

УДК 561.47:551.781.43:576.315

ФЁЛЬГЕН-ТЕСТИРОВАНИЕ ЯДЕР КЛЕТОК ЛИСТА TAXODIUM DUBIUM (CUPRESSACEAE) ИЗ ЭОЦЕНОВОЙ ТАВДИНСКОЙ ФЛОРЫ ЗАПАДНОЙ СИБИРИ

© 2022 г. И. А. Озеров^а*, Н. А. Жинкина^а, А. А. Торшилова^а, Э. М. Мачс^а, А. В. Родионов^а

^аБотанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург, 197376 Россия

*e-mail: igorozerov@mail.ru

Поступила в редакцию 10.02.2021 г.

После доработки 16.11.2021 г.

Принята к публикации 16.11.2021 г.

В статье представлены результаты исследования тканей фитолеймы листа ископаемого *Taxodium dubium* из эоценовой тавдинской флоры Западной Сибири. Фёльген-тестирование показало сохранение в клетках фёльген-позитивных, гетерогенно окрашенных ядерных структур и мелких гранулярных хромоцентров. Ядра окрашены в красно-фиолетовый цвет, хромоцентры демонстрируют более интенсивную окраску. Это свидетельствует о наличии в хроматине ядер альдегидных групп дезоксирибозы и демонстрирует специфическое присутствие ДНК. Дополнительное окрашивание препаратов алциановым синим и гематоксилином Эрлиха отображает клеточные стенки и прилегающий внутриклеточный материал.

Ключевые слова: *Taxodium*, фёльген-тест, эоцен, тавдинская флора, Западная Сибирь

DOI: 10.31857/S0031031X22030114

ВВЕДЕНИЕ

Хорошо сохранившиеся клеточные ядра, ядрышки и пластиды были зарегистрированы для многих ископаемых растений возрастом 15–180 млн лет (Niklas, 1983; Schönhut et al., 2004; Bomfleur et al., 2014; Wang et al., 2014; Озеров, Яковлева, 2015). Сообщалось, что ДНК-содержащие клеточные структуры могут сохраняться в ископаемых растениях в течение нескольких десятков миллионов лет. В частности, фёльген-позитивное окрашивание ядер клеток было показано на ископаемых листьях и плодах ранних эоценовых миртовых из арктической Якутии и листьев метасеквойи из среднего эоцена арктической Канады и раннего олигоцена Западной Сибири (Ozerov et al., 2006, 2020, 2021). Реакция Фёльгена является очень чувствительным средством обнаружения альдегидных групп дезоксирибозы и часто используется как метод для демонстрации специфического присутствия ДНК (Chiesco, Derenzini, 1999). В ископаемых растениях клеточные стенки, а также антиоксидантная и антибактериальная активность внутриклеточных конденсированных танинов, возможно, обеспечивают защиту от деградации внутриклеточных структур, подобных различным пластидам и клеточному ядру, а также способствует долгосрочному сохранению ДНК и других биополимеров (Liu, Zheng, 2002; Ozerov et al., 2006, 2020, 2021; Gupta

et al., 2009; Жинкина и др., 2018). Благодаря этим свойствам растений были секвенированы гены хлоропластов *Magnolia L.*, *Persea Mill.* и *Taxodium Rich.* возрастом 17–20 млн лет (Golenberg et al., 1990; Soltis et al., 1992; Kim et al., 2004).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследовании использовалась фитолейма листьев *Taxodium dubium* (Sternb.) Heeg (колл. БИН № 600, обр. 110), собранная М.Г. Горбуновым в 1952 г. из местонахождения третичных растений ур. Компасский Бор. Район урочища расположен на правом берегу р. Тым (правый приток р. Оби). Эта речная терраса вскрыта двумя большими обнажениями. Верхнее обнажение по течению реки называется Белый Яр (рис. 1), а нижнее – Дунаевский Яр. Подробное геологическое описание отложений урочища Компасский Бор сделано Горбуновым (1962). В нижней половине Белого Яра в толще песков нижнего слоя обнажается линза плотных, однородных, темно-серых пластичных глин мощностью до 5.7 м с многочисленными растительными остатками – отпечатками листьев, остатками древесин, плодов, шишек, семян и пыльцы (Горбунов, 1962). Согласно последним карпологическим исследованиям, в ур. Компасский Бор комплекс растительных остатков довольно небогатый, однако

