

УДК 57.033

ВПЛИВ ШЕСТИВАЛЕНТНОГО ХРОМУ НА РІСТ ТРАНСГЕННИХ РОСЛИН РЯСКИ В УМОВАХ *IN VITRO*

Н.А. МАТВЄЄВА, В.П. ДУПЛІЙ

Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України
Україна, 03680, Київ 143, вул. Заболотного 148
e-mail: joyna56@gmail.com

Досліджено особливості росту в культурі *in vitro* трансгенних рослин ряски *Lemna minor* з послідовністю генів *esxA::fbrB^{ΔTMD}* у присутності хрому (VI) у формі хромат-аніона CrO_4^{2-} . Показано, що трансформовані рослини відрізнялися більшою чутливістю до хрому (VI) порівняно з ряскою дикого типу. Високі концентрації хрому (VI) – 4 та 8 мМ – були токсичними, загибель листеців становила 39,3% та 68,7% через 21 добу. Трансгенні рослини, так само як і нетрансформовані, зменшували концентрацію хрому (VI), відновлюючи у живильному середовищі розчинний CrO_4^{2-} до нерозчинного хрому (III) у вигляді сіро-блакитного осаду $Cr(OH)_3 \cdot nH_2O$. Трансформовані рослини повністю відновлювали Cr (VI) при його вихідній концентрації 1 мМ за 3 доби, нетрансформовані – за 6 дб. Однак при концентраціях хрому (VI) 2, 4 та 8 мМ відновлювальна здатність рослин дикого типу була вищою.

Ключові слова: *Lemna minor* L., трансгенні і нетрансформовані рослини, Cr (VI), *in vitro*.

Вступ. Рослини ряски *Lemna minor* L. є перспективними об'єктами генетичної інженерії у зв'язку з особливостями їхнього росту – високою швидкістю розмноження та невибагливістю до живильного середовища. Для цього виду розроблено методики культивування в умовах *in vitro* (у тому числі калусоутворення, регенерація) та створено рослини з трансформованим геномом [1–5]. Нами з використанням бактерій *Agrobacterium rhizogenes* A4 отримано рослини ряски з генами туберкульозних антигенів ESAT6 та Ag85B [6].

Оскільки усі етапи трансформування (поранення, проникнення агробактерій, перенесення та експресія генів) є стресом для рослин, слід очікувати наявності певних відмінностей трансгенних рослин від рослин дикого типу за низкою параметрів. На наш погляд, є доцільним дослідити особливості трансформованих рослин, зокрема таких, що безпосередньо не пов'язані з перенесеними до них генами, з метою виявлення стрес-реакції рослин на генетичну трансформацію.

Відомо, що рослини ряски здатні очищувати воду від гербіцидів [7], токсичних металів [8–10] та органічних сполук [11]. Проведені нами попередні дослідження показали, що культивована *in vitro* у середовищі з K_2CrO_4 ряска здатна відновлювати хром (VI) до хрому (III). У даній роботі вивчали особливості росту трансгенних рослин ряски порівняно з рослинами дикого типу при їхньому культивуванні на живильному середовищі, що містило один з токсичних для рослин металів – шестивалентний хром у концентраціях від 1 до 8 мМ.

Матеріали і методи

Створені нами раніше трансгенні рослини *L. minor*, які мали зливу послідовність генів *esxA::fbpB^{ΔTMD}* [6], а також рослини ряски дикого типу культивували в стерильних умовах у рідкому живильному середовищі 1/2МС (середовище Мурасіге та Скуга [12] зі зменшеним вдвічі вмістом макроелементів). У чашки Петрі (діаметр 60 мм) наливали по 10 мл середовища, додавали стерильний розчин K_2CrO_4 до відповідної концентрації хрому (VI): 0, 1, 2, 4 та 8 мМ, переносили по 100 листеців. Рослини культивували при температурі +24 °С та 16-годинному світловому фотоперіоді протягом 21 доби. Через 3, 6, 12 та 21 добу підраховували кількість та визначали приріст кількості листеців (ΔN), концентрацію Cr (VI) у живильному середовищі, а по завершенні експерименту – вміст Cr (VI) у рослинах. Концентрацію хрому (VI) визначали за допомогою дифенілкарбазиду (ДФК) фотокolorиметричним методом [13] на спектрофотометрі Eppendorf bioPhotometer plus (довжина хвилі $\lambda = 550$ нм). З чашок Петрі відбирали до мікропробірок Eppendorf по 500 мкл середовища, додавали 0,125 мкл H_2SO_4 (1:3) та 0,125 мл 0,5 % спиртового розчину дифенілкарбазиду. Калібрування проводили за розчином K_2CrO_4 . Для визначення вмісту хрому (VI) у рослинах листеці зважували, розтирали в 1 мл дистильованої води та центрифугували. Супернатант використовували для визначення вмісту хрому (VI) за вищевказаною методикою.

