

Gefriertrocknung und Lagerung von Pollen verschiedener Waldbaumarten

Von W. DIETZE

Hessische Forstliche Versuchsanstalt, Institut für Forstpflanzenzüchtung*)

(Eingang Juni/September 1973)

1. Einleitung

Pollen von Waldbaumarten langfristig lebensfähig aufzubewahren zu können, bietet der Forstpflanzenzüchtung die Möglichkeit, räumliche und zeitliche Barrieren bei der Kombinationszüchtung zu überwinden. Im Mittelpunkt der Untersuchungen über Pollenlagerung standen stets zwei Probleme:

1. Die Verlängerung der natürlichen Lebensdauer des Pollens durch geeignete Konservierungsmethoden.
2. Die Überprüfung der Lebensfähigkeit des aufbewahrten Pollens mit Hilfe einfacher, sicherer Labortests.

HOLMAN und BRUBAKER (1926) beobachteten, daß die Keimfähigkeit lufttrocken bei Zimmertemperatur gelagerten Pollens länger zu erhalten war, wenn die relative Luftfeuchtigkeit reduziert wurde. Auch JOHNSSON (1943) kam bei einzelnen Baumarten zu ähnlichen Ergebnissen, fand jedoch heraus, daß kühle Lagerverhältnisse ($+2^{\circ}\text{C}$) sich schonender auf die Keimfähigkeit des Pollens auswirken als normale Raumtemperaturen. Kiefernpollen, der in mit Watte verschlossenen Glasröhren in CaCl_2 -Exsikkatoren bei 50% relativer Luftfeuchtigkeit und $+3^{\circ}\text{C}$ gelagert wurde, zeigte noch nach 20 Monaten fast die ursprüngliche Keimkraft (MARCRET 1951). DUFFIELD und CALLAHAM (1959) konservierten Pollen derselben Baumart bei -23°C über 10 Monate, ohne daß ein Nachlassen der Keimfähigkeit zu erkennen war. LICHTE (1957) bewahrte Pollen bei -183° , -78° und -4°C in zugeschmolzenen Glasröhren auf. Nach 14 Monaten deckten sich die Keimergebnisse der ersten beiden Behandlungen in etwa mit denen des frischen Pollens, die Keimfähigkeit des -4°C ausgesetzten Pollens schien bereits nach einem halben Jahr geschwächt. Den Nachweis, daß bei -190°C aufbewahrter Lupinenpollen praktisch unbegrenzt haltbar sein dürfte, haben BREDEMANN, GARBER, HARTECK und SUHR (1947) erbracht.

Mittels tiefer Temperaturen kann offensichtlich die natürliche Lebensdauer von Pollen verlängert werden. DUFFIELD und CALLAHAM (1959) weisen aber auch darauf hin, daß bei Bestäubung mit tiefgefroren gelagertem Kiefernpollen die Zahl der gesunden Samen je Zapfen nicht so hoch war wie bei Verwendung frischen Pollens.

Die vorliegenden Untersuchungen sollen zur Klärung der Frage beitragen, ob durch Gefriertrocknung die dauerhafte Aufbewahrung von Waldbaumpollen, d. h. über etwa 4-6 Jahre, so verbessert werden kann, daß nachteilige Nebenwirkungen auf den Pollen oder auf die Ergebnisse von Bestäubungen mit konserviertem Pollen ausgeschlossen werden können. Es sind einmal die Technik der Gefriertrocknung von Pollen und die Aufbewahrungsbedingungen für gefriergetrockneten Pollen zu prüfen. Zum anderen soll ermittelt werden, mit welchen Methoden die Keimfähigkeit des Blütenstaubes während der Lagerung auf unkomplizierte Art und Weise festgestellt werden kann. Da für die Arbeiten umfangreiches Pollenmaterial zur Verfügung steht, soll gleichzeitig auch untersucht werden, ob klonenspezifische Unterschiede hinsichtlich Wassergehalt und Keimfähigkeit bestehen. Diese können als Faktoren der Konkurrenzwirkung bei der Bestäubung für die Durchführung praktischer Kreuzungsarbeiten von Bedeutung sein.

*) Adresse: D-351 Hann. Münden, Prof. Oelkers Straße 6.

Die Untersuchungen wurden durch Zuschüsse der Deutschen Forschungsgemeinschaft gefördert.

2. Material und Methoden

2.1. Baumarten

Für die Praxis der Forstpflanzenzüchtung in Mitteleuropa sind in erster Linie die Arten der Gattungen *Larix*, *Picea*, *Pinus* und *Pseudotsuga* interessant, da diese Baumarten hauptsächlich auf künstlichem Wege verjüngt werden. Durch züchterische Methoden kann über das für die Pflanzenanzucht bereitzustellende Saatgut direkt Einfluß auf Leistungsfähigkeit und Resistenzverhalten künftiger Bestände genommen werden. Unsere Untersuchungen sind deshalb schwerpunktmäßig an Pollen von Nadelbaumarten durchgeführt worden.

2.2. Gewinnung des Pollens

Der für die Versuche benötigte Pollen wurde zur Blütezeit mit Hilfe eines Staubaugers entweder direkt von den Bäumen abgesaugt, oder es wurden Zweige mit fast geöffneten männlichen Blütenständen in Wassergefäßen in Isolierkabinen eingestellt und hier während der Pollenreife nach obigem Verfahren beertet. Unmittelbar nach dem Absaugen sind Proben zur Bestimmung des Wassergehaltes und der Keimfähigkeit des Pollens genommen worden.

Die Ernte des Pollens am stehenden Baum ist praktisch nur auf Samenplantagen möglich. Von hohen Bäumen ist der Blütenstaub nur durch Abschneiden der blütentragenden Zweige zu erhalten. Das Werben dieser Reiser muß kurz vor dem natürlichen Stäuben des Pollens geschehen (WORSLEY 1959). Schneidet man die Reiser zu früh, so ist zwar ein Stäuben zu beobachten, die Pollenkörper sind jedoch durch die Unterbrechung des normalen Reifungsprozesses nicht fertig entwickelt und daher nicht befruchtungsfähig.

2.3. Laboruntersuchungen

2.3.1. Wassergehaltsbestimmung

Der Wassergehalt des Pollens ist in prozentualen Gewichtsanteilen zum Frischgewicht ausgedrückt. Die Bestimmung erfolgte entweder durch Trocknung des Pollens in einem Brutschrank (4 Std. bei ca. 104°C) oder mit einer Infrarot-Schnelltrockenwaage. Beide Verfahren erreichen in etwa die gleiche Meßgenauigkeit.

2.3.2. Pollenkeimung

Die Keimfähigkeit des Pollens, also die Ausbildung von Pollenschläuchen, *in vitro* soll über seine Lebensfähigkeit sichere Auskunft geben. Zur Prüfung des Untersuchungsmaterials haben sich für die verschiedenen Baumarten folgende Methoden als am besten geeignet erwiesen:

Picea abies, *Pseudotsuga*, *Populus*:

„Feuchte Kammer“ (FRÖHLICH 1964)

Pinus silvestris, *Pinus nigra*, *Betula*:

„Hängender Tropfen“ (FRÖHLICH 1964)

Quercus, *Larix*:

„Feuchte Kammer“ oder „Hängender Tropfen“.

