

<https://doi.org/10.15407/frg2020.05.412>

УДК 504:581.1:543.9:662.6

ВПЛИВ ЗАСОЛЕННЯ НА СКЛАД БІЛКІВ І ВМІСТ ПРОЛІНУ В ОРГАНАХ РОСЛИН *SALIX VIMINALIS* L.

А.Б. ФЕЦЮХ, Л.В. БУНЬО, О.І. ПАЦУЛА, О.І. ТЕРЕК

Львівський національний університет імені Івана Франка

79005 Львів, вул. Грушевського, 4

e-mail: anastasiia.fetsiukh@lnu.edu.ua

Досліджено вплив сольового стресу на акумуляцію білків і проліну в органах рослин *Salix viminalis* L. Рослини вирощували у горщиках на субстраті із Стебницького хвостосховища (протягом 30 діб). Контролем слугував субстрат із ділянок хвостосховища з відновленим біогеоценозом, а субстрат із ділянок поширення піонерних глікогалофітів був дослідним. За росту рослин на засоленому субстраті у стеблах і коренях рослин *S. viminalis* накопичувались білки, що може свідчити про пристосування рослин до стресу. В електрофореграмах усіх проаналізованих органів рослин *S. viminalis* (листках, стеблах, коренях) виявлено лише низькомолекулярні поліпептиди, зокрема білки з M_r 30, 23, 22, 20, 17, 15, 12, 10 та 8 кД. Їх вміст істотно варіював залежно від органа рослини. Спектри низькомолекулярних білків в органах рослин *S. viminalis* за нормальних і стресових умов якісно й кількісно відрізнялися, зокрема в органах дослідних рослин *S. viminalis* зміни білків були виразнішими. У коренях рослин *S. viminalis* виявлено низькомолекулярні білки з M_r 19—21 кД як у контрольному, так і в дослідному варіантах, але за дії засолення їх кількість була більшою. В стеблах рослин вміст білків із молекулярною масою 22 кД був вищим порівняно з контролем. В умовах стресу у стеблах рослин *S. viminalis* утворювались білки з M_r 17 кД. У листках дослідних рослин синтезувалось менше білків із молекулярною масою 20—23 кД порівняно з контролем і більше білків із M_r 10 кД. Встановлено накопичення проліну за дії засолення у стеблах і коренях рослин *S. viminalis* порівняно з контролем, що можна пояснити водним стресом, спричинюваним засоленням. Отже, за дії сольового стресу в органах рослин *S. viminalis* накопичувались низькомолекулярні стресові білки і пролін, що може бути пов'язано з певними особливостями пристосування рослин *S. viminalis* до умов засолення.

Ключові слова: *Salix viminalis* L., засолення, низькомолекулярні стресові білки, пролін, стійкість, адаптація рослин.

Однією з найактуальніших проблем сучасного світу, що пов'язана із природними процесами та антропогенним впливом на довкілля, є засолення ґрунтів. Спектр змін у рослин, які зазнають його впливу, спричинений сумісною дією іонного, осмотичного та оксидативного стресів [1]. Важливим елементом адаптації рослин до стресових

Цитування: Фецюх А.Б., Буньо Л.В., Пацула О.І., Терек О.І. Вплив засолення на склад білків і вміст проліну в органах рослин *Salix viminalis* L.. *Фізіологія рослин і генетика*. 2020. 52, № 5. С. 412—421. <https://doi.org/10.15407/frg2020.05.412>

впливів є система контролю якості клітинних білків [2], оскільки адаптаційні захисні реакції рослин локалізовані всередині клітин і безпосередньо стосуються функціонування білоксинтезуючої системи [3].

Внаслідок діяльності Стебницького калійного заводу ДГХП «Полімінерал» на північно-східній околиці м. Стебника накопичилось 22 млн т відходів, які зберігаються у хвостосховищі заводу [4]. Хімічний аналіз проб субстрату хвостосховища вказує на сульфатний тип засолення. Серед катіонів водних витяжок домінували іони Ca^{2+} і Mg^{2+} [5].

