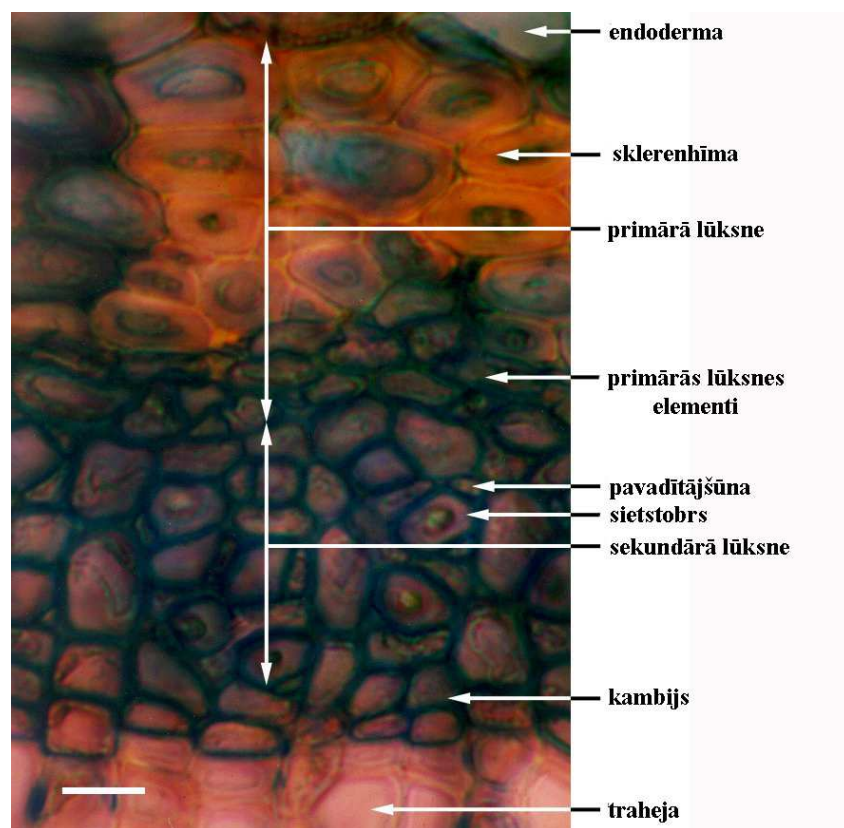
Mizas parenhīmu veidoja lielas irdeni izkārtotas šūnas ar plāniem šūnapvalkiem un lielām starpšūnu telpām. Tajās sastopami hloroplasti un kalcija oksalāta drūzas (15. attēls). Iekšējais mizas šūnu slānis bija endoderma, kuras šūnas bija izkārtotas cieši blakus viena otrai (16. attēls) un kuras robežojās ar lūksni.



16. attēls. Viengadīga mūžzaļo rododendru šķirnes ‘Cunningham’s White’ dzinuma anatomiskā uzbūve. Nogrieznis atbilst 25 μm .

Lūksne sastāvēja no cietās lūksnes (sklerenhīmas šķiedrām) un mīkstās lūksnes (sietstobriem, pavadītājšūnām un lūksnes parenhīmas). Mīkstajā lūksnē varēja izšķirt saspīstus primārās lūksnes elementus (17. attēls) un sekundārās lūksnes elementus. Sklerenhīmas šķiedras bija blīvi izkārtotas šūnas ar bieziem, lignificētiem šūnapvalkiem un tās veidoja 2–5 šūnu slāņus (17. attēls). Mūžzaļo rododendru stumbram raksturīgs nepārtraukts vai retās vietās pārtraukts sklerenhīmas gredzens. Sekundāro lūksni veidoja vidēji 6 šūnu kārtas, kurās sietstobri (dzīvas šūnas ar plāniem šūnapvalkiem (šūnapvalks zils, citoplazma zaļgana)) kopā ar pavadītājšūnām bija izvietoti difūzi, bet sekundārās lūksnes pārējo daļu aizņēma lūksnes parenhīma. Sekundārajā lūksnē bija arī neregulāri izvietojušies stari, ko veidoja parenhīmas šūnas.

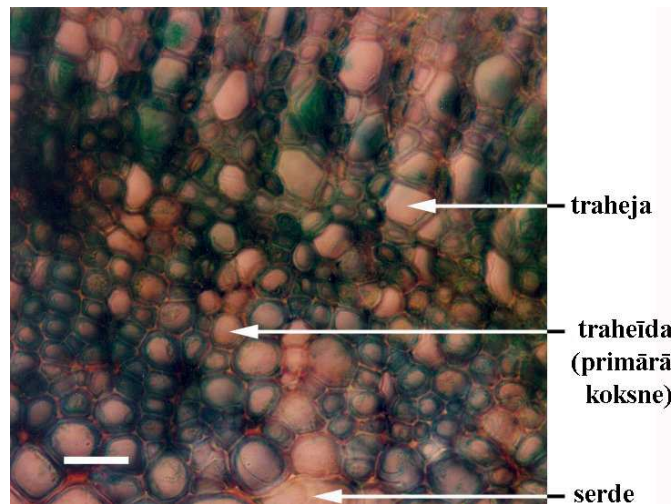
Kambijs sastāvēja no 2 kārtās regulāri izkārtotām šūnām ar plāniem šūnapvalkiem (17. attēls). Tā darbības rezultātā veidojās sekundārā koksne un lūksne.



17. attēls. Viengadīga mūžzaļo rododendru šķirnes ‘Cunningham’s White’ dzinuma anatomiskā uzbūve. Nogrieznis atbilst 15 μm .

Sekundāro koksni veidoja trahejas, koksnes šķiedras un koksnes parenhīma (16. attēls). Trahejām raksturīgi lieli šūnu dobumi un tās izvietotas pārtrauktās radiālās rindās. Koksnes parenhīmas šūnas atradās nelielās grupās starp trahejām un koksnes šķiedrām. Koksne bija novērojami stari, ko veidoja parenhīmas šūnas.

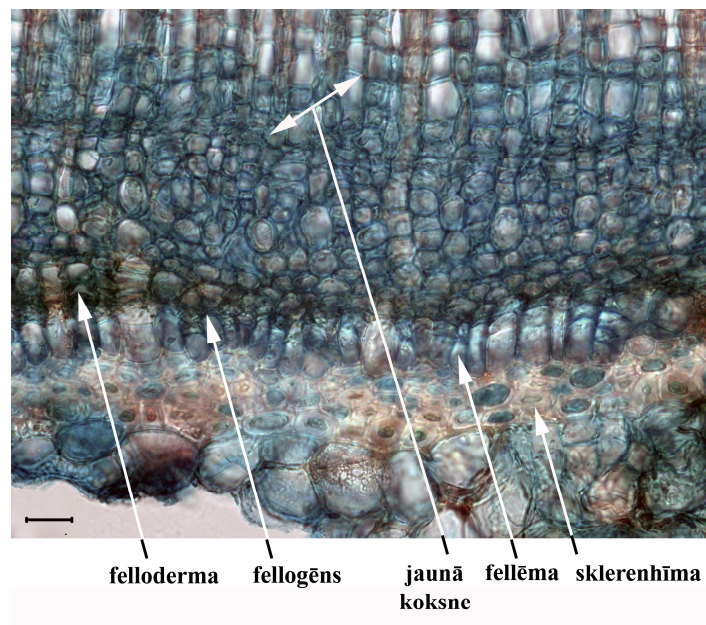
Primārā koksne sastāvēja no nelielām traheīdu grupām (18. attēls), bet serde – no apaļas vai ovālas formas parenhīmas šūnām (18. attēls).



18. attēls. Viengadīga mūžzaļo rododendru šķirnes ‘Cunningham’s White’ dzinuma anatomiskā uzbūve. Nogrieznis atbilst 25 μm .

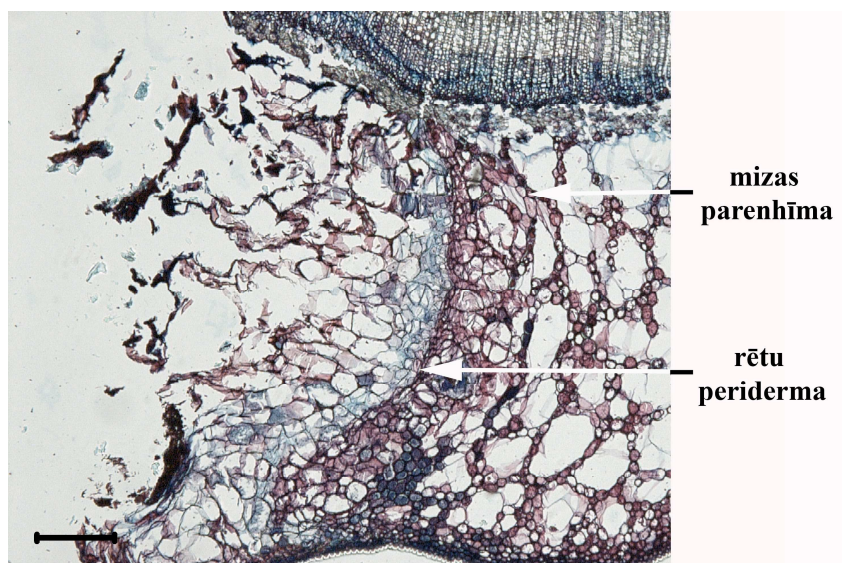
3.2. Spraudeņu sekundārā augšana rizoģenēzes laikā

Rizoģenēzes laikā visu pētīto mūžzaļo rododendru šķirņu spraudņiem novēroja sekundāro augšanu – sekundārās koksnes un lūksnes, kā arī peridermas veidošanos (19. attēls).



19. attēls. Peridermas veidošanās no lūksnes šūnām mūžzaļo rododendru šķirnes ‘Cunningham’s White’ kontroles varianta dzinuma spraudenim 30. dienā pēc spraudējošanas. Nogrieznis atbilst 30 μm .

Savukārt kā atbildes reakcija uz ievainojumu veidojās rētu periderma. Gan periderma, gan rētu periderma bija līdzīgas pēc uzbūves un sastāvēja no fellogēna, fellodermas un fellēmas (19. attēls). Periderma veidojās no lūksnes tieši zem sklerenhīmas gredzena (19. attēls), bet rētu periderma – no mizas parenhīmas šūnām. Šādu atbildes reakciju uz ievainojumu varēja novērot gan spraudņpotējumu potcelmiem, gan dzinuma, gan vienpumpura spraudņiem neatkarīgi no tā, vai rizoģenēzes process notika vai nenotika (20. attēls).



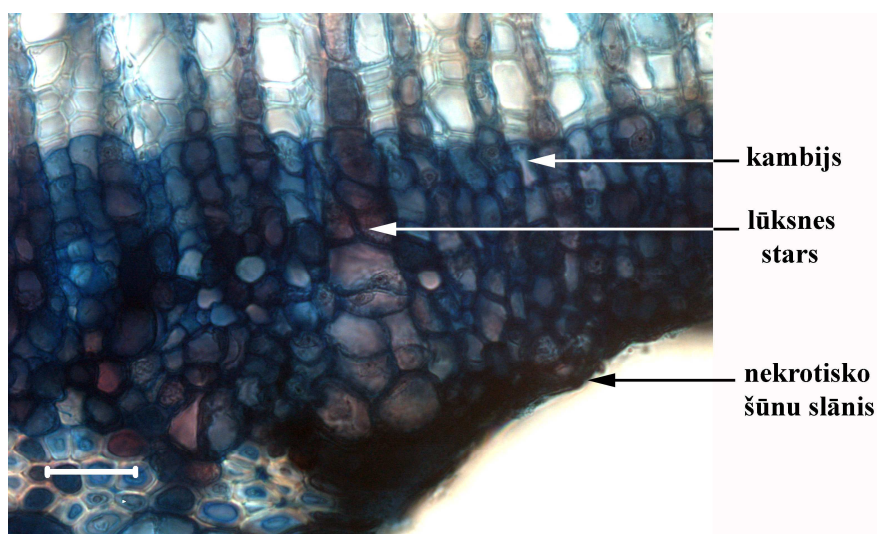
20. attēls. Rētu peridermas veidošanās no mizas šūnām mūžzaļo rododendru šķirnes ‘Lavanda’ 1 % ISS apstrādes varianta vienpumpura spraudenim ar lapu 15. dienā pēc spraudņošanas. Nogrieznis atbilst 200 μm.

3.3. Kallusa veidošanās un attīstība vienpumpura spraudņiem

Saistību starp rizoģenēzes procesu un kallusa attīstību pētīja trīs mūžzaļo rododendru šķirnēm ‘Cunningham’s White’, ‘Ginta’ un ‘Lavanda’ – variantā, kurā vienpumpura spraudņi bija apstrādāti ar 1 % ISS. Kallusa veidošanās un attīstības gaita visu šķirņu vienpumpura spraudņiem bija līdzīga neatkarīgi no tā, vai adventīvās saknes veidojās (‘Cunningham’s White’, ‘Lavanda’), vai neveidojās (‘Ginta’).

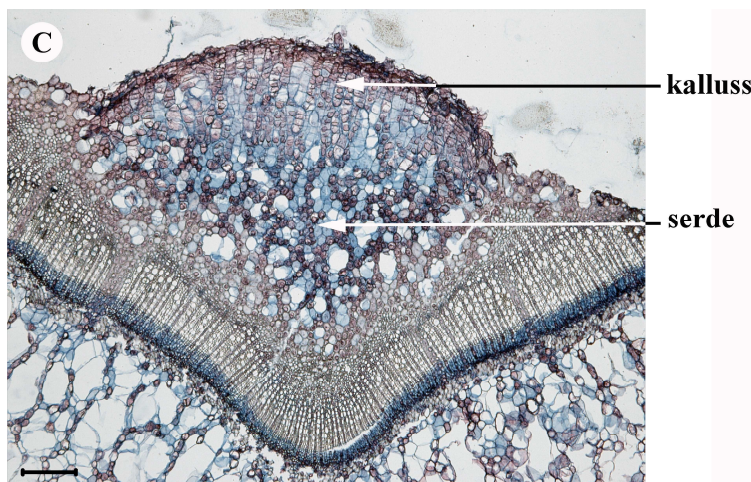
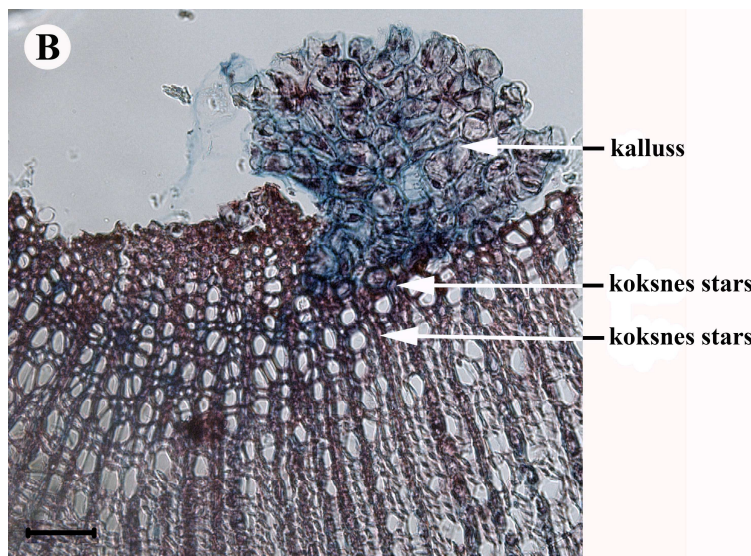
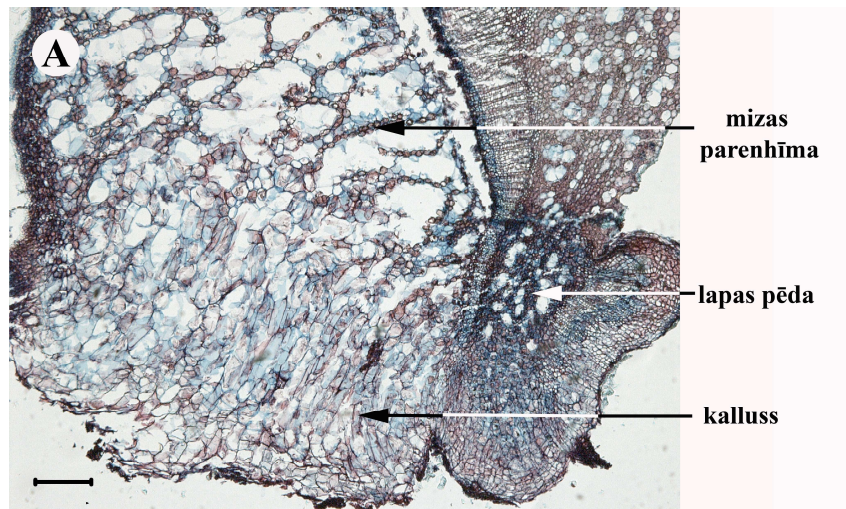
Pirmā reakcija pēc spraudņu pagatavošanas bija nekrotiskā šūnu slāņa veidošanās uz ievainojumu virsmas. Tas sastāvēja no spraudņa pagatavošanas laikā ievainotām šūnām (21. attēls). Mūžzaļo rododendru vienpumpura spraudņiem kalluss

parasti veidojās, daloties lūksnes staru un kambija šūnām. Šķirnēm ‘Cunningham’s White’ un ‘Ginta’ to novēroja 4. dienā, bet šķirnei ‘Lavanda’ – 3. dienā.



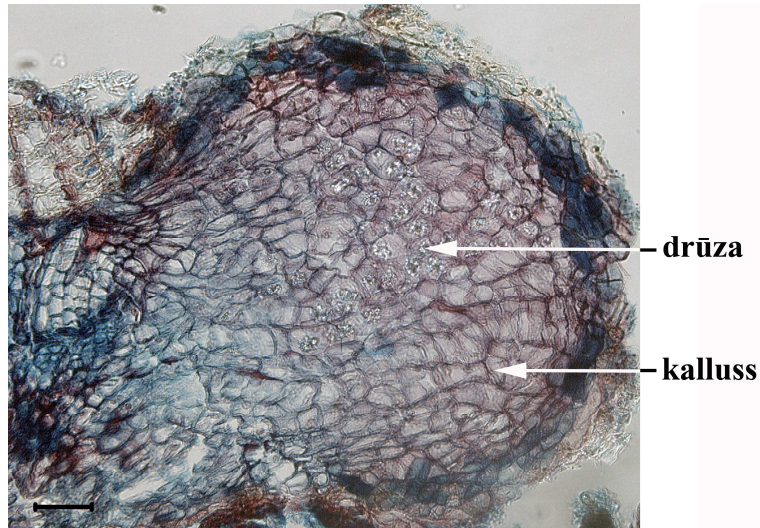
21. attēls. Kambija un lūksnes staru šūnu dalīšanās mūžzaļo rododendru šķirnes ‘Cunningham’s White’ 1 % ISS apstrādes varianta vienpumpura spraudenim ar lapu 4. dienā pēc spraudēnošanas. Nogrieznis atbilst 30 μm.