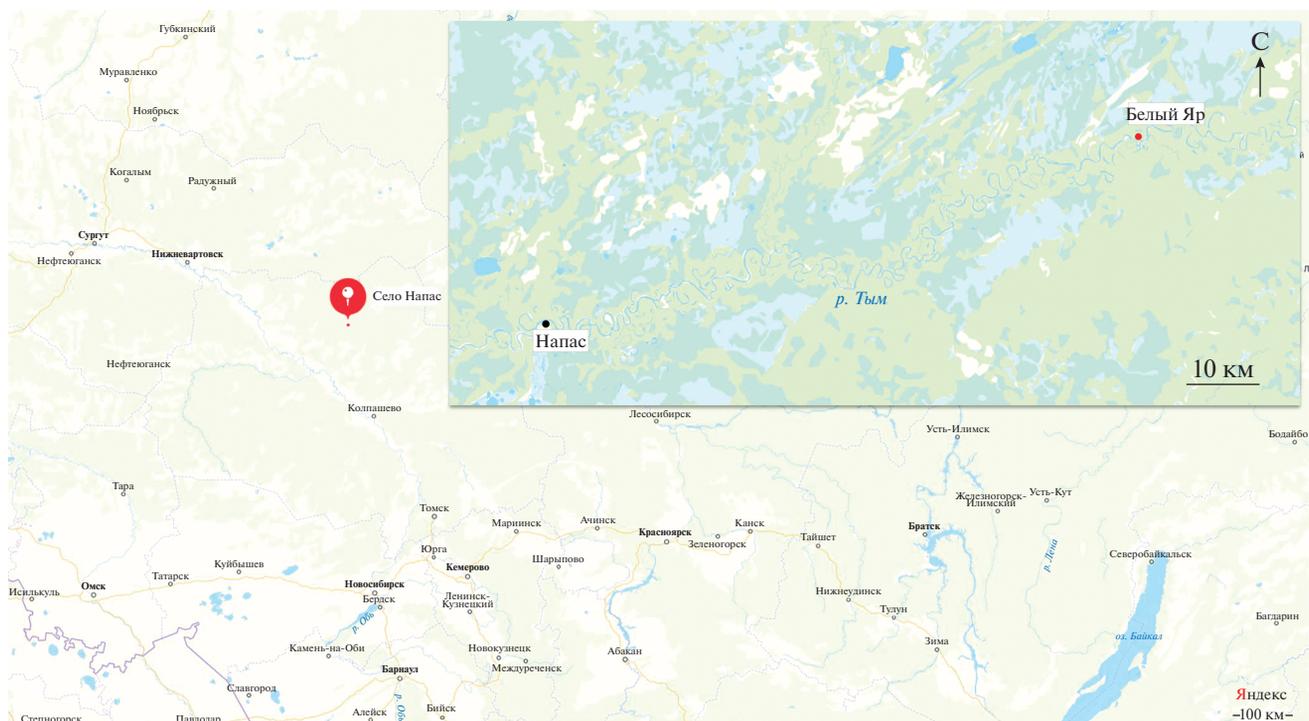


Рис. 1. Местонахождение Белый Яр, где были обнаружены ископаемые листья *Taxodium dubium*. Базовая карта Яндекс[©].

легко диагностируется по присутствию характерных эоценовых таксонов — *Azolla (Prisca) sp.*, *Azollites minor (nom. nud.)*, *Pseudoisoetes tymensis sp.*, *Viola prisca (nom. nud.)*, *Cleonisia baksanica Balueva et V.P. Nikit.*, *Aracispermum sphenosum Balueva et V.P. Nikit.*, *Urospathites antiquus V.P. Nikit.* и др. В ряду кайнозойских флор Западной Сибири по данным палеокарпологии раннетавдинская флора происходит из кусковской свиты, нижнетавдинской подсвиты. Возраст этих отложений датируется концом среднего—поздним эоценом (Унифицированные ... 2001; Никитин, 2006).