Території хвостосховища можуть бути перспективними для вирощування енергетичних рослин. Для подальшого використання рослин як біопалива ставляться певні вимоги, серед яких важливими показниками є: врожайність сирої біомаси, вихід сухої речовини та зольність палива [6]. Цим параметрам відповідає верба — культура, що характеризується швидким ростом і широким спектром адаптацій до умов довкілля [7, 8]. Рослини *S. viminalis* здатні рости на засоленому субстраті хвостосховища м. Стебника. Визначено, що в разі росту цих рослин зменшувались показник поліелементного забруднення, вміст водорозчинних солей і деяких важких металів у субстраті хвостосховища [9, 10]. Вміст золи у пагонах рослин *S. viminalis* із дослідних ділянок був нижчим, ніж у контрольному варіанті, що відповідало нормам міжнародного стандарту. Зола пагонів містила більше водорозчинних форм, тому після спалювання її можна використовувати для удобрення ґрунтів [6].

Метою роботи було дослідження впливу засолення на акумуляцію білків і проліну в органах рослин *S. viminalis*, вирощених на субстраті із хвостосховища м. Стебника.

Методика

Субстрат із території Стебницького хвостосховища (49°19'3" N, 23°34'27" E) відбирали за ГОСТ 17.4.4.02—84. Субстрат із ділянок з відновленим біогеоценозом (засолення до 1 %) використовували як контроль, а субстрат із ділянок, на яких поширені піонерні глікогалофіти (засолення до 3 %) — як дослід. Субстрат висушували до повітряно-сухого стану, розтирали, вилучали рослинні рештки і просіювали крізь сита. У посудини місткістю 3 л вносили по 2,5 кг субстрату. Вкорінені живці рослин *Salix viminalis* L. з довжиною коренів $2 \pm 0,5$ см висаджували у субстрат. Рослини усіх варіантів поливали дистильованою водою в однакових об'ємах. Повторність дослідів п'ятиразова. На 30-ту добу росту рослин у них визначали вміст загального білка за методом Лоурі [11] за допомогою реактиву Фоліна—Чокальтеу та оптичну густину отриманої суміші за довжини хвилі 750 нм. Вміст білка в пробі визначали за калібрувальним графіком, вміст низькомолекулярних білків — за методикою Павлинової [12] із додаванням буфера Лемлі, який містив меркаптоетанол, вміст проліну — за методикою Бейтз та співавт. [13] із використанням нінгідринного реактиву. Інтенсивність забарвлення вимірювали на спектрофотометрі СФ-2000 за довжини хвилі 510 нм.

Результати оброблено статистично за допомогою пакета програм Microsoft Excel.

Результати та обговорення

Утримання білків у їх функціональних конформаціях і запобігання агрегації ненативних білків особливо важливі для виживання клітин в умовах стресу. Білки теплового шоку (БТШ), які утворюються у відповідь на зміну таких чинників, як засолення та інші, відповідають за складання білків, збирання, транслокацію та деградацію в багатьох клітинних процесах, стабілізують білки й мембрани [3]. Одночасно з активацією стресових білків сповільнюється синтез білків, що утворюються в нормальних умовах [14].

Ми виявили накопичення білків у стеблах і коренях рослин *S. viminalis* за дії стресу. Вміст загального білка у стеблах і коренях дослідних рослин був більшим відповідно на 27,5 та 39,8 % відносно контролю. У листках вміст білків був меншим на 32 % порівняно з контролем (рис. 1). Ці результати можуть свідчити про пристосування рослин до стресу. В листках дослідних рослин було помічено вплив засолення, що виявлявся у зменшенні вмісту білка.