Retos gadījumos visām pētītajām šķirnēm konstatēja arī kallusa veidošanos no mizas parenhīmas šūnām (ja blakus atradās lapas pēda), bet šķirnei ‘Lavanda’ – arī no koksnes staru šūnām un serdes (22. attēls). Turpmākā kallusa attīstība notika, šūnām strauji daloties, un šajā laikā konstatēja arī kalcija oksalāta kristālus (drūzas) (23. attēls). No kallusa šūnām attīstījās koksnes vadaudi (24., 25. attēls), kambija šūnas (26., 27. attēls), periderma (27. attēls) un šķirnei ‘Cunningham’s White’ – arī mehāniskie audi – sklerenhīmas šķiedras (24.attēls).



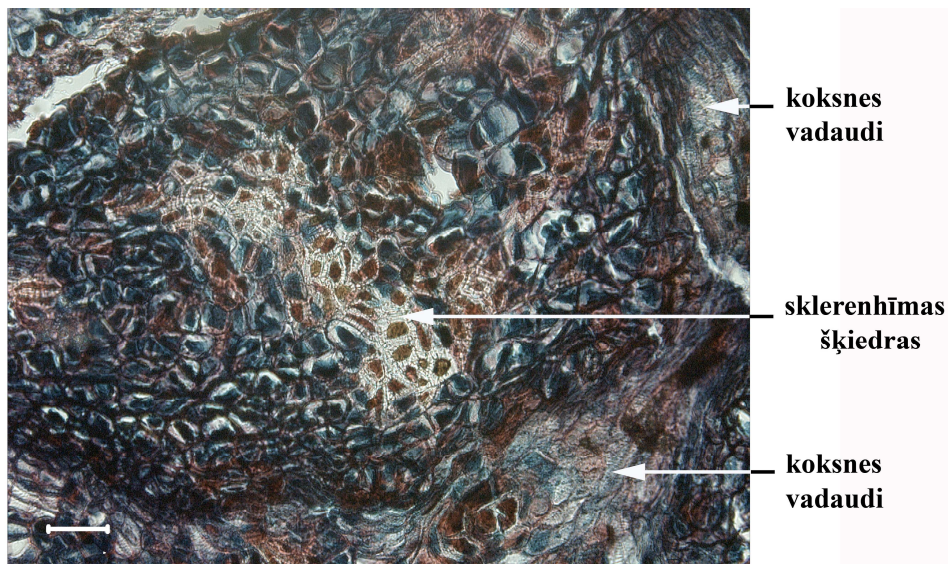
22. attēls. Kallusa veidošanās mūzžaļo rododendru šķirnes 'Lavanda' 1 % ISS apstrādes varianta vienpumpura spraudeņiem ar lapu: A – no mizas parenhīmas šūnām 24. dienā pēc spraudeņošanas; B – no koksnes staru šūnām 21. dienā pēc spraudeņošanas; C – no serdes šūnām 3. dienā pēc spraudeņošanas.

Nogrieznis atbilst A, C – 200 μm , B – 50 μm .

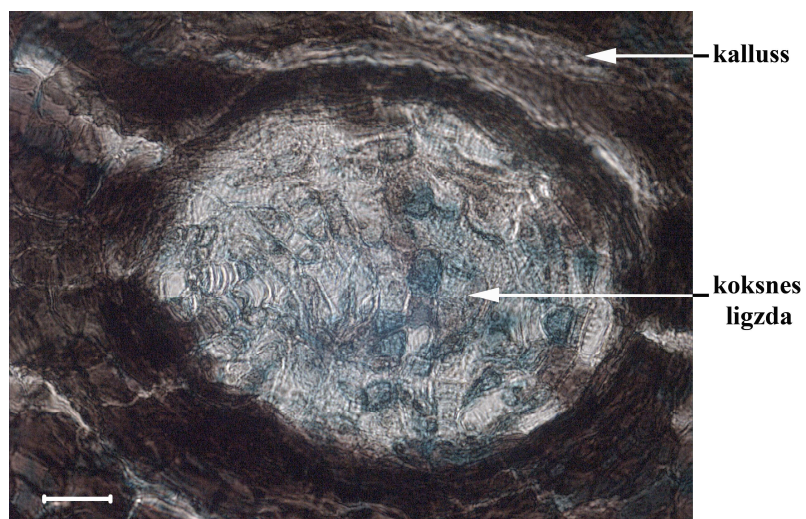


23. attēls. Kallusa attīstība mūžzaļo rododendru šķirnes 'Ginta' 1 % ISS apstrādes varianta vienpumpura spraudenim ar lapu 19. dienā pēc sprauņošanas.

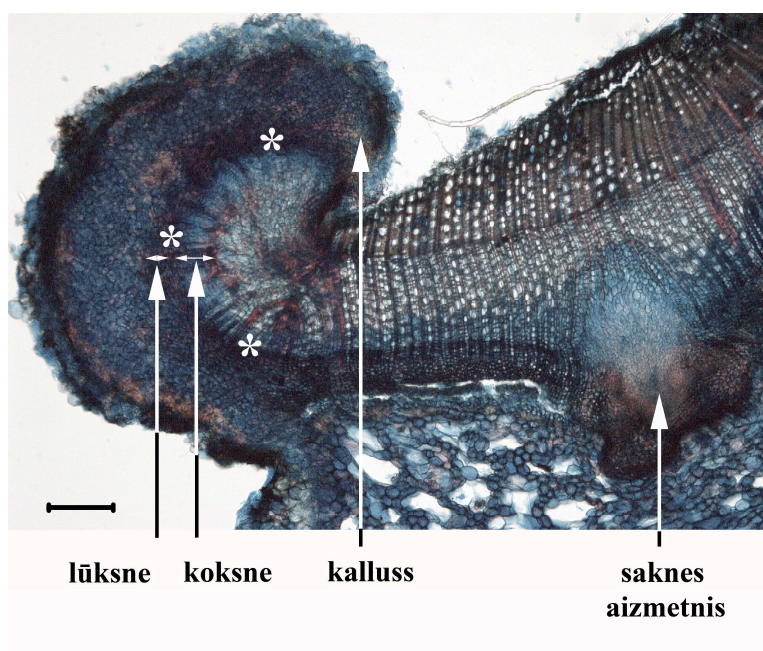
Nogrieznis atbilst 50 μ m.



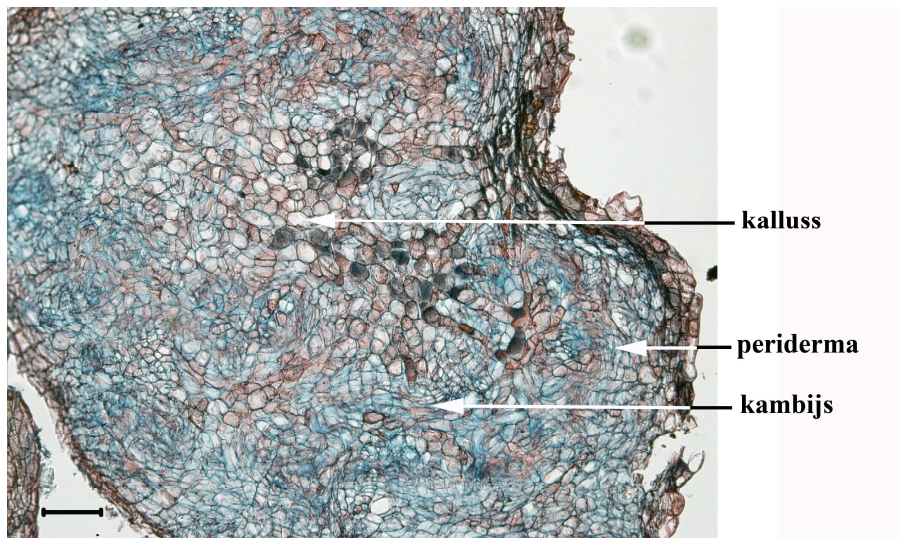
24. attēls. Sklerenhīmas šķiedru veidošanās kallusā mūžzaļo rododendru šķirnes 'Cunningham's White' 1 % ISS apstrādes varianta vienpumpura spraudenim ar lapu 30. dienā pēc sprauņošanas. Nogrieznis atbilst 50 μ m.



25. attēls. Koksnes ligzdas veidošanās kallusā mūžzaļo rododendru šķirnes 'Ginta' 1 % ISS apstrādes varianta vienpumpura spraudenim ar lapu 26. dienā pēc spraudēnošanas. Nogrieznis atbilst 30 μm.



26. attēls. Koksnes un lūksnes veidošanās no kambija (*) mūžzaļo rododendru šķirnes 'Cunningham's White' 1 % ISS apstrādes varianta vienpumpura spraudenim ar lapu 22. dienā pēc spraudēnošanas. Nogrieznis atbilst 200 μm.



27. attēls. Kambija un peridermas veidošanās kallasā mūžzaļo rododendru šķirnes ‘Lavanda’ 1 % ISS apstrādes varianta vienpumpura spraudenim ar lapu 36. dienā pēc spraudēšanas. Nogrieznis atbilst 200 μm .

Koksnes vadaudi kallasā veidojās kā joslas (24. attēls) vai kā koksnes ligzdas (25. attēls), savukārt jaunā kambija šūnas sākotnēji attīstījās kā jau esošā kambija turpinājums (26. attēls) un tā darbības rezultātā veidojās koksne un lūksne (26. attēls). Tikai vēlāk kambija veidošanos varēja novērot arī kallusa perifērijā (27. attēls).

3.4. Adventīvo sakņu veidošanās posmi

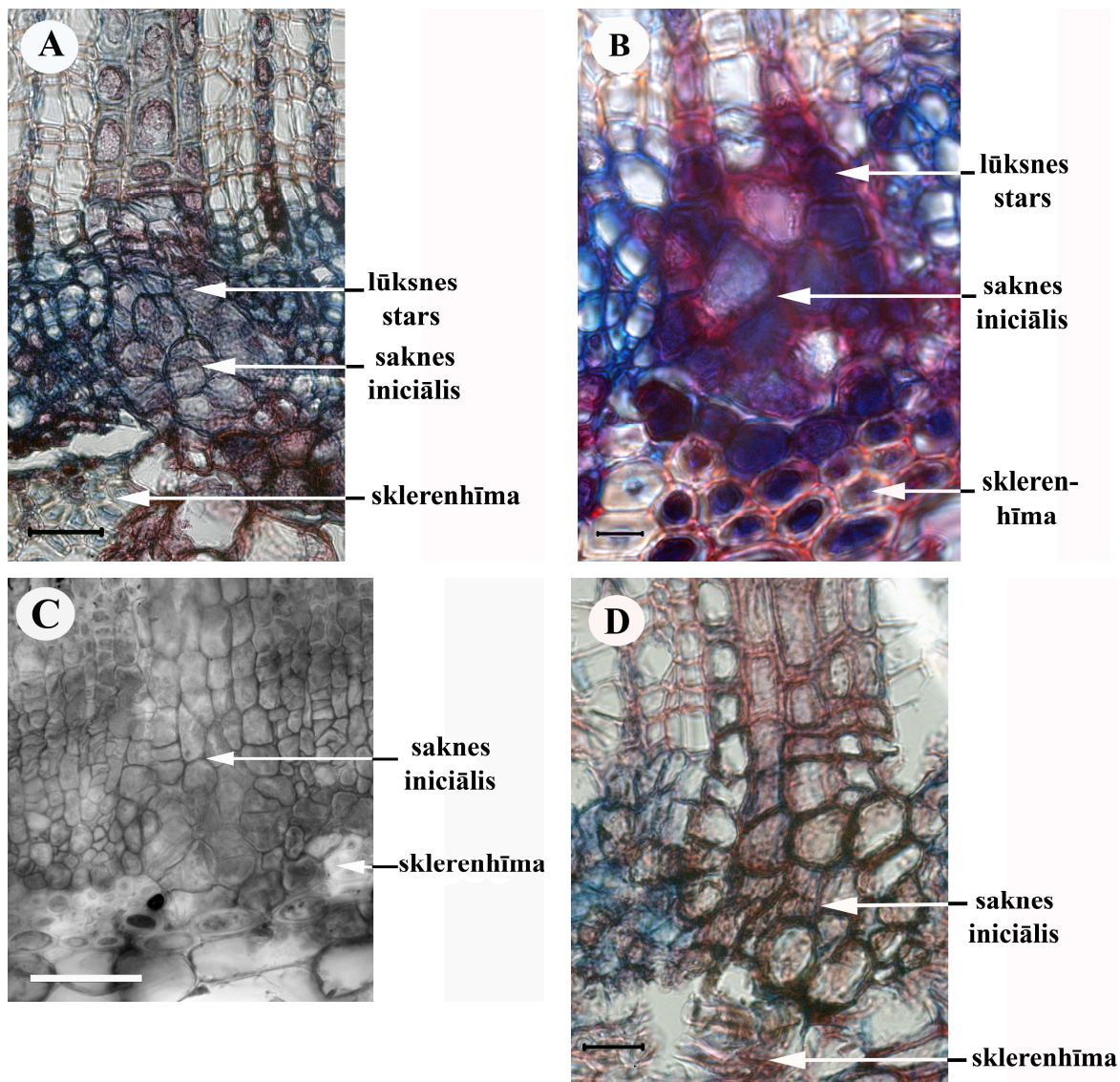
Anatomiskos pētījumus par adventīvo sakņu veidošanos veica mūžzaļo rododendru šķirnēm ‘Cunningham’s White’, ‘Babītes Baltais’ un ‘Lavanda’ dažādiem spraudēņu veidiem. Pētījumos izdevās konstatēt tiešo un netiešo rizoģenēzi. Tiešajā rizoģenēzē novēroja šādus adventīvo sakņu veidošanās posmus:

- saknes iniciāļa veidošanos no noteiktām šūnām;
- saknes aizmetņa veidošanos;
- saknes aizmetņa augšanu un attīstību.

Pirmais anatomiski novērotais posms bija adventīvo sakņu iniciāļu veidošanās. Visām pētītajām šķirnēm sakņu iniciāļi veidojās no lūksnes staru šūnām (28. attēls). Eksperimenta gaitā šķirnei ‘Lavanda’ ISS apstrādes varianta vienpumpura spraudēņiem pirmo reizi tos konstatēja 8. dienā, šķirnei ‘Babītes Baltais’ vienpumpuru spraudēņiem variantam bez ISS – 9. dienā pēc spraudēšanas. Šķirnei

‘Cunningham’s White’ sakņu iniciāļu veidošanos konstatēja:

- dzinumu spraudeņiem – 9. dienā (kontroles un ISS apstrādes variantam);
- ISS apstrādes varianta vienpumpura spraudeņiem – 10. dienā;
- spraudeņpotējumiem – 30. dienā pēc spraudeņošanas.

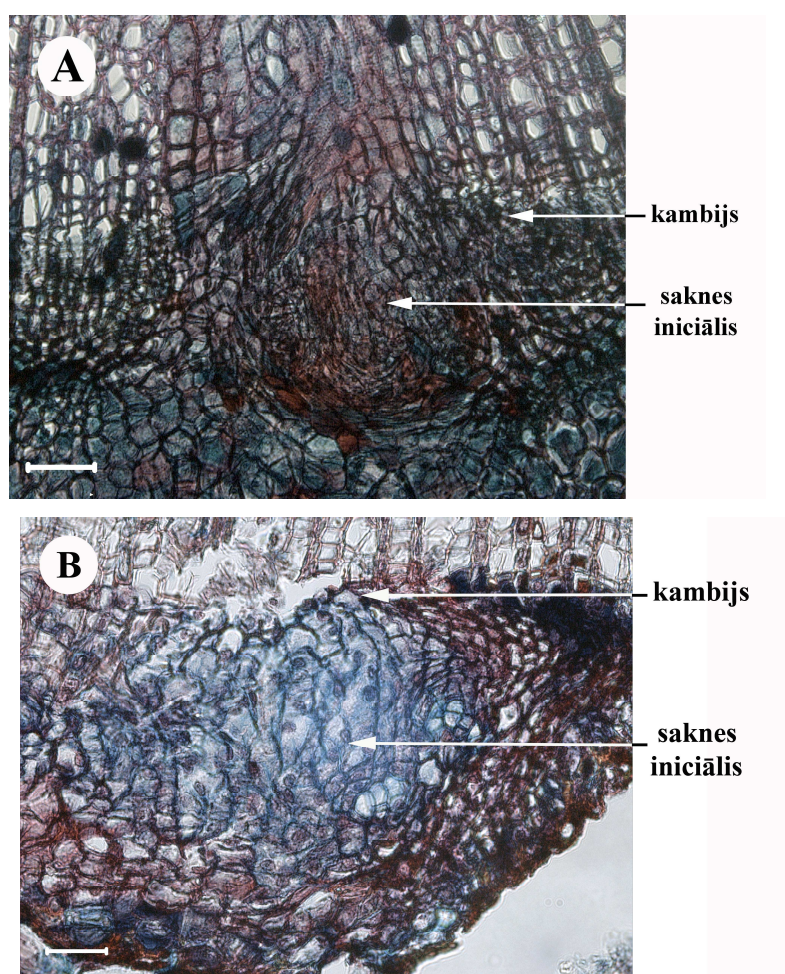


28. attēls. Saknes iniciāļa veidošanās no lūksnes stara šūnām mūžzaļo rododendru šķirnēm: A – ‘Lavanda’ 1 % ISS apstrādes varianta vienpumpura spraudeņiem ar lapu 8. dienā pēc spraudeņošanas; B – ‘Babītes Baltais’ vienpumpura spraudeņiem ar lapu variantā bez ISS 9. dienā pēc spraudeņošanas; C – ‘Cunningham’s White’ /‘Catawbiense Grandiflorum’ potējumiem uz neapsakņota dzinuma spraudeņa 30. dienā pēc potēšanas / spraudeņošanas; D – ‘Cunningham’s White’ 1 % ISS apstrādes varianta vienpumpura spraudeņiem ar lapu 10. dienā pēc spraudeņošanas.

Nogrieznis atbilst A, D – 30 μm, B – 10 μm, C – 50 μm.

Adventīvo sakņu iniciāļu veidošanos no kambija šūnām šķirnei ‘Lavanda’ ISS apstrādes varianta vienpumpura spraudeņiem pirmo reizi eksperimenta gaitā varēja novērot 27. dienā, bet šķirnei ‘Cunningham’s White’:

- kontroles varianta dzinumu spraudeņiem – 46. dienā;
- ISS apstrādes varianta dzinumu spraudeņiem – 30. dienā;
- ISS apstrādes varianta vienpumpura spraudeņiem – 26. dienā pēc spraudēšanas (29. attēls).