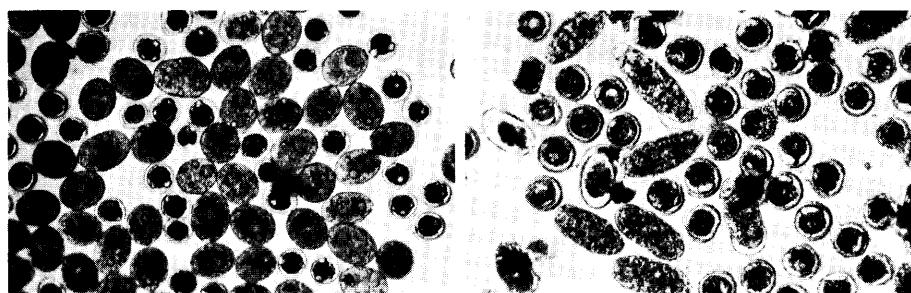


Abb. 1. — Gequollener Pollen, 48 Std. Feuchte Kammer. — Links: Lärchenpollen. — Rechts: Douglasienpollen. (ca. 50X)

Als Maßstab für die Vitalität wurde je Keimpräparat unter dem Mikroskop in einem umgrenzten Sektor des Objektträgers von je 30 Pollenkörnern die Anzahl der gekeimten ausgezählt. Das Keimprozent ist aus dem Verhältnis der gekeimten Pollenkörner zur Gesamtzahl 30 errechnet worden. Je Präparat erfolgten drei Auszählungen, jedes Präparat war zweimal wiederholt.

Anders als z. B. Kiefer und Fichte bilden Pollenkörner von *Larix* und *Pseudotsuga* *in vitro* keine Schläuche aus (CHRISTIANSEN 1972). Bei beiden Baumarten ist jedoch zu beobachten, daß jeweils ein Teil der Körner auf dem Nährsubstrat quillt, und daß diese Körner auch in bestimmtem Maße ihre äußere Form verändern (Abb. 1 a, b).

Bei den Laboruntersuchungen wurde daher zunächst unterstellt, daß quellende Pollenkörner befruchtungsfähig sind. In Anhalt an die Schlauchauszählungen bei *Picea*, *Pinus* usw. wurde bei *Larix* und *Pseudotsuga* der Prozentsatz lebensfähiger Pollenkörner über die Zahl der gequollenen Körner ermittelt.

2.33. Gefriertrocknung

Bei der Gefriertrocknung wird das Wasser aus gefrorenem Material durch Sublimation im Vakuum entzogen. Vorteile dieser Methode bei der Konservierung biologischer Substanzen (NEUMANN 1955):

- gefriergetrocknetes Material verdrißt nicht so leicht wie ungetrocknetes mit einem relativ hohen Feuchtigkeitsgehalt,
- wegen der tiefen Temperaturen während der Trocknung werden nachteilige Konzentrationserhöhungen in den Zellen, die bei Einengung von Flüssigkeiten entstehen, vermieden,
- Oberflächenkräfte werden ausgeschaltet, die Tendenz großer Moleküle, bei Wasserentzug zu koagulieren, ist daher gering. Enzymatische Veränderungen sind während und nach der Trocknung unwahrscheinlich.

Diese für die Lebendkonservierung besonders geeigneten Voraussetzungen gaben Veranlassung, die Anwendungsmöglichkeiten der Gefriertrocknung für die langfristige Aufbewahrung von Pollen eingehender zu untersuchen.

Die Trocknungsarbeiten bei unseren Untersuchungen wurden mit einer Gefriertrocknungsanlage „Delta II“ der Firma Christ, Osterode/Harz, ausgeführt. Der Trocknungsprozeß erfolgte in zwei Stufen:

Haupttrocknung:

24 Stunden bei -30° bis -20° C, Vakuum 10^{-3} Torr, Nachtrocknung:

24 Stunden bei $+5^{\circ}$ bis $+15^{\circ}$ C, Vakuum 10^{-3} Torr.

Zwischen beiden Stufen fand keine Unterbrechung der Trocknung statt, lediglich der Temperaturbereich wurde geändert. Die 48stündige Trocknungsduer hatte sich bei

Vorversuchen als optimal zur Erreichung eines möglichst geringen Restwassergehaltes im Pollen erwiesen. Während der Trocknungszeit bei Minustemperaturen wurde der Wassergehalt auf etwa 5% reduziert und konnte durch die Nachtrocknung schließlich noch weiter bis auf etwa 1,5% gemindert werden (Abb. 2).

Bei weiteren Vorversuchen ist der Pollen unmittelbar nach dem Einsammeln, nach 24- und 48stündiger Vor-

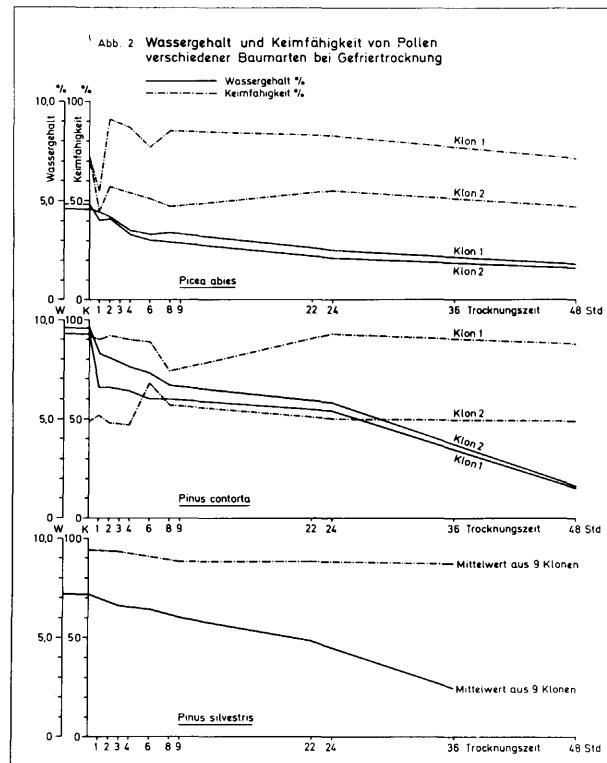


Abb. 2. — Wassergehalt und Keimfähigkeit von Pollen verschiedener Baumarten bei Gefriertrocknung.

trocknung bei Zimmertemperatur und nach Tiefgefrieren mit flüssigem Stickstoff (-196° C) gefriergetrocknet wurden. Aufgrund der gefundenen Ergebnisse wurde für die Hautuntersuchungen die zuerst genannte Methode, also das Gefriertrocknen frischen Pollens, gewählt.

In der Regel war der Pollen in Penizillinfläschchen abgefüllt, die bei Abschluß des Trocknungsprozesses mittels Gummistopfen unter Vakuum verkorkt wurden. Die verschlossenen Ampullen sind bei -10° , -1° und $+17^{\circ}$ C (Raumtemperatur) aufbewahrt worden.

2.4. Freilandkreuzungen

Zum Nachweis der Brauchbarkeit der *in vitro*-Pollenkeimung als Kriterium für die Fertilität nach Gefriertrock-

nung wurden in mehreren Jahren Freilandkreuzungen mit behandeltem Pollen an isolierten weiblichen Blüten verschiedener Nadelbaumarten durchgeführt. Bei der späteren Ernte sind zur weiteren Analyse auch solche Zapfen, die unkontrolliert bestäubt waren (freie Abblüte), eingesammelt worden.

Zusammenstellung der Behandlungen:

I Pollen gefriergetrocknet,	24 Mon.	bei -10°C gelagert, kontroll.	Bestäubung
II Pollen gefriergetrocknet,	24 Mon.	bei -1°C gelagert, kontroll.	Bestäubung
III Pollen gefriergetrocknet,	12 Mon.	bei $+17^{\circ}\text{C}$ gelagert, kontroll.	Bestäubung
IV Pollen luftgetrocknet,	24 Mon.	bei -10°C gelagert, kontroll.	Bestäubung
V Pollen luftgetrocknet,	24 Mon.	bei $+17^{\circ}\text{C}$ gelagert, kontroll.	Bestäubung
VI Pollen frisch,	—	—	kontroll. Bestäubung
VII Pollen frisch,	—	—	freie Bestäubung.