Ріст рослин характеризували за такими показниками:

– відносна швидкість приросту кількості листеців $V = (N_i - N_{i-1}) / (t_i - t_{i-1}) / N_{i-1}$, де N_i – кількість листеців у точці виміру ($i = 3, 6, 12$ та 21 доба), N_{i-1} – кількість листеців у попередній точці виміру, $t_i - t_{i-1}$ – проміжок часу між двома точками виміру (3, 3, 6 та 9 дів). Цей показник дає можливість оцінити динаміку зміни швидкості росту рослин;

– коефіцієнт стійкості рослин до хрому (VI) $R = \Delta N_C / \Delta N_0$ – відношення приросту кількості листеців (ΔN_C) на середо-

вищі з певною концентрацією хрому ($C = 1, 2, 4$ та 8 мМ) до приросту кількості листеців на середовищі без хрому (ΔN_0) на 3, 6, 12 та 21 добу. За цим показником можна оцінити токсичну дію сполуки хрому (VI) на рослини;

– середній коефіцієнт стійкості рослин до хрому (VI) за період культивування рослин $R_{сер} = \Delta N_C / \Delta N_0$.

Експерименти проводили у трьох повторностях, статистичну обробку результатів здійснювали за стандартними методами [14].

Результати та обговорення

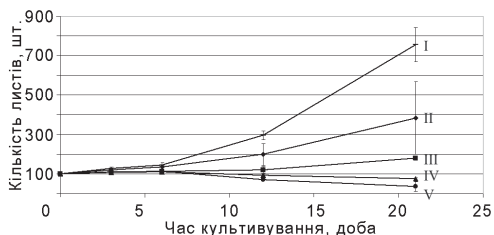
Через три та шість дів ріст трансгенних рослин у присутності 1 мМ хрому (VI) ($\Delta N_3 = 20,0 \pm 9,8$; $\Delta N_6 = 33,7 \pm 10,5$) достовірно не відрізнявся від росту цих рослин на середовищі без хрому, для яких приріст зелених листеців становив 27,3 \pm 8,0 та 44,3 \pm 11,6 відповідно. При вищих концентраціях хрому (VI) (2, 4, 8 мМ) приріст кількості листеців трансформованих рослин становив 9,7 \pm 6,2, 8 \pm 2,3, 6,3 \pm 1,7 шт. через 3 доби та 11,0 \pm 6,0, 10,0 \pm 6,0, 11,0 \pm 4,1 шт. через 6 дів, нетрансформованих – відповідно 10,0 \pm 4,9, 9,7 \pm 11,2, 7,3 \pm 3,5 шт. через 3 доби та 28,7 \pm 5,4, 19,0 \pm 15,7 та 10,0 \pm 2,3 шт. через 6 дів (рис. 1). Через 12 дів кількість зелених листеців трансгенних рослин у контролі, тобто при відсутності хрому (VI), перевищувала кількість листеців у дослідних варіантах відповідно в 1,5, 2,5, 3,2 та 4,3 раза при 1, 2, 4 та 8 мМ Cr (VI), а через 21 добу – у 2, 4,2, 10,3 та 21,6 разів. При високих концентраціях хрому (VI) – 4 та 8 мМ – спостерігали поступову загибель рослин: зменшення кількості зелених листеців, пожовтіння та відсутність приросту кількості листеців. Через 21 добу кількість зелених листеців становила 100, 100, 62,2 та 31,3 % від загальної відповідно при 1, 2, 4 та 8 мМ хрому (VI).