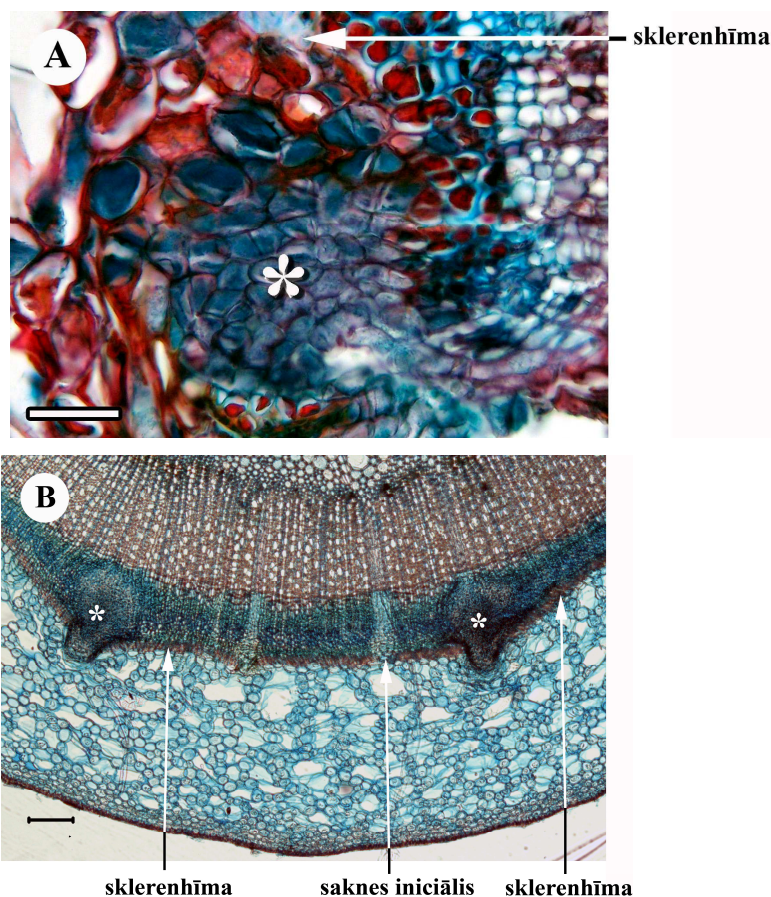


29. attēls. Saknes iniciāļa veidošanās no kambija šūnām mūžzaļo rododendru šķirnēm: A – ‘Cunningham’s White’ 1 % ISS apstrādes varianta vienpumpura spraudenim ar lapu 26. dienā pēc spraudēšanas; B – ‘Lavanda’ 1 % ISS apstrādes varianta vienpumpura spraudenim ar lapu 27. dienā pēc spraudēšanas.

Nogrieznis atbilst A – 50 μm , B – 30 μm .

Par adventīvās saknes aizmetni uzskatīja, tādu adventīvās saknes attīstības posmu, kurā šūnu straujas dalīšanās rezultātā bija izveidojies izliekums un bija

pārrauts sklerenhīmas gredzens (30. attēls).



30. attēls. Saknes aizmetņu (*) veidošanās: A – mūžzaļo rododendru šķirnes ‘Babītes Baltais’ vienpumpura spraudenim ar lapu variantā bez ISS 18. dienā pēc spraudēšanas; B – mūžzaļo rododendru šķirnes ‘Cunningham’s White’ 1 % ISS apstrādes varianta dzinuma spraudenim 13. dienā pēc spraudēšanas.

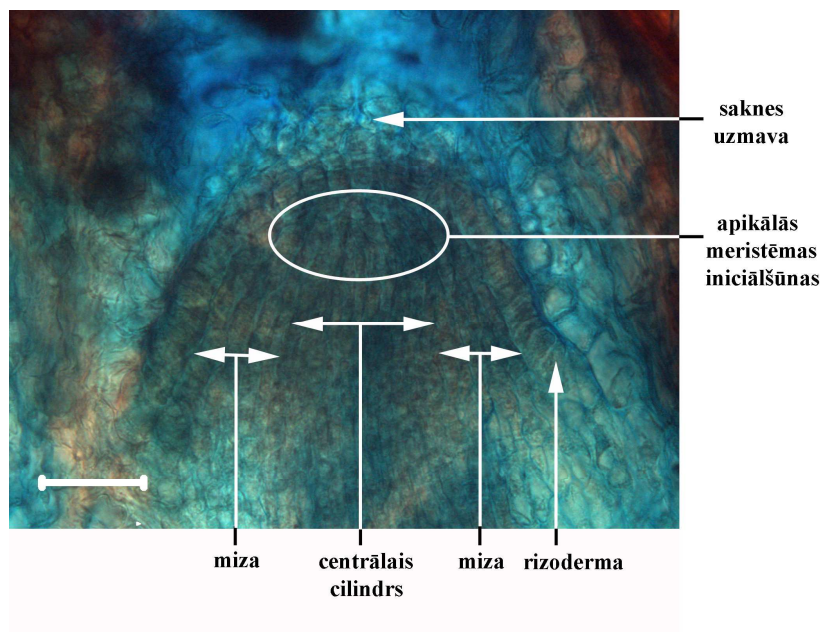
Nogrieznis atbilst A – 50 μm, B – 200 μm.

Nākošais novērotais posms bija saknes aizmetņa augšana un attīstība. To nosacīti varēja iedalīt šādos etapos:

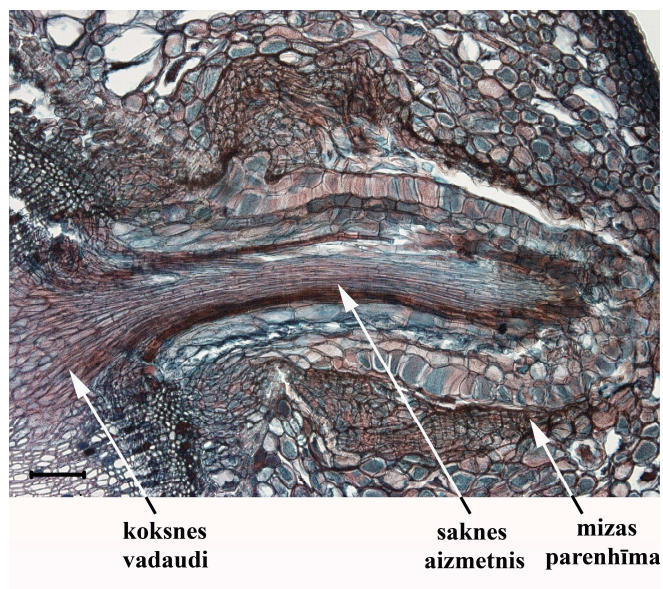
- aizmetņa augšana caur mizu – saknes apikālās meristēmas struktūras izveidošanās un saknes aizmetņa un spraudēja vadaudu savienošana;
- epidermas vai spraudēja audu šķērsošana un patstāvīgas saknes funkciju uzsākšana.

Saknes aizmetņa augšana caur primāro mizu notika pakāpeniski un tā attīstības gaitā izveidojās saknes uzbūvei raksturīgās sastāvdaļas – saknes uzmava, apikālās meristēmas iniciālšūnas, centrālais cilindrs, miza un rizoderma (31. attēls).

Būtisks jaunās adventīvās saknes attīstības etaps bija saknes aizmetņa un spraudeņa vadaudu savienošanās, kas anatomiski bija redzama laikā, kad saknes aizmetnis bija šķērsojis 2/3 no mizas (32. attēls).

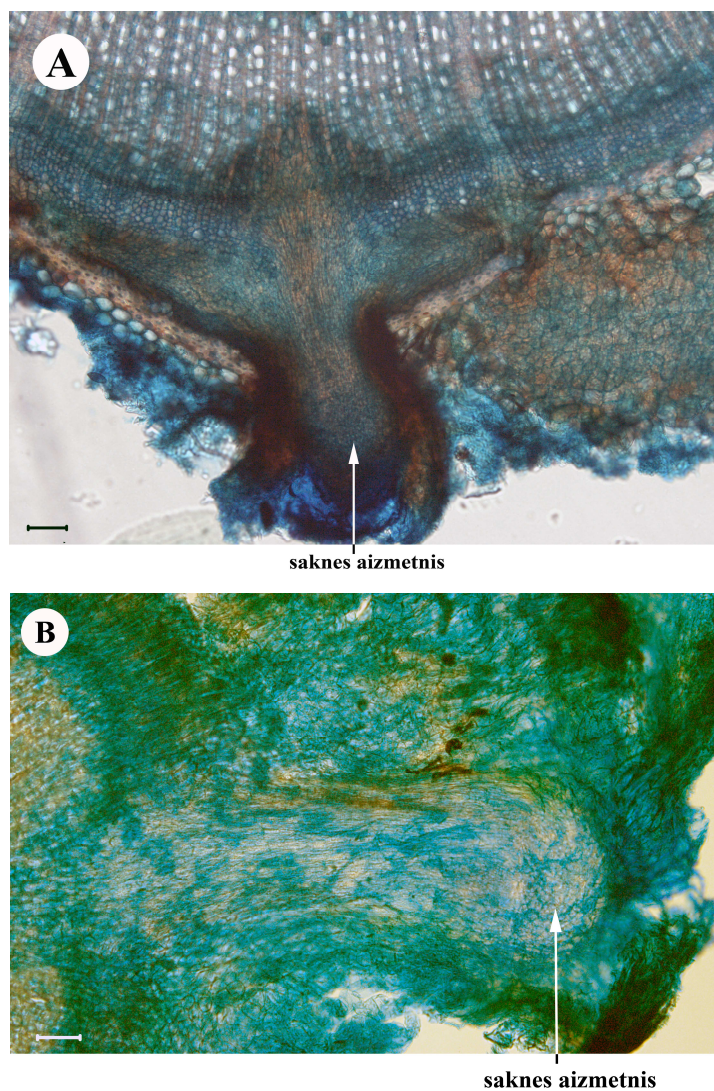


31. attēls. Saknes aizmetņa augšana caur mizu un tā audu veidošanās mūžzaļo rododendru šķirnes 'Cunningham's White' 1 % ISS apstrādes varianta dzinuma spraudenim 22. dienā pēc spraudeņošanas. Nogrieznis atbilst 50 µm.



32. attēls. Saknes aizmetņa augšana caur mizu mūžzaļo rododendru šķirnes 'Cunningham's White' 1 % ISS apstrādes varianta vienpumpura spraudenim ar lapu 30. dienā pēc spraudeņošanas. Nogrieznis atbilst 100 µm.

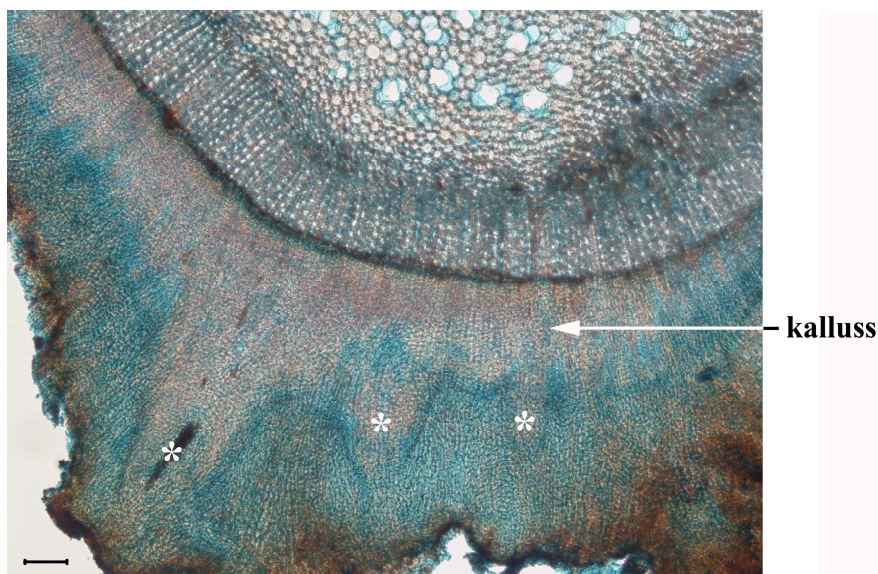
Mūžzaļo rododendru šķirnes ‘Cunningham’s White’ 1 % ISS apstrādes varianta dzinumu spraudeņiem pirmo saknes aizmetni, kas šķērsoja spraudeņa audus, novēroja 13 dienas pēc saknes iniciāļu konstatācijas, līdzīgi arī spraudeņpotējumiem – saknes aizmetnis spraudeņa ārējos audus šķērsoja 14 dienas pēc saknes iniciāļa izveidošanās (33. attēls). Rizoģenēzes laikā vienlaicīgi varēja konstatēt vairāku sakņu aizmetņu augšana un attīstība (30. B attēls). Savukārt, vienpumpura spraudeņiem vienlaicīgi ar adventīvo sakņu attīstību notika arī kallusa veidošanās (26. attēls).



33. attēls. Saknes aizmetņu augšana, šķērsojot spraudeņa audus: A – mūžzaļo rododendru šķirnes ‘Cunningham’s White’ 1 % ISS apstrādes varianta dzinuma spraudeņim 22. dienā pēc spraudeņošanas; B – mūžzaļo rododendru šķirnes ‘Cunningham’s White’ / ‘Catawbiense Grandiflorum’ potējumam uz neapsakņota dzinuma spraudeņa 44. dienā pēc potēšanas / spraudeņošanas.

Nogrieznis atbilst A – 100 μm , B – 30 μm .

Netiešo rizoģenēzi izdevās konstatēt tikai vienam mūžzaļo rododendru šķirnes ‘Cunningham’s White’ 1 % ISS apstrādes varianta dzinumu spraudenim (34. attēls).

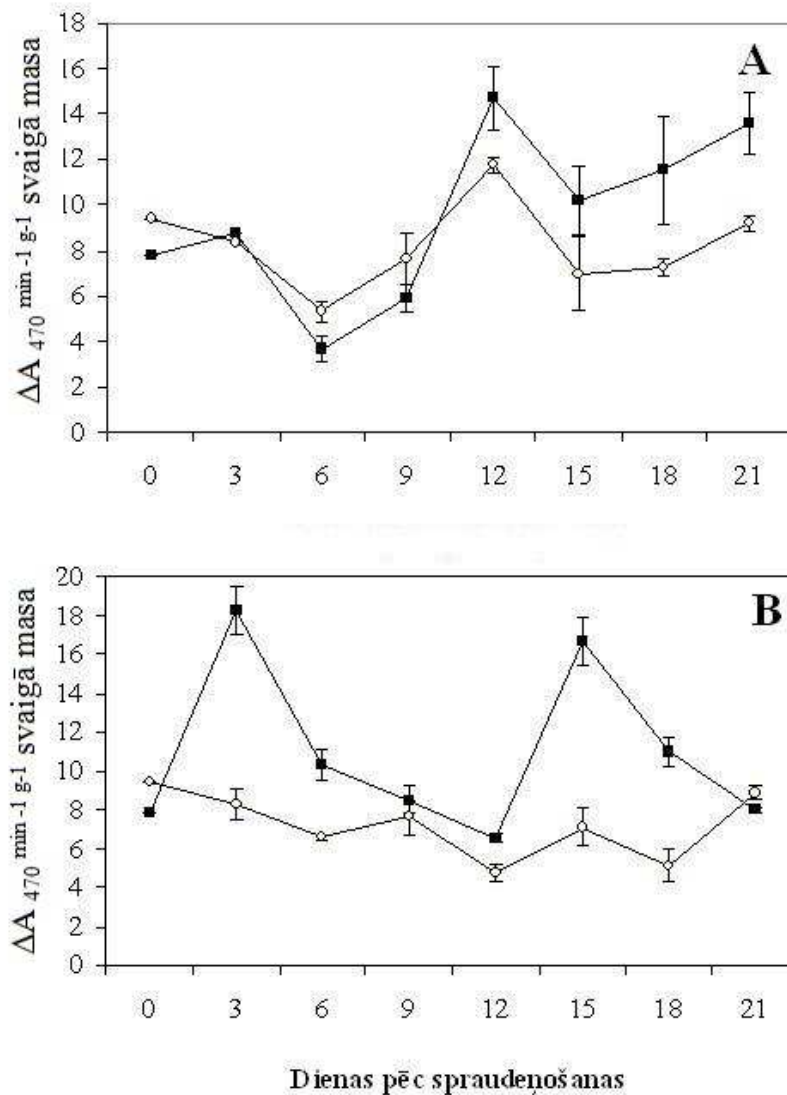


34. attēls. Saknes aizmetņu (*) augšana netiešajā rizoģenēzē mūžzaļo rododendru šķirnes ‘Cunningham’s White’ 1 % ISS apstrādes varianta dzinumu spraudenim 19. dienā pēc spraudeņošanas. Nogrieznis atbilst 200 μm.

Kalluss bija veidojies no kambija šūnām, tām pastiprināti daloties un adventīvās saknes bija attīstījušās noteiktā attālumā no kambija.

3.5. Peroksidāzes aktivitātes un cietes daudzuma izmaiņas vienpumpura spraudēnos ar lapu rizoģenēzes laikā

Peroksidāzes aktivitātes izmaiņas rizoģenēzes laikā noteica mūžzaļo rododendru šķirnes ‘Babītes Baltais’ vienpumpura spraudeņu pamatnēs un lapās variantiem ar ISS un bez ISS (35. attēls). Tā kā rizoģenēzes procesu konstatēja tikai variantā bez ISS, tad peroksidāzes aktivitātes izmaiņu novērošanai šo pieņēma par eksperimenta variantu, turpretī variantu ar ISS šajā gadījumā izmantoja kā kontroli. Peroksidāzes aktivitāte bez ISS varianta spraudeņu pamatnēs nedaudz palielinājās no eksperimenta sākuma līdz 3. dienai, pēc tam kritās no 3. līdz 6. dienai, savukārt lapās peroksidāzes aktivitātes samazināšanos varēja novērot no eksperimenta sākuma līdz 6. dienai (35. A attēls).

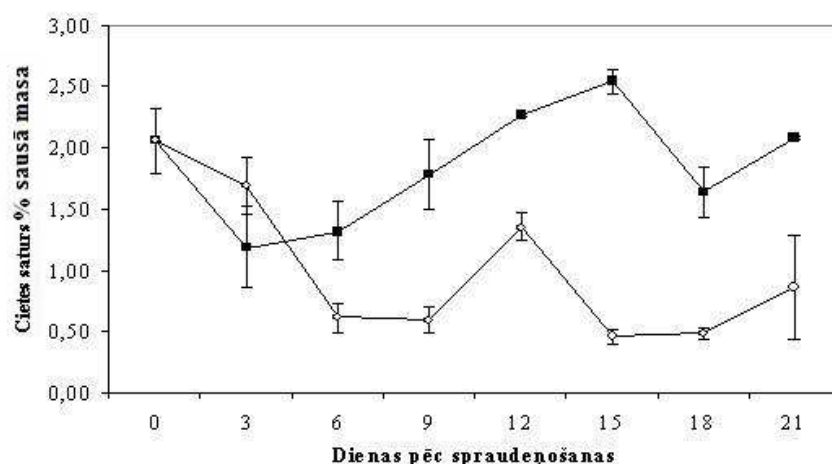


35. attēls. Peroksidāzes aktivitātes izmaiņas rizoģenēzes laikā mūžzaļo rododendru šķirnes ‘Babītes Baltais’ vienpumpura spraudēšos ar lapu variantā bez ISS (A) un variantā ar ISS (B): (■) spraudēņu pamatnēs; (◇) spraudēņu lapās. Rezultāti ir vidējie no 3 paraugiem, katrā laika punktā, katram apstrādes variantam ± SK.

