

# Acta Societatis Botanicorum Poloniae.

Vol. I. Nr. 3. 1923.

---

## Einige Beobachtungen über Prothallien und Archegonien bei *Larix dahurica* Turcz. und *Larix europaea* DC.

Von

ZYGMUNT WÓYCICKI.

(Mit Tafel II—IV).

---

Eine allgemein bekannte Sache ist die Erscheinung des Auftretens von vielkernigen Zellen in Prothallien der *Gymnospermen* zu der Zeit, in welcher der Vorkeim zu wachsen beginnt.<sup>1)</sup> Die Zellen des Prothalliums füllen sich dann mit Stärke, was in sehr verschiedenem Masse und Tempo geschieht.<sup>2)</sup> Bei den *Sequoiaceen*, wie auf Fig. 3—5 Tafel VII der Arbeit W. Arnoldi's vom Jahre 1901 zu sehen ist, besitzen die Prothalliumzellen 3, 4 und mehr Kerne; diese befinden sich in einem plasmatischen Primordialschlauche, welcher eine grosse zentrale Vacuole umgibt. Dieselbe Struktur hat auch A. Lawson in den Mantelzellen der Archegonien bei *Cryptomeria japonica*,<sup>3)</sup> dessen Prothallium von zweikernigen Zellen gebaut ist, beobachtet. Er meint, dass sie sich gerade dadurch von den übrigen Prothalliumzellen unterscheiden, und auf dieser Grundlage stützte er seine Folgerung, dass „the jacket-cells are archegonial initials morphologically...“<sup>4)</sup> Autor geht noch weiter, indem er behauptet, dass die Kerne der Mantelzellen uns potential die Kerne der Eier, die Kerne der Bauchkanal- und Halskanalzellen darstellen.<sup>5)</sup> Den grössten Platz, soviel

<sup>1)</sup> Siehe W. Arnoldi: „Beiträge zur Morphologie einiger *Gymnospermen*“ V. Bull. Soc. Imp. Nat. Moscou, 1901, Nr. 4. Der Autor gibt auch ältere Literatur an (p. 469).

<sup>2)</sup> W. Arnoldi, V., l. c., p. 469.

<sup>3)</sup> A. A. Lawson: „The Gametophytes, Fertilization and Embryo of *Cryptomeria japonica*“. Ann. of Bot., Vol. 18, 1904.

<sup>4)</sup> L. c., p. 432.

<sup>5)</sup> L. c., p. 432.

mir bekannt ist, räumt der Entwickelung und dem Verhalten von Prothallien bei *Gymnospermeu* L. Jäger ein, welcher bewies, dass bei *Taxus baccata* L. das Prothallium immer weiter wächst und bereits nach der Bildung der Archegonien.<sup>1)</sup> Fig. 26 u. 27 seiner Tafel XVI geben uns einen Begriff von dieser Zone auf deren Kosten eben dieser Zuwachs sich abspielt. Die Zellen haben hierauf eine längliche Gestalt, deutlichere Wände und viel weicheres Protoplasma als andere Zellen dieser Prothallien. Die Zweikernigkeit der Prothalliumzellen bei *Taxus baccata* L. tritt in ihrer ganzen Deutlichkeit erst Ende Juni, eventuell Anfang Juli auf, wenn sich bereits die mehrzelligen Keime entfaltet haben; gegen den 15. Juli enthalten die Prothalliumzellen je 3, 4, 5, 6 und sogar 8 Kerne. Es beschränkt sich noch nicht darauf, denn Jäger beobachtete sogar Zellen mit 12, 14 und 16 Kernen. Diese Kerne besitzen deutliche Nucleolen und eine grössere Anzahl kleiner Körnchen. Das Plasma der vielkernigen Zellen (zwar zusammengeschrumpft bei der Fixierung) ist stark vacuolisiert. Jäger behauptet ebenfalls, dass die Prothalliumzellen, die im Zentrum gelegen sind, sich dadurch von den übrigen unterscheiden, dass die Zahl der Kerne in ihnen geringer ist. Während wir also in den Randzellen der Prothallien schon 12—16 Kerne haben, enthalten die in der Centralpartie liegenden Zellen dieses Prothalliums kaum einen, 2, 3 oder höchstens 5 Kerne. Nach der Auffassung Jäger's erfolgt die erste Kernteilung karyokinetisch, die weitere jedoch wahrscheinlich amitotisch („...sind möglicherweise direkt, denn auf indirekte Kernteilung kann direkte folgen; nicht aber umgekehrt“).<sup>2)</sup> Mit der Entwickelung des Embryo beginnen gleichzeitig in den Endospermzellen die Degenerationsprozesse. Sie markieren sich bei *Taxus* vorzugsweise auf den Kernen, deren Anzahl sich verringert. Gegen Ende August fällt ihre Zahl in den Prothalliumzellen, unmittelbar unter den Keimen, — auf 1 oder 3, in Entfernung — bis 3 oder 5. Diese Kerne sind nach Jäger's Angabe bedeutend kleiner als im Juli, ihre Form ist unregelmässig, der ganze Rand wird fältiger und ihre innere Struktur wird immer undeutlicher; endlich fliessen die degenerierten Organoiden „...zu einem einzigen grossen Kernfleck“ zusammen.<sup>3)</sup> Jäger erwähnt ferner, dass die Degenerierung der Kerne

<sup>1)</sup> L. Jäger: „Beiträge zur Kenntniss der Endosperm Bildung und zur Embryologie von *Taxus baccata* L.“ Flora, Bd. 86, 1899.

<sup>2)</sup> L. Jäger, l. c., p. 259.

<sup>3)</sup> L. Jäger, l. c., p. 260. Man muss noch erwähnen, dass manchmal die Kopulation der Kerne in hohem Grade die Amitose nachahmt. Mit solchen sehr schwer zu unterscheidenden Erscheinungen haben wir es oft bei den *Gymnospermen* zu tun.

gewöhnlich zuerst in den Zellen, die unmittelbar an die Keime grenzen, bemerkbar wird. Die Erscheinungen der Kernkopulation, die von Jäger beschrieben werden, waren durchaus keine neue Sache. Sie wurden bereits von Strasburger<sup>1)</sup> (1880) und Jaccard (1894)<sup>2)</sup> erwähnt. Nach den Behauptungen von Ida Carothers erfolgt vermutlich auf gerade diesem Wege bei *Ginkgo biloba* die Verminderung der Kernzahl in den Zellen des jungen Prothalliums, in welchem „binucleate and multinucleate cells are frequent“<sup>3)</sup>.

Die sich in den Prothallien der *Gymnospermen* abspielenden Prozesse haben auch später nicht aufgehört die Botaniker zu interessieren; sie sind jedoch im allgemeinen schon bedeutend nebensächlicher behandelt worden. A. Lawson z. B. beschränkt sich zu dem Ausspruche: „As the embryo forces its way through the prothallial tissue the cells of the latter show every sign of disorganization, and are no doubt absorbed by the developing embryo.“<sup>4)</sup> Als er jedoch im Jahre 1909 den Prozess der Befruchtung und Entstehung des Embryos bei *Pseudotsuga Douglasii* beschrieb, berührt er das oben genannte Thema schon gar nicht mehr.<sup>5)</sup> Sinnott (1913) bleibt bei der Behauptung, dass die Endospermzellen bei den *Podocarpineae*, anfangs nur je einen Kern enthalten, jedoch in der Zeit „before fertilization“<sup>6)</sup> oder „by the time of fertilization“<sup>7)</sup>, wie er sich ausdrückt, wird jede Endospermzelle vielkernig. Saxton gibt für *Actinostrobus pyramidalis* zwei- und vierkernige Zellen aus dem Moment „the advancing embryo“ an<sup>8)</sup>. Überdies behauptet Saxton weiter, dass die Vermehrung der Kernzahl stets durch Karyokinese erfolgt

Siehe p. 454, Abt. VII u. d. Titel: „Unregelmässige Mitosen und Amitosen“ in der „Allgemeinen Pflanzenkaryologie“ von G. Tischler („Handbuch der Pflanzenanatomie“. K. Linsbauer, Berlin, 1922). Autor zitiert sehr sorgfältig die entsprechende Literatur.