У присутності порівняно невеликих концентрацій хрому (VI), 1 та 2 мМ, остаточний приріст рослин ряски дикого типу та транс-

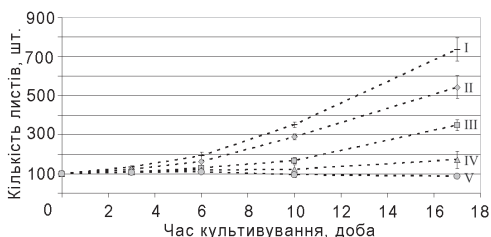
генних становив $443,0 \pm 51,2$ та $248,3 \pm 23,8$ листеців відповідно (рис. 1). Більші концентрації (4 та 8 мМ) були менш токсичними для рослин дикого типу, ніж для трансгенних. Так, за період культивування на середовищі з вмістом 4 та 8 мМ хрому (VI) загибель рослин дикого типу (кількість жовтих листеців) становила відповідно 15,8% та 22,4%. У той же час, кількість жовтих листеців у трансформованих рослин дорівнювала 39,3% і 68,7% при тих самих вихідних концентраціях хрому (VI) (рис. 2). При менших концентраціях жовті листеці були відсутні для обох типів рослин. Слід зазначити, що за однакових умов приріст кількості листеців трансгенних рослин ряски ніколи не перевищував такий для рослин дикого типу.

До шостої доби приріст листеців збільшувався для обох генотипів ряски на всіх концентраціях хрому. Зі збільшенням часу культивування у трансгенних рослин ряски при концентраціях 4 та 8 мМ, а у ряски дикого типу тільки при 8 мМ хрому (VI) спостерігали від'ємний приріст за рахунок загибелі рослин (рис. 3). На середовищі з вихідною концентрацією 4 мМ хрому (VI) спостерігалася як загибель частини листеців, так і збільшення їхньої загальної кількості (особливо для ряски дикого типу). При концентрації 8 мМ хрому (VI) спостерігалася майже повне припинення росту листеців та їхнє швидке пожовтіння.

Відносна швидкість приросту кількості листеців залежала від концентрації хрому (VI) та часу культивування. Особливістю трансформованих рослин було зменшення відносної швидкості росту листеців на шосту добу порівняно з попередніми вимірами (на третю добу) з подальшим збільшенням на дванадцяту добу, причому такий характер росту спостерігали не тільки в присутності 1 та 2 мМ Cr(VI), але й у середовищі без хрому (рис. 3). Збільшення відносної швидкості росту після шостої доби виявлено тільки при культивуванні в присутності до 4 мМ хрому (VI) для не-



а



б

Рис. 1. Зміна кількості зелених листеців під час росту трансгенних (а) та нетрансформованих (б) рослин ряски у середовищі з хромом (VI) у концентраційному діапазоні 1 – 8 мМ: I – 0 мМ; II – 1 мМ; III – 2 мМ; IV – 4 мМ; V – 8 мМ Cr(VI)

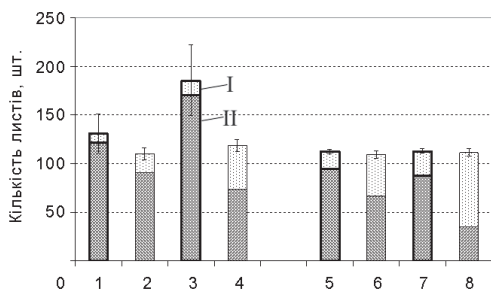


Рис. 2. Виживання листеців трансгенних (парні) та нетрансформованих (непарні) рослин при 4 (стовпці 1–4) та 8 (5–8) мМ хрому (VI) через 10–12 діб (1, 2, 5, 6) та 17–21 добу (3, 4, 7, 8): I – жовті; II – зелені

трансформованих та до 2 мМ для трансгенних рослин. Додавання 8 мМ хрому (VI) призводило до істотного зниження відносної швидкості росту для рослин обох типів.

Найвищий показник коефіцієнта стійкості (R) через 3 доби зафіксовано для

рослин, які культивували при 1мМ хрому (VI), найменший з тестованих концентрацій – 73,2±35,6 (трансгенні рослини) та 66,0±16,6 (рослини дикого типу) (рис. 4). Зі збільшенням концентрації хрому (VI) коефіцієнт стійкості рослин зменшувався. Цілком закономірно, що найтоксичнішою була концентрація 8 мМ хрому(VI), коефіцієнт стійкості при культивуванні рослин за таких умов був найменшим та становив – 16,0±2,6 (12 доба) та –9,9±3,9 (21 доба) для трансгенних і –2,12±2,6 (10 доба) та –1,9±1,7 (17 доба) для рослин дикого типу, – від’ємні значення R свідчать про загибель рослин. Слід зазначити, що при 4 та 8 мМ хрому(VI) зі збільшенням часу культивування коефіцієнт стійкості зменшувався як для трансгенних, так і для вихідних рослин. Після шести діб (і в подальшому до кінця терміну спостережень) R для трансгенних рослин зменшувався при всіх концентраціях Cr (VI), а для рослин дикого типу – тільки при 4 та 8 мМ. Таким чином, рослини з трансформованим геномом були чутливішими до токсичної дії Cr (VI).