Постоянные препараты тканей из растительных остатков были сделаны в соответствии с цитоэмбриологической процедурой в связи со спецификой исследуемого материала (Ozerov et al., 2006, 2020). Растение помещали в хлороформ на часовом стекле, а после выдерживания в нем покрывали парафином. В смеси хлороформа и парафина материал помещали в термостат, где при температуре 60°C происходило полное замещение хлороформа парафином в течение недели. Постоянные препараты изготавливали по общепринятой методике (Барыкина и др., 2004). Срезы ткани толщиной 3 мкм делали с помощью микротомы Microm HM 325 (Carl Zeiss, Германия). Срезы депарафинировали толуолом (3 × 15 мин), затем промывали этанолом (3 × 15 мин) и водой (2 × 15 мин). Окрашивание препаратов основным фуксином Фёльгена (реактив Шиффа) и алциановым синим (Loba Chemie, Австрия) проводили по следующей

схеме (Жинкина, Озеров, 2008): холодный гидролиз: 1 N HCl — 5 мин, 5 N HCl — 30 мин, 1 N HCl — 5 мин; реагент Шиффа (подготовка: Pearse, 1953) — 2 часа; сернистая вода (на 100 см³ дистиллированной H₂O добавить 2 г Na₂SO₃ и 2 см³ HCl) — 3 × 5 мин; проточная вода — 20 мин; дистиллированная вода — 5 мин; уксусная кислота 3% — 5 мин; алциановый синий 0.1% — 5 мин; дистиллированная вода — 10 мин; Мавиол[®]. Реагент Шиффа использовали для окрашивания хроматинсодержащих нуклеиновых структур, оставляя ядрышки и цитоплазму неокрашенными. Алциановый синий использовали для окрашивания клеточных стенок и цитоплазмы. Срезы наблюдали с помощью светового микроскопа AxioPlan 2ie (Carl Zeiss, Германия).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Уникальное состояние ископаемых листьев *T. dubium* из местонахождения Белый Яр эоценовой тавдинской флоры дает возможность исследовать это растение, как на структурном, так и на ультраструктурном уровне. Листья черешковые, спирально расположенные, с хорошо выраженной средней жилкой, линейноланцетные, с острой верхушкой и избегающим основанием. Листья отходят от побега под углом 35°—45° (табл. IX, фиг. 1; см. вклейку). Наружные периклиальные стенки эпидермальных клеток четырех- или многоугольные, длина их равна ширине или несколько превышает ее. Антиклиальные стенки эпи-

дермальных клеток прямые или слегка изогнутые (табл. IX, фиг. 2). Устьица амфициклические, энциклоцитные, расположены на абаксиальной поверхности листа. Число побочных клеток у современных и ископаемых представителей рода *Taxodium* составляет четыре–шесть (Свешникова, Буданцев, 1960; Викулин и др., 2005). Ядра побочных клеток лежат в одной плоскости (табл. IX, фиг. 3). Устьичная щель ориентирована косо или перпендикулярно. На концах замыкающих клеток сохранились кутикулярные полярные Т-образные выросты (табл. IX, фиг. 3а).

Окрашивание по Фёльгену показало, что в листьях ископаемого *T. dubium* сохранились эпидермальные клетки с фёльген-позитивными гетерогенно окрашенными ядрообразными структурами округлой формы, включая диффузное и мелкое зернистое вещество. Окраска ядер от красно-фиолетового до фиолетового цвета. Ядра эпидермальных клеток демонстрируют более интенсивно окрашенные хромоцентры (табл. IX, фиг. 3, 4). Некоторые клетки в пределах неокрашенного ядрышкового дворика имеют хорошо заметное фёльген-позитивное округлое тельце (табл. IX, фиг. 5). Возможно, что оно возникло в результате постмортальной агрегации хроматина. В эпидермальных клетках обнаружены лейкопласты. Они примыкают, в основном, к наружной клеточной стенке. Лейкопласты небольшие, от округлых до вытянутых в длину, характерные для эпидермальных клеток современных представителей голосеменных растений (табл. IX, фиг. 4, 6). Дополнительное окрашивание препаратов алциановым синим и гематоксилином Эрлиха выявило клеточные стенки и прилегающий внутриклеточный материал, окрашенный от светло- до темно-синего цвета (табл. IX, фиг. 2–6).

ОБСУЖДЕНИЕ

Структурно сохранившиеся побеги рода *Taxodium* известны из верхнемеловых отложений (Свешникова, 1967; Aulenback, LePage, 1988). В третичный период этот род получил широкое распространение по всей Евразии и Северной Америке (Горбунов, 1955; Борсук, 1956; Дорофеев, 1976; Буданцев, 1983, 1986, 1997 и др.). Ареал таксодиума чрезвычайно сузился в связи с климатическими перестройками конца плиоцена. Вследствие раннеплейстоценовых оледенений на протяжении четвертичного периода, этот род исчез в Европе (Никитин, 1957; Дорофеев, 1976).

