

des diagrammes (fig. 4 et 5) que *la continuité* existe même dans les cas spécialement mentionnés par WRIGHT et BALDWIN comme étant de preuves de *discontinuité*.

Il est important de déterminer la relation existant entre certaines propriétés importantes (par ex. la capacité de supporter l'hiver, la rapidité de croissance, etc.) d'une espèce ainsi que les facteurs ayant provoqué et provoquent encore actuellement une adaptation (selection). Les risques de transplantation d'une graine d'un peuplement autochtone à un endroit où règnent un climat de température et une longueur de journée différents, doivent être évalués par rapport à la variabilité de l'espèce. Les répartition taxonomiques des espèces ne sont donc pas uniquement sans valeur aucune (LANGLET 1934) mais même absolument dangereuses (HUXLEY 1939) du fait qu'elles suggèrent une homogénéité inexistante au sein d'unités conventionnelles qui ne sont en réalité que des valeurs abstraites.

#### Literature Cited

- (1) CIESLAR, A.: Über die Erblichkeit des Zuwachsvermögens bei den Waldbäumen. Centralbl. f. d. ges. Forstwesen 21 (1895). — (2) CIESLAR, A.: Neues aus dem Gebiet der forstlichen Zuchtwahl. Ibidem 25 (1899). — (3) ENEROTH, O.: Studier över risken vid användning av tallfrö av främmande proveniens. (A study on the risks of using in a particular district pine-seed from other sources.) Medd. f. Statens Skogsförsöksanstalt 23 (1926—27). — (4) ENGLER, A.: Tatsachen, Hypothesen und Irrtümer auf dem Gebiete der Samenprovenienz-Frage. Forstwiss. Centralbl. 3 (1908). — (5) FAEGRI, K.: Some fundamental problems of taxonomy and phylogenetics. Bot. Rev. 3 (1937). — (6) HAGEM, O.: Schütteskader paa furuen (*Pinus silvestris*). Medd. f. Vestlandets forstl. Forsøksanst. 7 (1926). — (7) HUXLEY, J. S.: Clines: an auxiliary taxonomic principle. Nature 142 (1938). — (8) HUXLEY, J. S.: Clines: an auxiliary method in taxonomy. Bidr. tot de Dierkunde 27 (1939). — (9) LANGLET, O.: Om variationen hos tallen (*Pinus silvestris* L.) och dess samband med klimatet. (Über die Variation der Kiefer und deren Zusammenhang mit dem Klima.) Skogsvårdsfören. tidskr. 32 (1934). — (10) LANGLET, O.: Studier över tallens fysiologiska variabilitet och dess samband med klimatet. (Studien über die physiologische Variabilität der Kiefer und deren Zusammenhang mit dem Klima.) Medd. f. Statens Skogsförsöksanstalt 29 (1936). — (11) LANGLET, O.: Kiefernprovenienzforschung in Schweden. Medd. f. Stat. Skogsforskningsinst. (*in print*). — (12) NÄGELI, W.: Über den Einfluß äußerer Verhältnisse auf die Varietätenbildung im Pflanzenreiche. Sitz. ber. K. Bayer. Akad. Wiss., math. phys. Cl., München (1865). — (13) SCHMIDT, W.: Das Ostwestgefälle der Kiefernrasen. Intersylva (1943). — (14) SCHOTT, P. K.: *Pinus sylvestris* L. Die gemeine Kiefer. Beiträge zur Systematik und Provenienzfrage mit besonderer Berücksichtigung des in Deutschland in den Handel kommenden Samens. Forstwiss. Centralbl. 26 (1904). — (15) SCHOTT, P. K.: Rassen der gemeinen Kiefer. Ibidem 29 (1907). — (16) SCHOTTE, G.: Tallfröets proveniens — Norrlands viktigaste skogsodlingsfråga. (La provenance des semences de pin sylvestre — une question très importante pour la régénération des forêts en Norrland.) Medd. f. Stat. Skogsförsöksanst. 20 (1923). — (17) STEBBINS, G. L.: Variation and Evolution in Plants. New York 1950. — (18) TURESSON, G.: The Species and the Variety as Ecological Units. Hereditas 3 (1922). — (19) TURESSON, G.: Rassen-Ökologie und Pflanzengeographie. Botan. Notiser (1936). — (20) VEEN, B.: Report of a tour of inspection of international provenance trials with larch, pine and spruce of 1938/39 and 1944/45 and Suggestions for future treatment and assessments. Sec. 22. Internat. Union of Forest. Res. Org. 44 p. mimeo. Zürich, 1952. — (21) WIBECK, E.: Om tall- och granfrö i Norrland. Skogen 6 (1919). — (22) WIEDEMANN, E.: Die Versuche über den Einfluß der Herkunft des Kiefern Samens. Zeitschr. f. Forst- u. Jagdwesen 62 (1950). — (23) WRIGHT, J. W., and BALDWIN, H. I.: The 1938 International Union Scotch Pine Provenance Test in New Hampshire. Silvae Genetica 6, 2-44 (1957).