Pirmo sešu dienu laikā pēc eksperimenta uzsākšanas peroksidāzes aktivitāte samazinājās līdz minimumam, kas liecināja par indukcijas fāzes beigām. Turpmākās peroksidāzes aktivitātes izmaiņas bija līdzīgas gan spraudēņu pamatnēs, gan lapās. No 6. līdz 12. dienai peroksidāzes aktivitāte palielinājās, maksimumu sasniedzot 12. dienā, norādot uz iniciācijas fāzes beigām. Šajā fāzē bija novērojama arī adventīvo sakņu iniciāļu veidošanās (28. B attēls). Straujais peroksidāzes aktivitātes kritums,

kuram sekoja pakāpenisks tās pieaugums, atbilda ekspresijas fāzei. To apstiprināja arī anatomiskie pētījumi – šajā laikā bija novērojama adventīvo sakņu aizmetņu augšana (30. A attēls). Eksperimentā konstatēja, ka pastāv būtiska korelācija ($r^2=0.714$, $P < 0.05$) starp fermenta aktivitāti vienpumpura spraudeņu pamatnēs un lapās variantā bez ISS. Līdz eksperimenta beigām variantā ar ISS neizdevās konstatēt adventīvo sakņu veidošanos, attiecīgi nebija novērojamas arī rizoģenēzei raksturīgās peroksidāzes aktivitātes izmaiņas. Taču vienpumpura spraudeņu pamatnēs novēroja divus peroksidāzes aktivitātes pīķus – 3. un 15. dienā (35. B attēls). Sākot ar 15. dienu, makroskopiski varēja redzēt pastiprinātu kallusa veidošanos visā spraudeņa garumā. Savukārt vienpumpura spraudeņu lapās variantā ar ISS fermenta aktivitātes izmaiņas nebija izteiktas. Nekonstatēja arī korelāciju starp peroksidāzes aktivitātes izmaiņām vienpumpura spraudeņu pamatnēs un lapās.

Cietes daudzuma izmaiņas rizoģenēzes laikā noteica mūžzaļo rododendru šķirnes ‘Babītes Baltais’ vienpumpura spraudeņu pamatnēs. Sākotnējais cietes daudzums vienpumpura spraudeņu pamatnēs samazinājās abos variantos: variantā bez ISS no eksperimenta sākuma līdz 3. dienai, bet variantā ar ISS – no eksperimenta sākuma līdz 9. dienai (36. attēls). Pakāpenisks cietes daudzuma pieaugums bija novērojams tikai variantā bez ISS no 3. līdz 15. dienai, maksimumu sasniedzot 15. dienā. No 15. līdz 18. dienai notika straujš cietes daudzuma samazinājums ar turpmāku palielināšanos no 18. līdz 21. dienai.

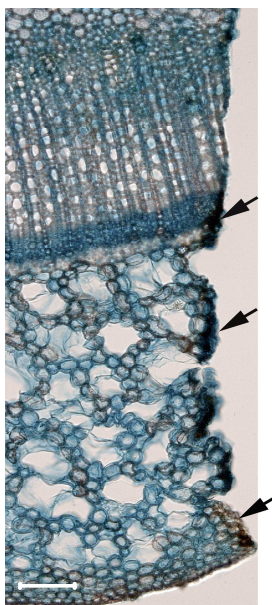


36. attēls. Cietes daudzuma izmaiņas rizoģenēzes laikā mūžzaļo rododendru šķirnes ‘Babītes Baltais’ vienpumpura spraudeņos ar lapu pamatnēs: (■) variants bez ISS; (◇) variants ar ISS. Rezultāti ir vidējie no 3 paraugiem, katrā laika punktā, katram apstrādes variantam \pm SK.

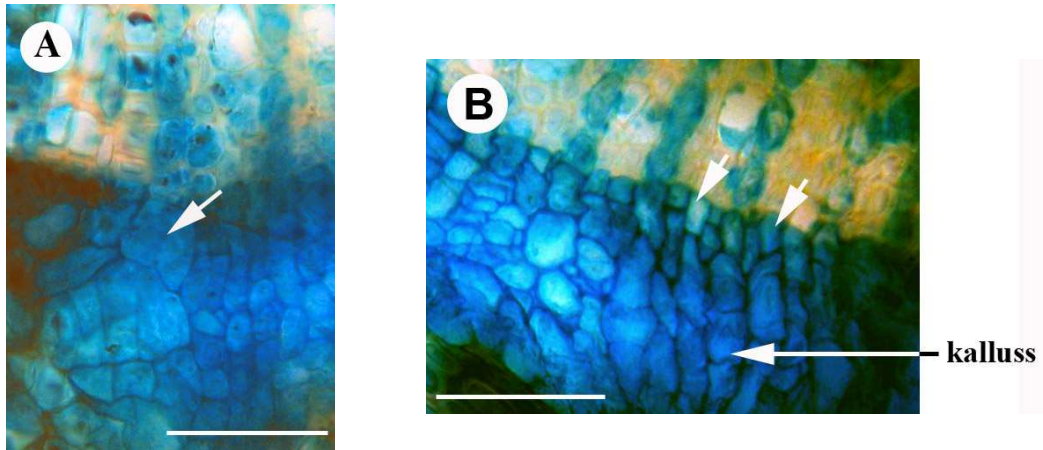
Variantā ar ISS pēc sākotnējā cietes daudzuma samazinājuma no eksperimenta sākuma līdz 6. dienai neizdevās konstatēt pakāpenisku tā palielināšanos (36. attēls). Eksperimenta gaitā varēja novērot tikai cietes daudzuma pieaugumu no 9. līdz 12. dienai ar sekojošu kritumu no 12. līdz 15. dienai.

3.6. Anatomiskās izmaiņas potējumos to saaugšanas gaitā

Potējuma saaugšanas anatomiskajiem pētījumiem izvēlēta mūžzaļo rododendru šķirne 'Cunningham's White', kā potēšanas metodi izmantojot kopulēšanu. Pirmā redzamā reakcija pēc potējuma pagatavošanas bija nekrotisko šūnu slāņa izveidošanās uz potējuma virsmas 3. dienā pēc potēšanas (37. attēls). To veidoja griezuma pagatavošanas brīdī bojātās šūnas. Sestajā dienā pēc potēšanas konstatēja kallusa veidošanos gan no kambija, gan lūksnes staru šūnām (38. attēls). Kallusam turpinot augt pakāpeniski aizpildījās sprauga starp potējuma partneriem un izveidojās kallusa tilts.

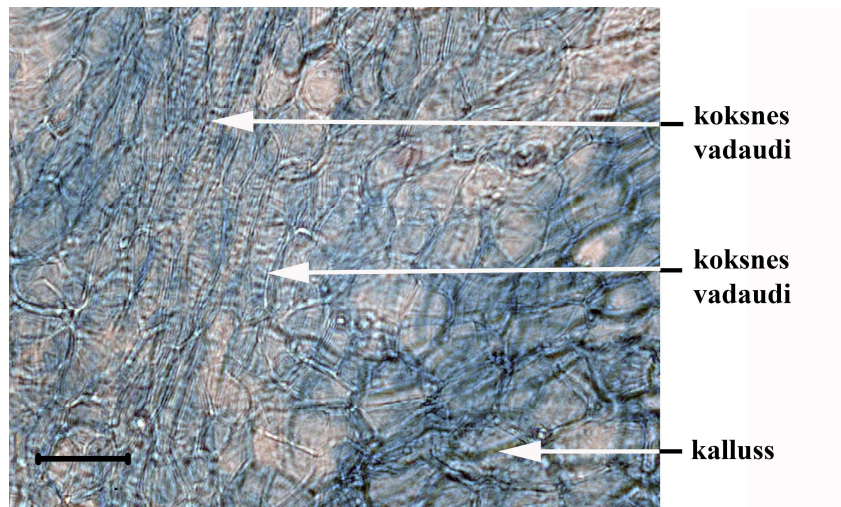


37. attēls. Nekrotisko šūnu slānis (bultas) mūžzaļo rododendru šķirnes 'Cunningham's White' potējumam 3. dienā pēc potēšanas. Nogrieznis atbilst 100 μm .



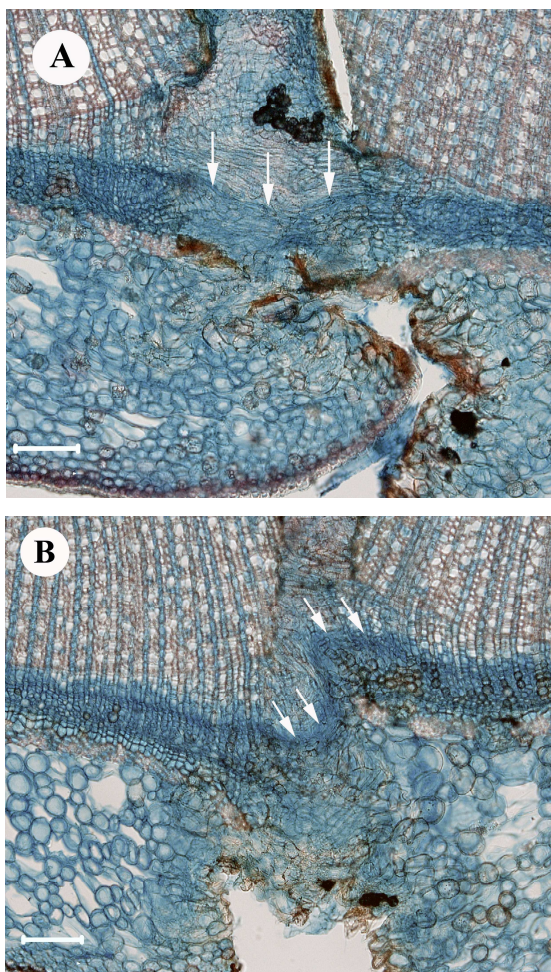
38. attēls. Kallusa veidošanās mūžzaļo rododendru šķirnes 'Cunningham's White' potējumiem 6. dienā pēc potēšanas: A – no lūksnes stara šūnām (bulta); B – no kambija (bultas). Nogrieznis atbilst A, B – 50 μm .

Koksnes vadaudu elementi, kurus varēja atpazīt pēc sekundārā šūnapvalka uzbiezinājumiem, veidojās no kallusa šūnām, tām diferencējoties (39. attēls).



39. attēls. Koksnes vadaudu elementi kallusā mūžzaļo rododendru šķirnes 'Cunningham's White' potējumam 25. dienā pēc potēšanas. Nogrieznis atbilst 30 μm .

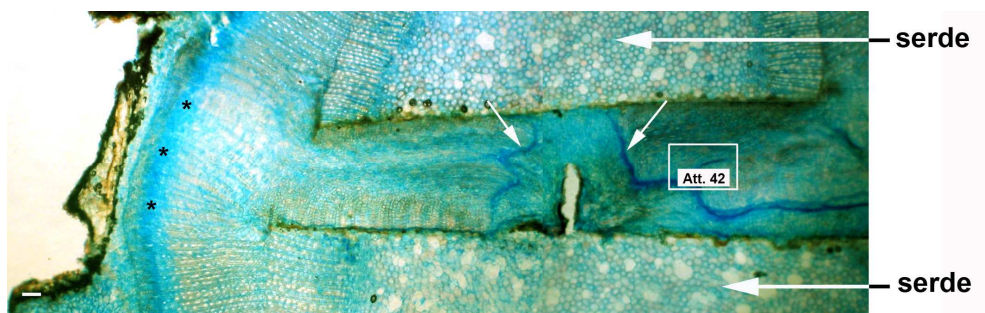
Arī jaunais kambijs veidojās no kallusa šūnām 18. dienā pēc potēšanas pirmo reizi eksperimenta gaitā varēja konstatēt jauno kambiju, kas savienoja potcelma un potzara kambijus. Atkarībā no potējuma partneru savienošanas precizitātes jaunais kambijs veidoja nedaudz izliektu vai S-veida formu (40. attēls).



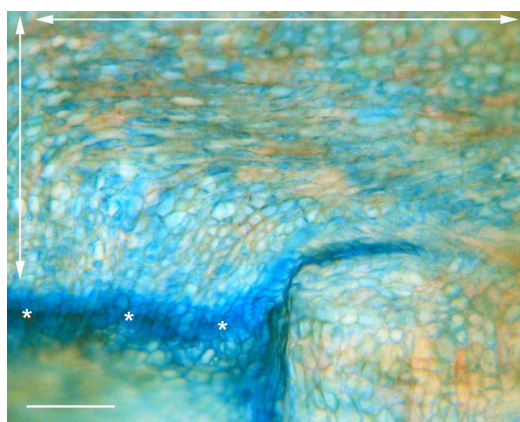
40. attēls. Jaunais kambijs (bultas) starp potējumu partneru kambijiem mūžzaļo rododendru šķirnes ‘Cunningham’s White’ potējumiem: A – izliekts kambijs 18. dienā pēc potēšanas; B – S-veida kambijs 25. dienā pēc potēšanas.

Nogrieznis atbilst A, B – 100 μm .

Sekmīgi saaugušiem potējumiem jaunais kambijs savienoja potējuma partneru kambijus – attālums starp potējuma partneriem vidēji bija $282 \mu\text{m} \pm 45,61$. Vāja potējuma gadījumā, ja starp potcelmu un potzaru bija palicis salīdzinoši liels attālums ($1092,77 \mu\text{m} \pm 30,53$) varēja novērot jaunā kambija veidošanos gan starp potējuma partneru kambijiem (vienā vai abās pusēs), gan to serdēm (41. attēls). Šajā rajonā esošie koksnes vadaudu elementi veidojās no kambija un no kallusa šūnām (42. attēls).



41. attēls. Jaunais kambijs (*) starp potējuma partneru kambijiem un to serdēm (bultas) mūžzaļo rododendru šķirnes ‘Cunningham’s White’ potējumam 69. dienā pēc potēšanas. Nogrieznis atbilst 100 μm.

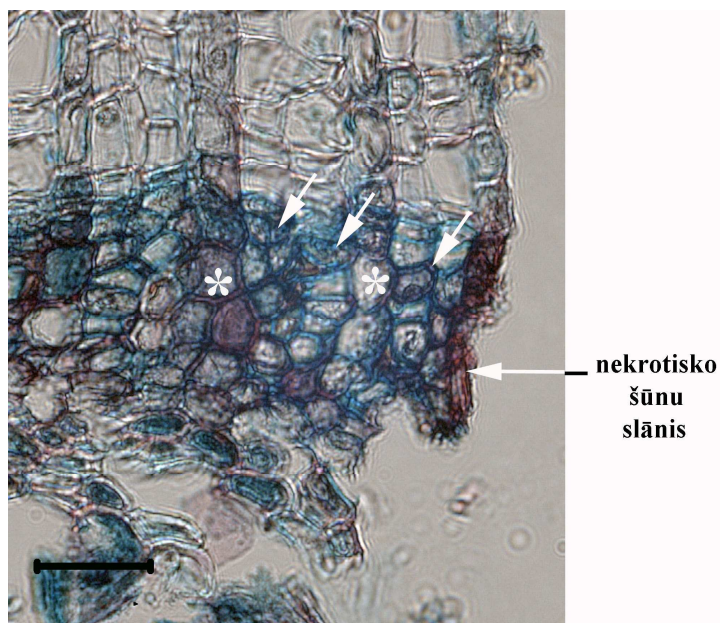


42. attēls. Jaunais kambijs (*) un koksnes vadaudu elementi (bultas) mūžzaļo rododendru šķirnes ‘Cunningham’s White’ potējumam 69. dienā pēc potēšanas. Nogrieznis atbilst 50 μm.

3.7. Vienlaicīga potējumu saaugšanas un rizoģenēzes procesa norise potējumiem uz neapsakņotiem dzinumu spraudņiem

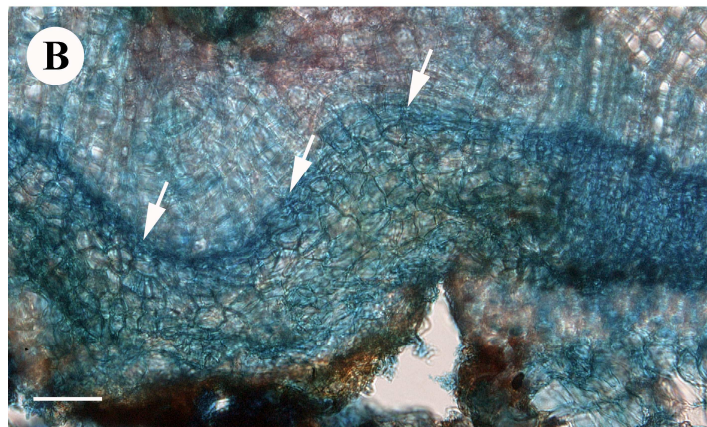
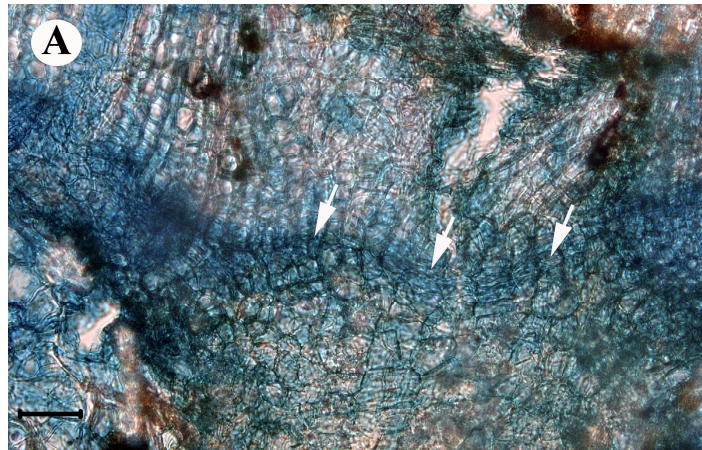
Vienlaicīga potējumu saaugšanas un rizoģenēzes procesa pētījumiem spraudņopotējumos par potcelmu izmantoja šķirnes ‘Cunningham’s White’ viengadīgus dzinumus, bet par potzaru – šķirnes ‘Catawbiense Grandiflorum’ viengadīgus dzinumus, kā potēšanas metodi izvēloties potēšanu sānu iegriezumā. Šūnas, kas potēšanas gaitā bija bojātas un saspīestas, veidoja nekrotisku šūnu slāni – to varēja novērot 2. dienā pēc potēšanas (43. attēls). Šādu slāni konstatēja potzaram un potcelmam potējuma vietā, kā arī potzara pamatnē. Kallusa veidošanos potējuma vietā varēja saskatīt 4. dienā pēc potēšanas un vēlāk arī potcelma pamatnē. Tas veidojās no lūksnes staru šūnām un kambija (43. attēls). Kallusa attīstība bija

vērojama gan potcelma pamatnē, gan starp potējuma partneriem, pakāpeniski aizpildot spraugu starp tiem.



43. attēls. Potenciālās kallusa veidošanās vietas no lūksnes staru (*) un kambija (bultas) mūžzaļo rododendru ‘Cunningham’s White’ / ‘Catawbiense Grandiflorum’ potējumam uz neapsakņota dzinuma spraudeņa 2. dienā pēc potēšanas / spraudeņošanas. Nogrieznis atbilst 30 μm.

Jauno kambiju, kas veidojās diferencējoties kallusa šūnām, varēja ieraudzīt 21. dienā pēc potēšanas, un jau 30. dienā starp potējuma partneriem bija izveidojies kambija tilts. Tā forma bija nedaudz izliekta vai S-veida (44. attēls).