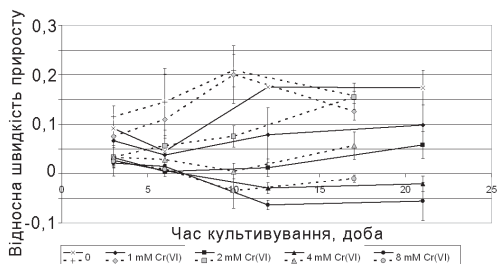


Рис. 3. Відносна швидкість приросту кількості листків у трансгенних (суцільна лінія) та нетрансформованих рослин ряски (пунктирна лінія)

Середній коефіцієнт стійкості рослин наочно характеризує кількісні параметри впливу хрому (VI) на ріст рослин залежно від концентрації. Як видно з рис. 5, тенденція залежності росту трансгенних рослин та рослин дикого типу від концентрації Cr(VI) була однаковою.

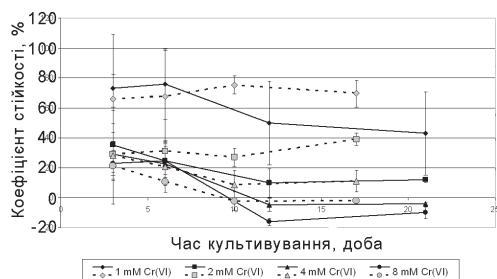


Рис. 4. Відмінності коефіцієнта стійкості трансгенних (суцільна лінія) рослин та рослин дикого типу (пунктирна лінія) до хрому (VI) у концентраційному діапазоні 1–8 мМ

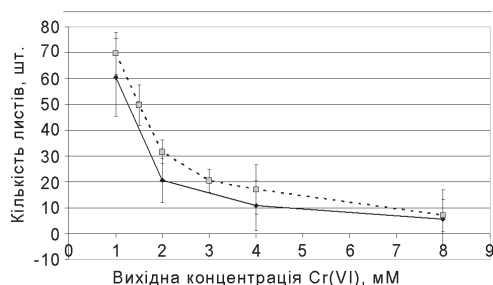


Рис. 5. Середній коефіцієнт стійкості трансгенних (суцільна лінія) та нетрансформованих (пунктир) рослин ряски при культивуванні в присутності хрому (VI)

При рості ряски концентрація хрому (VI) у живильному середовищі зменшувалася, вірогідно, за рахунок відновлення високо-токсичного розчинного хрому (VI) до нерозчинного і нетоксичного $\text{Cr}(\text{OH})_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ рослинними екзометаболітами. Підтвердженням цього є кольорові зміни у середовищі, які проявляються у зникненні характерного для хромат-аніону яскраво-жовтого забарвлення та появи осаду сіро-блакитного кольору, притаманного нерозчинному гідроксиду хрому(III):



Крім того, одночасно з вказаними змінами спостерігали зменшення хромат-аніону за специфічною реакцією кількісного аналітичного визначення з дифенілкарбазидом.

Швидкість детоксикації середовища трансгенними рослинами, що виявляється у зменшенні концентрації хрому (VI), на початковому етапі культивування була вищою, ніж рослинами дикого типу (рис. 6). Так, через 3 доби концентрації хрому (VI) зменшувалися відповідно з 8 мМ до $2,7 \pm 0,3$ та $6,2 \pm 0,5$ мМ, з 4 мМ до $1,5 \pm 0,2$ та $2,8 \pm 0,2$ мМ, з 2 мМ до $0,85 \pm 0,08$ та $0,95 \pm 0,08$ мМ (трансгенні та нетрансформовані рослини) (рис.6). Для трансгенних рослин такого часу (3 доби) було достатньо для зменшення концентрації хрому(VI) з 1мМ до аналітичного нуля (за дифенілкарбазидом). У той же час при культивуванні рослин дикого типу за таких самих умов вміст хрому (VI) становив $0,36 \pm 0,21$ мМ. Однак трансгенні рослини за 12 діб не змогли повністю відновити 4 мМ хрому (VI) (залишкова концентрація становила $0,35 \pm 0,01$ мМ), тоді як рослини дикого типу за 10 діб зменшили концентрацію Cr(VI) 4 мМ у середовищі до нуля. Вихідна концентрація 8мМ хрому (VI) була токсичною як для трансгенних, так і нетрансформованих рослин. За цих умов припинявся ріст, спостерігалася загибель рослин, а концентрація хрому (VI) у середовищі зменшувалася лише до 0,4 та 0,7 мМ відповідно.