<sup>1)</sup> Ed. Strasburger: „Zellbildung und Zellteilung“. Jena 1880.

<sup>2)</sup> P. Jaccard: „Recherches embryologiques sur l'*Ephedra helvetica*“. Zürich, 1894.

<sup>3)</sup> Ida Eleanor Carothers: „Development of the Ovule and Female Gametophyte in *Ginkgo biloba*“. Bot. Gaz., Vol. XLIII, 1907, p. 127.

<sup>4)</sup> A. A. Lawson: „The Gametophytes, Archegonia, Fertilization and Embryo of *Sequoia sempervirens*“. Ann. of Bot., Vol. 18, 1904.

<sup>5)</sup> A. A. Lawson: „The Gametophytes and Embryo of *Pseudotsuga Douglasii*“. Ann. of Bot., Vol. 23, 1909.

<sup>6)</sup> E. Sinnott: „The Morphology of the Reproductive Structures in the *Podocarpineae*“. Ann. of Bot., Vol. 27, 1913.

<sup>7)</sup> L. c., p. 59.

<sup>8)</sup> L. c., p. 61.

und dass „This bi- and multinucleate condition of older prothallial cells is more widely distributed in the *Pinaceae* than the literature of the subject would indicate.“<sup>1)</sup> Endlich deutet er an, dass die Kerne der Endospermzellen der *Podocarpus*, *Taxus*, *Cephalotaxus*, *Araucaria Cookei*, *Cupressus*, *Cunninghamia*, *Sequoia*, *Callitris* und *Widdringtonia* sich ebenso verhalten.<sup>2)</sup> Vielleicht wäre es an dieser Stelle nicht unangebracht, an einen eigenartigen Standpunkt J. M. Coulter's und W. J. G. Land's zu erinnern und zwar im Verhältnis zur Rolle und Aufgabe des Endosperms bei *Torreya taxifolia*.<sup>3)</sup> Diese Autoren beweisen nämlich die Zweikernigkeit der Prothalliumzellen in dieser Region, in welcher sich nach ihrer Meinung am deutlichsten ihr aggressiver Charakter ausdrückt. Sie sagen: „In every case, also, the peripheral cells of the endosperm appeared active and very vigorous... In regions of active invasion the endosperm cells are radially elongated, and many of them are binucleate (fig. 30); while in regions of less active invasion the cells are more nearly isodiametric and rarely binucleate (fig. 31).“<sup>4)</sup> Also bedeutet nach dem Ausspruche der beiden amerikanischen Forscher die Vermehrung der Kernzahl eine Erhöhung der Lebenskraft der Prothalliumzellen, vor oder während der Invasion der Prothalliums in der Umgebung des Perisperms, wenn „the proembryo has been formed.“<sup>5)</sup> Das Endosperm stellt, von ihrem Standpunkt aus gesehen, ein verdauendes Gewebe dar, und wird daher mit Recht seit langer Zeit als „ruminated endosperm“ (*Asimina triloba*)<sup>6)</sup> bezeichnet.

Indem ich gleichzeitig mit anderen Quellen auch „Vorträge über botanische Stammesgeschichte“ von J. P. Lotsy durchsah, erfuhr ich mit Verwunderung, dass die Sache mit der Gruppe von Lärchen am schlechtesten stehen sollte, weil, wie der Autor sagt „neuere Untersuchungen über die X-Generation liegen ebensowenig, wie bei den übrigen Lariceen vor“, dass also meine eigene Forschung über den Prozess der Befruchtung der *Larix dahurica* Turcz., zwar nur

<sup>1)</sup> W. P. Saxton: „Contributions of the Life-history of *Actinostrobus pyramidalis* Miq.“ Ann. of Bot. Vol. 27, 1913, p. 331.

<sup>2)</sup> L. c., p. 331.

<sup>3)</sup> J. M. Coulter and W. J. G. Land: „Gametophytes and Embryo of *Torreya taxifolia*.“ Bot. Gaz., Vol. 39, 1905.

<sup>4)</sup> L. c., p. 174.

<sup>5)</sup> L. c., p. 173.

<sup>6)</sup> L. c. p. 174. Diese Eigenschaft ist bei *Phyllocladus* z. B. am deutlichsten im jüngeren Zeitpunkt seiner Prothalliumentwicklung ausgeprägt. N. J. Kildahl: „The Morphology of *Phyllocladus alpinus*.“ Bot. Gaz., Vol. XLVI, 1908.

im polnischen und russischen Text 1900<sup>1)</sup> veröffentlicht, jedoch, wenn auch schon nur von Arnoldi zitiert, von Lotsy ganz ausser Acht gelassen wurde. Ich berufe mich dennoch trotz allem ebenfalls auf meine eigene Arbeit, wie auf den Referat in dem Justs-Jahresbericht und betrachte die weiter unten beschriebenen Fakte, welche die *Larix dahurica* Turcz. betreffen, als eine Vervollständigung der im Jahre 1899—1900 gemachten Beobachtungen.<sup>2)</sup>

Bei *Larix dahurica*, im Moment, in welchem die Archegonien schon zur Befruchtung reif sind, pflegen die Eier verschiedene Charaktere zu haben. Einige von ihnen besitzen einen durchsichtigen Kern mit deutlichen Karyotinterritorien (Fig. 2, 3 Taf. II); solche Kerne erinnern uns stark an das, was wir z. B. auf Fig. 19 Taf. XVII der Arbeit Hutchinsons<sup>3)</sup> oder auf Fig. 34, 35, 36 Taf. XXIV der Arbeit M. C. Ferguson's, betreffend *Pinus Strobus*,<sup>4)</sup> sehen. Ringsum ist diese Kernart bei *Larix*, wie auch bei *Abies* und *Podocarpus*<sup>5)</sup> z. B., von einer plasmatischen Hülle umgeben, welche feinkörnig gebaut ist und weder Vacuole noch Hofmeisterkörper besitzt (Fig. 2, 3 Taf. II). Dagegen enthalten andere Eier trübe Kerne; das Karyotin bildet in ihrem Innern keine deutlichen sich stark färbenden Territorien flockiger Struktur, aber es ist fast gleichmässig über den ganzen Kernraum in Form einer kleintropfigen Emulsion verbreitet. Die plasmatische Hülle ist weniger deutlich, denn die Hofmeisterkörper und Vacuole befinden sich in unmittelbarer Kernnähe (Fig. 1 Taf. II). Die Kerne der ersten Kategorie stellen, wenn ich die allgemein bekannten Tatsachen aus der Literatur dieses Gebietes berücksichtige, Kerne von normaler Struktur dar, die Kerne der zweiten Kategorie dagegen weisen, wie mir scheint, darauf hin, dass im Innern derselben anormale Prozesse stattfinden<sup>6)</sup> Das Prothalliumgewebe bei *Larix dahurica* aus der oben beschriebenen Zeit besteht aus ungleichartigen Zellen. Auf dem Wege des Wachstums

<sup>1)</sup> Z. Wóycicki: „Beiträge zur Befruchtungsfrage bei den Gymnospermen“ Wszechświat, 1896, Nr. 15. „Befruchtungsprozess bei den Coniferen“. Warsch. Univ. Izwiest., 1899.

<sup>2)</sup> Das Material war mittels Flemminglösung fixiert und mit Safranin gefärbt.

<sup>3)</sup> A. H. Hutchinson: „Fertilization in *Abies balsamea*“. Bot. Gaz., Vol. LX, Nr. 6, 1915.

<sup>4)</sup> Margaret E. Ferguson: „The Development of the Egg and Fertilization in *Pinus Strobus*“. Ann. of Bot., Vol. XV, Nr. LIX, 1901.

<sup>5)</sup> Ed. W. Sinnott, l. c., pl. VIII, fig. 41.