44. attēls. Jaunais kambijs (bultas) starp potējumu partneru kambijiem mūžzaļo rododendru ‘Cunningham’s White’ / ‘Catawbiense Grandiflorum’ potējumiem uz neapsakņotiem dzinuma spraudeņiem.: A – izliekts kambijs 30. dienā pēc potēšanas / spraudeņošanas; B – S-veida kambijs 36. dienā pēc potēšanas / spraudeņošanas.

Nogrieznis atbilst A, B – 50 μm .

Vienlaicīgi 30. dienā pēc potēšanas/spraudeņošanas, varēja novērot arī adventīvo sakņu aizmetņu veidošanos no lūksnes staru šūnām (28. attēls). Savukārt adventīvās saknes aizmetni, kas jau šķērsoja spraudeņa ārējos audus, izdevās konstatēt 44. dienā pēc potēšanas (33. B attēls).

4. DISKUSIJA

Mūžzaļo rododendru viengadīga dzinuma uzbūve. Literatūrā ir atrodama informācija par mūžzaļo rododendru lūksnes (Jeremin, Boiko 1998) un koksnes (Merev, Yavuz 2000; Terzioğlu et al. 2001) uzbūvi, taču trūkst datu par mūžzaļo rododendru viengadīga dzinuma stumbra uzbūvi kopumā. Mūsu pētījumu rezultātā konstatēts, ka mūžzaļo rododendru viengadīgs dzinums sastāv no epidermas, mizas, lūksnes, kambija, sekundārās koksnes, primārās koksnes un serdes (13. attēls).

Pētītajām mūžzaļo rododendru šķirnēm līdzīgi kā daudziem citiem ēriku dzimtas augiem epidermu veido viens šūnu slānis (Jeremin, Boiko 1998). Lai gan rododendru ģints augiem ir raksturīgi dažādu veidu epidermas izaugumi (Cullen 2005), tikai vienai no apskatītajām šķirnēm – ‘Catawbiense Grandiflorum’ – konstatēti vienšūnas matiņi (14. attēls).

Par mūžzaļo rododendru mizas uzbūvi pastāv dažādi viedokļi. Konstatēts, ka Pontijas rododendram (*Rh. ponticum*) mizu veido tikai parenhīmas šūnas, kuras atšķiras pēc šūnapvalka biezuma – neliels daudzums šūnu ar relatīvi biezu šūnapvalku, starp kurām izvietotas lielas šūnas ar plāniem šūnapvalkiem (Strzelecka 2007). Pētījumos par ēriku dzimtas augu mizas īpatnībām secināts, ka mūžzaļajiem rododendriem mizu veido kolenhīma un mizas parenhīma, kas sastāv no parenhimatiskām šūnām ar hloroplastiem un idioblastiem (kalcija oksalāta kristālus saturošas šūnas) (Jeremin, Boiko 1998). Arī šajos pētījumos konstatēja kolenhīmu, mizas parenhīmas šūnas ar hloroplastiem, kā arī drūzas, taču iekšējo mizas slāni, kurā šūnas izkārtotas cieši cita pie citas, izdalīja kā endodermu (15., 16. attēls). Atkarībā no šūnapvalka uzbiezējuma veida kolenhīmu parasti iedala trīs tipos: stūru, plātņu un irdenajā kolenhīmā. Taču daži autori izdala arī ceturto tipu – ieapaļo kolenhīmu, kuras šūnapvalki uzbiezināti gandrīz vienmērīgi, tikai nedaudz vairāk šūnu stūros, kā rezultātā šķērsgriezumā redzami gandrīz apaļi šūnu dobumi (Evert 2006). Jeremins un Boiko (1998) savos pētījumos konstatējuši, ka Daurijas (*Rh. dauricum* L.), Pontijas (*Rh. ponticum*), Smirnova (*Rh. smirnowii*) u.c. mūžzaļajiem rododendriem ir raksturīga ieapaļā kolenhīma. Savukārt šajā pētījumā mūžzaļo rododendru kolenhīmas raksturošanai izmantoja klasisko iedalījumu, tāpēc pieskaitīja šos audus plātņu kolenhīmai. Terminoloģiskās atšķirības veidojas tāpēc, ka dažreiz ir grūti precīzi nodefinēt, kuram kolenhīmas tipam pieder konkrētie audi, jo vienam augam var būt sastopami vairāki kolenhīmas tipi, piemēram, *Delarbrea paradoxa* Vieill. stumbra

mizā atrodama gan plātņu, gan stūru-plātņu kolenhīma (Kolalite et al. 2003). Šādas grūtības varētu rasties arī gadījumos, kad stumbra attīstības laikā notiek pāreja no viena uz otru kolenhīmas tipu, piemēram, *Helianthus annuus* L. jaunajos stumbros ir stūru kolenhīma, bet vecākos stumbros tā kļūst par plātņu kolenhīmu (Trankovsky 1979).

Zem mizas seko lūksnes daļa, kuru pēc izcelsmes iedala primārajā un sekundārajā (Fahn 1990). No primārās lūksnes elementiem viengadīgā dzinumā novēroja sklerenhīmas gredzenu un saspīstus primārās lūksnes elementus (17. attēls), savukārt sekundārā lūksne mehāniskos audus nesaturēja – to veidoja sietstobri ar pavadītājšūnām un parenhīmas šūnas (17. attēls). Līdzīgas likumsakarības konstatētas arī citām mūžzaļo rododendru sugām (Jeremin, Boiko 1998). Visām pētītajām šķirnēm novēroja vienrindu un vairākrindu lūksnes starus, līdzīgi kā Pontijas (*Rh. ponticum*) un Smirnova (*Rh. smirnowii*) rododendram (Jeremin, Boiko 1998).

Spraudeņu pagatavošanas laikā viengadīgajiem dzinumiem kambiju veidoja divas šūnu kārtas (17. attēls).

Pētījumi par Turcijā augošo mūžzaļo Ungerna, Smirnova, Kaukāza un Pontijas rododendru (attiecīgi *Rh. ungerii* Trautv., *Rh. smirnovii*, *Rh. caucasicum* un *Rh. ponticum*) koksni liecina, ka tiem raksturīga difūzā koksne (Merev, Yavuz 2000) (sekundārā koksne, kurā traheju izmēri ir vairāk vai mazāk vienveidīgi, vai arī nedaudz mainās gadskārtas robežās (Fahn 1990)). Tā sastāv no trahejām, traheīdām, koksnes šķiedrām – libriforma (nedaudz), šķiedrveida traheīdām (daudz), koksnes parenhīmas un staru parenhīmas šūnām (Merev, Yavuz 2000; Terzioğlu et al. 2001). Savukārt Himalaju sugu – koka, pulkstenīšu, Valliča, trīsziedu un zvīņainā rododendra (attiecīgi *Rh. arboreum* Smith, *Rh. campanulatum* D. Don var. *wallichii* (Hook.f.) Hook. f., *Rh. triflorum* Hook. f., *Rh. lepidotum* Wall.) koksni veido trahejas, šķiedrveida traheīdas, koksnes parenhīma un staru parenhīmas šūnas (Suzuki, Ohba 1988). Starptautiskā Koksnes Anatomu Asociācija iesaka uzmanīgi lietot terminus „libriforms”, „šķiedrveida traheīda” un „īstās traheīdas”, jo nav vienprātības par to definīcijām (Wheeler et al. 1989). Mūsu pētījumos par mūžzaļo rododendru sekundāro koksni konstatēja šādus sekundārās koksnes elementus – trahejas, koksnes šķiedras, koksnes parenhīmu un koksnes staru parenhīmas šūnas (16. attēls). Atšķirībā no citiem pētījumiem par rododendru uzbūvi, šajā darbā izdalīja arī primāro koksni, ko veidoja traheīdas (18. attēls).

Savukārt serdi veidoja apaļas vai ovālas formas parenhīmas šūnas (18. attēls).

Līdzīga viengadīga dzinuma serdes uzbūve konstatēta arī Smirnova rododendram (*Rh. smirnowii*) (Tezgül Çakir et al. 2005).

Anatomiskās izmaiņas sprauņos to rizoģenēzes laikā. Anatomiskās izmaiņas, kas notiek sprauņos to rizoģenēzes laikā, ir saistītas ar:

- atbildes reakciju uz ievainojumu,
- adventīvo sakņu veidošanos,
- sekundāro augšanu.

Atbildes reakcija uz ievainojumu. Kokaugu atbildes reakcija uz ievainojumu parasti tiek pētīta intaktiem kokiem un atkarībā no ievainojuma dziļuma atšķiras arī atbildes reakcija (Stobbe et al. 2002). Ja ievainojums ir mizas daļā, tad vispirms veidojas ligno-suberinizēts slānis ap ievainojuma vietu, lai pasargātu nebojātos audus no ūdens zuduma un mikroorganismu iedarbības un tikai pēc tam notiek rētu peridermas veidošanās (Oven et al. 1999). Pētījumos par *Fagus sylvatica* L. un *Quercus robur* L. ievainojumiem koksne konstatēts, ka no kambija un staru šūnām gar ievainojuma malām notiek kallusa attīstība (Grünwald et al. 2002). Savukārt ābeļu potcelmu klona M.26 sprauņiem kallusa veidošanās novērota vienmēr neatkarīgi no ievainojuma dziļuma – atšķiras tikai audi, kas to veido. Ja iegriezums ir sekls un skar tikai mizu, tad kalluss veidojas no ārējās mizas daļas un fellogēna, bet dziļa iegriezuma un pamatnes iešķēluma gadījumā – gan no mizas šūnām, gan lūksnes un kambija (MacKenzie et al. 1988). Atbildes reakciju uz ievainojuma dziļumu vislabāk parādīja mūžzaļo rododendru šķirnes ‘Cunningham’s White’ dzinuma, vienpumpura sprauņu un sprauņpotējumu potcelmu pētījumi. Visiem sprauņu veidiem ievainojums mizas daļā parasti izsauca rētu peridermas veidošanos (20. attēls). Ievainojuma virsma vienpumpura sprauņiem bija visā sprauņa garumā, bet sprauņpotējumu potcelmiem – gandrīz visā tā garumā, tāpēc ievainojums skāra visus stumbra audus un līdzīgi kā pētījumos par *F. sylvatica* un *Q. robur* ievainojumiem koksne (Grünwald et al. 2002), kalluss veidojās no lūksnes staru šūnām un kambija (21. attēls). Savukārt dzinumu sprauņiem kalluss veidojās reti, jo anatomiskie pētījumi parādīja, ka tiem ievainojums parasti neskar kambiju, bet iesniedzas līdz sklerenhīmas gredzenam (19. attēls).

Mūsu pētījumos konstatēts, ka arī pārējo mūžzaļo rododendru šķirņu (‘Babītes Baltais’, ‘Ginta’ un ‘Lavanda’) vienpumpura sprauņiem kalluss veidojās no lūksnes staru parenhīmas un kambija šūnām. Atsevišķos gadījumos tas veidojās arī no mizas

šūnām (22. attēls) līdzīgi kā *P. taeda* (Hamann 1998). Šāda kallusa attīstība notika tikai tādā gadījumā, ja, pagatavojot spraudņus, bija skarta nākošā lapu pēda (22. attēls). Arī pētījumos par *P. sylvestris* potējumu saaugšanu konstatēts, ka īpaši aktīvi kallusu veido šūnas ap lapu un zaru pēdām (Dormling 1963). Šķirnes 'Lavanda' vienpumpura spraudņiem kalluss veidojās arī no serdes šūnām līdzīgi kā *Juglans regia* L. (Falasca et al. 2000) un no koksnes parenhīmas līdzīgi kā *Camellia sinensis* L. (Koyuncu, Balta 2004) (22. attēls).

Arī kallusa turpmākā attīstība visu pētīto mūžzaļo rododendru šķirņu vienpumpura spraudņiem bija līdzīga. Kallusa šūnām intensīvi daloties, notika tā augšana – veidojās makroskopiski saskatāms mezglveida formas izaugums (23. attēls). Attīstības gaitā kallusā veidojās koksnes elementi (24.–26. attēls), kambiji un periderma (26., 27. attēls) un 'Cunningham's White' vienpumpura spraudņiem arī mehāniskie audi – sklerenhīmas šķiedras (24. attēls). Pētījumos konstatēja, ka kallusā veidojas izliekts ievainojuma kambiji, kas bija kā turpinājums jau esošajam kambijam, un tā darbības rezultātā veidojās koksne un lūksne (26. attēls). Šāda kambija forma novērota arī ābeļu potcelmu M26 spraudņiem (MacKenzie et al. 1988). Koksnes vadaudu elementi kallusā veidojās kā joslas (24. attēls) vai kā koksnes ligzdas (25. attēls). Pētījumos par *P. sylvestris* hipokotilu spraudņiem *in vitro* izteikts pieņēmums, ka īsās traheīdas, kas veidojas tuvu kallusa virsmai, iespējams, nodrošina pastiprinātu ūdens un barības vielu uzņemšanu no barotnes (Grönroos, von Arnold 1985). Mūsu pētījuma rezultāti parādīja, ka arī koksnes ligzdas veidojās tuvu kallusa virsmai. Visticamāk tās nodrošina ūdens un barības vielu uzņemšanu, pirms jaunās adventīvās saknes ir sākušas pildīt savas funkcijas vai arī to vietā, ja rizoģenēzes process nenotiek kā, piemēram, šķirnei 'Ginta'. Eksperimentos iekļauto mūžzaļo rododendru šķirņu vienpumpura spraudņiem novēroja tikai tiešo rizoģenēzi, tādējādi literatūrā atrodamā informācija par koksnes ligzdu saistību ar adventīvo sakņu veidošanos (Grönroos, von Arnold 1985) neapstiprinājās.

Adventīvo sakņu veidošanās anatomiskais raksturojums. Rizoģenēzes anatomiskos pētījumus apgrūtinā vienotas terminoloģijas trūkums par adventīvo sakņu veidošanās sākuma posmiem. Tiek lietoti termini „saknes iniciālis” (Davies et al. 1982; Hamann 1998; Hartmann et al. 2002), „saknes meristēma” (Diaz-Sala et al. 1996; Greenwood et al. 2001), kā arī „meristemoīds” (Zhou et al. 1992; Altamura 1996; Ballester et al. 1999). Termins „meristemoīds” piemērotāks šķiet gadījumos, kad jaunā adventīvā sakne veidojas no kambija, jo sākotnēji kambija šūnu dalīšanās

notiek, veidojot šūnu kārtas (29. attēls). Tikai pēc tam mainās šūnu dalīšanās plakne, izveidojot viegli izliektu struktūru (Zhou et al. 1992). Termins „saknes iniciālis”, savukārt, labāk saprotams, ja sakne veidojas no lūksnes staru šūnām, jo, tām daloties, ātri izveidojas saknes iniciālim raksturīgā forma (28. attēls). Tā kā visām pētīto mūžzaļo rododendru šķirnēm, kurām novēroja rizoģenēzes procesu, adventīvās saknes galvenokārt veidojās no lūksnes staru šūnām (28. attēls), bet no kambija (29. attēls) – šķirnēm ‘Cunningham’s White’ un ‘Lavanda’, tad darba rezultātu aprakstam izmantoja terminu „saknes iniciālis”. Sakņu iniciāļu veidošanās no lūksnes staru šūnām vēl ir konstatēta arī *F. pumila* vienpumpura sprauņiem (Davies et al. 1982), bet no kambija – *Olea europaea* L. sprauņiem *in vitro* (Altamura 1996). Kaut arī literatūrā ir atrodama informācija par to, ka rododendriem sakņu iniciāļi veidojas no traheju tuvumā esošām šūnām (Leach 1961), mūsu pētījumos šis fakts neapstiprinājās. Pētījumi par ISS ietekmi uz šķirnes ‘Cunningham’s White’ dzinum sprauņņu rizoģenēzi parādīja, ka, neskatoties uz apstrādi ar augšanas stimulatoriem, tiešais rizoģenēzes process notiek līdzīgi gan kontroles, gan apstrādes variantam. No tā izriet, ka sprauņņu apstrāde ar ISS tieši neietekmē adventīvo sakņu veidošanās vietas. Pētījumi par *P. strobus* hipokotilu sprauņņiem atklāj līdzīgu tendenci, jo apstrāde ar naftiletiķskābi neietekmē adventīvo sakņu veidošanās vietas (Goldfarb et al. 1998).

Nākošais posms rizoģenēzes procesā ir sakņu aizmetņa veidošanās un tā augšana un attīstība. Adventīvās saknes aizmetnis veidojas šūnu antiklinālās un periklinālās dalīšanās rezultātā (Fahn 1990). Pāreja no saknes iniciāļa uz saknes aizmetni anatomiski ir grūti nosakāma. Saknes aizmetnis veidojās tādā apsākņošanās posmā, kurā saknes iniciāļa šūnu straujas dalīšanās rezultātā ir izveidojies izteikts izliekums, pārraujot sklerenhīmas šķiedru gredzenu (30. attēls). Kā parādīja mūsu anatomiskie pētījumi, mūžzaļajiem rododendriem lūksnes mehāniskie audi – sklerenhīmas gredzens – neietekmēja adventīvo sakņu veidošanos, jo saknes aizmetnis viegli šķērsoja šo barjeru. Līdzīgi rezultāti iegūti arī ar *F. pumila* un *Camellia sinensis* L. vienpumpura sprauņņiem (Davies et al. 1982; Koyuncu, Balta 2004). Lai veidotos funkcionējoša sakne, ir jāizveidojas vadaudu savienojumam starp sakni un sprauņņi (Pérez-Francés et al. 2001). Šādus vadaudus anatomiski izdevās konstatēt, kad saknes aizmetnis bija šķērsojis apmēram 2/3 no mizas (32. attēls). Pētījumi par adventīvo sakņu attīstību no *J. regia* dīgļlapu eksplantiem *in vitro* parāda, ka attīstoties saknes aizmetnim veidojas gan vadaudi, kas aizmetni saista ar dīgļlapas eksplanta vadaudu kūlīšiem, gan arī notiek saknes apikālās meristēmas

struktūras attīstība, līdz izveidojas visas saknes meristēmai raksturīgās sastāvdaļas (Ermel et al. 2000). Arī mūžzaļo rododendru sakņu aizmetņos konstatēta līdzīga likumsakarība (31. attēls). Altamura (Altamura et al. 1996) savos pētījumos par rizoģenēzes procesu *in vitro* konstatējis, ka ne visi sakņu meristemoīdi kļūst par sakņu aizmetņiem. Viņš secinājis, ka saknes aizmetņa augšanas laikā, iespējams, tiek kavēta pārējo saknes iniciāļu attīstība par saknes aizmetņiem, taču nav novērota ietekme uz saknes iniciāļu veidošanos. Mūsu iegūtie rezultāti neapstiprināja šo hipotēzi, jo vienā anatomiskajā griezumā vienlaicīgi varēja novērot vairāku saknes aizmetņu augšanu (30. attēls) līdzīgi kā ābeļu potcelmu M26 spraudējiem (Naija et al. 2008).