Дія стресу супроводжувалась синтезом високо- (M_r 60–100 кД) і низькомолекулярних (M_r 15–40 кД) стресових білків, а також убіквітину (M_r 8,5 кД) [3]. Згідно з результатами електрофоретичних досліджень, спектри білків в органах рослин *S. viminalis* за нормальних і стресових умов мали якісні та кількісні відмінності, зокрема за складом компонентів, інтенсивністю окремих треків. У всіх органах рослин *S. viminalis* виявлено низькомолекулярні білки теплового шоку (нмБТШ) (рис. 2).

Накопичення низькомолекулярних гідрофільних білків підтримує високу водоутримувальну здатність цитоплазми в умовах посухи [14]. Функцію гідролізації денатурованих білків виконують убіквітини — низькомолекулярні (8 кД) висококонсервативні білки. Різнома-

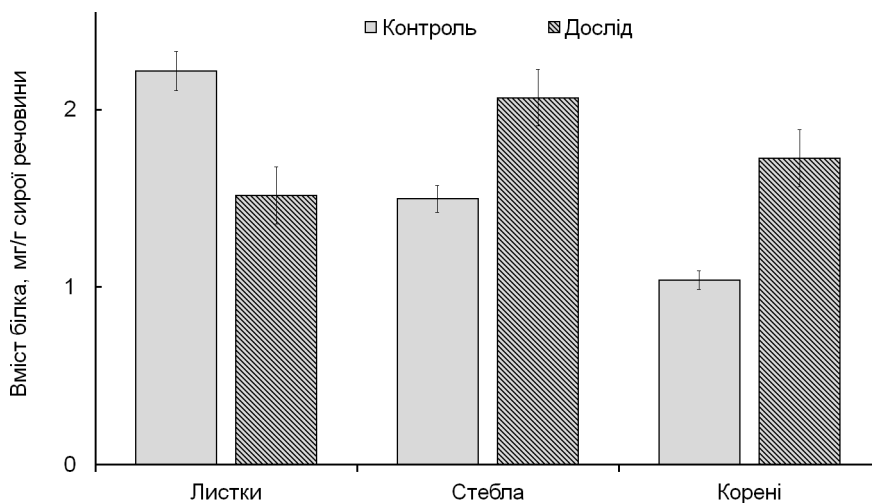


Рис. 1. Вміст білка в органах рослин *S. viminalis* за дії соляного забруднення на 30-ту добу росту