<sup>6)</sup> Dass die Trübung, von der ich spreche, nicht eine durch verfehlte Fixierung hervorgerufene Erscheinung darstellt, beweist unter anderm auch das Verhalten einiger Kerne im späteren Entwicklungsmoment der Archegonien.

des Keimes sind die Prothalliumelemente klein und länglich (Fig. 1 Taf. II) und mit verhältnismässig grossen Kernen versehen. Plasma tritt in diesen Zellen in Gestalt eines dichtanliegenden Primoridialschlauches auf, welcher die grosse zentrale Vacuole umgibt. Nicht selten treten statt einer zentralen Vacuole, einige von ihnen auf; in solchen Fällen umgeben sie kranzförmig die im Zentrum liegende Plasmamasse, in welcher der grosse Kern liegt. Die Partie der länglichen Zellen erreicht nicht den Grund des Prothalliums, sondern ist in einer von diesem Grunde gewissen Entfernung abgebrochen. Ganz neben der erwähnten Zone ziehen sich von allen seinen Seiten zylindertförmig die grossen parenchymatischen Zellen mit kleinen, teilweise degenerierten Kernen. Den Prothalliumrand endlich nehmen wieder kleinere Zellen ein, welche dem Charakter des Plasmas und der Kerne nach, an die Elemente der Archegonienwand erinnern. Wenn jedoch diese letzteren keine Vacuole aufweisen, ist ihrer viel in den Zellen des Prothalliumrandes. Bei dieser Gelegenheit möchte ich noch hinzufügen, dass das ganze Prothallium, angefangen von dem Grunde bis in die Archegonienhöhe von aussen mit starkem Exosporium von charakteristischem streifenartigem Bau bedeckt ist.<sup>1)</sup> Die Dicke dieser Schicht vermindert sich besonders gegen die Höhe, das heisst, gegen die Archegonienstufe, bis sie dann in der Archegoniennähe sehr verfeinert und schwer bemerkbar ist.<sup>2)</sup> Was die Kernzahl in den Elementen, welche auf dem Wege der Keime liegen und solchen, die den Weg umgeben betrifft, so sehen wir gewöhnlich in ihnen je einen Kern, nur manchmal je zwei. In den Randzellen der Prothallien treten regelmässige einzelne grosse Kerne auf. Karyokinetische Figuren sind im Prothallium dieses Entwicklungsmoments eine ausnahmsweise Erscheinung.

Zur Zeit der Befruchtung (Fig. 2, 3 Taf. II) lässt sich von den ernsteren Veränderungen im Prothallium bei *Larix dahurica* — im Verhältnis zu dem vorherigen Moment — nichts feststellen. Nur eins möchte ich bemerken, dass der Plasmareichtum sich bisweilen stärker in den Zellen umzeichnet, welche auf dem Keimwege liegen, auch die Kerne solcher Elemente dann bedeutend grösser sind; die Zahl der Kerne in den einzelnen Zellen jedoch dieselbe, wie vorher, ist.

<sup>1)</sup> K. Miyake and K. Jusui: „On the Gametophytes and Embryo of *Pseudolarix*“. Ann. of Bot., Vol. 25, 1901, fig. 14, pl. XLVIII.

<sup>2)</sup> R. B. Thomson: „The Megaspore Membrane of the Gymnosperms“. University of Toronto Studies, Biol. Ser., Nr. 4, 1905. Bei *Larix* „... is scarcely a trace of the megaspore coat in the archegonial region“. (Zitiert nach Miyake und Jusui).

Die Kerne der Eier ruhen in der Hälfte der Archegonienhöhe oder auch etwas darunter (Fig. 2, 3 Taf. II) und im Falle normaler Verhältnisse zeigen sie, ausser der rings um den Kern gelegenen Sphäre eine charakteristische Struktur von Plasma, welches sich strahlenartig vom Kern bis zum Eirand zieht. (Fig. 3 Taf. II). Die generativen männlichen Kerne besitzen im Moment des Eindringens im Eiplasma Karyotin in derselben Form, wie der Kern der Eier (Fig. 3 Taf. II). Was das Plasma betrifft, das dann den Komplex der generativen männlichen Elemente umgibt, so bildet es ringsum ein durchaus geschlossenes Territorium, welches sich mit dem Plasma der Spitze der Eier nicht vermischt. Nach der Befruchtung (Fig. 4 Taf. II), zur Zeit der Entstehung erst zwei (Fig. 5 Taf. II) und darauf 4 Kerne, und später, wenn diese Kerne sich schon auf den Grund des Eies versenken (Fig. 6 Taf. II), verändert sich der Charakter der Endospermzelle, die sich unter den Archegonien befindet, in der Weise, dass im Innern derselben eine grössere Stärkemenge auftritt. Sie erscheint vor allem am Fusse der Archegonien in Gestalt zahlreicher sich um den Kern häufenden Körnchen (Fig. 8 Taf. II); gleichwohl finden sich diese Körner auch ausser diesem Terrain, besonders auf den Brücken, welche das zentrale Plasma mit dem Primordialschlauche verbinden. Die Stärke beschränkt sich übrigens nicht mit dieser Strefe; sie tritt weiter von ihr auf, erscheint auch in den Prothalliumzellen, die die zentralen Teile und die Archegonienspitze umgeben, wie das bei den vielen *Gymnospermen* und unter andern auch bei *Fodocarpineae* geschieht<sup>1)</sup>. Das Prothallium macht in diesem Zeitpunkt bei *Larix dahurica* den Eindruck eines Gewebes von bedeutend lebhafterem Lebenstempo, da die Kerne fast aller seiner Elemente sich durch aussergewöhnliche Deutlichkeit ihrer inneren Struktur auszeichnen. Die Zahl der Kerne in den Prothalliumzellen schwankt jedoch auch weiter in den vorherigen Grenzen, d. h. es überwiegen einkernige Elemente. Karyokinetische Prozesse sind hier schon viel zahlreicher als vorher.

Die neue deutliche Welle aber der karyokinetischen Teilung fängt auf dem Terrain des Prothalliums dann an, wenn sich auf dem Eigrunde bereits ein Vorkeim gebildet hat (Fig. 8 Taf. III) und die Kerne des Pollenschlauches, welche noch nicht zur Befruchtung gebraucht sind, der Degeneration zu erliegen beginnen (Fig. 11 Taf. III). Der angegebene Impuls beschränkt sich durchaus nicht nur auf die Umgebung der Archegonien, sondern er lässt sich ebenfalls in der Nähe der genannten Organe, wie auch in ihrer Entfernung, und sogar

<sup>1)</sup> E Sinnott, l. c.

in der Grundlage des Prothalliums bemerken. Die Teilungen führen teilweise zur Entstehung der zweikernigen Zellen, teils zur Vermehrung der Zellenzahl, was man leicht an den ausgebildeten Fragmoplasten konstatieren kann. Was die Degenerierung der sich in der Eispitze befindlichen Kerne betrifft, macht sie sich vor allem in der Schwel lung derselben bemerkbar. Wenn aber anfangs zwischen diesen Kernen ein bedeutender Unterschied der Grösse besteht (Fig. 3 u. 9 Taf. I des Jhrs. 1899), so gleicht sich dieser Unterschied zur Zeit, in welcher auf dem Archegoniengrunde der Vorkeim ruht, ganz aus (Fig. 7 Taf. III), und alle Kerne haben fast gleiche Grösse. Ihr Karyotin weist eine Tendenz zur Pyknose<sup>1)</sup> auf, zieht sich also von der Haut ab und schlägt sich auf diesen Rand, dem die Kerne gegen den Archegonienhals zugewendet sind (Fig. 7 Taf. III). Später vereinigen sich einzelne Kerne miteinander, ihr Inhalt färbt sich schwach und vermindert sich darauf schnell.