3. Ergebnisse

Das Untersuchungsmaterial wurde nach 3, 8, 12, 24, 36 und 48 Monaten auf Wassergehalt und Keimfähigkeit geprüft. Da nicht bei allen Prüfgliedern eine für einen mehrjährigen Untersuchungszeitraum ausreichende Pollenmenge zur Verfügung stand, konnte nur ein Teil der Behandlungen zu allen genannten Zeitpunkten durchgeführt werden.

3.1. Wassergehalt des Pollens

In Tabelle 1 sind Durchschnittswerte des relativen Wassergehalts am Gesamtgewicht von frischem Pollen verschiedener Waldbauarten zusammengestellt. Es ist zu erkennen, daß einige der Mittelwerte beträchtlich streuen, was aber verständlich wird, wenn man die Einzelmessungen des Wassergehaltes im Pollen vergleicht (Tab. 2).

Als Ursachen des unterschiedlichen Feuchtigkeitsgehaltes sind in erster Linie Witterungsbedingungen, vor allem die relative Luftfeuchtigkeit, anzunehmen. Schwarzkiefern-pollen, der an einem warmen, sonnigen Tag direkt vom Baum abgesaugt wurde, hatte einen Wasseranteil von durchschnittlich 14,4%. Bei Beernung desselben Baumes etwa 2 Stunden nach einem Gewitterregen bei intensiver Sonneneinstrahlung und hoher Evaporation betrug der Anteil 25,8%. An Kiefernzwiegen von 14 Klonen, die in Gewächshauskabinen mit konstanten Luftfeuchtigkeitsverhältnissen eingestellt waren und hier beerntet wurden, erbrachte die Bestimmung des Wassergehaltes des Pollens der einzelnen Klone Werte, die zwischen 6,1% und 21,2% schwankten. Offensichtlich ist der Feuchtigkeitsgehalt des Pollens auch eine klon spezifische Eigenschaft.

Die Streuungen der Wassergehaltswerte bei frischem Pollen führen zu der Frage, ob der Grad seiner Feuchtigkeit einen Einfluß auf das Keimverhalten ausübt.

Mit einer Korrelationsberechnung wurde daher an einer größeren Zahl von Kiefern- und Schwarzkiefernklonen geprüft, in welcher Abhängigkeit Keimprozent und Wassergehalt des Pollens während der Blütezeit zueinander

stehen (Tab. 2). Die ermittelten Korrelationskoeffizienten (r) weisen darauf hin, daß offensichtlich keine Beziehungen zwischen den beiden genannten Faktoren bestehen. In keinem Falle wurde die Signifikanzschwelle (F-Test) annähernd erreicht. Daraus kann gefolgt werden, daß während der Blühperiode die Keimfähigkeit des Pollens bei Kiefer und Schwarzkiefer unabhängig vom Wassergehalt ist.

Durch Gefriertrocknung wurde der Wassergehalt des Pollens auf einen Restanteil von durchschnittlich 1,5% des Frischgewichtes reduziert (Tab. 3). Die relativ große Streuung der für die einzelnen Baumarten errechneten Mittelwerte muß vor allem auf Schwierigkeiten bei der Restwasserbestimmung zurückgeführt werden. Der fast absolut trockene Pollen weist eine starke Affinität zur Luftfeuchtigkeit auf, so daß bei der Wassergehaltsbestimmung infolge der Wiederbefeuung des Pollens geringfügige, aber kaum vermeidbare Fehler auftreten können, die sich in der Streuung widerspiegeln.

Bezogen auf den Feuchtigkeitsgehalt während der Blütezeit kann mit Hilfe der Gefriertrocknung der Wassergehalt des Pollens um etwa 90% reduziert werden. Der weitere Wasserentzug bis zur absoluten Trockenheit ist durchaus möglich, jedoch wird hierfür eine unverhältnismäßig lange Behandlungszeit erforderlich (in Versuchen bis zu 48 Std. bei $+15^{\circ}\text{C}$ zusätzlich).

Während der ersten 4–6 Stunden der Gefriertrocknung findet der Wasserentzug relativ rasch statt (Abb. 2). Im weiteren Verlauf des Trocknungsprozesses ist der vergleichsweise Wasserentzug jedoch wesentlich geringer — auch bei höheren Temperaturen —, was sich aus der festen Bindung des Restwassers an die Trocknungssubstanz

Tab. 1. — Durchschnittlicher Wassergehalt F (in % des Frischgewichtes) von frischen Waldbau-pollen

Baumart	Zahl der Klone	F %	s \pm	s %	Behandlung
Birke	5	10,0	1,8	18,3	Zweige 2 Tage eingestellt
Douglasie	5	9,6	1,2	12,8	Blüten gesammelt u. ausgelegt
Eiche	5	16,8	6,9	41,1	Zweige 2 Tage eingestellt
Fichte	5	15,7	2,4	15,5	Blüten gesammelt u. ausgelegt
Haselnuß	5	23,4	10,1	43,0	Zweige 1 Tag eingestellt
Lärche (eur.)	6	9,9	0,9	8,6	Blüten gesammelt u. ausgelegt
Kiefer	14	12,2	5,5	44,8	Zweige 2 Tage eingestellt
	3	9,0	0,5	5,8	wie vor, anderer Herkunfts-ort
	3	15,7	1,2	7,6	vom Baum abgesaugt
	4	9,3	1,2	12,4	Blüten gesammelt u. ausgelegt
Schwarzkiefer	5	12,0	3,5	29,2	Zweige 2 Tage eingestellt
	5	14,4	4,0	28,1	vom Baum abgesaugt
	4	25,8	4,8	18,5	wie vor, 2 Std. nach Gewitter

Tab. 2. — Wassergehalt und Keimprozent von Pollen bei Einzelbäumen während des Pollenfluges (auszugsweise)

Baumart	Klon-Nr.	Wassergehalt %	Pollenkeimung hängender Tropfen																																	
			Aqua dest. %	10% Saccharose %																																
Schwarzkiefer	31	11,6	62,5	75,5																																
	33	8,4	72,5	62,0																																
	35	16,8	60,9	69,4																																
	37	22,1	49,3	52,2																																
	38	13,4	86,2	95,0																																
	60	14,3	83,7	95,0																																
	62	25,2	73,1	64,6																																
	64	19,3	82,1	85,7																																
	65	28,7	77,8	92,5																																
\bar{x} :			72,0	76,9																																
r:			— 0,08	— 0,01																																
Kiefer	21	13,3	93,9	93,8																																
	23	10,3	90,4	94,4																																
	24	21,5	85,9	85,0																																
	27	7,2	54,4	53,3																																
	28	6,1	83,8	82,5																																
	42	6,1	96,4	98,2																																
	43	21,2	93,6	95,4																																
	Ch 8	8,7	75,0	76,8																																
	Ch 16	8,5	94,0	94,6																																
\bar{x} :			85,3	86,0																																
r:			0,28	0,27																																
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th rowspan="3"></th> <th rowspan="3"></th> <th colspan="2">feuchte Kammer</th> <th colspan="2">hängender Tropfen</th> </tr> <tr> <th colspan="2">1% Ag. agar,</th> <th colspan="2">10% Sacch.</th> </tr> <tr> <th colspan="2">10% Sacch.</th> <th colspan="2"></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1,3</td><td>5,0</td><td>22,6</td><td>0</td></tr> <tr> <td>5,0</td><td>5,0</td><td>0</td><td>13,3</td></tr> <tr> <td>19,4</td><td>13,0</td><td>19,8</td><td></td></tr> <tr> <td colspan="3" style="text-align: right;">\bar{x}:</td><td>8,7</td><td>11,1</td><td></td></tr> </tbody> </table>							feuchte Kammer		hängender Tropfen		1% Ag. agar,		10% Sacch.		10% Sacch.				1,3	5,0	22,6	0	5,0	5,0	0	13,3	19,4	13,0	19,8		\bar{x} :			8,7	11,1	
		feuchte Kammer		hängender Tropfen																																
		1% Ag. agar,		10% Sacch.																																
		10% Sacch.																																		
1,3	5,0	22,6	0																																	
5,0	5,0	0	13,3																																	
19,4	13,0	19,8																																		
\bar{x} :			8,7	11,1																																