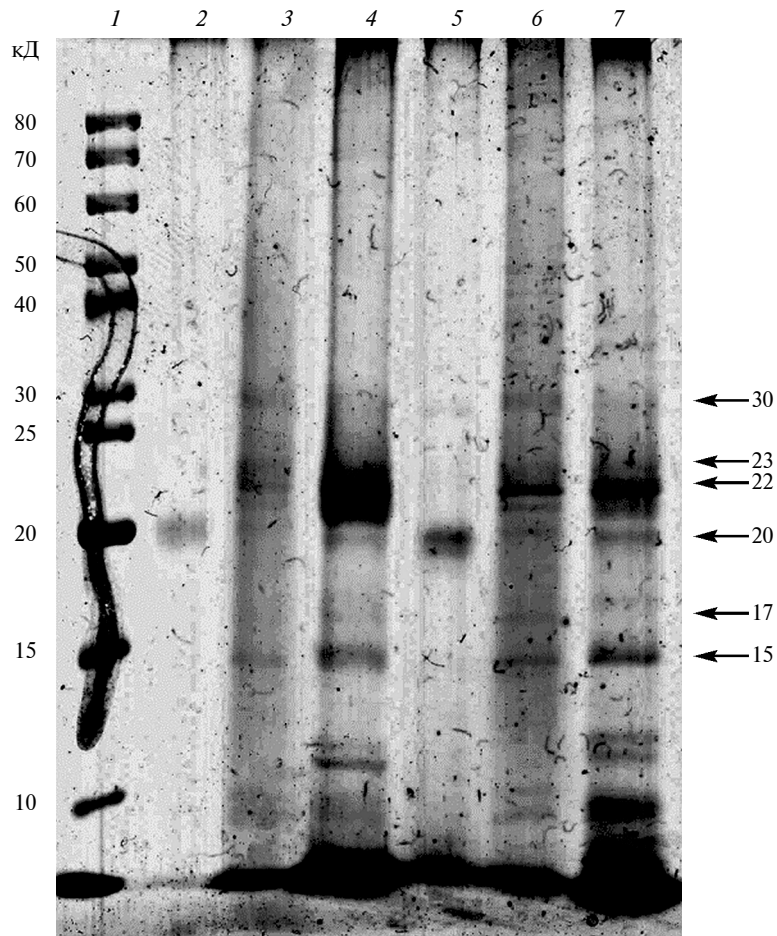


Рис. 2. Спектри білків 30-добових рослин *S. viminalis* після дії сольового стресу:

1 – маркер; 2 – контроль (корені); 3 – контроль (стебла); 4 – контроль (листки); 5 – дослід (корені); 6 – дослід (стебла); 7 – дослід (листки)

нітність рослинних нМБТШ відображає унікальність відповіді рослин на стрес та їх адаптацію і, напевно, є наслідком нерухомого способу життя рослин [15]. Виявлення нМБТШ в електрофореграмах усіх проаналізованих органів рослин *S. viminalis* як у контролі, так і за умов стресу, підтверджує їх значення не лише у запобіганні пошкодженню за стресових умов, а й підкреслює їх участь у рості та розвитку рослин. У профілі білків, що синтезуються за нормальних і стресових умов, є ідентичні білки, але в дослідних органах рослин *S. viminalis* зміни були виразнішими (див. рис. 2). Ми виявили низькомолекулярні поліпептиди з M_r 30, 23, 22, 20, 17, 15, 12, 10 та 8 кД, вміст яких істотно варіював залежно від органа рослин.

За умов росту на засоленому субстраті в листках рослин синтезувалися білки з такою ж молекулярною масою, як і в контрольному варіанті. Проте у дослідних рослин синтезувалося менше білків із M_r 20–23 кД порівняно з контрольними. Зменшення кількості цих білків у листках *S. viminalis* могло бути наслідком як інгібування їх синтезу, так і деградації, оскільки абіотичні стреси призводять до

деградації білків хлоропластів та утворення амінокислот [16]. Однак у листках дослідних рослин *S. viminalis* виявлено підвищений вміст білків із M_r 10 кД. Показано [17], що між трьома поліпептидами з молекулярними масами 10, 22 і 24 кД існує тісна структурна асоціація. Помічено зростання інтенсивності забарвлення смуги білка в листках дослідних рослин з M_r 8 кД, що відповідає молекулярній масі убіквітину. Аналіз фракційного складу білків у стеблах рослин *S. viminalis* під впливом сольового забруднення показав зростання кількості білків із M_r 22 кД порівняно з рослинами контрольного варіанта. У стеблах дослідних рослин виявлено ранні індукційні білки з M_r 17 кД, які виконують специфічну функцію при складанні ФС II. У коренях рослин *S. viminalis* виявлено білки із M_r 19–21 кД як у контрольному, так і в дослідному варіантах, проте у дослідних рослин їх кількість була більшою.

Під впливом важких металів часто відбувається гідроліз білків, що супроводжується зниженням їх вмісту і є характерною реакцією для малостійких видів [18]. НмБТШ можуть сприяти підтриманню рівня транспорту електронів за індукованого важкими металами стресу [19]. У багатьох рослин синтез БТШ індукують іони Cd^{2+} . За наявності Cd^{2+} посилювалась експресія гена *Hvhsr 17*, який відповідає за синтез БТШ у кукурудзи та ячменю [20]. У клітинній культурі *Lycopersicon peruvianum* (L.) Mill. під дією солі кадмію значні кількості БТШ 70 були зв'язані з мембранами органел [21]. Згідно з результатами наших попередніх досліджень [10], вміст деяких важких металів, зокрема Cd^{2+} , у рослинах *S. viminalis*, вирощених на субстраті хвостосховища, перевищував ГДК, що свідчить про високий рівень акумуляції іонів металів рослинами. Причини відсутності БТШ 70 в органах рослин *S. viminalis* за нормальних і стресових умов поки не з'ясовані й потребують подальшого дослідження. Слід підкреслити, що досліджуваний вид верби нестійкий до цього стресу. Можливо це пов'язано з відсутністю чи дуже низьким рівнем (за межами чутливості методу) синтезу БТШ 70. Хоча індукція синтезу цього стресового білка є одним з універсальних, значно поширених компонентів стрес-реакції до несприятливих умов, в окремих видів такий процес редукований або не визначається. Описаний феномен відомий для деяких спеціалізованих та ендемічних видів, вузько адаптованих до певних умов існування [22].