Auf die Deutlichkeit des Teilungsmomentes im Prothallium wirkt ausgezeichnet die Anwesenheit der Archegonien, deren Eier nicht befruchtet worden sind und die Anzeichen der Degenerierung aufweisen. Wenn auch bei den *Gymnospermen*, allgemein genommen, die Erscheinung der Kernvergrösserung zur Zeit, welche der Befruchtung vorausgeht, eine gewöhnliche Sache ist, so zeigt sein übermässiges Anwachsen deutlich von seinem krankhaften Zustand und von, auf dem Terrain des Eies herrschenden, anormalen Verhältnissen. Ein äusserst deutliches Beispiel dieser Anomalien sehen wir auf Fig. 10 Taf. III. Wir haben hier zwei unbefruchtete Archegonien und in beiden Kerne von geradezu riesiger Grösse. Im rechten Archegonium reicht der Eikern fast auf den Grund der Oosphäre, was man jedoch erst auf dem folgenden Schnitt sieht; im linkem Archegonium reicht einer der Kernauswüchse bis an die Eispitze. Beide Kerne haben unregelmässige wellige Umrisse und entbehren fast schon vollständig der Membrane, welche sich nur an diesen Plätzen beider Kerne erhalten haben, in denen das Karyotin noch den früheren Charakter seiner Configuration aufweist (Fig. 10 Taf. III). Auf dem übrigen Terrain bildet das Karyotin, indem es in unmittelbaren Kontakt mit dem Eiplasma tritt, eine kleintropfige Emulsion, welche desto dichter und subtiler ist, je näher sie dem Plasma der Eier anliegt (Fig. 10 Taf. III). Rings um den Kern, vor allem jedoch an diesen Stellen, welche neben dem Gebiete sehr tiefgreifender Veränderungen

---

<sup>1)</sup> Jean Bonnet: „Recherches sur l'évolution des cellules nourricières du pollen, chez les *Angiospermes*“. Archiv f. Zellfor., Bd. 7, 1912, p. 676.

im Innern der Kerne liegen, tritt ein breiter Streifen kleinkörnigen Protoplasmas auf, dem es sowohl an Vacuole, als auch an Hofmeisterkörperchen mangelt; diese beiden existieren noch in der Umgebung des Kerns von normaler Struktur. Natürlich hat in diesem Falle der „cytoplasmic mantle“ eine ganz andere Herkunft, als in den von Nichols<sup>1)</sup>, Norén<sup>2)</sup> oder Duplicer<sup>3)</sup> beschriebenen Fällen, welche sein Bestehen als Beweis der schon vollzogenen Befruchtung betrachten.

Nach Land<sup>4)</sup> und Hutchinson<sup>5)</sup> gehört das Auftauchen einer spezifischen Sphäre um den Kern zu einer bedeutend früheren Erscheinung, da sie sich sowohl bei *Ephedra*, als auch bei *Abies* bereits dann bildet, wenn der Eikern in unmittelbarer Nähe der Bauchkanalzelle ruht. Solch eine Sphäre, übrigens sehr subtil, besitzen auch die Kerne der *Larix dahurica* zur Zeit, welche ich oben erwähnte und in welcher noch ganz und gar keine Kopulation der generativen Kerne stattgefunden hat. Mit einem Wort, zeugt in diesem Falle die Anwesenheit einer so ergiebigen spezifischen plasmatischen Strefe, ausschliesslich von dem tiefen Einfluss, welchen die Berührung des Plasmas und des Inhalts des Kernes, auf diese beiden Bestandteile der Eizellen aufweist. Die übermässige Hypertrophie der Kerne, in Verbindung mit den Erscheinungen, welche sich in ihrem Innern<sup>6)</sup> abspielen, zeugen am deutlichsten davon, dass gesetzmässige Beziehungen zwischen diesen beiden Komponenten der Zelle einer Zerstörung erlegen sind.

Es scheint mir, dass auch dieser Moment, welchen Fig. 9 Taf. II<sup>7)</sup> illustriert, zur Anzahl dieser Verspätungen gehört, während welcher der Eikern schon eine übermässige Hypertrophie und so charakteristische Emulsierung des Karyotins aufzuweisen beginnt. Der männliche Kern ruht schon im Innern der Oosphäre, und man könnte beinahe sagen, dass auch er, da er etwas zu spät an den Bestimmungs-

<sup>1)</sup> E. Nichols: „A Morphological Study of *Juniperus communis* var. *depressa*“. Beih. z. Bot. Centbl., Bd. 25, Abt. I, H. 2, 1910.

<sup>2)</sup> C. O. Norén: „Zur Entwicklungsgeschichte der *Juniperus communis*“. Uppsala, Univ. Arks., 1907.

<sup>3)</sup> A. W. Duplicer: „The Gametophytes of *Taxus canadensis* March.“ Bot. Gaz., Vol. LXIV, Nr. 2, 1917.

<sup>4)</sup> W. J. Land: „Fertilization and Embryogeny in *Ephedra trifurca*“. Bot. Gaz., Vol. 44, 1907.

<sup>5)</sup> A. H. Hutchinson, I. c.

<sup>6)</sup> Das ist eine Art Karyorrhexis, während welcher „le réseau chromatique se disloque“... und endlich „en très petits granules“ zerfällt. J. Bonnet, I. c., p. 675,

<sup>7)</sup> Siehe Fig. 1 Taf. III meiner Arbeit aus dem Jahre 1899.

ort gekommen ist, nicht mehr seinen normalen Charakter trägt; er enthält ebenfalls Karyotin in Gestalt sehr kleiner Fetzen<sup>1)</sup>, welche, ihrer Configuration nach, an den männlichen Kern Fig. 50 Taf. XXIV der Arbeit Margarete Ferguson's erinnern.

Zu dem Prothallium zurückkehrend, sollte ich eigentlich betonen, dass gerade in den Fällen der Kerndegenerierung das Prothallium sich als ein Terrain ungewöhnlich zahlreicher Kernteilungen darstellt. In schon fast allen Zellen sieht man bereits je zwei schön gestaltete und sich ausgezeichnet färbende Kerne (Fig. 12 Taf. III). Aber noch mehr als das; diese Kerne teilen sich gleichzeitig weiter und wir erhalten vierkernige Zellen, denn in diesen Fällen bilden sich die Fragmoplasten nicht.

Darauf beschränken sich meine Beobachtungen, welche auf den Präparaten, zur im Jahre 1900 veröffentlichten Arbeit, begründet sind. Aus ihnen kann man schliessen, dass bei *Larix dahurica* das Prothallium anfangs fast ausschliesslich aus einkernigen Zellen besteht. Später jedoch und insbesondere nach der Befruchtung, wenn die Prozesse der Degenerierung der unverbrauchten Kerne im Ei beginnen, folgt der Teilungsmoment, welcher zur Schaffung zweikerniger Elemente, oder zur Vergrösserung der Anzahl von einkernigen Zellen führt.

Die freilich massenhafte Karyokinese im Prothallium, welche mit der Erschaffung von 4 Kernen auf dem Zellenterrain endet, stellt die charakteristische Eigenschaft dieser Fälle dar, in welchen entweder alle, oder auch nur eins von den Archegonien unbefruchtet bleibt und ihr Ei zu Grunde geht.

Bei *Larix europaea* DC<sup>2)</sup> hat das Prothallium aus der Zeit der völlig ausgebildeten Archegonien<sup>3)</sup> einen, dem Prothallium der oben beschriebenen Art, ähnlichen Charakter. In ihm zeichnet sich deutlich die zentrale Partie ab, welche aus länglichen Zellen zusammengesetzt ist. Sie ist umgeben von 9—12 Reihen parenchymatischen Zellen, bedeckt mit einer Schicht höherer Zellen; diese endlich sind von

<sup>1)</sup> Nach meiner Meinung sollte man alle bisher notierten Vorfälle dieser gewaltigen riesigen Vergrösserung der Eikerne bei *Gymnospermen*, möglichst genau analysieren, um sagen zu können, in welchem Grade sie zu den pathologischen Erscheinungen zu rechnen sei. Natürlich habe ich hier nur so grosse Sprünge, wie die in der Arbeit Hutchinson's angegebenen, im Sinne, oder diese, die ich bei *Larix* gezeigt habe.

<sup>2)</sup> Die *Larix europaea* DC betreffenden Fragen, beschreibe ich hier auf Grund der Präparate von Fr. M. Smólska, deren Arbeit vor allem die Erklärung des Wesens von Chondriom in den Eiern von *Coniferen* zum Ziele hatte.

<sup>3)</sup> Um den 8. VI. 22.

aussen mit einem Exosporium, von derselben Beschaffenheit, wie bei *Larix dahurica*, umgeben. Die zweikernigen Zellen sind hier durchaus keine Seltenheit; sie treten vielmehr in der zentralen Strefe (am seltensten), wie auch ausserhalb derselben und sogar in der Aussen-schicht auf. Die karyokinetischen Bilder sind freilich nicht zu sehen; ihre Zeit ist schon vorüber<sup>1)</sup>). Der Inhalt der Eikerne ist ziemlich oft sehr trübe; die Grenze durchaus undeutlich. Um den Kern sammeln sich Vacuole, die man auf dem übrigen Eifelde nicht sieht.