Відомо, що рослини різних родин, у тому числі *Legnaseae*, здатні до поглинання токсичних металів (транспорту всередину клітин) [15]. Відновлення хрому(VI) до хрому(III) відбувається не тільки у середовищі, але й всередині клітин живих організмів [16]. Неспецифічний транспорт до клітин хромат-аніону CrO_4^{2-} здійснюється завдяки близькості його іонного радіуса та радіусів аніонів SO_4^{2-} та PO_4^{3-} [13]. Саме тому акцепторні та транспортні системи клітин «поміляються» та поглинають хромати разом з сульфатами та фосфатами. Після поглинання всередині клітин відбувається подальше відновлення хромат-

аніону до нерозчинного гідроксиду $\text{Cr}(\text{OH})_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ [27].

Аналіз водних екстрактів досліджуваних рослин показав відсутність хрому (VI) в тканинах як у трансгенних, так і в нетрансформованих рослин, які культивували у середовищі з 1 мМ хрому (VI) (рис.7). Очевидно, за такої відносно невеликої концентрації здійснювався транспорт хрому (VI) до клітин та його подальше повне відновлення до хрому (III) всередині клітин. При культивуванні як трансгенних, так і контрольних рослин, відбувалося накопичення Cr (VI) в рослинах лише за його концентрації 2 та 4 мМ. Так, вміст хрому (VI) становив $0,221 \pm 0,52$ і $0,236 \pm 0,125$ мг/г маси трансгенних рослин та $0,077 \pm 0,014$ і $0,313 \pm 0,138$ мг/г маси рослин дикого типу (відповідна вихідна концентрація Cr (VI) у середовищі 2 та 4 мМ). Відсутність хрому (VI) в рослинах при вихідній концентрації у середовищі 8 мМ та зменшення його концентрації у середовищі свідчать про те, що детоксикація хрому у середовищі, можливо, здійснюється не тільки за рахунок його накопичення та відновлення у листях (адже відбувається пожовтіння та загибель листяців), але й шляхом відновлення хрому (VI) екзометаболітами рослин.

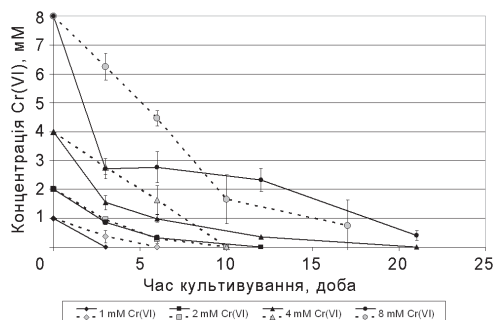


Рис. 6. Зменшення концентрації хрому (VI) у живильному середовищі при рості трансгенних (суцільна лінія) та нетрансформованих (пунктирна лінія) рослин яски

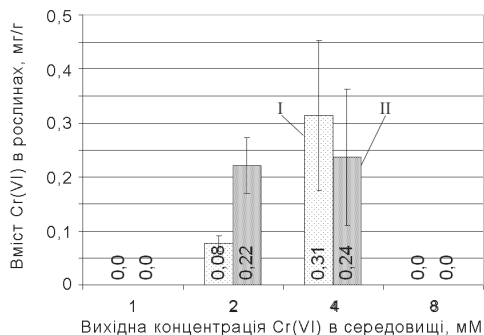


Рис. 7. Вміст хрому (VI) в трансгенних (I) та нетрансформованих (II) рослинах ряски при їх культивуванні в присутності 1, 2, 4, 8 мМ хрому (VI)