Для існування за умов осмотичних стресів у рослин сформувалась низка компенсаторних механізмів, серед яких провідну роль відіграє пролін [23]. Внаслідок інактивації гідроксильних радикалів ця амінокислота бере участь у захисті рослинних організмів на фізіологічному рівні, захищає від пошкодження білки та мембрани [24]. У процесі адаптації рослин як до короткочасної, так і до тривалої дії несприятливих умов середовища вміст проліну багаторазово зростає, зокрема в умовах засолення [25]. Накопичення вільного проліну є показником інтенсивності стресу і чинником, який визначає можливість відновлення організму [26].

Встановлено (рис. 3), що за дії засолення вміст проліну у стеблах верби був більшим, ніж у листках і коренях дослідних рослин. Порівняно з рослинами контрольного варіанта вміст проліну в стеблах і

ВПЛИВ ЗАСОЛЕННЯ НА СКЛАД БІЛКІВ І ВМІСТ ПРОЛІНУ

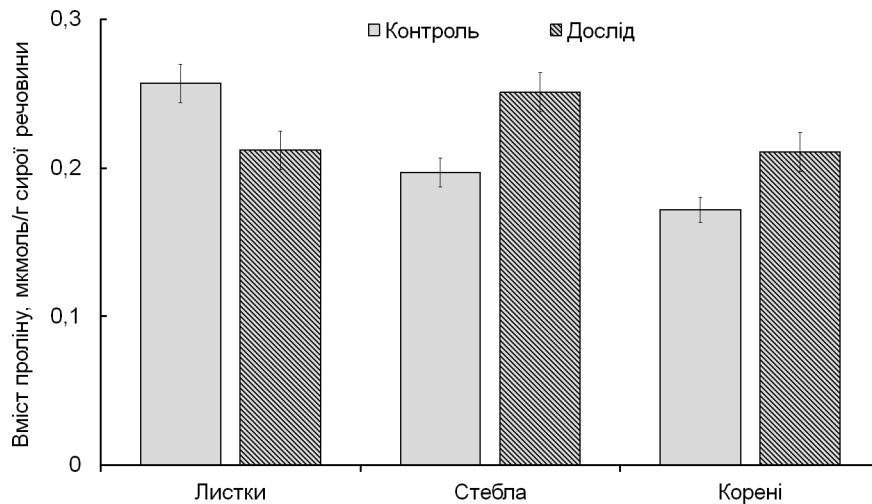


Рис. 3. Вміст проліну в органах рослин *S. viminalis* за дії сольового стресу на 30-ту добу росту

коренях був вищим на 22 та 18 % відповідно, а в листках — нижчим на 18 %. Це можна пояснити водним стресом, спричиненим засоленням, унаслідок чого посилюється накопичення проліну. Рівень проліну за однакових стресових умов може відрізнятися в різних видів, а також у сортів одного виду. Вміст проліну в листках *S. viminalis* виявився чудовим показником солестійкості серед різних генотипів [27]. Автори праць [28, 29] повідомили, що пролін у листках рослин накопичувався в основному через те, що вони росли на засоленому ґрунті.