Netiešo rizoģenēzi konstatēja tikai vienam mūžzaļās rododendru šķirnes ‘Cunningham’s White’ ISS varianta dzinumam spraudenim (34. attēls). Mūsu pētījumā konstatētais kalluss anatomiski vairāk līdzinājās iekšējam kallusam, kuru definē kā nediferencētas šūnu rindas, kas veidojas daloties kambija šūnām un telpiski atrodas lūksnes un iekšējās mizas daļā (Zhou et al. 1992). Kallusa veidošanās vistīcamāk bija saistīta ar ievainojumu kambija slānī, kā rezultātā notika pastiprināta eksogēnā augsnes uzņemšana. Adventīvās saknes veidojās kallusā noteiktā attālumā no kambija (34. attēls), līdzīgi kā ābeļu potcelma ‘EMLA’ spraudējiem (Zhou et al. 1992). Iespējams, ka par signālu, kas izraisa adventīvo sakņu iniciāciju, var būt iekšējā kallusa augšanas rezultātā bojātās lūksnes un mizas šūnas (White, Lovell 1984). Šāds adventīvo sakņu veidošanās veids ir novērots arī *Hedera helix* L. (Lovell, White 1986) un *O. europaea* (Altamura 1996).

Rizoģenēzes process visiem spraudējiem nesākas vienlaicīgi, tādēļ pēc anatomiskajiem adventīvo sakņu veidošanās pētījumiem vien nevar precīzi noteikt rizoģenēzes posmus.

Peroksidāze kā rizoģenēzes fāzu marķieris. Bioķīmiskās analīzes un histoloģiskie novērojumi liecina, ka adventīvo sakņu veidošanos var iedalīt secīgās, neatkarīgās fizioloģiskajās fāzēs – indukcijas, iniciācijas un ekspresijas fāzē (Gaspar et al. 1997). Rizoģenēzes procesa pētījumi parāda, ka peroksidāzes aktivitātes izmaiņas var izmantot kā rizoģenēzes fāzu marķieri mikrospraudējiem (Gaspar et al. 1992). Minētā likumsakarība konstatēta dažādu augu spraudējiem, piemēram, *Elaeis guineensis* Jacq. (Rival et al. 1997), *Gardenia jasminoides* Ellis (Hatzilazarou et al. 2006), *Arbutus unedo* L. (Metaxas et al. 2004). Tā kā peroksidāzes aktivitātes izmaiņu saistību ar adventīvo sakņu veidošanos ir izdevies noteikt Katavbas rododendra *Rh. catawbiense* cv *album* spraudējiem *in vitro* (Aghmir et al. 1991 citēts pēc Gaspar et

al. 1994), tad pastāv iespēja, ka šādu likumsakarību var attiecināt arī uz mūžzaļo rododendru vienpumpura spraudeņiem. Parasti peroksidāzes aktivitātes izmaiņas pēta spraudeņu pamatnēs un tikai nedaudzos gadījumos ir mēģināts izsekot tās izmaiņām lapās (Fekete et al. 2002; Ludwig–Müller 2003). Pētījumos ar *Helichrysum stoechas* (L.) Moench spraudeņiem rizoģenēzes laikā konstatētas līdzīgas tendences peroksidāzes aktivitātes izmaiņām spraudeņu pamatnēs un lapās (Fekete et al. 2002). Tādēļ tika izvirzīta hipotēze, ka peroksidāzes aktivitātes izmaiņas, kas raksturīgas rizoģenēzes procesam un klasiski konstatējamas spraudeņu pamatnēs, varētu būt novērojamas arī vienpumpura spraudeņu lapās.

Rizoģenēzes laikā mūžzaļo rododendru šķirnes 'Babītes Baltais' vienpumpura spraudeņu pamatnēs un lapās variantam bez ISS bija vērojamas peroksidāzes aktivitātes izmaiņas, kas raksturīgas indukcijas un iniciācijas fāzei (35. A attēls) – indukcijas fāzi raksturoja peroksidāzes aktivitātes samazināšanās līdz minimumam ar sekojošu pieaugumu līdz maksimumam iniciācijas fāzē, kuras laikā mūžzaļo rododendru vienpumpura spraudeņiem konstatēja pirmo saknes iniciāļu veidošanos no lūksnes staru šūnām (28. B attēls). Ekspresijas fāzei raksturīga pakāpeniska peroksidāzes aktivitātes samazināšanās un saknes aizmetņu veidošanās un augšana (Gaspar et al. 1994), taču mūsu pētījumā ekspresijas fāzē varēja novērot tikai sākotnēju fermenta aktivitātes kritumu, kam sekoja tās pieaugums. Visticamāk tā notika tāpēc, ka iniciācijas fāzē norisinājās tikai pirmo sakņu iniciāļu veidošanās, bet ekspresijas fāzē vienlaicīgi noritēja gan adventīvo sakņu aizmetņu augšana un attīstība, gan arī turpinājās jaunu adventīvo sakņu iniciāļu veidošanās. Šāda likumsakarība, ka adventīvo sakņu veidošanās nenotiek sinhroni un vienam spraudenim adventīvās saknes var būt dažādās attīstības stadijās, novērota arī ābeļu potcelma MM106 mikrospraudeņiem (Naija et al. 2008). Vienpumpura spraudeņu pamatnēs un lapās variantam ar ISS nevarēja novērot rizoģenēzei raksturīgās peroksidāzes aktivitātes izmaiņas, un adventīvo sakņu veidošanos nekonstatēja līdz pat eksperimenta beigām. Tomēr šo spraudeņu pamatnēs novēroja divus peroksidāzes aktivitātes pīķus (35. B attēls). Pirmais pīķis, visticamāk, liecināja par palielinātu pielietotā rizoģenēzes stimulatora (ISS) koncentrāciju, kas kavēja apsakņošanās procesu. Pētījumos ar *P. contorta* hipokotilu spraudeņiem *in vitro* konstatēts, ka superoptimāla apstrāde ar ISS pāldzina meristemoīdu un sakņu attīstību un ka maksimālais sakņu skaits tiek iegūts vairāk nekā vienu mēnesi pēc spraudeņošanas (Grönroos, von Arnold 1987). Peroksidāzes aktivitātes straujš pieaugums ar sekojošu

kritumu konstatēts arī pētījumos ar ISS apstrādātiem *Ebenus cretica* spraudņiem (genotipam, kura spraudņiem nenotiek rizoģenēze) (Syros et al. 2004). Pētījuma autori izsaka pieņēmumu – tā kā pastāv apgriezta saistība starp auksīna daudzumu un specifisko peroksidāzes aktivitāti (Gaspar et al. 1994), tad šāda fermenta aktivitāte auksīna daudzumu audos samazina zem optimālā, kāds būtu nepieciešams adventīvo sakņu veidošanai (Syros et al. 2004). Iespējams, ka arī mūsu pētījumā fermenta aktivitātes pirmais pīķis liecina par intensīvu auksīna daudzuma samazināšanos spraudņa pamatnes audos. Savukārt otrais peroksidāzes pīķis ir saistāms ar intensīvu kallusa veidošanos. Līdzīga likumsakarība konstatēta arī *Grevillea rondeau* spraudņiem *in vitro* to rizoģenēzes laikā (Ludwig-Müller 2003).

Mūsu iegūtie rezultāti parādīja būtisku korelāciju ($r^2=0.714$, $P < 0.05$) starp peroksidāzes aktivitātes izmaiņām mūžzaļo rododendru šķirnes ‘Babītes Baltais’ vienpumpura spraudņu pamatnēs un lapās variantā bez ISS. Tādejādi apstiprinājās mūsu izvirzītā hipotēze par iespēju rizoģenēzes fāzu noteikšanai izmantot peroksidāzes aktivitātes izmaiņas vienpumpura spraudņu lapās.

Ciete kā rizoģenēzes fāzu marķieris. Literatūrā ir atrodami daudz dažādi dati par oglehidrātu nozīmi rizoģenēzes procesā, bet precīza to funkcija saistībā ar attīstības fāzēm vēl aizvien nav zināma (Klopotek et al. 2010). Pētījumi par cietes daudzuma izmaiņām rizoģenēzes laikā liecina, ka cietes uzkrāšanos varētu izmantot kā potenciālo bioķīmisko marķieri rizoģenēzes procesa raksturošanai (Li, Leung 2000). Arī vasarzaļo rododendru šķirnes ‘Polārzvaigzne’ pētījumos noskaidrots, ka cietes satura izmaiņas rizoģenēzes procesu raksturo labāk nekā kopējo šķīstošo cukuru daudzuma izmaiņas tajos (Apine, Kondratovičs 2005). Tāpēc mūsu pētījuma uzdevums bija noskaidrot, vai cietes daudzuma izmaiņas mūžzaļo rododendru šķirnes ‘Babītes Baltais’ vienpumpura spraudņu pamatnēs arī var izmantot kā rizoģenēzes fāzu marķieri (par pamatu pieņemot rizoģenēzes procesa iedalījumu fāzēs pēc peroksidāzes aktivitātes izmaiņām).

Vienpumpura spraudņiem variantā bez ISS cietes daudzums spraudņu pamatnēs pirmo dienu laikā kritās, līdzīgi kā *Pisum sativum* L. spraudņiem, kuriem arī konstatēta sākotnējā cietes daudzuma samazināšanās (Veierskov 1988). Iespējams, ka to izraisa atvārsnīšu aizvēršanās, kā rezultātā samazinās spraudņu spēja fiksēt CO₂ (Veierskov 1988). Nākošo 12 dienu laikā bija vērojama cietes daudzuma palielināšanās, ko neietekmēja arī pirmo sakņu iniciāļu veidošanās 9. dienā pēc spraudņošanas (28. un 36. attēls). Tikai vienlaicīgas sakņu aizmetņu augšanas un

attīstības laikā notiek strauja cietes daudzuma samazināšanās, jo cietes hidrolīze nodrošina nepieciešamo enerģijas daudzumu adventīvo sakņu augšanai (Hartmann et al. 2002). Arī histoloģiskie pētījumi apstiprina šo likumsakarību – *P. radiata* ISS varianta spraudņiem konstatēts, ka ciete vispirms sāk uzkrāties potenciālajās adventīvo sakņu veidošanās vietās vai blakus tām vēl pirms sakņu aizmetņu izveidošanās, bet sakņu attīstības laikā tā pakāpeniski izzūd (Li, Leung 2000). Savukārt vienpumpura spraudņu pamatnēs variantā ar ISS pakāpenisku cietes uzkrāšanos nekonstatēja (36. attēls), līdzīgi kā *Pinus banksiana* reproduktīvajā attīstības fāzē esošu koku spraudņiem (Haissig 1989), kuriem arī līdz eksperimenta beigām nenotika adventīvo sakņu veidošanās.

Mūsu pētījumā konstatētās cietes daudzuma izmaiņas vienpumpura spraudņu pamatnēs neatbilda rizoģenēzes fāzēm, kuras tika noteiktas pēc peroksidāzes aktivitātes izmaiņām. Tāpēc cietes daudzuma izmaiņas nevar izmantot kā rizoģenēzes fāzu marķieri.

Sekundārā augšana. Tā kā rizoģenēzes laikā spraudņiem bija optimāli vides apstākļi (mitrums, temperatūra, apgaismojums), tādejādi nodrošinot veģetācijas perioda nepārtrauktību, tad neatkarīgi no apstrādes varianta spraudņos notika sekundārā augšana – veidojās sekundārā koksne un lūksne, kā arī sekundārie segaudi – periderma (19. attēls). Arī Pontijas rododendra (*Rh. ponticum*) spraudņiem ir konstatēta sekundārās koksnes veidošanās neatkarīgi no apstrādes varianta – pēc piecām nedēļām bija izveidojušās piecas šūnu kārtas (Strzelecka 2007).

Anatomiskās izmaiņas potējumos to saaugšanas gaitā. Mūžzaļo rododendru potēšana vēl aizvien ir būtiska un efektīva veģetatīvās pavairošanas metode (Nawrocka-Grzeškowiak 2004b), kaut arī citas veģetatīvās pavairošanas metodes piedāvā plašas iespējas. Potēšana nodrošina to rododendru šķirņu pavairošanu, kuru spraudņiem ir vāja apsakņošanās spēja, bet kam piemīt citas svarīgas īpašības un kas ir komerciāli pieprasītas. Pēc literatūras datiem un prakses ir zināms, ka sekmīgai potējumu saaugšanai nepieciešams precīzi savienot potcelma un potzara kambijus, bet trūkst datu par to, kā potējuma saaugšanu ietekmē attālums starp saderīgiem potējuma partneriem. Lai precīzāk varētu novērot potējumu saaugšanas anatomiju, kā potcelmu izmantoja šķirni ‘Cunningham’s White’, kuru uzskata par vienu no labākajiem potcelmiem (Nawrocka-Grzeškowiak 2004b). Par potzaru izvēlējās šīs pašas šķirnes viengadīgu dzinumu, lai nodrošinātu audu saderību.

Mūžzaļo rododendru un citu kokaugu potējumu saaugšanas gaita ir līdzīga. Nekrotiskā šūnu slāņa veidošanās uz potējuma partneru griezumu virsmas ir pirmā novērojamā reakcija pēc potējuma pagatavošanas (37. attēls). Potējuma saaugšanas gaitā šis slānis, kambija un lūksnes rajonā, kļūst plānāks, līdz pazūd pavisam. Līdzīga likumsakarība ir novērota pētījumos par *Pyrus communis* L. šķirnes 'Bosc' mikropotējumiem uz *Cydonia oblonga* Mill. klonā 'East Malling C' potcelmiem, kuriem nekrotiskais slānis pazuda 20 dienu laikā vai arī to pārrāva abu potējuma partneru veidotās kallusa šūnas (Espen et al. 2005). Nākošais potējuma saaugšanas posms ir kallusa veidošanās no dzīvām nebojātām parenhīmas šūnām un/vai no kambija šūnām (Hartmann et al. 2002). Kalluss potējuma partneriem var veidoties no dažādiem audiem un ar dažādu dalīšanās intensitāti (Dormling 1963). Mūžzaļajiem rododendriem kalluss veidojas no kambija un no lūksnes staru šūnām (38. attēls). Kallusa veidošanās no lūksnes staru šūnām ir novērota arī citiem augiem, piemēram, *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco (Copes 1969), *P. sitchensis* (Miller, Barnett 1993a), *J. regia* (Rongting, Pinghai 1990). Par kambija nozīmi kallusa izcelsmē pastāv dažādi viedokļi. Pētījumos par augļu koku potējumiem konstatēts, ka kambijam ir būtiska nozīme kallusa veidošanā (Fujii, Nito 1972), bet citu autoru darbos parādās informācija, ka sākotnējā kallusa veidošanā kambijam ir neliela nozīme (Copes 1969) vai arī tās nav nemaz (Sharples, Gunnery 1933 citēts pēc Larson 1994). Kalluss var veidoties arī no koksnes staru šūnām *P. sylvestris* (Dormling 1963) un ābelēm (Soumelidou et al. 1994) un serdes šūnām *Ginkgo biloba* L. (Yang et al. 1995), taču mūžzaļo rododendru potējumiem šādu sakarību nekonstatēja. Laiks, kas nepieciešams, lai sāktos kallusa šūnu veidošanās, ir atkarīgs no augu sugas, potēšanas tehnikas un vides apstākļiem potējumu saaugšanas laikā (Miller, Barnett 1993a). Mūžzaļajiem rododendriem kallusa veidošanos novēroja 6. dienā pēc potēšanas, savukārt, *Pinus elliottii* Engelm. kalluss veidojies 2.–3. dienā (Mergen 1954), *P. menziesii* (Copes 1969) un *J. regia* (Rongting, Pinghai 1990) 5–7 dienā pēc potēšanas. Mūžzaļajiem rododendriem kalluss turpināja augt un attīstīties gan no potcelma, gan potzara puses, līdz aizpildīja spraugu starp potējuma partneriem, izveidojot kallusa tiltu. Koksnes vadaudu elementi veidojas no kallusa šūnām (39. attēls), līdzīgi kā *P. sitchensis* (Weatherhead, Barnett 1986) un ābelēm (Soumelidou et al. 1994). Iespējams, ka šie koksnes elementi piedalās ūdens transportā caur potējuma vietu (Weatherhead, Barnett 1986), bet tikpat labi šiem koksnes elementiem var nebūt specifisku funkciju un tie veidojas auksīna un barības vielu ietekmē (Soumelidou et

al. 1994). Jaunā kambija attīstība no kallusa tilta starp potējuma partneriem ir viens no nozīmīgākajiem posmiem potējumu saaugšanas gaitā. Mūžzaļajiem rododendriem pilnīgi izveidotu jauno kambiju pirmo reizi eksperimenta gaitā konstatēja 18. dienā pēc potēšanas, savukārt *J. regia* tas konstatēts 15. dienā (Rongting, Pinghai 1990), *P. menziesii* – 17. dienā (Copes 1969), *P. sylvestris* – 21. dienā (Dormling 1963) pēc potēšanas. Jaunā kambija forma ir atkarīga no potējuma partneru savienošanas precizitātes. Ja savienojums ir bijis veiksmīgs, tad jaunais kambijs bija nedaudz izliekts vai S-veida (40. attēls). Visticamāk, ka šo formu nosaka signāli, kas plūst no viena potējuma partnera kambija uz otru (Soumelidou et al. 1994). Būtiska nozīme sekmīgā potējumu saaugšanas procesā ir attālumam starp potējuma partneriem. Vāja potējuma gadījumā, ja starp potcelmu un potzaru bija palicis salīdzinoši liels attālums, jaunais kambija slānis attīstījās gan starp potējuma partneru kambijiem, gan arī starp to serdēm (41. attēls). Nav īsti skaidra šī kambija funkcija, bet visticamāk, ka koksnes elementi (42. attēls), kas šajā rajonā ir veidojušies gan tieši no kallusa, gan jaunā kambija darbības rezultātā, nodrošina papildus mehānisko izturību.

Vienlaicīga potējumu saaugšanas un rizoģenēzes procesa norise spraudņpotējumiem. Mūžzaļajiem rododendriem potēšana uz neapsakņotiem dzinumu spraudņiem pirmo reizi aprakstīta 1967. gadā (Eichelser 1967). Autors to ieteica izmantot gadījumos, kuros par potzaru izmantojamās rododendru šķirnes spraudņi slikti apsakņojas. Kopš tā laika šī metode rododendru pavairošanā ir ieguvusi komerciālu pielietojumu, tomēr literatūrā nav atrodami dati par vienlaicīgas potējumu saaugšanas un apsakņošanās anatomiskajiem pētījumiem. Šādi pētījumi ir būtiski, lai konstatētu, vai pastāv anatomiskas atšķirības potējumu saaugšanas un adventīvo sakņu attīstības gaitā starp spraudņpotējumiem un klasiskiem potējumiem un spraudņiem. Par potcelmu izvēlējās šķirnes ‘Cunningham’s White’ viengadīgu dzinumu, jo bija veikti pētījumi par šīs šķirnes rizoģenēzes un potējumu saaugšanas anatomiju, bet par potzaru ņēma šķirnes ‘Catawbiense Grandiflorum’ viengadīgu dzinumu, kura anatomiskās atšķirības – epidermas matiņi – nodrošināja potzara anatomisko atpazīšanu.