Впервые облиственные побеги типа *T. distichum* были описаны под названием *Taxodites dubius* Sternb. (Sternberg, 1838) по двум экз. из глинигной формации Билина в Чехии. Образцы из этих же отложений Ф. Унгер определил как *T. dubius*, отнеся к нему, кроме побегов, мужские стробилы и обломок женской шишки (Unger,

1852). В 1855 г. все находки *T. dubius* были отнесены О. Геером к современному роду таксодиум — *Taxodium dubium* (Heer, 1855). Под таким названием он описал остатки таксодиума из Швейцарии, включив в диагноз характеристику побегов и листьев. В описательной части Геер воспроизводит изображения женской шишки и мужского стробила, определенные Унгером как *Taxodites dubius* (Heer, 1855). Необходимо отметить, что ископаемые виды таксодиума невозможно разделить по внешней морфологии облиственных побегов. Поэтому большинство таких находок обычно относят к *Taxodium dubium*.

Листья ископаемого *T. dubium* из эоценовых отложений Западной Сибири демонстрируют ядерный материал с неоднородной красно-фиолетовой окраской, обусловленной наличием в хроматине ядер дезоксирибозных остатков. При этом неокрашенными остаются ядрышки и цитоплазматические структуры (Chayen et al., 1953). Получение такого образца ядер возможно с использованием фёльген-теста при окрашивании ткани. Мягкий кислотный гидролиз, который происходил в окрашенных Фёльгеном препаратах тканей растения, вызывал отделение пуриновых оснований, содержащихся в молекулах ДНК, что приводило к размазыванию альдегидных групп дезоксирибозы. Свободные альдегидные группы и реагент Шиффа образовали кислотоустойчивый краситель, который выявил эпидермальные клетки листьев с диффузным фёльген-позитивным материалом в ядрах. Ядра были окрашены в фиолетовый и красно-фиолетовый цвета, тогда как хромоцентры были окрашены более интенсивно.

Ранее проводилось окрашивание по Фёльгену срезов эпидермальных клеток листьев *Paramyrta aciphyllum agarovii* Ozerov и клеток мезокарпия плодов *Paramyrta caricarpus plurilocularis* Ozerov из отложений нижнего эоцена арктической Якутии, а также мумифицированных листьев *Metasequoia nathorstii* Sveshn. из среднего эоцена арктической Канады и фитолеймы листа *Metasequoia occidentalis* (Newb.) Chaney из раннего олигоцена Западной Сибири. Целью предыдущих исследований явилось выявление в изучаемых образцах ДНК-содержащих структур. Окрашивание показало сохранение фёльген-позитивных гетерогенно окрашенных ядерных структур, подобных тем, которые были обнаружены в настоящем исследовании (Ozerov et al., 2006, 2020, 2021).

Окрашивание по Фёльгену является одной из наиболее эффективных химических реакций для обнаружения и количественного определения внутриклеточной ДНК. Важно, что реакция Фёльгена специфична для ДНК, при этом в ядрах не образуются посторонние альдегидные группы; ядрышки и цитоплазма остаются неокрашенными.

ми одновременно (Chiesco, Derenzini, 1999). Окрашивание по Фельгену может вызывать пурпурное окрашивание некоторых других природных альдегидов и эластинов, однако они либо не встречаются в растительной ткани, либо присутствуют в небольших количествах, либо не влияют на характер окрашивания (Feulgen, Voit, 1924; Chiesco, Derenzini, 1999).