Висновки

Генетична трансформація рослин ряски призвела до змін у рості в присутності хрому (VI). Шестивалентний хром у концентрації від 1 до 8 мМ пригнічував ріст трансгенних рослин ряски. Трансгенні рослини були чутливішими до дії хрому (VI), ніж рослини дикого типу, для яких кількість жовтих листеців становила 15,8 % та 22,4 % проти 39,3 % та 68,7 (відповідно 4 та 8 мМ). Динаміка росту трансгенних та нетрансформованих рослин відрізнялися. Так, для трансформованих рослин відбувалося зменшення відносної швидкості росту на шосту добу порівняно з третьою добою з подальшим збільшенням через 12 діб, причому такий характер росту спостерігали не тільки в присутності 1 та 2 мМ хрому (VI), але й у середовищі без хрому. Стійкість трансгенних рослин до дії хрому (VI) закономірно зменшувалася з підвищенням його концентрації. Однак середній коефіцієнт стійкості рослин дикого типу був вищим, ніж трансгенних.

Трансгенні рослини, так само як і нетрансформовані, здатні до детоксикації хрому (VI) за рахунок його відновлення до нерозчинного (і тому нетоксичного) гідроксиду хрому (III). На третю добу культивування трансгенні рослини відновлювали

хром (VI) зі швидкістю до трьох разів більшою, ніж нетрансформовані. Трансгенні рослини повністю відновлювали Cr (VI) при вихідній концентрації 1 мМ за три доби, нетрансформовані – за 6 діб. Однак при вищих концентраціях Cr (VI) відновлювана здатність рослин дикого типу була вищою.

Перелік літератури

1. Yamamoto Y.T., Rajbhandari N., Lin X.H., Bergmann B.A., Nishimura Y., Stomp A.M. Genetic transformation of duckweed *Lemna gibba* and *Lemna minor* // *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant.* – 2001. – Vol. 37, № 3. – P. 349–353.
2. Гайдукова С.Е., Ракитин А.Л., Равин Н.В., Скрябин К.Г., Камюнская А.М. Разработка системы генетической трансформации ряски малой (*Lemna minor*) // *Экол. генет.* – 2008. – Т.6, № 4 – С.13–15.
3. Cox K. M., Sterling J. D., Regan J. T., Gasdaska J. R., Frantz K. K., Peele C. G., Black A., Passmore D., Moldovan-Loomis C., Srinivasan M., Cuisson S., Cardarelli P.M., Dickey L. F. Glycan optimization of a human monoclonal antibody in the aquatic plant *Lemna minor* // *Nat. Biotechnol.* – 2006. – Vol. 24, № 1. – P. 1591–1597.
4. Sun Y., Cheng J.J., Himmel M.E., Skory C.D., Adney W.S., Thomas S.R., Tisserat B., Nishimura Y., Yamamoto Y.T. Expression and characterization of *Acidothermus cellulolyticus* E1 endoglucanase in transgenic duckweed *Lemna minor* 8627 // *Bioresour. Technol.* – 2007. – Vol. 98, № 15. – P. 2866–2872.
5. De Leede L.G., Humphries J.E., Bechet A.C., Van Hoogdale E.J., Verrijck R., Spencer D.G. Novel controlled-release *Lemna*-derived IFN- α 2b (Locteron): pharmacokinetics, pharmacodynamics, and tolerability in a phase I clinical trial // *J. Interferon Cytokine Res.* – 2008. – Vol. 28, № 2. – P. 113–122.
6. Матвеева Н. А., Кищенко О. М., Шаховський А. М., Кучук М. В. Перенесення в рослини ряски *Lemna minor* L. генів туберкульозних антигенів ESAT6 та AG85B за допомогою *Agrobacterium rhizogenes* // *Біотехнологія.* – 2011. – Т. 4, № 2. – С. 46–53.
7. Geoffroy L., Frankart C., Eullaffroy P. Comparison of different physiological parameter responses in *Lemna minor* and *Scenedesmus obliquus* exposed to herbicide flumioxazin // *Environmental Pollution.* – 2004. – Vol. 131, № 2. – P. 233–241.
8. Srivastav R. K., Gupta S. K., Nigam K. D. P., Vasudevan P. Treatment of chromium and nickel in wastewater by using aquatic plants // *Water Res.* – 1994. – Vol. 28, № 7. – P. 1631–1638.