Es gibt jedoch Fälle, in welchen das Prothallium bei *Larix euro-paea* DC nicht eine solche Differenzierung, sogar im verhältnismässig späteren Archegonienentwickelungsmoment besitzt. Denn der Weg der Keime beschränkt sich auf 13, oder sogar weniger Zellenreihen, so dass er nicht einmal die Hälfte der Prothalliumhöhe erreicht. Die Zellen dieses Weges besitzen fast ausschliesslich je einen Kern. In dem Zylinder, der den zentralen Streifen umgibt, hat jede Zelle schon zwei Kerne. Die Mantelzellen in der Umgebung des Prothalliumgrundes besitzen einen — im Verhältnis zum Zellvolumen — grossen Kern.

Stärke, ähnlich wie bei *Larix dahurica* Turcz., ist im Prothallium bis jetzt in sehr beschränkter Menge vorhanden; sie erscheint reichlich erst, wenn 4 Abkömmlingskerne sich auf den Grund des Eies zu senken beginnen. Das Terrain ihres Auftretens beschränkt sich vor-übergehend auf die Gegend des Archegoniengrundes und erst mit dem Augenblick des Einwachsens des Vorkeimes ins Prothallium, wird ihr Verbreitungsbezirk immer ausgedehnter. Eine charakteristische Sache ist es übrigens, dass in diesen Fällen, in denen die Stärke in etwas weiteren Gegenden vom Keime oder Archegonium auftritt, ihre Körner viel kleiner sind, während in den Zellen, welche sich in der Nähe befinden, die Körner gross und ausgezeichnet geformt sind, sowie vorzüglich auf J + JK reagieren (Fig. 13 Taf. IV). Natürlich sind sie nicht in den Elementen vorhanden, welche sich in unmittelbarer Nähe des im Prothallium wachsenden Keimes befinden. Hier finden wir dagegen Prothalliumzellen entweder zerquetscht oder zermalmt, oder es treten auch Zellen auf, die ganz oder teilweise des Inhalts beraubt sind (Fig. 13 Taf. IV), was übrigens in Hinsicht auf das Verhältnis dieses Prothalliumteiles, zu dem in ihm wachsenden Keime, verständlich ist. Umso sonderbarer scheinen mir all die Zeichnungen, in welchen, wie z. B. bei A. Lawson<sup>2)</sup> rings um den Keim keine Spuren seines Einflusses auf das ihn umgebende Gewebe zu finden

<sup>1)</sup> Ungewöhnlich zahlreiche karyokinetische Bilder auf dem Terrain des ganzen Prothalliums, die Mantelzellen inbegriffen, treten um den 29. V. — 1. VI. auf.

<sup>2)</sup> L. c., fig. 42, pl. XIV.

sind. In den Präparaten von *Larix europaea* DC, welche von demselben Moment abstammen, fällt sofort die grosse Anzahl karyokinetischer Figuren ins Auge, welche in verschiedenen Gegenden des Prothalliumgewebes zerstreut sind. Sie treten auf dem zentralen Streifen, wie auch ausserhalb desselben, in grossen Zellen auf, die arm an Stärke sind, oder sie gar nicht besitzen, dagegen reichlich mit Vacuole versehen. Das Resultat dieser lebhafteren Teilungen sind vier- oder sogar sechs- und achtkernige Elemente, wenn auch letztere zu Ausnahmen gehören. In solchen vierkernigen Zellen (Fig. 14 Taf. IV) nimmt ihren Zentralteil die Vacuole ein, um welche sich die genannten vier Kerne, in fast gleichmässiger Entfernung von einander, gruppieren. Ausserhalb der zentralen Vacuole tritt noch eine ganze Reihe kleinerer am Rande befindlichen auf. Die kleinen degenerierten Stärkekörner nehmen unter Einwirkung von J + JK schwache rosa Farbe an.

In den Zellen der Prothallien bei *Larix europaea* DC sehen wir also dasselbe, was bei *Larix dahurica* Turcz., nämlich eine Tendenz zur Vermehrung der Prothalliumzellen in gewissen bestimmten Entwicklungsmomenten. Diese Wellen der Teilungsprozesse kommen vor: 1) zur Zeit der Archegonienbildung, 2) zu der Zeit, welche der Befruchtung des Eies folgt, und endlich 3) während des Einwachsens des Vorkeimes ins Prothallium. In letzterem Falle jedoch beschränken die Impulse, mit denen wir es hier zu tun haben, ihren Einfluss auf den Kern und reichen nicht so tief, das der Prozess zur Bildung zwei besonderer Zellen führen könnte. Ob diese Impulse von Nekrohormonen abstammen, wie Haberlandt<sup>1)</sup> behauptet, ob auch von Erregern anderer Kategorie, oder anderer Namen, das will ich unberührt lassen; doch ist festzustellen, dass die karyokinetischen Erscheinungen (denn nur auf diesem einzigen Wege erfolgt die Kernzahlvermehrung in den Prothalliumzellen) sich in beiden Lärchen ziemlich genau mit den Momenten verbinden, in welchen auf dem Terrain des Prothalliums und dessen Archegonien die Erscheinungen der Degeneration der ganzen Protoplasten oder auch nur deren Kerne, wie z. B. der Pollenschlauchkerne, auftreten.

<sup>1)</sup> G. Haberlandt: „Wundhormonen als Erreger von Zellteilungen“. Beitr. z. Allg. Bot., Bd. II, 1921.

— „Zur Physiologie der Zellteilung. VI. Über Auslösung von Zellteilungen durch Wundhormone“. Sitzber. Preuss. Ak. d. Wiss., 1921.

— „Über Zellteilungshormone und ihre Beziehungen zur Wundheilung, Befruchtung und Adventivembryonie.“ Biol. Ztbl., 42, 1922.

Wenn wir nun eine Zusammenstellung der Beobachtungen machen, welche von anderen Autoren<sup>1)</sup> gemacht worden sind, mit denen, welche *Larix europaea* und *Larix dahurica* betreffen, so ersehen wir, dass die oben angeführten Schlüsse sich ganz gut verallgemeinern lassen, indem sie damit eine gewisse Unterstützung der Ideen darstellen, welche in den letzten Zeiten von dem genannten Forscher entwickelt worden sind.

Autor	Pflanze	Zeit
Arnoldi	<i>Sequoiaceae</i>	Vielkernige Zellen des Prothalliums im Moment des Einwachsens des Vorkeimes in demselben.
Jäger	<i>Taxus</i>	Zweikernige Prothalliumzellen nach der Bildung der Keime. Später, während deren Einwachsens im Prothallium wächst die Kernzahl in den Zellen bis auf 8, 14, 16 an, wonach Degenerierung der Zellen und Kopulation der Kerne erfolgt.
Sinnot	<i>Podocarpinae</i>	Die einkernigen Zellen des Prothalliums werden vielkernig im Moment, welcher der Befruchtung vorausgeht, oder auch zur Zeit der Befruchtung.
Saxton	<i>Actinostrobus</i>	Zwei- und vierkernige Zellen des Prothalliums treten im Moment „the advancing embryo“ auf.
Saxton	<i>Widdringtonia</i>	Zwei- und vierkernige Zellen im Prothallium, im Moment des Vorkeimeinwachsens.
Saxton	<i>Callitris</i>	Das Verhalten der Prothalliumzellen genau so, wie bei <i>Actinostrobus</i> und <i>Widdringtonia</i> .
Wóycicki	<i>Larix dahurica</i>	Einkernige Zellen im Prothallium treten vor der Eibefruchtung auf. Im Augenblick der Vorkeimbildung und sogar noch früher, zeigt sich die Periode der Karyokinese.
Smólska	<i>Larix europaea</i>	Die Prothalliumzellen sind bis zur Befruchtung ein- selten zweikernig. Mit dem Moment des Vorkeimeinwachsens in den Prothallienzellen treten reichliche Karyokinese auf.

<sup>1)</sup> Ich möchte hier nur einige zitieren.