Окрашивание сафранином мумифицированных листьев *Metasequoia nathorstii* из арктической Канады показало, что ядра имеют очень четкие границы и выглядят так, как будто они были зафиксированы до фоссилизации (Жинкина и др., 2018; Ozerov et al., 2020). Причиной этого может быть наличие природных клеточных танинов, особенно тех, которые относятся к группе конденсированных. Танины могут быть распределены среди других клеток, как в одиночных таниновых клетках, так и собраны в группы. Локализация танинов в специализированных таниновых клетках может объяснить спорадическое сохранение ядер в некоторых, но не во всех клетках. Предполагается, что ранее находящиеся в вакуолях клетки танины могут эффективно фиксировать ядро после гибели клеток и разрушения мембраны (Schoenhut et al., 2004; Wang et al., 2014). Это предположение подтверждается как характерным желто-коричневым танин-положительным окрашиванием тканей плодов раннеэоценового растения, относящегося к семейству миртовых, после обработки хромовым ангидридом, так и красновато-коричневым окрашиванием сафранином мумифицированных листьев среднеэоценовой метасеквойи из арктической Канады (Ozerov et al., 2006, 2020). Наличие танинов в исследованном материале совпадает с наблюдениями, проведенными на тканях ископаемых листьев (Niklas, Brown, 1981; Wilson, Hatcher, 1988; Schoenhut et al., 2004). Было показано, что танины ингибируют бактериальную и грибковую деградацию макромолекул и клеточных структур (Vajrai et al., 2009; Ushio et al., 2013).

Цитохимические доказательства того, что часть ДНК, вероятно, сохранилась в некоторых ископаемых растениях, ограничены только нашими работами, где было показано фельген-положительное окрашивание ядер (Ozerov et al., 2006, 2020, 2021). Однако, по крайней мере, две независимые исследовательские группы выделили ДНК, амплифицировали и секвенировали гены хлоропластов *Magnolia*, *Persea* и *Taxodium* из отложений миоцена Кларкии (Golenberg et al., 1990; Soltis et al., 1992; Kim et al., 2004). Отметим, что наличие интактных хлоропластов, сохранившихся в ископаемых тканях листьев кларкии миоценового возраста, было показано ранее (Nicklas et al., 1985).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Наше исследование показывает, что ДНК-деоксирибозный скелет, служащий мишенью для реагента Шиффа во время реакции Фельгена, частично сохраняется в исследованном ископаемом материале. В результате этого выявлены основные эпидермальные клетки листа *T. dubium* с диффузным красно-фиолетовым фельген-позитивным материалом в ядрах. Это позволяет использовать изученный материал для последующего молекулярно-генетического анализа в качестве матрицы для реакции ПЦР для изучения филогенетического родства современных и ископаемых организмов.

Настоящее исследование выполнено в рамках госзадания БИН РАН № ААА-А19-119021190031-8 “Ископаемые растения России и сопредельных территорий: систематика, филогения, палеофлористика и палеофилогения” и частично госзадания БИН РАН № АААА-А18-118051590112-8, № АААА-А18-118042490106-6 и АААА-А18-118040290161-3.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Барыкина Р.П., Веселова Т.Д., Девятов А.Г. и др.* Справочник по ботанической микротехнике. Основы и методы. М.: Изд-во МГУ, 2004. 311 с.
- Борсук М.О.* Палеогеновая флора Сахалина (конгломератной и нижнедунайской свит). М.: Госгеолтехиздат, 1956. 132 с.
- Буданцев Л.Ю.* История Арктической флоры эпохи раннего кайнофита. Л.: Наука, 1983. 156 с.
- Буданцев Л.Ю.* Ранние этапы формирования и расселения умеренной флоры бореальной области. Л.: Наука, 1986. 60 с.
- Буданцев Л.Ю.* Позднеэоценовая флора Западной Камчатки // Тр. Ботан. ин-та РАН. 1997. Вып. 19. 115 с.
- Викулин С.В., ЛеПаж Б.А., Шалиско В.Ю.* *Taxodium balticum* (Taxodiaceae) в палеогеновой флоре Пасекова (Воронежская область) // Ботан. журн. 2005. Т. 90. № 4. С. 509–526.
- Горбунов М.Г.* Третичная система: третичная флора: семейство Taxodiaceae // Атлас руководящих форм ископаемых фауны и флоры Западной Сибири. Т. 2. М.: Госгеолтехиздат, 1955. С. 217–218.
- Горбунов М.Г.* Геологический очерк урочища Компасский на реке Тым (Западная Сибирь) // Уч. зап. Томского гос. ун-та. 1962. № 44. С. 26–55.
- Дорофеев П.И.* К систематике третичных *Taxodium* // Ботан. журн. 1976. Т. 61. № 10. С. 1364–1373.
- Жинкина Н.А., Озеров И.А.* Методика окрашивания тканей ископаемых растений по Фельгену // Ботан. журн. 2008. Т. 93. № 6. С. 951–953.
- Жинкина Н.А., Торшилова А.А., Озеров И.А.* Применение модифицированной методики окрашивания тканей современных и ископаемых растений // Ботан. журн. 2018. Т. 103. № 9. С. 1191–1194.