## Deep-Freezing Pine Pollen

By J. W. DUFFIELD and R. Z. CALLAHAM<sup>1</sup>

(Received for publication August 30, 1958)

Pine pollen, unlike the pollen of most angiosperms, is long-lived and tolerant of wide variation in storage conditions (DUFFIELD, 1954). Even with this latitude some provision is needed in breeding work for long-term storage without loss of viability. Deep-freezing would seem to satisfy this need. The first attempts to freeze pine pollen, reported here, were successful. Deep-freezing probably can be developed as an effective technique for preserving and extending the viability of pine pollen.

Deep-freezing of the pollen of fruit trees has been under study for some time. Initial work at very low thermal levels (-180° C) indicated that the life processes within pollen grains can be practically suspended (BREDEMANN, et al., 1948). More practical work, using thermal levels available in commercial and domestic deep-freeze facilities, has demonstrated the feasibility of deep-freezing fruit tree pollens in conjunction with breeding work (GRIGGS, et al., 1953).

#### Procedure

A small scale study of the feasibility of deep-freezing pine pollen was started in the spring of 1952. Ripe pine pollen catkins were collected, and the pollen was extracted using the technique of CUMMING and RIGHTER (1948). The

pollen was placed in cotton stoppered glass bottles and was given a preliminary desiccation over anhydrous calcium chloride for 1 week. In July these bottles of pollen were placed on the quick-freezing shelf of a domestic deep freezer (about -23° C). In April of the following year this treated pollen was transferred from the freezer to a commercial reach-in refrigerator (about 5° C). All pollen regularly is stored in this refrigerator at the Institute of Forest Genetics. Where possible, fresh pollen was collected in the spring of 1953 from the same trees that were used for the 1952 collections. The viability of all pollen samples was tested after extraction from the catkins and after deep-freezing. The hanging drop method described by RIGHTER (1939) was used for these tests.

Fresh and treated pollens were used in 1953 in controlled pollinations (CUMMING and RIGHTER, 1948). Both pollens were used separately to pollinate conelets on individual trees of the same species. The seeds produced were collected in the fall of 1954 and were sown in the nursery in the spring of 1955. Time required for the seeds to germinate and height at the end of the first growing season were recorded for each progeny.

#### Results

Viability of the pollen was not appreciably altered by deep-freezer storage (table 1). Only crude estimates were made of the percent of pollen grains which germinated.

<sup>1</sup>) Geneticist, Institute of Forest Genetics, California Forest and Range Experiment Station, Forest Service, U.S. Dept. of Agriculture. Dr. DUFFIELD'S present address: Industrial Forestry Association, Col. W. B. Greeley Nursery, Nisqually, Washington.

Table 1. — Pollen viability tests.

Pine Species	Grains germinated		
	1952 pollen		1953 pollen Fresh
	Fresh	Year-old <sup>1)</sup>	
	percent		
<i>attenuata</i>	80	50	20
<i>coulteri</i>	60	20	40
<i>flexilis</i>	20	30	50
<i>lambertiana</i>	—	50	60
<i>contorta</i> var. <i>latifolia</i>	60	60	80
<i>nigra</i>	80	50	75
<i>rigida</i>	70	40	50

<sup>1)</sup> Stored in deep-freezer.

Under these conditions differences of 10 to 20 percent in germination probably are not statistically significant. Pollen samples in which 10 percent or more of the grains germinate generally are considered viable enough for use in controlled pollination.