Отримані нами дані підтвердили, що умови сольового стресу індукують зміни білкового синтезу в рослин *S. viminalis*. У всіх органах рослин було виявлено низькомолекулярні стресові білки. За нормальних і стресових умов білки були ідентичними, але в дослідних органах рослин *S. viminalis* зміни білків були виразнішими. У стеблах і коренях дослідних рослин *S. viminalis* накопичувався пролін на відміну від рослин контрольного варіанта. Отримані результати свідчать про пристосування рослин *S. viminalis* до дії сольового стресу.

ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Сергеева Л., Броннікова Л. Пролін-опосередковані реакції тютюну на дію засолення. *Науковий вісник Східноєвропейського нац. ун-ту імені Лесі Українки. Біологічні науки.* 2016. № 12. С. 15—19.
2. Скляр В.Г., Злобін Ю.А. (ред.). Екологічна фізіологія рослин. Суми: Університетська книга, 2015. 271 с.
3. Косаківська І.В., Голов'янок І.В. Адаптація рослин: біосинтез та функції стресових білків. *Український фітоценологічний збірник.* 2006. № 24. С. 3—17.
4. Снітинський В., Зеліско О., Хірівський П., Бучко А., Корінець Ю. Екологічна оцінка гідрогеологічних параметрів території Стебницького родовища калійних солей Дрогобицького району Львівської області. *Вісник Львівського нац. аграрн. ун-ту. Сер. Агрономія.* 2015. № 19. С. 3—7.
5. Кияк Н., Буньо Л. Механізми пристосування бріофітів до сольового стресу на території хвостосховища Стебницького гірничо-хімічного підприємства «Полімінерал». *Вісник Львівського нац. ун-ту ім. Івана Франка. Сер. біологічна.* 2017. № 76. С. 87—96.