- Никитин В.П. Палеокарпология и стратиграфия палеогена и неогена Азиатской России. Новосибирск: Академ. изд-во Гео, 2006. 229 с.
- Никитин П.А. Плиоценовые и четвертичные флоры Воронежской области. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1957. 206 с.
- Озеров И.А., Яковлева О.В. О возможном нахождении секреторных структур у листьев раннеэоценового *Paranymphaea agarovii* (Myrtaceae) // Ботан. журн. 2015. Т. 100. № 8. С. 823–828.
- Свешникова И.Н. Позднемиоценовые хвойные Советского Союза. I. Ископаемые хвойные Вилуйской синеклизы // Тр. Ботан. ин-та АН СССР. Сер. Палеоботаника. 1967. Вып. 3. С. 177–203.
- Свешникова И.Н., Буданцев Л.Ю. Третичная флора Калининградского полуострова // Ботан. журн. 1960. Т. 45. № 6. С. 871–875.
- Унифицированные региональные стратиграфические схемы неогеновых и палеогеновых отложений Западно-Сибирской равнины. Объяснительная записка. Новосибирск: СНИИГГиМС, 2001. 84 с.
- Aulenback K.R., LePage B. *Taxodium wallisii* sp. nov.: first occurrence of *Taxodium* from Upper Cretaceous // Int. J. Plant Sci. 1988. V. 159. № 2. P. 367–390.
- Bajpai V.K., Al-Reza S.M., Choi U.K. et al. Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of leaf essential oil and extracts of *Metasequoia glyptostroboides* Miq. ex Hu. // FCT. 2009. V. 47. P. 1876–1883.
- Bomfleur B., McLoughlin S., Vajda V. Fossilized nuclei and chromosomes reveal 180 million years of genomic stasis in royal ferns // Science. 2014. V. 343. P. 1376–1377.
- Chayen I., Davies H., Miles U. Observation on some plant interphase nuclei // Proc. Roy. Soc. London B. 1953. V. 141. P. 190–199.
- Chieco P., Derenzini M. The Feulgen reaction 75 years on // Histochem. Cell Biol. 1999. V. 111. P. 345–358.
- Feulgen R., Voit K. Über den Mechanismus der Nuclealfärbung // Hoppe Seylers Z. Physiol. Chem. 1924. V. 135. S. 249–252.
- Golenberg E.M., Giannasi D.E., Clegg M.T. et al. Chloroplast DNA sequence from a Miocene *Magnolia* species // Nature. 1990. V. 344. P. 656–658.
- Gupta N.S., Yang H., Leng Q. et al. Diagenesis of plant biopolymers: decay and macromolecular preservation of *Metasequoia* // Org. Geochem. 2009. V. 40. P. 802–809.
- Heer O. Die tertiäre Flora der Schweiz. Winterthur: J. Wurster und Comp., 1855. 118 s.
- Kim S., Soltis D.E., Soltis P.S. et al. DNA sequences from Miocene fossils: an *ndhF* sequence of *Magnolia latahensis* (Magnoliaceae) and an *rbcL* sequence of *Persea pseudocarinensis* (Lauraceae) // Amer. J. Bot. 2004. V. 91. P. 615–620.
- Liu G.A., Zheng R.L. Protection against damaged DNA in the single cell by polyphenols // Die Pharmazie. 2002. V. 57. P. 852–854.
- Niklas K.J. Organelle preservation and protoplast partitioning in fossil angiosperm leaf tissues // Amer. J. Bot. 1983. V. 70. P. 543–548.
- Niklas K.J., Brown R.M. Ultrastructural and paleochemical correlations among fossil leaf tissues from the St. Maries River (Clarkia) area, northern Idaho, USA // Amer. J. Bot. 1981. V. 68. P. 332–341.
- Niklas K.J., Brown R.M., Santos R. Ultrastructural states of preservation in *Clarkia* angiosperm leaf tissues: implications on modes of fossilization // Late Cenozoic history of the Pacific Northwest / Ed. Smiley C.J. San Francisco: Pacific Division of the Amer. Assoc. for the Advancement of Science, 1985. P. 143–159.
- Ozerov I.A., Zhinkina N.A., Efimov A.M. et al. Feulgen-positive staining of the cell nuclei in fossilized leaf and fruit tissues of the lower Eocene Myrtaceae // Bot. J. Linn. Soc. 2006. V. 150. № 3. P. 315–321.
- Ozerov I.A., Zhinkina N.A., Torshilova A.A. et al. Use of DNA-specific stains as indicators of nuclei and extranuclear substances in leaf cells of the Middle Eocene *Metasequoia* from Arctic Canada // Rev. Palaeobot. Palynol. 2020. V. 279. p. 104211. <https://doi.org/10.1016/j.revpalbo.2020.104211>
- Ozerov I.A., Zhinkina N.A., Torshilova A.A. et al. Chromosomes of fossilized *Metasequoia* from early Oligocene of Siberia // Rev. Palaeobot. Palynol. 2021. V. 287. p. 10436. <https://doi.org/10.1016/j.revpalbo.2020.104365>
- Schönhut K., Vann D.R., LePage B.A. Cytological and ultrastructural preservations in Eocene *Metasequoia* leaves from the Canadian High Arctic // Amer. J. Bot. 2004. V. 91. P. 816–824.
- Soltis P.S., Soltis D.E., Smiley C.J. An *rbcL* sequence from a Miocene *Taxodium* (bald cypress) // Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 1992. V. 89. P. 449–451.
- Sternberg K. Versuch einer geognostisch-botanischen Darstellung der Flora der Vorwelt. Prag: Gottlieb Häsele Sohn, 1838. Bd 2. S. 81–220.
- Unger F. Iconographia plantarum fossilium. Abbildungen und Beschreibungen fossiler Pflanzen. Wien: Kais.-Königl. Hof- und Staatsdruckerei, 1852. 46 s.
- Ushio M., Balsler T.C., Kitayama K. Effects of condensed tannins in conifer leaves on the composition and activity of the soil microbial community in a tropical montane forest // Plant and Soil. 2013. V. 365. P. 157–170.
- Wang X., Liu W., Du K. et al. Ultrastructure of chloroplasts in fossil *Nelumbo* from the Eocene of Hainan Island, South China // Plant Syst. Evol. 2014. V. 300. P. 2259–2264.
- Wilson M.A., Hatcher P.G. Detection of tannins in modern and fossil barks and in plant residues by high-resolution solid-state ¹³C nuclear magnetic resonance // Org. Geochem. 1988. V. 12. P. 539–546.