Treated and fresh pollen seemed to be capable of effecting fertilization equally (table 2). The percent of all seeds which were sound was about the same for fresh and treated pollen. In most cases more sound seeds were set in cones pollinated with fresh pollen.

Inconsistent differences between the set of sound seed from controlled and open wind pollination are the result of the location of seed trees with respect to sources of pollen. Trees having Eldorado numbers are native trees growing in natural stands with adequate pollen available to effect wind pollination; they have high sets of sound seeds. The other seed trees are growing in the Eddy Arboretum at the Institute of Forest Genetics; there pollen is not so readily available, and the set of sound seeds is accordingly low.

The low set of sound seeds from intra-specific controlled pollination on certain trees of *Pinus flexilis* JAMES, *P. lambertiana* DOUGL., and *P. rigida* MILL. is unexplained unless the seed trees were not compatible with the particular pollen parents used.

Seed from some of these crosses were planted in the nursery in 1955. The design of planting was several blocks of randomized plots. The data obtained were analyzed by *t* and *F* tests. Pollen treatment did not affect days required for the seed to germinate or height growth in the first growing season for the intraspecific progenies of *P. coulteri* and *P. contorta* var. *latifolia*. However, the intraspecific progeny of *P. lambertiana* made with treated pollen required a longer time to germinate (20.8 days) than did the comparable progeny made with fresh pollen (18.7 days). This difference in time was significant at the .01 probability level.

#### Studies Underway

This study shows that pollen can be stored in a deep-freezer and used successfully in breeding the following season. How much longer could pollen be stored frozen before losing its viability? What advantage could be obtained through deep freezer storage in comparison with the present methods of storing just above freezing?

A study planned to answer these questions was started during the 1957 pollen collection season. Pollen was collected from individual trees of *P. ponderosa* LAWS., *P. jeffreyi* GREV. & BALF., *P. monticola* DOUGL., *P. sabiniana* DOUGL., and other species. The pollen from each tree has been separated into many small aliquots. Three or four of these will be kept in cold storage in the refrigerator.

The remainder of the samples will be stored in a domestic deep-freezer. Each year samples will be removed from the deep-freezer and from the refrigerator, and a fresh sample will be collected from the same tree. The viability of all samples will be tested, and they will be used in controlled pollinations.

#### Summary

Initial trials of pine pollen stored in a domestic deep-freezer have been completed. Pollen stored for 10 months had about the same germinative capacity as fresh pollen. The percents of sound seed achieved through controlled pollination with stored and with fresh pollen were about the same. Pollinations with pollen which had been stored did not result in as high a set of sound seeds per cone as did pollinations with fresh pollen. In two cases seeds produced from pollination with stored pollen germinated as rapidly and produced seedlings as tall in the first year as did seeds resulting from fresh pollen. In a third case seeds from frozen pollen germinated two days later than those from fresh pollen. Studies to determine the period over which pollen stored in a deep-freezer remains viable now are underway at the Institute of Forest Genetics.

Table 2. — The results of 1953 pollinations using 1952 treated (deep-freezer, DF) and 1952 and 1953 fresh pollen.

Pine seed parent	Pollen Tree <sup>1)</sup>	Pollen year	Cones collected	Seeds		
				Hollow	Sound	
				per cone	per cone	per cent
<i>coulteri</i> V-29	V-21	53	2	18	89	83
		52DF	5	21	121	85
	wind	53	4	24	30	56
<i>flexilis</i> V-3	V-6	52	0	0	—	0
		52DF	1	4	0	0
	wind	53	1	24	0	0
<i>flexilis</i> V-5	V-6	52	3	20	5	20
		52DF	2	13	0.5	4
	wind	53	2	2	0	0
<i>lambertiana</i> Eld 28-1	V-18	53	10	31	154	83
		52DF	2	5	96	95
	wind	53	3	0	—	0
<i>lambertiana</i> Eld 28-2	V-18	53	0	0	—	0
		52DF	0	0	—	0
	wind	53	1	3	199	99
<i>rigida</i> 45	mix	53	0	0	—	0
		52DF	0	0	—	0
<i>rigida</i> 47	mix	53	1	21	32	60
		52DF	2	16	22	58
	wind	53	5	15	3	17
<i>rigida</i> 48	mix	53	0	0	—	0
		52DF	0	0	—	0
<i>rigida</i> 58	mix	53	6	20	36	64
		52DF	6	16	27	63
	wind	53	6	28	18	39
<i>contorta</i> v. <i>lat.</i> Eld 6-2	mix	53	18	6	10	62
		52DF	13	10	7	41
	wind	53	32	5	9	64
<i>contorta</i> v. <i>lat.</i> 40	mix	53	2	0	—	0
		52DF	6	0.8	0.7	47
	wind	53	3	0	—	0
<i>nigra</i> V-12	V-15	53	15	0.4	13	97
		52DF	15	1.2	8	87
	wind	53	43	1.2	1	45
<i>nigra</i> V-18	V-15	53	27	2	50	96
		52DF	26	2	37	95
	wind	53	70	14	3	18