Tab. 3. — Wassergehalt (F) von Pollen nach 48stündiger Gefriertrocknung

Baumart	Klone	F %	S ±	S %	in % des frischen Zustandes
Birke	5	1,7	0,3	17,7	17
Eiche	4	0,7	0,2	28,6	4
Fichte	5	1,6	0,5	32,2	10
Lärche (europ.)	6	1,6	0,4	25,0	16
Kiefer	32	1,4	0,6	42,7	11
Schwarzkiefer	14	1,7	0,6	35,3	13

erklärt. Aus dieser Tatsache ist die lange Zeitdauer für eine absolute Trocknung abzuleiten.

Im Verlauf des Untersuchungszeitraumes stellte sich heraus, daß die Abdichtung durch Gummistopfen nicht ausreichte, das Vakuum in den Penizillinfläschchen aufrechtzuhalten. Versuche, die Stopfen zusätzlich durch Wachs luftdicht zu versiegeln, blieben ohne Erfolg. Gleichzeitig konnte festgestellt werden, daß sich der gefriergetrocknete Pollen während der Lagerzeit in den Aufbewahrungsgefäßen zunehmend wiederbefeuhtete (Tab. 4). Als Ursache hierfür muß die nicht völlig luftdichte Verschließung der Glasgefäße und die Hygroskopizität stark getrockneten Pollens angesehen werden. Ähnliche Beobachtungen sind

auch bei der Einlagerung von Waldbaumsamen gemacht worden (v. SCHÖNBORN 1964).

Pollen, der bei -10° C aufbewahrt wurde, hat in stärkerem Maße Wasser aufgenommen als der bei Raumtemperatur gelagerte. Der Grund hierfür liegt darin, daß in den Räumen mit Minustemperaturen die relative Luftfeuchtigkeit ständig bei 90% lag, während in dem Raum mit Plustemperatur nur Werte von 50—60% gemessen wurden. Bei Douglasie ist zu erkennen, daß sich der Pollen schneller wiederbefeuhtete als der von Kiefer und Schwarzkiefer; auch hat er unter Raumtemperatur relativ mehr Wasser aufgenommen als unter Minustemperaturen.

Tab. 4. — Wassergehalt (%) von Pollen nach Gefriertrocknung und mehrmonatiger Lagerung

Baumart	Lagerdauer	bei:	—10° %	—1° %	+17° %
Kiefer	nach Gefriertrocknung		1,4	1,4	1,4
		3 Mon.	1,7	2,3	1,6
		8 Mon.	2,2	2,4	2,0
		36 Mon.	5,3	6,8	4,1
		48 Mon.	5,6	8,0	4,7
Schwarzkiefer	nach Gefriertrocknung		1,7	1,7	1,7
		3 Mon.	1,8	2,1	2,1
		8 Mon.	2,0	2,4	2,5
		36 Mon.	—	—	—
		48 Mon.	7,5	6,4	4,6
Douglasie	nach Gefriertrocknung		2,5	2,5	2,5
		3 Mon.	5,5	5,5	5,4
		8 Mon.	5,9	6,3	6,0
		36 Mon.	—	—	—
		48 Mon.	5,2	5,3	5,9

Tab. 5. — Pollenkeimung nach Gefriertrocknung und Lagerung.

Baumart	frisch	Lagerung bei:	Keimprozent		
			—10° C	—1° C	+17° C
Kiefer (25 Klone)	88,3 ± 10,4	nach Gefriertrocknung	72,0 ± 24,1		
			69,5 ± 21,2	54,0 ± 23,5	32,3 ± 30,7
			62,1 ± 17,4	54,9 ± 23,2	23,6 ± 22,5
			60,4 ± 22,5	33,0 ± 26,6	14,1 ± 12,5
			—	—	—
Schwarzkiefer (11 Klone)	80,5 ± 14,8	nach Gefriertrocknung	51,0 ± 23,5		
			49,6 ± 10,7	50,7 ± 22,2	18,1 ± 16,3
			47,3 ± 12,3	52,1 ± 23,7	11,8 ± 8,6
			44,6 ± 18,7	31,1 ± 18,0	2,1 ± 1,1
			—	—	—
Douglasie (5 Klone)	85,5 ± 6,9	nach Gefriertrocknung	84,0 ± 5,3		
			78,4 ± 5,0	75,0 ± 6,7	51,9 ± 7,1
			79,8 ± 2,2	60,4 ± 10,7	48,9 ± 3,9
			58,5 ± 5,7	62,3 ± 8,8	1,8 ± 0,5
			—	—	—
Fichte (5 Klone)	95 ± 3,8	nach Gefriertrocknung	nicht ermittelt		
			66,8 ± 14,8		
			63,8 ± 14,9		
			51,3 ± 16,5		
			—	—	—

Kiefer	FG	SQ	MQ	F	n.s.
Klone	24	13 486	562	1,0	
Behandlung	1	9 816	9 816	17,7	**
Fehler	24	13 304	554		
Gesamt	49	36 606			

Schwarzkiefer	Klone	10	6 503	650	2,5	n.s.
	Klone	1	5 728	5 728	22,4	
	Behandlung	10	2 552	255		**
	Fehler	21	14 783			

3.2. Pollenkeimung

Frischer Pollen von Nadelbaumarten keimt *in vitro* meist zu über 80% (Tab. 5, Abb. 3). Bei Fichte konnten sogar

Keimwerte von nahezu 100% festgestellt werden. Nach Gefriertrocknung ist jedoch festzustellen, daß die Keimfähigkeit bestimmter Baumarten im Durchschnitt deutlich abgenommen hat. Absolut beträgt der Rückgang der Keimraten bei Kiefer rund 16%, bei Schwarzkiefer 30%, während bei Douglasie keine Veränderung zu erkennen ist.



Abb. 3. — Keimender Fichtenpollen, 48 Std. Feuchte Kammer. (ca. 50X)

Die Minderung der Lebensfähigkeit muß auf die unterschiedliche Empfindlichkeit einzelner Arten und Klone gegenüber der Gefriertrocknungsbehandlung zurückgeführt werden. Beim Auszählen der Keimproben unter dem Mikroskop war zu erkennen, daß der Pollen bestimmter Klone beispielsweise kaum noch keimte, auch nicht mehr bei Veränderungen der Keimbedingungen, oder daß die Keimschläuche zu Beginn ihres Wachstums platzen und der Zellinhalt auslief (Abb. 4).