Den tiefsten Ausdruck der Impulse, welche am wahrscheinlichsten aus diesen Quellen stammen, die ich oben erwähnte, stellt uns der „Verjüngungsprozess“ des Prothalliumgewebes dar, was wir auf Fig. 15 Taf. IV abgebildet sehen. Wir haben hier ein Gewebebild vor uns, dessen Zellen, auf dem Keimwege gelegen, ihren gewöhnlichen Charakter vollständig verändert haben. Die Protoplasten, vacuolenfrei, ziehen sich zusammen und runden sich ab. Einige von ihnen besitzen schon gar keine Stärke (Fig. 16 Taf. IV), während sie in anderen noch reichlich vorhanden sind (Fig. 17 Taf. IV). Die Anzahl der Kerne in diesen Zellen ist verschieden. Es sind unter ihnen solche, in denen ein Kern auftritt (Fig. 16 Taf. IV), sind auch solche, die zwei aufweisen (Fig. 16 Taf. IV) und sogar mehr. In einigen der Protoplasten sieht man die Kopulation der Kernelemente (Fig. 18 Taf. IV), oder die deutliche Tendenz dazu, welche sich durch Annäherung der Kerne aneinander ausdrückt. Endlich muss noch hinzugefügt werden, dass der Protoplasmatische Hülle umgeben ist (Fig. 18 Taf. IV), unter welcher man einen schaumigen Streifen sieht, der vermutlich ein Produkt der Einwirkung der Fixierflüssigkeit (starke Flemmingslösung) darstellt. Mit einem Wort, wenn wir dieses Gewebe, wenn auch nur mit Fig. 2 Taf. IV der oben zitierten Arbeit Arnoldi's vergleichen, fällt uns ins Auge, dass es in hohem Grade an das archesporiale Gewebe erinnert<sup>1)</sup>. Der Keim, umgeben von den Zellen, welche vorwiegend ohne Inhalt und zerknüllt oder zermalmt sind (Fig. 15 Taf. IV), ist von 4 Zellenetagen gebaut, deren vorderste die höchste ist, dagegen die an dem Suspensor grenzende, am niedrigste. Die drei ersten Etagen haben grosse in den zentralen Teilen der Zelle hängende Kerne; dagegen sind in den Zellen der hinteren Etage die Kerne klein und legen sich an die Zellenmembran an. Rings um die Kerne ist eine Protoplasmenschicht zu sehen und weiter, ein Kranz grösserer und kleinerer Vacuolen, welche unter dem Primordialschlauchplasma gelegen sind. In den Kernen machen sich ausser Karyotin, ganz deutlich zwei Körnchen bemerkbar. Das Loch, welches der Keim im Prothallium hinterlassen hat, füllt eine glasige Masse aus, die sich auch im Gebiet der früheren Archegonien bildet. In deren Umkreis sterben alle Gewebe ab, und in dieser „mucilaginous substance“, wie englische Forscher sie nennen<sup>2)</sup>), sieht man vereinzelte Streifen der

<sup>1)</sup> In diesem Moment erinnert das Prothallium von *Larix europaea* an die Figuren von Pearson. Sie illustrieren das Einwachsen des Vorkeims in das Prothallium bei *Welwitschia*. (Lotsy: „Vorlesungen“, Bd. III, 1911, p. 34).

<sup>2)</sup> A. A. Lawson, l. c., p. 175—176.

Zellenmembrane und Reste degenerierter Kerne. Im allgemeinen reagiert diese Masse ganz deutlich auf Zellulose.

Unter solchen Konstellationen zeigte sich der Einfluss der Impulse, welche ich oben schon mehrfach erwähnte, nicht durch die Teilung der Kerne, sondern durch eine Verjüngung der Zellen, durch ihr Streben zur Rückkehr in den embryonalen Zustand.

Warschau, Februar 1923.

Aus dem Institut für Allgemeine Botanik der Universität Warschau.

### Erklärung der Tafeln.

#### Tafel II. *Larix dahurica* Turcz.

Fig. 1. Zwei ausgebildete Archegonien, in welchen die Eier, Kerne mit ungewöhnlich winziger Karyotinemulsion enthalten. Zeiss Apochr. 16 mm und Projekt.-Okular Nr. 4. Die Ausdehnung der Camera = 20 cm. Vergrösserung ung. 40 M.

Fig. 2. Das Archegon mit einem normal gebildeten Ei, zur Zeit des Eindringens des Pollenschlauches. Zeiss Apochr. 16 mm und Projekt.-Okular Nr. 4. Die Ausdehn. der Camera = 34 cm. Vergr. ung. 70 M.

Fig. 3. Drei Archegonien neben einander. In der mittleren sieht man im Eigipfel generative Elemente. Der Keimweg im Prothallium beginnt sich deutlich abzuzeichnen. Zeiss Apochr. 16 mm und Projekt.-Okular Nr. 4. Die Ausdehn. der Camera = 20 cm. Vergr. ungef. 40 M.

Fig. 4. Das Archegon mit Ei, dessen Kern sich bereits mit dem männlichen Kern conjugiert hat. Im Eigipfel ist eines der unbenutzten Elemente sichtbar. Zeiss Apochr. 16 mm und Projekt.-Okular Nr. 4. Die Ausdehn. der Camera = 34 cm. Vergr. ung. 70 M.

Fig. 5. Das Archegon mit einem Ei aus dem Moment der ersten Teilung seines Kernes. Zeiss Apochr. 16 mm und Projekt.-Okular Nr. 4. Die Ausdehn. der Camera = 34 cm. Vergr. ung. 70 M.

Fig. 6. Das Archegon mit Ei, in dem 4 Abkömmlingskerne sich schon auf seinen Grund versenkt haben. Zeiss Apochr. 16 mm und Projekt.-Okular Nr. 4. Die Ausdehn. der Camera = 34 cm. Vergr. ung. 70 M.

#### Tafel III. *Larix dahurica* Turcz.

Fig. 7. Die bei der Befruchtung unverbrauchten Elemente im Gipfel des befruchteten Eis, auf dessem Grunde bereits ein zweischichtiger Vorkeim vorhanden ist. Zeiss Apochr. 16 mm und Projekt.-Okular Nr. 4. Die Ausdehn. der Camera = 60 cm. Vergr. ung. 120 M.

Fig. 8. Zwei Archegonien mit Vorkeimen. Keimweg im Prothallium deutlich ausgebildet. Zeiss Apochr. 16 mm und Projekt.-Okular Nr. 4. Die Ausdehn. der Camera = 60 cm. Vergr. ung. 120 M.

Fig. 9. Archegonium mit Ei, dessen Kern einen nicht ganz normalen Charakter hat. Das Ei unbefruchtet; der Kern gegen den Eigrund gesenkt. Zeiss Apochr. 16 mm und Projekt.-Okular Nr. 4. Die Ausdehn. der Camera = 42 cm. Vergr. ung. 90 M.

Fig. 10. Zwei Archegonien mit Eiern, in denen die Kerne sich degenerieren. Zeiss Apochr. 16 mm und Projekt.-Okular Nr. 4. Die Ausdehn. der Camera = 34 cm. Vergr. ung. 70 M.

Fig. 11. Karyokinese in den Prothalliumzellen aus dem Moment, in welchem im Ei der Degenerationsprozess unbenutzter Pollenschlauchelemente beginnt. Zeiss Apochr. 16 mm und Projekt.-Okular Nr. 4. Die Ausdehn. der Camera = 136 cm. Vergr. ung. 270 M.

Fig. 12. Prothalliumzellen mit zwei Kernen von der Zeit, in welcher die Eikerne den auf Fig. 10 angezeigten Charakter haben. Zeiss Apochr. 16 mm und Projekt.-Okul. Nr. 4. Die Ausdehn. der Camera = 150 cm. Vergr. ung. 290 M.

#### Tafel IV. *Larix europaea* D.C.

Fig 13. Normaler Gewebecharakter in der den Keim umgebenden Region. Zeiss Apochr. 16 mm und Projekt.-Okular Nr. 4. Die Ausdehn. der Camera = 86 cm. Vergr. ung. 180 M.

Fig. 14. Normaler Charakter einer vierkernigen Zelle; Prothallium aus der Zeit, in welcher der Keim tief im Prothallium steckt. Zeiss Apochr. 4 mm und Projekt.-Okular Nr. 4. Die Ausdehn. der Camera = 77 cm. Vergr. ung. 620 M.