<sup>1)</sup> Pollen parent and seed parent of the same species in each case.

### Zusammenfassung

Titel der Arbeit: *Tiefgefrorener Kiefernpollen.*

Ursprüngliche Aufbewahrungsversuche mit Kiefernpollen in einem Haushalts-Tiefgefrierschrank sind ergänzt worden. Zehn Monate lang aufbewahrter Pollen zeigte etwa dieselbe Keimfähigkeit wie frischer Pollen. Die Prozentsätze gesunden Samens, der durch kontrollierte Bestäubungsversuche sowohl mit aufbewahrtem wie auch mit frischem Pollen erzeugt wurde, waren etwa gleich hoch. Doch ergaben Bestäubungen mit aufbewahrtm Pollen keinen so hohen Ansatz gesunden Samens je Zapfen wie bei Verwendung von frischem Pollen. In zwei Fällen, bei denen die Samen aus Bestäubungen mit aufbewahrten Pollen hervorgegangen waren, keimten diese ebenso schnell, und die erhaltenen Sämlinge waren im ersten Jahr ebenso hoch wie bei Verwendung frischen Pollens. In einem dritten Falle allerdings keimten die Samen aus Bestäubungen mit eingefrorenem Pollen 2 Tage später, als bei Bestäubungen mit frischem Pollen. Es laufen jetzt im Institut für Forstgenetik Untersuchungen zur Feststellung des Zeitraumes, während dem Pollen überhaupt in einem Tiefgefrierschrank lebensfähig bleibt.

### Résumé

Titre de l'article: *Congélation du pollen de pin à très basse température.*

Les premiers essais de conservation du pollen de pin dans un réfrigérateur domestique à congélation «deep-

freezing» ont été achevés. Le pollen conservé depuis 10 mois a à peu près la même faculté germinative que du pollen frais. Les pourcentages de bonnes graines, obtenus par pollinisation contrôlée avec du pollen frais ou du pollen conservé, sont à peu près les mêmes. Cependant, les pollinisations avec du pollen conservé ne donnent pas autant de bonnes graines par cône que les pollinisations avec du pollen frais. Dans deux cas, les graines produites par pollinisation avec du pollen conservé ont germé aussi rapidement et produit des semis d'un an aussi vigoureux que celles obtenues avec du pollen frais. Dans un troisième cas, les graines obtenues avec du pollen conservé ont germé deux jours plus tard que celles obtenues avec du pollen frais. Les études qui permettront de connaître la durée possible de conservation du pollen dans un «deep-freezer» sont actuellement en cours à l'Institut de génétique forestière.

### Literature Cited

BREDEMANN, G., GARBER, K., HARTECK, P., and SUHR, K. A.: Die Temperaturabhängigkeit der Lebensdauer von Blütenpollen. I. Naturwiss. 34 (9): 279—280, illus. (1947). — CUMMING, W. C., and RICHTER, F. I.: Methods used to control pollination of pines in the Sierra Nevada of California. U.S. Dept. Agric. Circular 792, 18 pp., illus. (1948). — DUFFIELD, J. W.: Studies of extraction, storage, and testing of pine pollen. Z. Forstgenetik 3 (2): 39—45 (1954). — GRIGGS, W. H., VANSSELL, G. H., and IWAKIRI, B. T.: The storage of hand-collected and bee-collected pollen in a home freezer. Amer. Soc. for Hort. Sci. 62: 304—305 (1953). — RICHTER, F. I.: A simple method of making germination tests of pine pollen. Jour. Forestry 37: 574—576, illus. (1939).