Bei Kiefer wurde das Keimverhalten von 25 Klonen vor und nach der Gefriertrocknung sowie nach mehrmonatiger Lagerung im einzelnen geprüft. Die Ergebnisse sind in folgender Zusammenstellung wiedergegeben:

Behandlung	Keimrate > 60%	Zahl der Klone			
		30—60%	10—30%	< 10%	
frisch	23	2	—	—	
Gefriertrocknung	15	4	3	3	
Gefriertrocknung und 3 Mon. Lagerung (—10° C)	14	5	3	3	
Gefriertrocknung und 8 Mon. Lagerung (—10° C)	14	6	2	3	

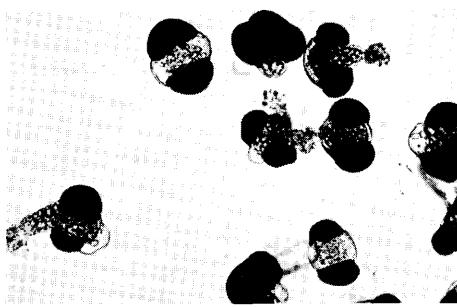


Abb. 4. — Geplatzte Pollenkörner von Kiefer-Klon Ktf2 nach Gefriertrocknung, 48 Std. Hängender Tropfen. (ca. 165X)

Über 90% der Klone wiesen während des Stäubens eine hohe Keimfähigkeit auf. Nach Gefriertrocknung sind es nur noch 15 Klone, 7 Klone keimen zu 10—60%, während bei 3 Klonen nur wenige Pollenkörner Keimschläuche auszubilden vermögen. Im Verlauf der anschließenden Lagerzeit von 8 Monaten treten kaum weitere Veränderungen auf.

Eine Varianzanalyse über die Keimfähigkeit vor und nach Gefriertrocknung bestätigt bei Kiefer und Schwarzkiefer die getroffenen Beobachtungen (Tab. 5).

Zur weiteren Absicherung wurden ein Jahr später nochmals Pollen von Klonen, die mit Vitalitätsverlust auf die Gefriertrocknung reagiert hatten, eingesammelt und unter den gleichen Bedingungen konserviert. Die Keimtests zeigten wiederum bei denselben Klonen das gleiche Ergebnis, während die anderen unbeeinflußt blieben (Abb. 5). Die Ursachen dieses klonspezifischen Verhaltens sind bisher nicht bekannt.

Der Einfluß von Lagertemperatur und -dauer auf die Vitalität von gefriergetrocknetem Pollen ist aus Tabelle 5 ersichtlich. Bei -10°C gelagerter Kiefern- und Schwarzkiefernpollen lässt nach 4 Jahren kaum eine Minderung der Keimfähigkeit im Durchschnitt der untersuchten Klone erkennen. Die relativ große Streuung erklärt sich aus der Tatsache, daß einzelne Klone durch die Gefriertrocknung erheblich an Keimvermögen einbüßen. Fichten- und Douglasienpollen verlieren nach 2- bzw. 4jähriger Lagerung jedoch etwa 25% ihrer Lebensfähigkeit.

Die Aufbewahrung bei -1°C führt bei Kiefer und Schwarzkiefer zu einer deutlichen Reduzierung der Keimfähigkeit nach 4 Jahren. Mittelfristig, d. h. über 1—2 Jahre, lässt sich jedoch auch unter diesen Verhältnissen der gefriergetrocknete Pollen mit kaum geminderter Keimfähigkeit aufbewahren. Douglasienpollen kann offensichtlich ebenso bei -1°C wie bei -10°C über 4 Jahre gelagert werden, ohne daß dadurch ein Einfluß auf die Erhaltung der Vitalität ausgeübt wird.

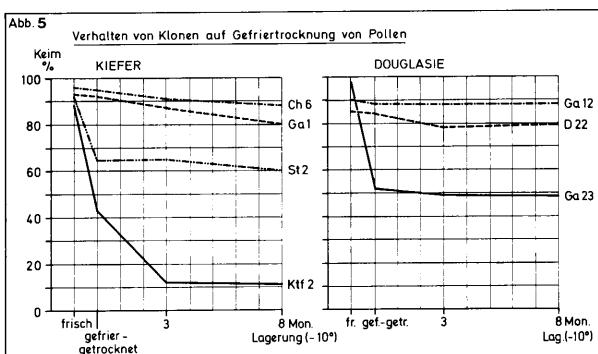


Abb. 5. — Verhalten von Klonen auf Gefriertrocknung von Pollen.

Tab. 6. — Keimprozente (K) und Wassergehalt (F) von unbehandeltem Pollen

		Wetterhütte		Labor	
		K %	F %	K %	F %
Kiefer:	frisch	88,3	11,7	83,3	11,7
	14 Tage	87,3	13,7	89,8	7,6
	1 Monat	84,3	11,9	88,9	10,3
	3 Monate	0	17,8	0	13,5
	8 Monate	nicht mehr geprüft			
Douglasie:	frisch	85,5	9,5	85,5	9,5
	8 Tage	90,3	16,5	90,1	10,3
	14 Tage	93,7	13,6	86,9	7,6
	1 Monat	94,1	19,1	91,8	8,6
	3 Monate	42,8	9,1	46,5	9,5
	8 Monate	verschimmelt		0	8,4

Auch bei Raumtemperaturen ist Douglasienpollen etwa für 1 Jahr nach der Gefriertrocknung noch lebensfähig zu erhalten. Bei längerer Lagerungszeit geht die Keimfähigkeit jedoch erheblich zurück. Kiefern- und Schwarzkiefernpollen werden unter der Einwirkung der Raumtemperaturen zum größten Teil schon nach kurzer Zeit lebensunfähig, so daß diese Lagerbedingungen bei Gefriertrocknungsbehandlung auch für kurzfristige Aufbewahrung ausscheiden.

Die Keimmethoden „Feuchte Kammer“ und „Hängender Tropfen“ haben sich bei allen Laboruntersuchungen als sehr praktikabel und zuverlässig erwiesen. Diese Beobachtung, die schon zu Anfang der Untersuchungen getroffen wurde, war Veranlassung dafür, daß andere Verfahren zur Prüfung der Pollenkeimung nicht näher in Betracht gezogen wurden. Wegen des sehr umfangreichen Untersuchungsmaterials war zudem aus arbeits- und versuchstechnischen Gründen eine Variierung der Methoden nicht möglich.

3.3. Vergleich mit unbehandeltem Pollen

Die Ergebnisse von Keimprüfungen und Wassergehaltsbestimmungen an Pollen von Kiefer und Douglasie, der ohne Gefriertrocknungsbehandlung in einer Wetterhütte im Freien und in einem Laborraum aufbewahrt worden ist, sind in Tabelle 6 wiedergegeben.

Pollen beider Baumarten zeigt während der ersten 4 Wochen nach dem Einsammeln keine Änderungen gegenüber der Keimfähigkeit im frischen Zustand. Auch der wechselnde Wassergehalt bleibt ohne Einfluß auf diese Tatsache. Nach einmonatiger Aufbewahrung nimmt die Vitalität jedoch rasch ab, und der Pollen verdirbt schließlich nach etwa 3 Monaten. Es erwies sich eindeutig, daß Pollen von Kiefer und Douglasie ohne bestimmte Konservierungsmaßnahmen nicht längerfristig lebensfähig aufbewahrt werden kann. Andererseits ist aber auch ersichtlich, daß Pollen, der in einer Zeitspanne von bis zu 4 Wochen nach dem Einsammeln für Kreuzungszwecke verbraucht werden soll, ohne jegliche Konservierung bereithalten werden kann.

3.4. Kreuzungsversuche

Freilandkreuzungen mit dem Untersuchungsmaterial konnten bei Douglasie, Kiefer und Lärche ausgeführt werden, bei Fichte standen keine weiblichen Blüten zur Verfügung. Versuchstechnische Schwierigkeiten ergaben sich bei den Kreuzungen insofern, als einerseits möglichst alle an Pollen vorgenommenen Behandlungen in ihrer Auswirkung auf die Befruchtungsfähigkeit des Pollens durchgetestet werden sollten, wobei gleichzeitig auch der Nachweis

der Brauchbarkeit der *in vitro*-Keimung zu erbringen war, andererseits aber je Kreuzungsbehandlung ca. 50 weibliche Blüten zur Absicherung der Ergebnisse bestäubt werden mußten. Die erforderlichen Blütenzahlen standen in dem erwünschten Umfang nicht zur Verfügung, so daß nicht alle Methoden getestet werden konnten.