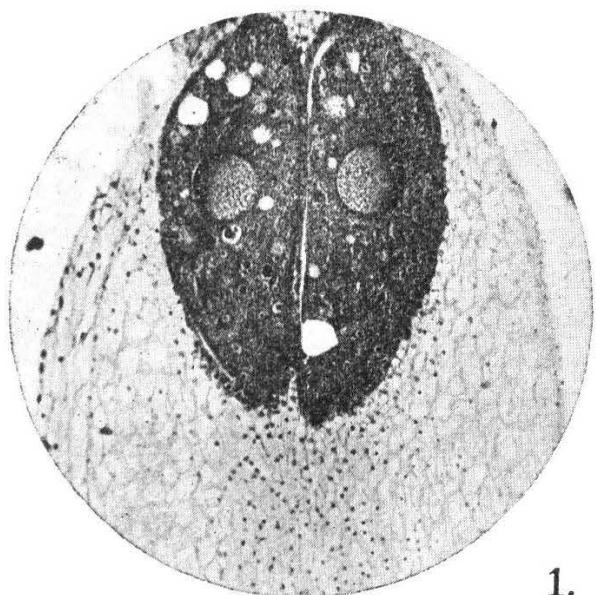
Fig. 15. Keim inmitten der Prothalliumzellen, die dem Verjüngungsprozess unterliegen. Zeiss Apochr. 16 mm und Projekt.-Okular Nr. 4. Die Ausdehn. der Camera = 67 cm. Vergr. ung. 136 M.

Fig. 16. Prothalliumzellencharakter (Fig. 15) dicht an der Keimspitze. Zeiss Apochr. 4 mm und Projekt.-Okular Nr. 4. Die Ausdehn. der Camera = 67 cm. Vergr. ung. 570 M.

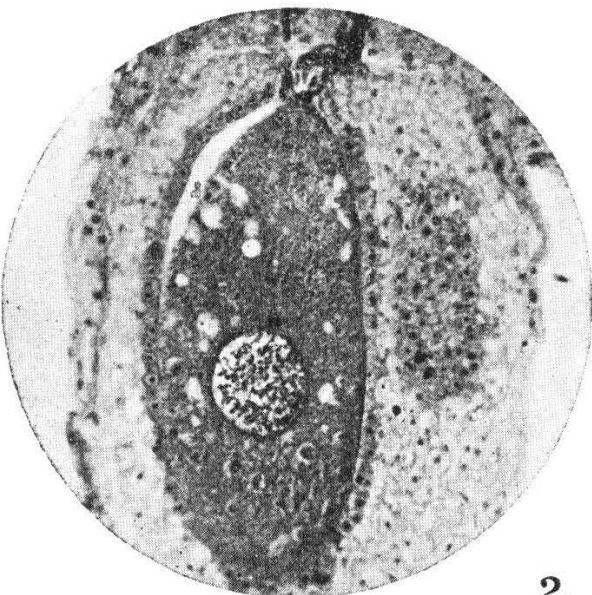
Fig. 17. Charakter der Prothalliumzellen Fig. 15 in Entfernung von dem, in ihnen einwachsenden Keime. Zeiss Apochr. 4 mm und Projekt.-Okular Nr. 4. Die Ausdehn. der Camera = 67 cm. Vergr. ung. 570 M.

Fig. 18. Eine der Zellen des verjüngten Prothalliums. Zeiss Immers.  $\frac{1}{12}$  und Projekt.-Okular Nr. 4. Die Ausdehn. der Camera = 67 cm. Vergr. ung. 1180 M.

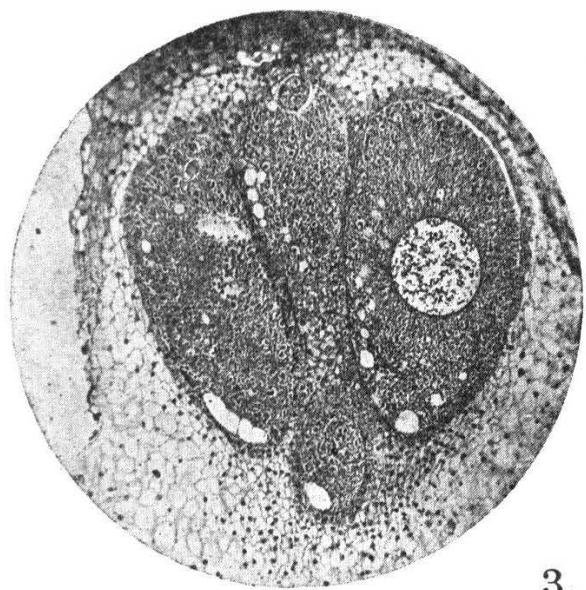
(Wpłynęło do redakcji 5 czerwca 1923 r.)



1.



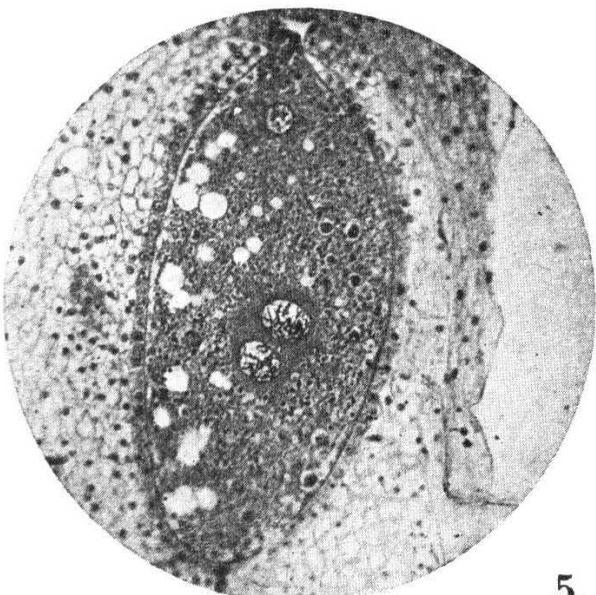
2.



3.



4.



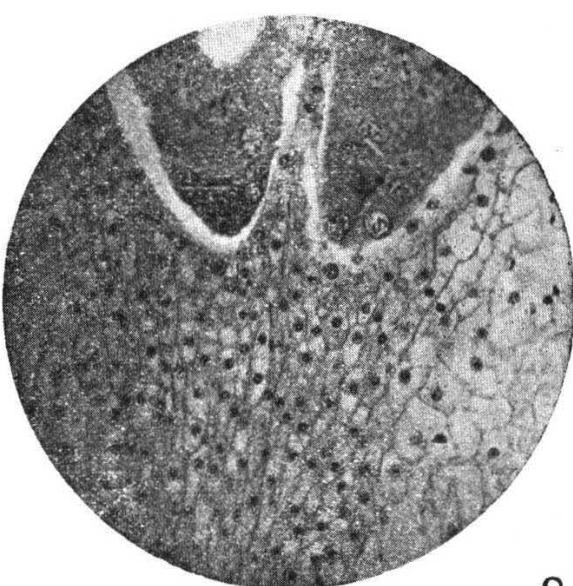
5.



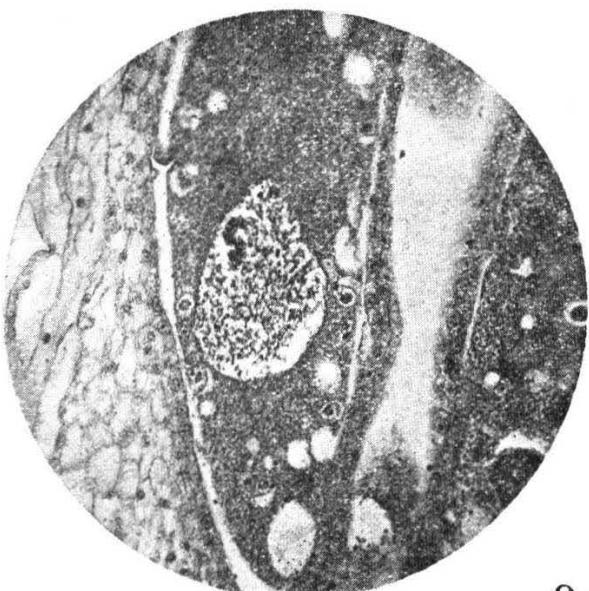
6.