(Aus dem Institut für Waldbau-Technik der Universität Göttingen)

## Untersuchungen über das Jugendwachstum von Schwarzpappelhybriden auf verschiedenen Standorten

Von E. RÖHRIG

(Eingegangen am 16. 8. 1958)

Für die Praxis des Pappelanbaus ist es von Bedeutung, zu wissen, ob die heute a's Sorten gehandelten Schwarzpappelhybriden sich in ihrer Reaktion auf die Standortkräfte unterscheiden. Zur Untersuchung dieser Frage sind von MÜLLER (8) zahlreiche Sorten-Vergleichsanbauten angelegt worden, von denen die aus den Jahren 1950 und 1951 stammenden im Jahr 1956 einer ersten Aufnahme unterzogen wurden.

### I. Anlage der Flächen

Die 31 aufgenommenen Flächen sind im 4-m-Quadrat-Verband mit 2jährigen Pflanzen angelegt. (Nur Nr. 0 = 'regenerata Harff', ist einjährig gepflanzt worden.) Alle Pflanzen bekamen bei der Anlage der Flächen eine Startdüngung. Für die Exaktheit des Versuches wäre es besser gewesen, wenn diese Düngung unterblieben wäre. Doch ist nicht zu befürchten, daß sie die Wuchsergebnisse längere Zeit beeinflußt hat: Inzwischen sind die Wurzeln weit über das Pflanzloch hinausgewachsen. Eine Auswirkung für den Sortenvergleich kann diese Startdüngung übrigens schon deshalb nicht haben, weil sie gleichmäßig alle Sorten erfaßt hat.

In den Probeanbauten sind folgende Sorten enthalten: 'robusta', 'regenerata', 'serotina', 'Leipzig', 'vernirubens'), 'marilandica' und 'gelrica'. Die ersten 4 Sorten sind je zweimal (aus zwei verschiedenen „Herkünften“) vertreten.

Es wurden die Jahrestrieblängen der Jahre 1951 bis 1955 gemessen, ferner die Brusthöhendurchmesser Ende 1955. Bei der

<sup>1)</sup> Über die wahrscheinliche Identität von *vernirubens* und *robusta* siehe S. 28.

örtlichen Aufnahme wurden jeweils solche Pflanzen ausgeschieden, die mehr als  $\frac{1}{4}$  gegenüber normal entwickelten Pflanzen dieser Sorte zurückgeblieben waren. Aus dem Rest, sofern er mindestens 7 Pflanzen umfaßte, wurde das arithmetische Mittel der Jahrestrieblänge gebildet. Waren mehr als 3 Pflanzen einer Sorte mangelhaft entwickelt, so wurde die Sorte nicht verwertet.

Im Vergleich zu Versuchsflächen mit anderen Baumarten mag es so erscheinen, daß die Pflanzenzahl pro Versuchsglied ungewöhnlich klein ist. Es muß aber bedacht werden, daß es sich bei den Pappelsorten um einheitliches Material handelt. Tatsächlich sind, von Störungen abgesehen, die in der oben geschilderten Weise berücksichtigt worden sind, die Wachstumsunterschiede bei den Individuen innerhalb der gleichen Sorten sehr gering.

Die Anlage der Flächen war nicht für eine moderne mathematische Auswertung gedacht. Es konnte daher nur eine Berechnung der Ergebnisse in einfacher Form vorgenommen werden.

### II. Der Einfluß der Standortverhältnisse auf das Wachstum der Sorten

Bei der Betrachtung der Darstellung des Wachstumsganges auf den einzelnen Versuchsflächen fallen zwei Erscheinungen auf: *Die großen Wachstumsunterschiede zwischen den einzelnen Standorten und die Gleichförmigkeit, mit der die verschiedenen Sorten auf die Standortseigenschaften reagieren.* Man kann die Gesamtheit der Wachstumskurven auf einer Vergleichsfläche mit einem Spektrum vergleichen. Die Linien der Spektren liegen zwar