Als Samenertrag wurde das Gesamtgewicht der Körner je Zapfen ermittelt. Zur Zahl der Volkörner ist die Anzahl der daraus gezogenen gesunden Sämlinge ins Verhältnis gesetzt, um einen Maßstab für den Befruchtungserfolg zu finden. Die Kompatibilität der Elter war bereits zu einem früheren Zeitpunkt positiv geklärt. Als Standard für die Bewertung der Kreuzungsergebnisse wurden die Samen- und Sämlingsausbeute von unkontrolliert bestäubten Blüten (Methode VII) gewählt.

Die Kreuzungsversuche sind zweimal wiederholt worden (1971, 1972). Durch Frost und Insekten wurden jedoch Blüten bzw. Zapfen so stark geschädigt, daß die in Tabelle 7 zusammengestellten Ergebnisse keine klaren Folgerungen zulassen. Es ist aber zu erkennen, daß die Ausbeute an Samen und Sämlingen aus Kreuzungen mit gefriergetrocknetem und bei -10°C gelagertem Pollen bei allen drei Baumarten nicht niedriger liegt als die der freien Abblüte. Saatgut aus Bestäubungen mit Lärchenpollen, der ohne Gefriergetrocknungsbehandlung bei -10°C aufbewahrt war, lief nicht auf. Bei Kiefer nahm die Anzahl gesunder Sämlinge ab, je höher die Temperatur bei der Lagerung des Pollens war. Pollen dieser Baumart, der nicht gefriergetrocknet wurde, zeigte *in vitro* keine Keimschlauchbildung mehr und führte auch nicht zu Samenansatz. Bei Douglasie hat diese Behandlungsmethode (IV) allerdings eine ausreichende Sämlingsausbeute erbracht.

Da die gefundenen Werte nicht ausreichen, um die Reproduzierbarkeit der Behandlungsmethoden zu gewährleisten, müssen die Versuche nochmals über mehrere Jahre wiederholt werden.

4. Diskussion

Pollen von Waldbauarten hat eine natürliche Lebensdauer von wenigen Tagen (z. B. Hainbuche) bis zu drei bis vier Monaten (z. B. Fichte) (HOLMAN und BRUBAKER 1926). Längerfristige Aufbewahrung ist jedoch, wie die eigenen Untersuchungen auch ergeben haben, ohne konservierende Maßnahmen nicht möglich. Der in einer Wetterhütte gelagerte Kiefernpollen war nach 3 Monaten durch den Ein-

fluß der Luftfeuchtigkeit verdorben, Douglasienpollen nach 8 Monaten. Auch bei Lagerung in einem Laborraum mit konstanten Temperatur- und Luftfeuchtigkeitsverhältnissen war nach 8 Monaten keinerlei Vitalität mehr festzustellen. Diese Ergebnisse decken sich mit denen anderer Untersuchungen (MARDET 1951, EHRENBURG 1960, CHIRI 1964, u. a.).

Die Wirkungen der Faktoren, die die Lebensfähigkeit von Pollen beeinflussen, sind bereits mehrfach untersucht worden. Durch Lagerung bei niedrigen Temperaturen, möglichst im Minusbereich, Herabsetzung der relativen Luftfeuchtigkeit während der Aufbewahrung oder Reduzierung des Wassergehaltes des Pollens konnte eine Verlängerung der Lebensfähigkeit erreicht werden (DUFFIELD 1954, VISSER 1955, PURZINSKY 1960, STANLEY, PETERSON u. MIROV 1960, u. a.). Allgemein wurde festgestellt, daß hierfür je nach Baumgattung und -art spezifische Temperatur- und Luftfeuchtigkeitsverhältnisse einzuhalten waren. Da insbesondere die Art und Weise des Wasserentzuges aus pflanzlichen Organen nicht ohne Einfluß auf deren Vitalität ist (ILJIN 1930), sollten die eigenen Untersuchungen über Gefriergetrocknung zusätzliche Möglichkeiten zur langfristigen Konservierung von Waldbauernpollen bieten.

Während eines 48stündigen Gefriergetrocknungsprozesses konnte der Wassergehalt von Pollen auf durchschnittlich etwa 1,5% reduziert werden. Eine weitere Trocknung war nur bei unverhältnismäßig langen Behandlungszeiten möglich. Es muß angenommen werden, daß dieses Restwasser chemisch gebunden ist. Zudem erweist sich extrem getrockneter Pollen als stark hygroskopisch (LANNER 1962), so daß auch geringfügige Ungenauigkeiten infolge rascher Wiederbelebung bei der Restwasserbestimmung nicht auszuschließen sind.

Während der Blütezeit eingesammelter Pollen von Nadelbaumarten keimt *in vitro* zu 80 bis 100%. Es konnte geklärt werden, daß dieses Keimvermögen unabhängig vom jeweiligen Wassergehalt des Pollens besteht. Bei Keimtests nach Wasserentzug durch Gefriergetrocknung ist bei einzelnen Klonen der untersuchten Baumarten eine starke Abnahme der Vitalität festzustellen (vgl. Abb. 5), während bei anderen Klonen praktisch keine Minderung der Keimfähigkeit zu erkennen ist. Aus der Tatsache, daß der Pollenwassergehalt sowohl auf art- als auch klonspezifischer Ebene unter natürlichen Verhältnissen stark variiert, und den Beobachtungen von ILJIN (1930), daß der Zelltod bei

Tab. 7. — Samenertrag bei Bestäubung mit gefriergetrocknetem Pollen.

Methode	Lärche				Kiefer				Douglasie						
	Pollen- keimung	Samen je Zapfen	Hohl- körner	Sämling	Pollen- keimung	Samen je Zapfen	Hohl- körner	Sämling	Pollen- keimung	Samen je Zapfen	Hohl- körner	Sämling			
%	gr	%	%	%	%	gr	%	%	%	gr	%	%			
I (g., *), 24 Mon., -10°C	65	0,26	4	4	60	0,10	67	73	40	0,21	26	13			
II (g., 24 Mon., -10°C)	55	Totalausfall			55	0,03	94	38	40	Totalausfall					
III (g., 12 Mon., $+17^{\circ}\text{C}$)	nicht geprüft				30	0,01	93	0	nicht geprüft						
IV (1., **), 24 Mon., -10°C)	nicht geprüft				0	0			30	0,10	28	36			
V (1., 24 Mon., $+17^{\circ}\text{C}$)	30	0,21	28	0	0	0			nicht geprüft						
VI (frischer Pollen)	95	0,34	19	3	90	0,07	43	51	100	0,24	21	41			
VII (freie Abblüte)	95	0,31	12	9	90	0,10	32	60	100	0,23	20	3			

*) g. = gefriergetrocknet

**) 1. = luftgetrocknet

Austrocknung durch entstehende Spannungen im Plasma eintritt, wird auf eine individuelle Empfindlichkeit des Plasmas gegenüber Wasserentzug als Ursache für das klon-spezifische Verhalten auf Gefriertrocknungsbehandlung geschlossen. Der Verlust der Keimfähigkeit ist irreversibel (vgl. Abb. 4).

Besonders auffällig ist der Rückgang der Keimfähigkeit nach Gefriertrocknung bei Kiefern- und Schwarzkiefern-pollen sowie bei Fichte zu beobachten. Demgegenüber konnte Douglasienpollen ohne wesentliche Minderung der Vitalität gefriergetrocknet werden.