Объяснение к таблице IX

Фиг. 1–6. *Taxodium dubium* (Sternb.) Heer, экз. БИН 600/110; местонахождение Белый Яр; эоцен: 1 – отпечаток фрагмента побега; 2–6 – клетки листа с окрашенными клеточными стенками и прилегающим внутриклеточным материалом (окрашены реактивом Шиффа, алциановым синим и гематоксилином Эрлиха): 2 – эпидермальные клетки листа с прямыми или слегка изогнутыми антиклинальными стенками; 3, 3а – амфициклическое устьице с расположенными на концах замыкающих клеток полярными Т-образными устьичными гребнями; 3, 4 – побочные и эпидермальные клетки с ядрами, имеющими более интенсивно окрашенные хромоцентры; 5 – ядра с ядрышковыми двориками с фёльген-позитивным округлым тельцем; 4, 6 – эпидермальные клетки с диффузным фёльген-позитивным материалом в ядрах и с округлыми и вытянутыми лейкопластами.

**Feulgen Testing of the Leaf Cells Nuclei
in *Taxodium dubium* (Cupressaceae) Eocene Tavda Flora of Western Siberia**

I. A. Ozerov¹, N. A. Zhinkina¹, A. A. Torshilova¹, E. M. Machs¹, A. V. Rodionov¹

¹Komarov Botanical institute RAS, St. Petersburg, 197376 Russia

The article presents the results of a study of the leaf tissues of the fossil *Taxodium dubium* from the Eocene tavda flora of Western Siberia. Feulgen testing showed the preservation in the cells heterogeneously stained nuclear structures and small granular chromocenters. The nuclei were red-violet-stained, and the chromocenters were stained more intensely. This indicates the occurrence in the chromatin of aldehyde groups of the deoxyribose and demonstrates the specific presence of the DNA. The additional staining of the preparations with the alcian blue and Ehrlich's hematoxylin displays the cell walls and the adjacent intracellular material that is colored from light to dark blue.

Keywords: *Taxodium*, feulgen-test, Eocene, tavda flora, Western Siberia