6. Буньо Л.В., Фецюх Н., Пацула О.І., Терек О.І. Якість рослинної сировини, одержаної з *Salix viminalis* L., вирощеної на засоленому субстраті хвостосховища м. Стебника. *Біологічні студії*. 2017. **11**, № 3—4. С. 96—97.
7. Худолеєва Л.В., Куцоконь Н.К. Порівняння солестійкості представників родів *Populus* і *Salix* в умовах in vitro. *Science Rise: Biological Science*. 2018. **2**, N 11. С. 35—38. <https://doi.org/10.15587/2519-8025.2018.129702>
8. Stolarski M.J., Niksa D., Krzyzaniak M., Tworkowski J., Szczukowski S. Willow productivity from small-and large-scale experimental plantations in Poland from 2000 to 2017. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2019. N 101. P. 461—475. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.11.034>
9. Библів Х.Р., Буньо Л.В., Пацула О.І. Вплив рослин *Salix viminalis* L. на вміст водорозчинних солей у субстраті хвостосховища м. Стебника. *Літні наукові читання: Праці IV міжнар. наук.-практ. конф.* (Київ, 30 липня 2016). Київ, 2016. С. 25—29.
10. Фецюх А., Буньо Л., Пацула О., Терек О. Накопичення важких металів рослинами *S. viminalis* за росту на субстраті з стебницького хвостосховища. *Вісник Львівського нац. ун-ту ім. Івана Франка. Сер. біологічна*. 2019. Вип. 81. С. 96—110. <https://doi.org/10.30970/vbi.2019.81.11>
11. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of biological chemistry*. 1951. **193**, N 1. P. 265—275.
12. Павлинова О.А. (ред.). Биохимические методы в физиологии растений. Москва: Наука, 1971. 226 с.
13. Bates L.S., Waldren R.P., Theare I.D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant soil*. 1973. **39**. P. 205 —207.
14. Дубова О.В. Генетичні основи стійкості. Запоріжжя: Вид-во Запорізького нац. ун-ту, 2016. 66 с.
15. Jianbo Li, Zhang J., Huixia J., Zhiqiang Y., Mengzhu Lu, Xuebing X., Jianjun H. Genome-Wide Characterization of the sHsp Gene Family in *Salix suchowensis* Reveals Its Functions under Different Abiotic Stresses. *Int. J. Mol. Sci*. 2018. **19** (10). P. 3246. <https://doi.org/10.3390/ijms19103246>
16. Stoychev V., Simova-Stoilova L., Vaseva I., Kostadinova A., Nenkova R., Feller U., Demirevska K. Protein changes and proteolytic degradation in red and white clover plants subjected to waterlogging. *Acta Physiologiae Plantarum*. 2013. **35** (6). P. 1925—1932. <https://doi.org/10.1007/s11738-013-1231-z>
17. Ljungberg U., Ekerlund H.E., Andersson B. Isolation and characterization of the 10 kDa and 22 kDa polypeptides of higher plant photosystem 2. *European journal of biochemistry*. 1986. N 158 (3). P. 477—482.
18. Поворотня М.М. Еколого-фізіологічний аналіз стійкості видів роду *Асер* у техногенних умовах теплових електростанцій Дніпропетровщини: дис. ... канд. біол. наук / Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара. Дніпропетровськ, 2016.
19. Топчий Н.М. Вплив важких металів на фотосинтез. *Физиология и биохимия культ. растений*. 2010. **42**, № 2. С. 95—106.
20. Sanita L., di Toppi L., Gabbriellini R. Response to cadmium in higher plants. *Environ. Exp. Bot*. 1999. N 41. P. 105—130.
21. Neumann D., Lichtenderger O., Gunther D., Tschiersch K., Nover L. Heatshock proteins induce heavy-metal tolerance in higher plants. *Planta*. 1994. **194** (3). P. 360—367.
22. Hofmann G.E., Buckley B.A., Airaksinen S., Keen J., Somero G.N. Heat-shock protein expression is absent in the Antarctic fish *Trematomus bernacchii* (Family Nototheniidae). *J. Exp. Biol*. 2000. N 203. P. 2331—2339.
23. Сергеева Л.С., Михальська С.І., Курчій В.М., Тищенко О.М. Вміст вільного проліну в проростках кукурудзи як показник швидких реакцій на дію летальних осмотичних стресів in vitro. *Физиология растений и генетика*. 2015. **47**, № 6. С. 491—496.
24. Невмержицкая Ю.Ю., Тимофеева О.А. Практикум по физиологии и биохимии растений (белки и ферменты). Казань: Изд-во Казан. ун-та. 2012. 36 с.
25. Овчаренко О.О., Рудас В.А., Щербак Н.Л., Кучук М.В. Отримання трансгенних рослин картоплі (*Solanum tuberosum* L.), що містять антизмістовну послідовність гена проліндегідрогенази. *Фактори експериментальної еволюції організмів*. 2018. **22**. С. 299—304.

26. Hernandez-Nistal J., Dopico B., Labrador E. Cold and salt stress regulates the expression and activity of a chickpea cytosolic Cu/Zn superoxide dismutase. *Plant Sci.* 2002. **163**. P. 507–514.
27. Stolarska A., Wrobel J., Przybulewska K. Free proline content in leaves of *Salix viminalis* as an indicator of their resistance to substrate salinity. *Ecol. Chem. Eng.* 2008. **15**, N 1–2. P. 139–146.
28. Stolarska A., Klimek D. Free proline synthesis in leaves of three clones of basket willow (*Salix viminalis*) as a response to substrate salinity. *Environ Prot Eng.* 2008. **34**, N 4. P. 97–101.
29. Babeanu C., Dodocioiu A. M. Antioxidant enzymes activities and proline content in leaves of *Salix* species grown on fly ash dumps. *Annals of the University of Craiova-Agriculture, Montanology, Cadastre Series.* 2018. **47**, N 2. P. 20–24.