JENSEN (1965) stellte bei Pollenlagerung unter reduziertem Druck eine Abnahme der Keimfähigkeit bis hin zum völligen Verlust derselben fest, und zwar mit zunehmender Dauer der Unterdruckbehandlung. CHING, T. M. und CHING, K. K. (1964) halten den Anfangswassergehalt des Pollens als ausschlaggebend für den Erfolg der Gefriertrocknung. Frischer Pollen soll zunächst durch Lufttrocknung vorbehandelt und dann erst gefriergetrocknet werden. Zu ähnlichen Resultaten kommen LIVINGSTONE u. CHING, K. K. (1967) bei Gefriertrocknungsversuchen mit Douglasienpollen. In allen drei Arbeiten tritt der Verlust der Keimfähigkeit bei Wasserentzug durch Unterdruckbehandlung nach $\frac{1}{2}$ —3 Stunden Behandlungszeit ein. Dagegen wurden die eigenen Versuche in der Regel über 48 Stunden, teilweise bis zu 96 Stunden an frischem Pollen durchgeführt, ohne daß generell am Ende der Behandlungszeit der Pollen seine Keimfähigkeit verloren hatte.

Aufgrund der sehr umfangreichen eigenen Untersuchungsergebnisse wird festgestellt, daß die Reaktion von Waldbaumpollen auf Gefriertrocknung in bezug auf die Minderung der Keimfähigkeit eine klon-spezifische Eigenschaft ist. Wenn Waldbaumpollen durch Gefriertrocknung für eine längere Lagerung konserviert werden soll, ist zu empfehlen, nach dem Trocknungsprozeß Keimtests durchzuführen, um sich über das Maß der Vitalität zu informieren. Diese Prüfung erscheint auch aus züchterischer Sicht notwendig, da durch Vitalitätsverlust eine Einengung der genetischen Variationsbreite des Pollens möglich sein kann.

Um die günstigsten Aufbewahrungsverhältnisse für gefrorene Pollen zu ermitteln, ist das Untersuchungsmaterial bei Temperaturen von -10° , -1° und $+17^\circ$ C gelagert worden. Dabei hat sich ergeben, daß sich der Pollen mit zunehmender Lagerzeit wiederbefeuchtete. Da die Aufbewahrungsgefäße nur durch Gummistopfen verschlossen waren, ist sicher, daß die Erhöhung des Wassergehaltes durch Absorption der Luftfeuchtigkeit verursacht ist (LANNER 1962), wobei ein artspezifisches Verhalten zu beobachten war.

Aus Abbildung 5 wird ersichtlich, daß sich die Lebensfähigkeit von Pollen langfristig am besten bei niedriger Lagerungstemperatur erhalten läßt. Diese Feststellung deckt sich völlig mit zahlreichen früheren Beobachtungen anderer Autoren (JOHNSON 1943, EHRENBURG 1952, DUFFIELD, BARBER und STEWART 1957, u. a.).

Alterungsprozesse bei Pollen verlaufen ähnlich denen bei Samen (KÜHLWEIN und ANHÄUSSER 1951). Es kann daher angenommen werden, daß zwischen der Lagerdauer und der Wiederbefeuchtung des Pollens Beziehungen bestehen. Durch zunehmenden Wassergehalt werden die physiologischen Vorgänge im Plasma aktiviert. Um die Vorteile der Gefriertrocknung für die Konservierung lebensfähigen Pollens zu nutzen, muß eine Wiederbefeuchtung während der Lagerzeit verhindert werden. Einen Weg hierfür hat HERRMANN (1969) beschrieben, wobei der Pollen in evakuierten Glasampullen eingeschmolzen wird. Ebenso berichten

SCHOENIKE u. STEWART (1963) über positive Ergebnisse bei Vakuumlagerung.

Zur Überprüfung der Keimfähigkeit von Pollen haben sich i. a. die Methoden „Feuchte Kammer“ und „Hängender Tropfen“ in Verbindung mit den entsprechenden Keimmedien als relativ einfache und sichere Tests erwiesen. Laborkeimungen können zwar nicht unbedingt als Ersatz für Kreuzungstests herangezogen werden, wie sich bei den unter Abschnitt 3.3 gefundenen Ergebnissen der Freilandkreuzungen gezeigt hat. Sie ermöglichen jedoch eine Beurteilung der Vitalität des Pollens allgemein und reichen aus, geschädigten und keimunfähigen Pollen zu erkennen. Sicher anzuwenden sind diese Methoden vor allem bei Baumarten, deren Pollenkörper *in vitro* Keimschläuche bilden. Bei Lärche und Douglasie dagegen ist lediglich ein Quellen der Pollenkörper zu beobachten. Die eigenen Untersuchungen haben aber gezeigt, daß bei genauer Beobachtung auch diese Reaktion als Maßstab der Vitalität gewertet werden kann. HO und SZIKLAI (1969) konnten zudem nachweisen, daß bei der *in vitro*-Keimung der Douglasie auch Zellkernteilung stattfindet.

Anmerkung

Allen an diesen Untersuchungen beteiligten Mitarbeitern der Hessischen Forstlichen Versuchsanstalt, insbesondere Fräulein BÖDEN, Frau KIENE und Herrn HUSCHENBETH, wird für die Sorgfalt und Ausdauer bei der Bearbeitung des sehr umfangreichen Untersuchungsmaterials gedankt.

Zusammenfassung

1. Durch die vorliegenden Untersuchungen war zu klären, ob Pollen der Waldbaumarten mittels Gefriertrocknung so zu konservieren ist, daß er langfristig bei Erhaltung seiner Keimfähigkeit aufbewahrt werden kann. Gleichzeitig waren Methoden der Keimprüfung *in vitro* zu testen.

2. Der Wassergehalt von Pollen der Nadelbaumgattungen *Larix*, *Picea*, *Pinus* und *Pseudotsuga* konnte durch 48stündige Gefriertrocknung bei Temperaturen von -30° bis $+15^\circ$ C und einem Druck von 10^{-3} Torr bis auf einen Rest von ca. 1,5% Frischgewichtsanteilen reduziert werden. Keimtests an den so behandelten Pollen ergaben, daß eine klon-spezifische Empfindlichkeit auf die Gefriertrocknung vorhanden ist. Bestimmte Bäume der untersuchten Arten verloren ihre Keimvermögen zum Teil oder völlig, während auf andere die Maßnahme ohne Einfluß blieb. In Anbetracht der erheblichen individuellen Reaktionen gegenüber dem untersuchten Verfahren muß Pollen, der langfristig konserviert werden soll, nach der Gefriertrocknungsbehandlung *in vitro* auf seine Keimfähigkeit überprüft werden. Hierfür haben sich bei den durchgeführten Untersuchungen die Methoden „Feuchte Kammer“ und „Hängender Tropfen“ als besonders geeignet erwiesen.

3. Die Keimfähigkeit von gefriergetrocknetem Pollen ist in hohem Maße langfristig zu erhalten, wenn die Temperatur während der Lagerung etwa -10° C beträgt und gleichzeitig verhindert wird, daß sich der Pollen wiederbefeuchten kann.

4. Freilandkreuzungen mit gefriergetrocknetem und bei -10° C bis zu 4 Jahren gelagerten Pollen haben Samen- und Sämlingsausbeuten erbracht, die sich nicht von den Ergebnissen unkontrollierter Bestäubungen (freie Abblüte) unterscheiden.

Schlagworte: Pollenlagerung, Keimfähigkeit, Gefriertrocknung, Nadelbaumarten.