9. Drost W., Matzke M., Backhaus T. Heavy metal toxicity to *Lemna minor*: studies on the time dependence of growth inhibition and the recovery after exposure // Chemosphere. – 2007. – Vol. 67, № 1. – P. 36–43.
10. Horvat T., Vidaković-Cifrek Ž., Oreščanin V., Tkalec M., Pevalek-Kozlina B. Toxicity assessment of heavy metal mixtures by *Lemna minor* L. // Sci. of The Total Environ. – 2007. – Vol. 384, № 1–3. – P. 229–238.
11. Bergmann B. A., Classen J., Cheng J., Stomp A. M. In vitro selection of duckweed geographical isolates for potential use in swine lagoon effluent renovation // Bioresource Technol. – 2000. – Vol. 73, № 1. – P. 13–20.
12. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture // Phys. Plant. – 1962. – Vol. 15, № 3. – P. 473–497.
13. Лурье Ю.Ю. Справочник по аналитической химии. – М.: Химия, 1979. – 480 с.
14. Лакин Г.Ф. Биометрия: Учеб. пособие для биол. спец. вузов – 4-е изд., перераб. и доп. – М.: Высш. шк., 1990. – 352 с.
15. Ater M., Ait Ali N., Kasmi H. Tolerance and accumulation of copper and chromium in two duckweed species : *Lemna minor* L. and *Lemna gibba* L. // Rev. Sci. Eau/J. Water Sci. – 2006. – Vol. 19, № 1, – P. 57– 67.
16. Таширев А.Б. Теоретические аспекты взаимодействия микроорганизмов с металлами. Микробная аккумуляция металлов, обусловленная их стереохимической аналогией с макроэлементами // Микробиол. журнал. – 1994. – Т.56, №6. – С.89–100.

Представлено Н.М. Дробик
Надійшла 3.08.2011

ВЛИЯНИЕ ШЕСТИВАЛЕНТНОГО ХРОМА НА РОСТ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ РЯСКИ В УСЛОВИЯХ *IN VITRO*

Н.А. Матвеева, В.П. Дуплій

Институт клеточной биологии и генетической инженерии НАН Украины
Украина, 03680, Киев 143, ул. Заболотного 148
e-mail: joyna56@gmail.com

Изучены особенности роста трансгенных растений ряски *Lemna minor* с последовательностью генов *esxA::fbpB^{ΔTMD}* в присутствии хрома (VI) в культуре *in vitro*. Трансгенные растения отличались большей чувствительностью к хрому (VI) по сравнению с растения-

ми дикого типа. Высокие концентрации хрома (VI) – 4 и 8 мМ – были токсичными: гибель листочков составляла 39,3% и 68,7% через 21 сутки. Трансгенные растения, так же как и нетрансформированные, восстанавливали хром (VI) до хрома (III) в среде, что определялось как по уменьшению содержания хрома (VI), так и по появлению серо-голубого осадка. Трансгенные растения полностью восстанавливали хром (VI) при исходной концентрации 1 мМ за трое суток, нетрансформированные – за 6 суток. Однако при более высоких концентрациях хрома (VI) способность к восстановлению хрома у растений дикого типа была выше.

Ключевые слова: *Lemna minor* L., трансгенные и нетрансформированные растения, Cr(VI), *in vitro*.

INFLUENCE OF CHROMIUM (VI) ON THE TRANSGENIC DUCKWEED PLANTS *IN VITRO* GROWTH

N.A. Matvieieva, V.P. Duplij

Institute of Cell Biology and Genetic Engineering
NAS of Ukraine
03680, Ukraine, Kyiv, Zabolotnogo str. 148
e-mail: joyna56@gmail.com

Details of *Lemna minor* transgenic plant growth in culture *in vitro* exhibiting *esxA::fbpB^{ΔTMD}* gene sequence in presence of chromium(VI) as CrO₄²⁻ have been studied. Transgenic plants were shown to be more sensitive to Cr(VI) than those of wild type duckweed. Higher concentrations of Cr(VI), 4 and 8 mM, were toxic and lead to frond death (39.3% and 68.7%, respectively) after 21 days of cultivation. Both transgenic and nontransgenic plants decreased the Cr(VI) concentration in the nutrient medium by reducing soluble Cr(VI) to insoluble Cr(III) as a blue-grey sediment. Transgenic plants reduced 1 mM Cr(VI) completely for 3 days while nontransgenic ones – for 6 days. However, with Cr(VI) concentrations 2, 4 and 8 mM wild type duckweed plants displayed greater reducing ability than transgenic plants.

Key words: *Lemna minor* L., transgenic and nontransgenic plants, Cr(VI), *in vitro*.