Potējumu saaugšanas gaitā konstatēja visus sekmīgai potējuma saaugšanai raksturīgos posmus – nekrotiskā šūnu slāņa parādīšanos (43. attēls), kallusa un kallusa tilta veidošanos, jaunā kambija izveidošanos kallusa tiltā starp potējuma partneriem (44. attēls) un sekmīgu tā darbību – sekundāras koksnes un lūksnes veidošanu. Atšķirības starp klasiskajiem potējumiem un potējumiem uz neapsakņotiem

dzinumiem novērojamas saaugšanas ilgumā, bet ne secībā. Nekrotiskā slāņa un kallusa veidošanās notiek līdzīgi, jo šie procesi ir atbildes reakcija uz ievainojumu (Moore, Walker 1981). Savukārt jaunā kambija veidošanās starp potējuma partneriem atšķiras par 12 dienām – klasiskajiem potējumiem to pirmo reizi izdevās ieraudzīt 18. dienā pēc potēšanas, bet spraudņpotējumiem – 30. dienā. Lēnāka potējuma saaugšana spraudņpotējumiem notika tāpēc, ka potcelmam atšķirībā no klasiskiem mūžzaļo rododendru potējumiem nav sakņu, kā arī potējuma partneri bija no dažādām šķirnēm. Rizoģenēzes process arī notika līdzīgi kā dzinumu un vienpumpura spraudņiem, tikai saknes iniciāļu veidošanās sākās brīdī, kad potējumiem jau bija izveidojies jaunais kambijs – 30. dienā pēc spraudņošanas (28. C attēls). Turpmākā adventīvo sakņu veidošanās notika tikpat strauji kā dzinumu spraudņiem – saknes aizmetņi šķērsoja spraudņa ārējos audus 14 dienas pēc sakņu iniciāļu izveidošanās (33. attēls). Iegūtie rezultāti parādīja, ka spraudņpotējumiem potējumu saaugšana un rizoģenēzes notiek pēc klasiskās shēmas, taču laika ziņā abi procesi nenorit vienlaicīgi – vispirms notiek potējumu saaugšana un tikai pēc tam seko rizoģenēze.

SECINĀJUMI

1. Mūžzaļo rododendru viengadīgu dzinumu veido epiderma, miza (to detalizētāk iedala plātņu kolenhīmā, mizas parenhīmā un endodermā), lūksne, kambijs, sekundārā koksne, primārā koksne un serde.
2. Mūžzaļo rododendru spraudeņiem adventīvās saknes veidojas tiešajā rizoģenēzē no lūksnes staru un kambija šūnām.
3. Rizoģenēzes laikā notiek spraudeņu sekundārā augšana – sekundārās koksnes un lūksnes, kā arī sekundāro segaudu – peridermas veidošanās.
4. Rizoģenēze un kallusa veidošanās process vienpumpura spraudeņiem ar lapu notiek vienlaicīgi, taču neatkarīgi viens no otra.
5. Pēc peroksidāzes aktivitātes izmaiņām mūžzaļo rododendru šķirnes ‘Babītes Baltais’ vienpumpura spraudeņu ar lapu pamatnēs varianatam bez ISS rizoģenēzes procesu var iedalīt trīs fāzēs: indukcijas, iniciācijas un ekspresijas fāzē. Pastāv būtiska korelācija starp peroksidāzes aktivitāti spraudeņu pamatnēs un lapās, tāpēc vienpumpura spraudeņiem ar lapu šī fermenta aktivitātes izmaiņas lapās var izmantot kā rizoģenēzes fāzu marķieri.
6. Cietes daudzuma izmaiņas nevar izmantot kā rizoģenēzes fāzu marķieri, jo tās neatbilst rizoģenēzes fāzēm, kas noteiktas pēc peroksidāzes aktivitātes izmaiņām mūžzaļo rododendru šķirnes ‘Babītes Baltais’ vienpumpura spraudeņu ar lapu pamatnēs varianatam bez ISS.
7. Mūžzaļo rododendru šķirnes ‘Cunningham’s White’ potējumu saaugšanas gaitā konstatēti šādi posmi: nekrotiskā šūnu slāņa rašanās, kallusa un kallusa tilta veidošanās, jaunā kambija izveidošanās kallusā tiltā starp potējuma partneriem un sekmīga tā darbība – koksnes un lūksnes veidošana.
8. Vāja potējumu partneru kontakta gadījumā kambijs veidojas arī starp to serdēm, tādējādi palielinot saaugšanas iespējas un no tā veidojoties koksnes vadaudiem – arī potējuma mehānisko izturību.
9. Potējumiem uz neapsakņotiem dzinumu spraudeņiem (spraudeņpotējumiem) potējumu saaugšana un rizoģenēze notiek pēc rododendriem raksturīgās shēmas, taču abi procesi nenorit vienlaicīgi – vispirms notiek potējumu saaugšana un tikai pēc tam rizoģenēze.

LITERATŪRAS SARAKSTS

- Ackerman A., Gilad S., Mechnik B., Shchori Y., Ben-Jaacov J. 1997. "Cutting grafts" for *Leucospermum* and *Leucadendron* – a method for quick propagation by simultaneous rooting and grafting. *Proc. Fourth Int. Protea Symp.* 453: 15–27.
- Adams M.B., Allen H.L., Davey C.B. 1986. Accumulation of starch in roots and foliage of loblolly pine (*Pinus taeda* L.): effects of season, site and fertilization. *Tree Physiol.* 2: 35–46.
- Aghmir A., Kevers C., Hausmann J.F., Gaspar T. 1991. Peroxidases, compartimentation cellulaire et enracinement in vitro de pousses de *Rhododendron catawbiense* Michaux cv. *album*. *Arch. Intern. Physiol. Bioch.* 99: 9.
- Ahkami A.H., Lischewski S., Haensch K.T., Porfirova S., Hofmann J., Rolletschek H., Melzer M., Franken P., Hause B., Druege U., Hajirezaei M.R. 2009. Molecular physiology of adventitious root formation in *Petunia hybrida* cuttings: involvement of wound response and primary metabolism. *New Phytol.* 181: 613–25.
- Albrecht H.J., Sommer R. 1991. *Rhododendron*. Deutscher Landwirtschaftsverlag, Berlin. S 308.
- Altamura M.M. 1996. Root histogenesis in herbaceous and woody explants cultured *in vitro*. A critical review. *Agronomie* 16: 589–602.
- Amissah J.N., Paolillo D.J., Bassuk N. 2008. Adventitious root formation in stem cuttings of *Quercus bicolor* and *Quercus macrocarpa* and its relationship to stem anatomy *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 133: 479–486.
- Andersen A.S. 1986. Environmental influences on adventitious rooting in cuttings of non-woody species. In: Jackson M.B. (eds) *New Root Formation in Plants and Cuttings*. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht. pp. 223–253.
- Andersone U., Ievinsh G. 2002. Changes of morphogenic competence in mature *Pinus sylvestris* L. buds *in vitro*. *Ann. Bot.* 90: 293–298.
- Apine I., Kondratovics U. 2005. Effect of environmental factors on the propagation of deciduous azalea by cuttings. II. Influence of an extended growth period on bud-break, overwinter survival and carbohydrate levels of rooted cuttings. *Acta Universitatis Latviensis.* 691: 41–50.

- Ballester A., San-José M.C., Vidal N., Fernández-Lorenzo J.L., Vieitez A.M. 1999. Anatomical and biochemical events during *in vitro* rooting of microcuttings from juvenile and mature phases of chestnut. *Ann. Bot.* 83: 619–629.
- Bärtels A. 1982. *Rozmnażanie drzew i krzewow ozdobnych*. PWRiL, Warszawa. 436 p. (in Polish)
- Beck C.B. 2005. *An introduction to plant structure and development: plant anatomy for the twenty-first century*. Cambridge University Press, Cambridge. 464 p.
- Beeson R.C.Jr. 1996. Composted yard waste as a component of container substrates. *J. Environ. Hort.* 14: 115–121.
- Berg J., Heft L. 1991. *Rhododendron und immergrüne Laubgehölze*. Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart. 303 S.
- Blakesley D., Weston G.D., Elliot M.C. 1991. Endogenous levels of indole-3-acetic acid and abscisic acid during the rooting of *Cotinus coggygia* cuttings taken at different times of the year. *Plant Growth Regul.* 10: 1–12.
- Bojarczuk K. 1984. Effect of external factors and some chemical compounds on rooting of rhododendron cuttings. *Arboretum Kornickie* 29: 143–169. (in Polish)
- Bonnett H. T., Torrey J. G. 1966. Comparative anatomy of endogenous bud and lateral root formation in *Convolvulus arvensis* roots culture *in vitro*. *Am. J. Bot.* 53: 496–507.
- Braun H. J. 1959. Die normalen Verwachsungsvorgänge nach Propfung von Laubbaumen H. Die Verfahren des seitlichen Anplattens und der Kopulation. *Zeit. Bot.* 47: 145–166.
- Braune W., Leman A., Taubert H. 1999. *Pflanzenanatomisches Praktikum I*. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin. 368 S.
- Bruce S.E., Rowe D.B., Flore J.A. 2001. Chlorophyll fluorescence and vegetative propagation of *Taxus*. *Hort. Sci.* 36: 971–975.
- Bumbura M., Jaudzeme V., Muižarāja E., Pētersone A. 1967. Augu morfoloģija un anatomija. Zvaigzne, Rīga. 507 lpp.
- Cameron R., Harrison-Murray R., Fordham M., Judd H., Ford Y., Marks T., Edmondson R. 2003. Rooting cuttings of *Syringa vulgaris* cv. Charles Joly and *Corylus avellana* cv. Aurea: the influence of stock plant pruning and shoot growth. *Trees* 17: 451–462.

- Chamberlain D.F., Hyam R., Argent G., Fairweather G., Walter K.S. 1996. *The genus Rhododendron: its classification and synonymy*. Royal Botanic Garden Edinburgh, Edinburgh. 181 p.
- Copes D. 1969. Graft union formation in Douglas-Fir. *Am. J. Bot.* 56: 285–289.
- Cullen J. 2005. *Hardy Rhododendron species: a guide to identification*. Timber Press Inc., Portland, Oregon. 496 p.
- Czekalski M. 1981. Ukorzenianie sadzonek zimozielonych w warunkach ekstensywnych. *Ogrodnictwo* 12: 229–301. (in Polish)
- Czekalski M. 1988. Propagation of *Rhododendron maximum* and *Rhododendron smirnowii* by stem cuttings. *Acta Hort.* 226: 573–576.
- Czekalski M. 1996. Postęp w rozmnażaniu różanecznika olbrzymiego przez sadzonki pędowe. *Erica, Rocznik Roślin Wrzosowatych* 7: 35–44. (in Polish)
- Davies F.T.Jr., Lazarte J.E., Joiner J.N. 1982. Initiation and development of roots in juvenile and mature leaf bud cuttings of *Ficus pumila* L. *Am. J. Bot.* 69: 804–811.
- Davis T.D., Potter J.R. 1983. Effect of localized etiolation of stock plants on rooting of *Rhododendron* cuttings. *J. Env. Hort.* 1: 96–98.
- Davis T.D., Potter J.R. 1987. Physiological response of rhododendron cuttings to different light levels during rooting. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 112: 256–259.
- Davis T.D. 1988. Photosynthesis during adventitious rooting. In: Davis T.D., Haissig B.E., Sankhla N. (eds) *Adventitious rootformation in cuttings*. Dioscorides Press, Portland. pp. 79–87.
- Dawson J.H. 1988. Probing structure-function relations in hemecontaining oxygenases and peroxidases. *Science* 240: 433–439.
- De Klerk G., Van der Krieken W., De Jong J.C. 1999. Review: the formation of adventitious roots, new concepts, new possibilities. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant* 35: 188–189.
- Diaz-Sala C., Hutchison K., Goldfarb B., Greenwood M.S. 1996. Maturation-related loss in rooting competence by loblolly pine stem cuttings: The role of auxin transport, metabolism and tissue sensitivity. *Physiol. Plant.* 97: 481–490.
- Dickison W. C. 2000. *Integrative Plant Anatomy*. Academic Press, San Diego. 533 p.
- Dirr M.A., Heuser C.W.Jr. 1987. *The reference manual of woody plant propagation: from seed to tissue culture*. Varsity Press, Athens. 239 p.

- Dormling I. 1963. Anatomical and histological examination of the union of scion and stock in grafts of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) and Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.). *Studia For. Suec.* 13: 1–136.
- Doud S.L., Carlson R.F. 1977. Effects of etiolation, stem anatomy and starch reserves of root initiation of layered *Malus* clones. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 102: 487–491.
- Eichelser J. 1967. Simultaneous grafting and rooting techniques as applied to rhododendrons. *Proc. Intern. Plant Prop. Soc.* 17: 112.
- Edwards R.A., Thomas M.B. 1980. Observations on physical barriers to root formation in cuttings. *Plant Prop.* 26: 6–8.
- Errea P., Felipe A., Herrero M. 1994. Graft establishment between compatible and incompatible *Prunus* spp. *J. Exp. Bot.* 45: 393–401.
- Errea P., Garay J., Marin A. 2001. Early detection of graft incompatibility in apricot (*Prunus armeniaca* L.) using *in vitro* techniques. *Physiol. Plant.* 112: 135–141.
- Ermel F.F., Kervella J., Catesson A.M., Poessel J.L. 1999. Localized graft incompatibility in pear/quince (*Pyrus communis*/*Cydonia oblonga*) combinations: multivariate analysis of histological data from 5-month-old grafts. *Tree Physiol.* 19: 645–654.
- Ermel F.F., Vizoso S., Charpentier J. P., Jay-Allemand C., Catesson A. M., Couée I. 2000. Mechanisms of primordium formation during adventitious root development from walnut cotyledon explants. *Planta* 211: 563–574.
- Espen L., Cocucci M., Sacchi G.A. 2005. Differentiation and functional connection of vascular elements in compatible and incompatible pear/quince internode micrografts. *Tree Physiol.* 25: 1419–1425.
- Evert R.F. 2006. *Esau's Plant Anatomy 3rd ed.* John Wiley & Sons Inc., New Jersey. 601 p.
- Falasca G., Reverberi M., Lauri P., Caboni E., De Stradis A., Altamura M.M. 2000. How *Agrobacterium rhizogenes* triggers *de novo* root formation in a recalcitrant woody plant: an integrated histological, ultrastructural and molecular analysis. *New Phytol.* 45: 77–93.
- Fahn A. 1990. *Plant Anatomy. 4th ed.* Pergamon Press, Oxford. 588 p.
- Fekete S., Mándy A., Stefanovits-Bányai E. 2002. Change of peroxidase enzyme activities in annual cuttings during rooting. Proceedings of the 7th Hungarian Congress on Plant Physiology. *Acta Biol. Szegediensis* 46: 29–31.

- Fernandez-Garcia N., Carvajal M., Olmos E. 2004. Graft union formation in tomato plants: peroxidase and catalase involvement. *Ann. Bot.* 93: 53–60.
- Ford Y.Y., Bonham E.C., Cameron P.S., Blake H.L. 2001. Adventitious rooting: examining the role of auxin in an easy and a difficult-to-root plant. *Plant Growth Regul.* 36: 149–159.
- French C.J. 1983. Stimulation of rooting in rhododendrons by increasing natural day length with low intensity lighting. *Hort.Sci.* 18: 88–89.
- Friml J., Palme K. 2002. Polar auxin transport – old questions and new concepts? *Plant Mol. Biol.* 49: 273–284.
- Fujii T., Nito N. 1972. Studies on the compatibility of grafting fruit trees I. Callus fusion between the rootstock and scion. *J. Jap. Soc. Hort. Sci.* 41: 1–10.
- Garner R.J. 1990. *The Grafter 's Handbook*. 5th ed. Cassel, London. 323 p.
- Gaspar T., Kevers C., Hausman J.F., Berthon J.Y., Ripetti V. 1992. Practical use of peroxidase activity as a predictive marker of rooting performance of micropropagated shoots. *Agronomie* 12: 757–65.
- Gaspar T., Kevers Cl., Hausman J.Fr., Ripetti V. 1994. Peroxidase activity and endogenous free auxin during adventitious root formation. In: Lumsden P.J., Nicholas L.R., Davies W.J. (eds) *Physiology, Growth and Development of Plants in Culture*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. pp. 289–298.
- Gaspar T., Penel C., Greppin H. 1997. Do rooting induction and flowering evocation involve a similar interplay between indoleacetic acid, putrescine and peroxidases? In: Greppin H., Penel C., Simon P. (eds) *Traveling Shot on Plant Development*. University of Geneva Geneva. pp. 35–49.
- Girouard R.M. 1967. Initiation and development of adventitious roots in stem cuttings of *Hedera helix*. *Can. J. Bot.* 45: 1877–1883.
- Goldfarb B., Hackett W.P., Furnier G.R., Mohn C.A., Plietzsch A. 1998. Adventitious root initiation in hypocotyl and epicotyl cuttings of eastern white pine (*Pinus strobus*) seedlings. *Physiol. Plant.* 102: 513–522.
- Goreau T. 1980. Rhododendron propagation. *Proc. Intl. Plant Prop. Soc.* 30: 532–537.
- Greenwood M., Weir R. 1994. Genetic variation in rooting ability of loblolly pine cuttings: effect of auxin and family on rooting by hypocotil cuttings. *Tree Physiol.* 15: 41–45.

- Greenwood M.S., Cui X., Xu F. 2001. Response to auxin changes during maturation-related loss of adventitious rooting competence in loblolly pine (*Pinus taeda*) stem cuttings. *Physiol. Plant.* 111: 373–380.
- Grönroos R., von Arnold. S. 1985. Initiation and development of wound tissue and roots on hypocotyl cuttings of *Pinus sylvestris* *in vitro*. *Physiol. Plant.* 64: 393–401.
- Grönroos R., von Arnold S. 1987. Initiation of roots on hypocotyl cuttings of *Pinus contorta* *in vitro*. *Physiol. Plant.* 69: 227–236.
- Grünwald C., Stobbe H., Schmitt U. 2002. Entwicklungsstufen der seitlichen Wundüberwallung von Laubgehölzen. *Forstwissenschaftliches Centralblatt.* 121: 50–58.
- Haissig B.E. 1989. Carbohydrate relations during propagation of cuttings from sexually mature *Pinus banksiana* trees. *Tree Physiol.* 5: 319–328.
- Hamann A. 1998. Adventitious root formation in cuttings of loblolly pine (*Pinus taeda* L): developmental sequence and effects of maturation. *Trees* 12: 175–180.
- Hansen J., Eriksen E.N. 1974. Root formation of pea cuttings in relation to irradiance of the stock plants. *Physiol. Plant.* 32: 170–173.
- Hansen O.B., Potter J.R. 1997. Rooting of apple, rhododendron, and mountain laurel cuttings from stock plants etiolated under two temperatures. *Hort. Sci.* 32: 304–306.
- Harbage J.F., Stimart D.P., Evert R.F. 1993. Anatomy of adventitious root formation in microcuttings of *Malus domestica* Borkh. 'Gala'. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 118: 680–688.
- Hartmann H.T., Kester D.E., Davies F.T., Geneve R.L. 2002. *Plant propagation: principles and practice.* 7 th ed. Prentice Hall, New Jersey. 880 p.
- Hatzilazarou S.P., Syros T.D., Yupsanis T.A., Bosabalidis A.M., Economou A.S. 2006. Peroxidases, lignin and anatomy during *in vitro* and *ex vitro* rooting of gardenia (*Gardenia jasminoides* Ellis) microshoots. *J. Plant Physiol.* 163: 827–836.
- Herrero J. 1951. Studies of compatible and incompatible graft combinations with special reference to hardy fruit trees. *J. Hort. Sci.* 26: 186–237.
- Heywood V.H. (eds). 1978. *Flowering plants of the world.* Oxford University Press, Oxford. 335 p.