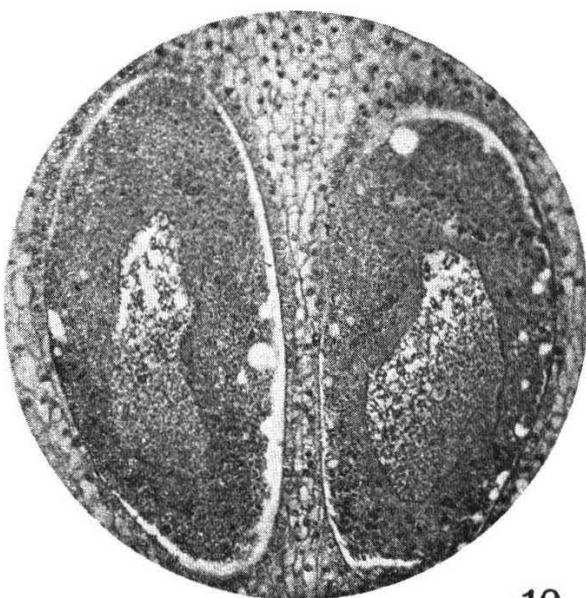
7.



8.



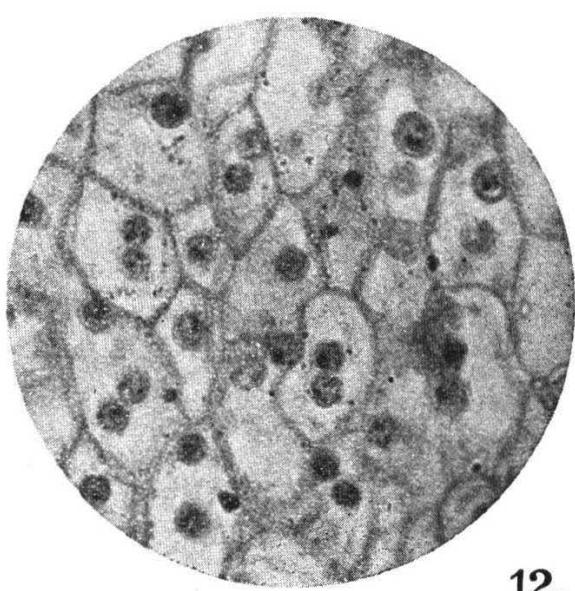
9.



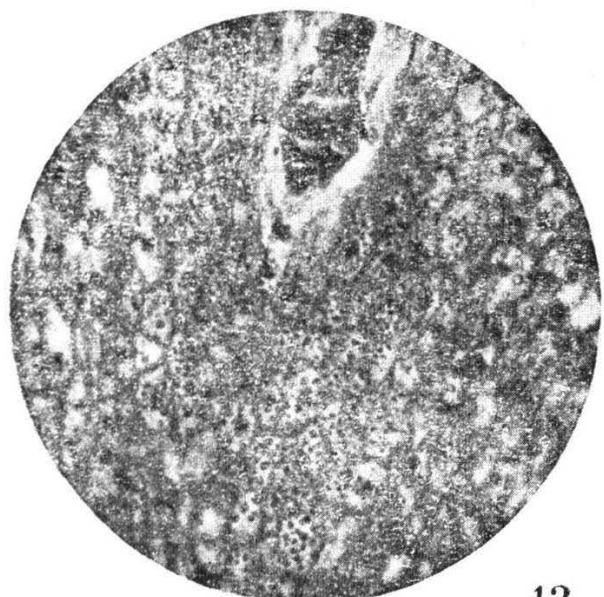
10.



11.



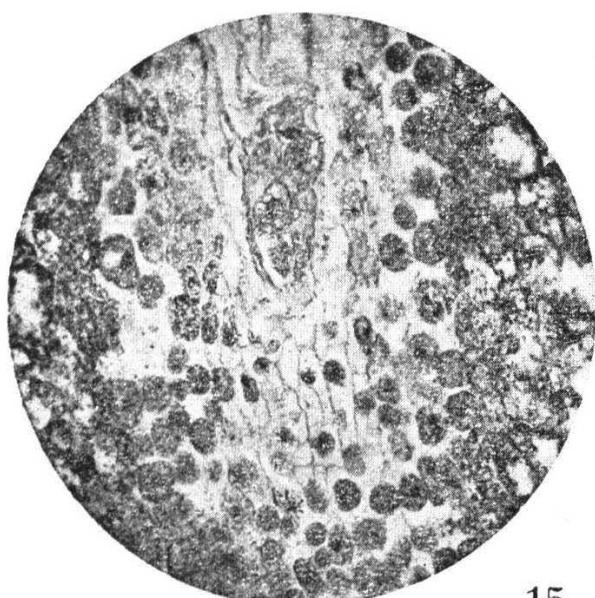
12.



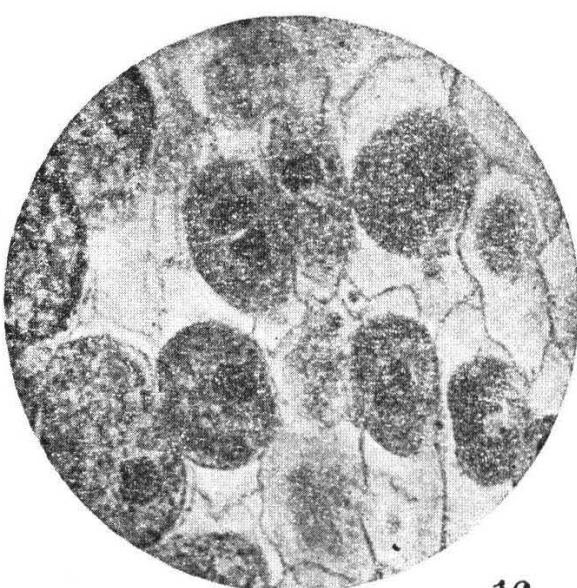
13.



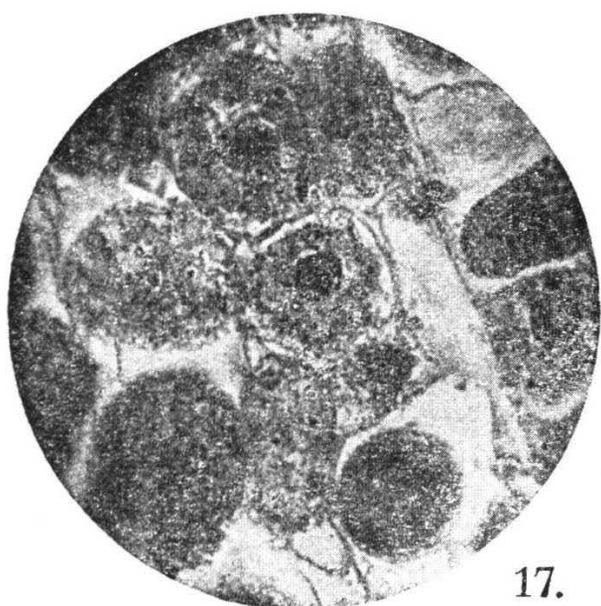
14



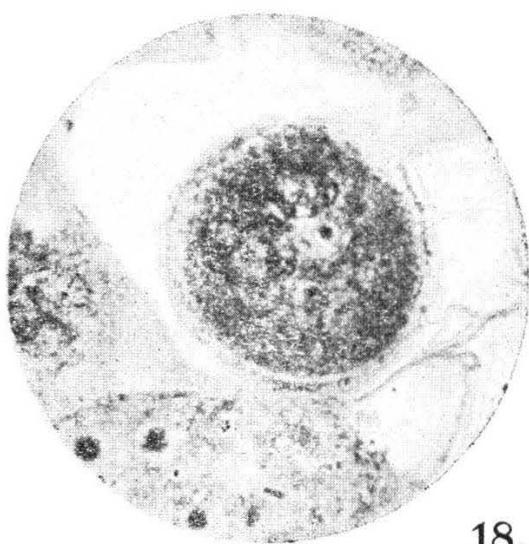
15.



16.



17.



18.