Summary

1. The above outlined research work was undertaken in order to clarify whether pollen of tree species can be con-

served for long-term storage maintaining its germinative capacity. At the same time methods for germination-tests "in vitro" had to be tested.

2. The water content of pollen of the coniferous genus *Larix*, *Picea*, *Pinus* and *Pseudotsuga* could be reduced to 1.5% of the fresh weight by 48 hours of freeze-drying at a temperature from +15° C to -30° C and a pressure of 10⁻³ Torr. Germination tests of pollen treated in this way showed a clone-related sensitivity to freeze-drying. Pollen of some trees of the species investigated lost its germinative capacity in part or totally whereas that of others remained unchanged. Due to the significant individual differences in reacting on the treatment applied, it is necessary to test germinative capacity "in vitro" immediately after freeze-drying. For these tests the methods of "Moist Chamber" and "Hanging Drip" proved to be specifically suited.

3. The germinative capacity of pollen conserved by freeze-drying can be maintained to a high degree for a long period if the temperature during the storage is around -10° C and simultaneously damping of the pollen can be prevented.

4. Field crossings with pollen conserved by freeze-drying and stored up to 4 years at -10° C yielded seeds and seedlings not different from the results of uncontrolled pollination.

Literatur

BARBER, J. C., and D. M. STEWART: Vacuum storage of pollen proves feasible. Minnesota Forestry Notes, No. 62, 1957. — BREDEMANN, G., P. HARTER, K. GARBER und K. A. SUHR: Die Temperaturabhängigkeit der Lebensdauer von Blütenpollen. Naturwiss. 34, 279-280 (1947). — CHING, T. M., and K. K. CHING: Freeze drying Pine pollen. Plant Physiology 39, 705-709 (1964). — CHIRÁ, E.: Vplyv vonkajších podmienok uskladňovania na životaschopnosť peľu u niektorých druhov *Pinus*. Sborník vysoké školy zemědělské v Brně, Rada C, 149-159, 1964. — CHRISTIANSEN, H.: On the Development of Pollen and the Fertilization Mechanism of *Larix* and *Pseudotsuga menziesii*.

Silv. Gen. 21, 166-174 (1972). — DUFFIELD, J. W.: Studies of extraction, storage and testing of Pine pollen. Z. Forstgenetik 3, 39-45 (1954). — DUFFIELD, J. W., and R. Z. CALAHAM: Deep freezing Pine pollen. Silv. Gen. 8, 22-24 (1959). — EHRENBURG, C. E.: Studies on the longevity of stored Pine pollen (*Pinus silvestris* L. and *Pinus contorta* var. *murrayana* ENGELM.). Meddel. f. St. Skogsforskningsinst. 49, 7, 1960. — FRÖHLICH, H. J.: Pollenbank und Pollenkeimung. Forst- und Holzwirt 19, 200-203 (1964). — HERMANN, S.: Practical method to conserve pollen of forest trees under vacuum. FAO/IUFRO No. FO-FTB-69-11/10, 1969. — HO, R. H., and O. SZKLAI: Some observations on germination of *Pseudotsuga menziesii* (MIRB.) FRANCO (Douglas-Fir) pollen *in vitro*. Proceedings, 44-49, 1969. — HOLMAN, R. M., and F. BRUBAKER: On the longevity of pollen. Univ. Calif. Bot. 13, 179-204, 1926. — ILJIN, W. S.: Die Ursachen der Resistenz von Pflanzenzellen gegen Austrocknen. Protoplasma 10, 379-414 (1930). — JENSEN, C. J.: Pollen storage under vacuum. Yearbook, Royal Net. a. Agr. Col. Copenhagen, Denmark, 133-146, 1964. — JOHNSSON, L. P. V.: The storage and artificial germination of forest tree pollen. Can. Jour. Res. 21, 332-342 (1943). — KÜHLWEIN, H., und H. ANHÄUSSER: Veränderungen des Gymnospermenpollen durch Lagerung. Planta 39, 476-479 (1951). — LANNER, R. M.: Controlling the moisture content of Conifer pollen. Silv. Gen. 11, 114-117 (1962). — LICHTE, H. F.: Über die Physiologie von Angiospermenpollen und ihre Bedeutung für die Pflanzenzüchtung. Angewandte Botanik XXXI, 1/2, 1-28 (1957). — LIVINGSTONE, G. K., and K. K. CHING: The longevity and fertility of freeze-dried Douglas-Fir pollen. Silv. Gen. 16, 98-101 (1967). — MARCET, E.: Pollenuntersuchungen an Föhren (*Pinus silvestris* L.) verschiedener Provenienzen. Mitt. d. Schweiz. Anst. für das forstl. Versuchswesen XXVII Bd., 348-405 (1951). — NEUMANN, K. H.: Grundriß der Gefriertrocknung. Musterschmidt, Wiss. Verlag Göttingen, Frankfurt, Berlin, 1955. — PRUZINSKY, S.: Über Trocken- und Feuchtluftresistenz des Pollens. Sitzungsber. d. Österr. Akad. d. Wiss., Math. nat. Kl., Abt. I, 169. Bd., 43-100 (1960). — SCHOENIKE, R. E., and D. M. STEWART: Fifth year of vacuum-drying storage and additives on the viability of some Conifer pollen. For. Sci. 9, 96-97 (1963). — SCHÖNBORN, A. v.: Die Aufbewahrung des Saatgutes der Waldbäume. BLV Verlagsgesellschaft München, Basel, Wien, 1964. — STANLEY, R. G., J. PETERSEN, and N. T. MIROV: Viability of Pine pollen stored 15 years. Research note No. 173, Forest Service, U. S. Department of Agriculture, 1960. — WORSLEY, R. G. F.: The processing of Pollen. Silv. Gen. 8, 143-148 (1959).

Heritabilities of Growth and Crown Characteristics of Arizona Cypress

By J. F. GOGGANS and R. J. MEIER¹⁾

(Received / revised August 1973)

The coastal plain of the United States bordering the Gulf of Mexico does not have a native conifer suitable for Christmas tree production. Arizona cypress (*Cupressus arizonica* GREENE) has been tried with varying success. Serious problems encountered are poorly shaped trees, poor foliage color, and multiple stemmed trees. The exact seed source locations of these earlier plantings are unknown, but they are thought to be from areas in the vicinity of Gila County and Oak Creek Canyon (Sedona), Arizona.

In 1964, the Agricultural Experiment Station, Auburn University undertook the task of genetic improvement of Arizona cypress for use as Christmas trees in the southeastern United States. In the summer of that year the Station sponsored a seed collection trip to the southwestern United States and northern Mexico (POSEY and GOGGANS;

1967) to obtain seed and specimens from the species throughout its natural range. The seeds are borne in serotinous cones with bossed scales, facilitating collection in any season. Variation within and between stands was sampled. This report is based on a portion of the plantings resulting from these collections.

Materials and Methods

Areas of collection are shown in Figure 1 and described in Table 1. One hundred to 300 cones were collected from 12 or more trees per source. Where possible the trees were several hundred feet apart to minimize the chance of collecting from closely related trees. Each individual tree seedlot was divided into halves. One half was planted in the Auburn Forest Tree Nursery, Auburn, Alabama in March, 1965. Seedlings were lifted in the spring of 1966 and planted.

The experimental area was relatively flat, moderately-drained bottomland near Tuskegee, Alabama. The soil ranged from sandy loam to fine sandy loam. The experi-

¹⁾ Professor of Forestry and Research Associate respectively, Auburn University Agricultural Experiment Station, Auburn, Alabama, 36830. Gratitude is expressed to J. A. McGuire and J. C. Williams, respectively Assistant and Associate Professors, Research Data Processing, for their assistance in the statistical analyses.