- Hieke K. 1981. Stecklingsvermehrung von Rhododendren. *Deutsche Baumschule* 3: 112–114.
- Holt T.A., Maynard B.K., Johanson W.A. 1998. Low pH enhances rooting of stem cuttings of rhododendron in subirrigation. *J. Env. Hort.* 16: 4–7.
- Husen A. 2008. Clonal propagation of *Dalbergia sissoo* Roxb. and associated metabolic changes during adventitious root primordium development. *New Forest.* 35: 13–27.
- Husen A., Pal M. 2007. Metabolic changes during adventitious root primordium development in *Tectona grandis* Linn. f. (teak) cuttings as affected by age of donor plants and auxin (IBA and NAA) treatment. *New Forest.* 33: 309–323.
- Jarvis B.C. 1986. Endogenous control of adventitious rooting in non-woody cuttings. In: Jackson M.B. (ed.). *New Root Formation in Plants and Cuttings*. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht. pp. 191–222.
- Jefree C.E., Yeoman M.M. 1983. Development of intercellular connections between opposing cells in a graft union. *New Phytol.* 93: 491–509.
- Jeremin V.M., Boiko V.I. 1998. Bark anatomy of the stem in some species of the Ericaceae. *Bot. Zhurn.* 83: 1–15. (in Russian)
- Keren-Keiserman A., Tanami Z., Shoseyov O., Ginzberg I. 2004. Peroxidase activity associated with suberization processes of the muskmelon (*Cucumis melo*) rind. *Physiol. Plant.* 121: 141–148.
- Kibbler H., Johnston M.E., Williams R.R. 2004. Adventitious root formation in cuttings of *Backhousia citriodora* F. Muell 2. Seasonal influences of temperature, rainfall, flowering and auxins on the stock plant. *Sci. Hort.* 102: 343–358.
- Kitin P., Funada R., Sano Y., Ohtani J. 2000. Analysis by confocal microscopy of the cambium in the hardwood *Kalopanax pictus*. *Ann. Bot.* 86: 1109–1117.
- Klopotek Y., Haensch K.T., Hause B., Hajirezaei M.R., Druege U. 2010. Dark exposure of petunia cuttings strongly improves adventitious root formation and enhances carbohydrate availability during rooting in the light. *J. Plant Physiol.* 167: 547–554.
- Kolalite M.R., Oskolski A.A., Richter H.G., Schmitt U. 2003. Bark anatomy and intercellular canals in the stem of *Delarbraea paradoxa* (Araliaceae). *IAWA J.* 24: 139–154.

- Kollmann R., Yang S., Glockmann C. 1985. Studies on graft unions. II. Continuous and half plasmodesmata in different regions of the graft interface. *Protoplasma* 126: 19–29.
- Kollmann R., Glockmann C. 1991. Studies on graft unions. III. On the mechanism of secondary formation of plasmodesmata at the graft interface. *Protoplasma* 165: 71–85.
- Komissarov D.A. 1964. The biological basis of reproduction of woody plants from cuttings. Lesnaya promyshlennost, Moscow. 289 p. (in Russian)
- Kondratoviča G. 1981. *Augšanas stimulatoru – indolilētiķskābes un – indolilsviestskābes ietekme uz rododendru spraudeņu apsākņošanas*. Diplomdarbs. Rīga. 115 lpp.
- Kondratovičs R. 1978. *Rododendri*. Liesma, Rīga. 180 lpp.
- Kondratovičs R. 2005. *Rododendri un to selekcija Latvijā*. LU Akadēmiskais apgāds, Rīga. 102 lpp.
- Kondratovičs R., Riekstiņa G., Kondratovičs U. 2010. *LU Rododendru selekcijas un izmēģinājumu audzētavai „Babīte” – 30*. LU Akadēmiskais apgāds, Rīga. 104 lpp.
- Kondratovičs U. 1993. *Brīvdabas rododendru pavairošanas bioloģiskās īpatnības Latvijā*. Disertācija. Latvijas Universitāte, Rīga. 210 lpp.
- Kozłowski T.T. 1992. Carbohydrate sources and sinks in woody plants. *Bot. Rev.* 58: 108–222.
- Koyuncu F., Balta F. 2004. Adventitious root formation in leaf-bud cuttings of tea (*Camellia sinensis* L.). *Pakistan J. Bot.* 36: 763–768.
- Kraus E. J., Kraybill H. R.. 1918. Vegetation and reproduction with special reference to the tomato. *Oregon Agr. Expt. Sta. Bull.* 149.
- Larson R.P. 1994. *The Vascular Cambium. Development and Structure*. Springer-Verlag, Berlin. 725 p.
- Lalonde S., Tegeder M., Throne-Holst M., Frommer W.B., Patrick J.W. 2003. Phloem loading and unloading of sugars and amino acids. *Plant Cell Environ.* 26: 37–56.
- Leach D.G. 1961. *Rhododendrons of the world and how to grow them*. Charles Scribner's Sons, New York. 544 p.
- Leslie A. 2004. *The international rhododendron register and checklist. 2nd edition (A – Lel)*. Page Brothers, Norfolk. 768 p.

- Lewis A.J., Sizemore E.F. 1978. Propagation of *Rhododendron arborescens* (Pursh) Torr. by softwood cuttings. *Plant Propagator* 24: 11–12.
- Lewis N.G., Yamamoto E. 1990. Lignin: occurrence, biogenesis and biodegradation. *Annu. Rev. Plant Physiol. Mol. Biol.* 41: 455–496.
- Li M., Leung D.W.M. 2000. Starch accumulation is associated with adventitious root formation in hypocotil cuttings of *Pinus radiata*. *J. Plant Growth Regul.* 19: 423–428.
- Lovell P.H., White J. 1986. Anatomical changes during adventitious root formation. In: Jackson M.B. (eds). *New Root Formation in Plants and Cuttings*. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht. pp. 111–140.
- Ludwig-Müller J. 2003. Peroxidase isoenzymes as markers for the rooting ability of easy-to-root and difficult-to-root *Grevillea* species and cultivars of *Protea obtusifolia* (Proteaceae). *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant* 39: 377–383.
- Lund S.T., Smith A.G., Hackett W.P. 1996. Cutting of tobacco mutant, *rac*, undergo cell divisions but do not initiate adventitious roots in response to exogenous auxin. *Physiol. Plant.* 97: 372–380.
- Macdonald B. 2002. *Practical woody plant propagation for nursery growers*. Timber Press, Portland, Oregon. 669 p.
- MacKenzie K.A.D., Howard B.H., Harrison-Murray R.S. 1988. Anatomical features of rooting in wounded winter cuttings of the apple rootstock M.26. *Acta Hort.* 227: 217–223.
- Marks T.R., Ford Y.-Y., Cameron R.W.F., Goodwin C., Myers P.E., Judd H.L. 2002. A role for polar auxin transport in rhizogenesis. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 70: 189–198.
- Maynard B.K., Bassuk N.L. 1988. Etiolation and banding effects on adventitious root formation. In: Davis T.D., Haissig B.E., Sankhla N. (eds) *Adventitious root formation in cuttings*. Dioscorides Press Portland OR. pp. 29–46.
- Maynard B.K., Bassuk N. 1991. The application of stock plant etiolation and stem banding to the soft wood cutting propagation of indumented *Rhododendron* species. *J. Amer. Rhododendron Soc.* 45: 186–190.
- Maynard B.K., Bassuk N.L. 1996. Effect of stock plant etiolation, shading, banding, and shoot development on histology and cutting propagation of *Carpinus betulus* L. *fastigiata*. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 121: 853–860.

- McGuire J.J., Johnson W., Dawson C. 1987. Leaf-bud or side-graft nurse grafts for difficult-to-root rhododendron cultivars. *Comb. Proc. Int. Plant Prop. Soc.* 37: 447–449.
- McMillan Browse F. 1983. *Plant propagation. Seeds, roots, bulbs and corms, layering, stem cuttings, leaf cuttings, budding and grafting.* Mitchell Beasley, London. 96 p.
- Medvedeva R.G. 1958. Anatomical texture of gold rhododendron (*Rh. aureum* Georgi). *Aptekhnol. delo.* 6: 61–64. (in Russian)
- Merev N., Yavuz H. 2000. Ecological wood anatomy of Turkish *Rhododendron* L. (*Ericaceae*) intraspecific variation. *Turk. J. Bot.* 24: 1–11.
- Mergen F. 1954. Anatomical study of slash pine graft unions. *Quart. J. Florida Acad. Sci.* 17: 237–245.
- Mesén F., Newton A.C., Leakey R.R.B. 1997. The effects of propagation environment and foliar area on the rooting physiology of *Cordia alliodora* (Ruiz & Pavon) Oken cuttings. *Trees* 11: 404–411.
- Metaxas D., Syros T., Yupsanis T., Economou A.S. 2004. Peroxidases during adventitious rooting in cuttings of *Arbutus unedo* and *Taxus baccata* as affected by plant genotype and growth regulator treatment. *Plant Growth Regul.* 44: 257–66.
- Miller W.P. 1979. The production of rhododendrons by grafting. *Comb. Proc. Int. Plant Prop. Soc.* 29: 158–161.
- Miller H., Barnett J.R. 1993a. The formation of callus at the graft interface in sitka spruce. *IAWA J.* 14: 13–21.
- Miller H., Barnett J.R. 1993b. The structure and composition of bead-like projections on Sitka spruce callus cells formed during grafting and in culture. *Ann. Bot.* 72: 441–448.
- Minibayeva F., Kolesnikov O., Chasov A., Beckett R. P., Lüthje S., Vylegzhanina N., Buck F., Böttger M. 2009. Wound-induced apoplastic peroxidase activities: their roles in the production and detoxification of reactive oxygen species. *Plant Cell Environ.* 32: 497–508.
- Moore R. 1983. Studies of vegetative compatibility-incompatibility in higher-plants. 4. The Development of Tensile-Strength in a Compatible and an Incompatible Graft. *Am. J. Bot.* 70: 226–231.

- Moore R. 1984. A model for graft compatibility-incompatibility in higher plants. *Am. J. Bot.* 71: 752–758.
- Moore R., Walker D.B. 1981. Studies of vegetative compatibility-incompatibility in higher plants. II. A structural study of an incompatible heterograft between *Sedum telefoiodes* (Crassulaceae) and *Solanum pennelli* (Solanaceae). *Am. J. Bot.* 68: 831–842.
- Musacchi S., Pagliuca G., Kindt M., Piretti M.V., Sansavini S. 2000. Flavonoids as markers for pear-quince graft incompatibility. *J. Appl. Bot.* 74: 206–211.
- Naija S., Elloumi N., Jbir N., Ammar S., Kevers C. 2008. Anatomical and biochemical changes during adventitious rooting of apple rootstocks MM 106 cultured *in vitro*. *C. R. Biologies* 331: 518–525.
- Nawrocka-Grzeškowiak U. 2004a. Effect of growth substances on the rooting of cuttings of rhododendron species. *Folia Hort. Ann.* 16: 115–123.
- Nawrocka-Grzeškowiak U. 2004b. Effect of stock and grafting method on successful graft union in rhododendrons. *Dendrobiology* 51: 53–57.
- Oven P., Torelli N., Shortle W.C., Zupančič M. 1999. The formation of ligno-suberized layer and necrophylactic periderm in beech bark (*Fagus sylvatica* L.). *Flora* 194: 137–144.
- Passardi F., Cosio C., Penel C., Dunand C. 2005. Peroxidases have more functions than a Swiss army knife. *Plant Cell Rep.* 24: 255–265.
- Peek R. 1986. Propagating *Rhododendron yakushimanum* by cutting-grafts. *Comb. Proc. Int. Plant Prop. Soc.* 36: 330–332.
- Pérez-Francés J.F., Melián-Capote M.N., Rodríguez-Perez J.A., Martín-Pérez R. 2001. An anatomical study of adventitious root development in wounded cuttings of *Leucadendron discolor* and *Leucadendron* ‘Safari Sunset’ (*Proteaceae*). *Acta Hort.* 545: 191–194.
- Pina A., Errea P. 2005. A review of new advances in mechanism of graft compatibility-incompatibility. *Sci. Hort.* 106: 1–11.
- Polikarpova F.J. 1990. *Propagation of Fruits and Berry Forest Crops by Softwood Cuttings*. Agropromizdat, Moscow. 96 p. (in Russian)
- Polevoi V.V. 1989. *Plant physiology*. Vysshaya Shkola, Moscow. 464 p. (in Russian)
- Reaño P.C. 1940. Histological study and observations on the effect of some synthetic growth substances on stem tip cuttings of coffee. *Philipp. Agric.* 29: 87–99.

- Rinallo C., Gellini R., Fabbri A. 1987. Studies on rhizogenesis in *Castanea sativa* Mill. cuttings. *Adv. Hort. Sci.* 1: 27–33.
- Rival A., Bernard F., Mathieu Y. 1997. Changes in peroxidase activity during *in vitro* rooting of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Sci. Hortic.* 71: 103–12.
- Rongting X., Pinghai D. 1990. Theory and practice of walnut grafting. *Acta Hort.* 284: 69–88.
- Rudall P.J. 2007. *Anatomy of Flowering Plants: An Introduction to Structure and Development*. 3rd ed. Cambridge University Press, Cambridge. 145 p.
- Ruzin S.E. 1999. *Plant microtechnique and microscopy*. Oxford University Press, New York Oxford. 322 pp.
- Sanders C.H. 1978. Some aspects of propagation of *Rhododendron*, *Mahonia* and *Ilex* by cuttings. *Proc. Intl. Plant Prop. Soc.* 28: 228–232.
- Schöning U., Kollmann R. 1997. Phloem translocation in regeneration *in vitro*-heterografts of different compatibility. *J. Exp. Bot.* 48: 289–295.
- Sharples A., Gunnery H. 1933. Callus formation in *Hibiscus rosa-sinensis* and *Hevea brasiliensis* Muell. *Arg. Ann. Bot.* 47: 829–839.
- Soumelidou K., Battey N.H., John P., Barnett J.R. 1994. The anatomy of the developing bud union and its relationship to dwarfing in apple. *Ann. Bot.* 74: 605–611.
- Stobbe H., Schmitt U., Eckstein D., Dujesiefken D. 2002. Developmental stages of fine structure of surface callus formed after debarking of living lime trees. *Ann. Bot.* 89: 773–782.
- Stoddard F.L., McCully M.E. 1980. Effects of excision of stock and scion organs on the formation of the graft union in *Coleus*: a histological study. *Bot. Gaz.* 141: 401–412.
- Street J. 1988. *Rhododendrons*. Globe Pequot Press, Chester. 144 p.
- Strong F.M., Koch G.H. 1974. *Biochemistry Laboratory Manual*. 2nd ed. IA: Wm.C.Brown Dubuque.
- Strzelecka K. 2007. Anatomical structure and adventitious root formation in *Rhododendron ponticum* L. cuttings. *Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus* 6: 15–22.
- Suzuki M., Ohba H. 1988. Wood structural diversity among Himalayan rhododendron. *IAWA Bull.* 9: 317–326.
- Svenson S.E., Davies F.T.Jr. 1990. Relation of photosynthesis, growth, and rooting during poinsettia propagation. *Proc. Fla. State Hort. Soc.* 103: 174–176.

- Syros T., Yupsanis T., Zafiriadis H., Economou A.S. 2004. Activity and isoforms of peroxidases, lignin and anatomy, during adventitious rooting in cuttings of *Ebenus cretica* L. *J. Plant Physiol.* 161: 69–77.
- Tallman K.J., Meyer M.M. Jr. 1980. The effect of photoperiod and growth regulator application on the rooting of certain broad-leaved evergreen cuttings. *Plant Propagator* 26: 11–13.
- Takahashi F., Sato-Nara K., Kobayashi K., Suzuki M., Suzuki H. 2003. Sugar-induced adventitious roots in *Arabidopsis* seedlings. *J. Plant Res.* 116: 83–91.
- Terzioğlu S., Merev N., Ansin R. 2001. A Study on Turkish *Rhododendron* L. (*Ericaceae*). *Turk. J. Agric. For.* 25: 311–317.
- Tezgül Çakır N., Güvenç A., Kökdil G., Duran N., Arslan G.J. 2005. Studies on the anatomical, phytochemical and antimicrobial properties of endemic *Rhododendron smirnovii* Trautv. *Fac. Pharm. Ankara* 34: 165–182.
- Trankovsky D.A. 1979. *Laboratory course in plant anatomy*. Vysshaya Shkola, Moscow. 224 p. (in Russian)
- Tutajuk V.H. 1980. *Anatomy and morphology of plants*. Vysshaya Shkola, Moscow. 317 p. (in Russian)
- Usenik V., Krška B., Vičan M., Štampar F. 2006. Early detection of graft incompatibility in apricot (*Prunus armeniaca* L.) using phenol analyses. *Sci. Hort.* 109:332–338.
- Veierskov B. 1988. Relations between carbohydrates and adventitious root formation. In: Davis T.D., Haissig B.E., Sankhla N. (eds) *Adventitious rootformation in cuttings*. Dioscorides Press, Portland. pp. 70–78.
- Weatherhead J., Barnett J.R. 1986. Development and structure of unusual xylem elements during graft union formation in *Picea sitchensis*. *Ann. Bot.* 57: 593–598.
- Wells J.S. 1981. The rooting of *Rhododendron* stem cuttings. *Proc. Intl. Plant Prop. Soc.* 31: 445–448.
- Wheeler E.A., Baas P., Gasson P.E. (eds) 1989. IAWA list of microscopic features for hardwood identification: with an appendix on non-anatomical information. *IAWA Bull.* 10: 219–332.
- White J., Lovell P.H. 1984. The anatomy of root initiation in cuttings of *Griselinia littoralis* and *Griselinia lucida*. *Ann. Bot.* 54: 7–20.

- Wilson P.J. 1994. The concept of a limiting rooting morphogen in woody stem cuttings. *J. Hort. Sci.* 69: 591–600.
- Yang X., Li Z., Shen X., Liu C., Ma L. 1995. Callus formation at graft interface in *Ginkgo biloba* L. *Acta Bot. Sinica* 37: 909–912.
- Yarmoshuk L., Yarmoshuk N. 1983. Light colour and indol-3-yl-butyric acid soak time effect on Rhododendron ‘Blue Tit’ and R. ‘Dora Amateis’. *Rhododendron Soc. Can. Bull.* 12: 18–22.
- Ylätao M. 1979. Factors affecting the rooting of rhododendron cuttings. *J. Agric. Sci. Finland* 51: 163–171. (in Finnish)
- Zhou J., Wu H., Collet G.F. 1992. Histological study of initiation and development *in vitro* of adventitious roots in minicuttings of apple rootstocks of M 26 and EMLA 9. *Physiol. Plant.* 84: 433–440.