Отримано 16.07.2020

REFERENCES

1. Sergeeva, L. & Bronnikova, L. (2016). The Proline-mediated Reactions of Tobacco Plants, Cultivated Under Salinity. *Lesya Ukrainka Eastern European National University Scientific Bulletin. Series: Biological Sciences*, No. 12, pp. 15-19 [in Ukrainian].
2. Skliar, V.H. & Zlobin, Yu.A. (Eds.) (2015). *Ecological physiology of plants*. Sumy: Universytetska knyha [in Ukrainian].
3. Kosakivska, I.V. & Golovyanko, I.V. (2006). Adaptation of plants: biosynthesis and functions of stress proteins. *Ukrainian Phytosociological Collection*, No. 24, pp. 3-17 [in Ukrainian].
4. Snitynskyy, V., Zelisko, O., Chirivsky, P., Buchko, A. & Korinec, Yu. (2015). Environmental assessment of hydrogeological parameters territory of Stebnyk deposits of potassium salts of Drohobych district Lviv region. *Visnyk Lviv. Nat. Agrar. Un-ta*, No. 19, pp. 3-7 [in Ukrainian].
5. Kyyak, N. & Bunio, L. (2017). Mechanisms of adaptation of bryophytes to salt stress on the territory of tailing of Stebnyk mining and chemical enterprise «Poliminerals». *Visnyk of the Lviv University. Ser. Biology*, No. 76, pp. 87-96 [in Ukrainian].
6. Bunio, L., Fetsiukh, A., Patsula, O. & Terek, O. (2017). Quality of plant materials derived from *Salix viminalis* L. grown on the saline substrate of Stebnyk city. *Studia Biologica*, Iss. 11, No. 3-4, pp. 96-97 [in Ukrainian].
7. Khudolieieva, L.V. & Kutsokon, N.K. (2018). Comparison of salt resistance of *Populus* and *Salix* in vitro. *ScienceRise: Biological Science*, 2, No. 11, pp. 35-38 [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.15587/2519-8025.2018.129702>
8. Stolarski, M.J., Niksa, D., Krzyzaniak, M., Tworkowski, J. & Szczukowski, S. (2019). Willow productivity from small-and large-scale experimental plantations in Poland from 2000 to 2017. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, No. 101, pp. 461-475. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.11.034>
9. Bybliv, C.R., Bunio, L.V. & Patsula, O.I. (2016). The impact of *Salix viminalis* L. plants on the water-soluble salts content in the substrate of Stebnyk tailing. *Proceeding of the 4th International Scientific and Practical Conference Summer scientific readings* (pp. 25-29), Kyiv [in Ukrainian].
10. Fetsiukh, A., Bunio, L., Patsula, O. & Terek, O. (2019). Accumulation of heavy metals by *Salix viminalis* plants under growing at the substrate from Stebnyk tailings. *Visnyk of the Lviv University. Ser. Biology*, Iss. 81, pp. 96-110 [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.30970/vbi.2019.81.11>
11. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. & Randall, R.J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of biological chemistry*, No. 193 (1), pp. 265-275.
12. Pavlynova, O.A. (Ed.). (1971). *Biohimichiskie metody v fiziologii rastenii*. Moscow: Nauka [in Russian].
13. Bates, L.S., Waldren, R.P. & Theare, I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant soil*, 39, pp. 205-207.
14. Dubova, O.V. (2016). *Henetychni osnovy stiikosti*. Zaporizhzhia: ZNU [in Ukrainian].

15. Jianbo, Li., Zhang, J., Huixia, J., Zhiqiang, Y., Mengzhu, Lu., Xuebing, X. & Jianjun, H. (2018). Genome-Wide Characterization of the sHsp Gene Family in *Salix suchowensis* Reveals Its Functions under Different Abiotic Stresses. *Int. J. Mol. Sci.*, 19 (10), p. 3246. <https://doi.org/10.3390/ijms19103246>
16. Stoychev, V., Simova-Stoilova, L., Vaseva, I., Kostadinova, A., Nenkova, R., Feller, U. & Demirevska, K. (2013). Protein changes and proteolytic degradation in red and white clover plants subjected to waterlogging. *Acta Physiologiae Plantarum*, 35 (6), pp. 1925-1932. <https://doi.org/10.1007/s11738-013-1231-z>
17. Ljungberg, U., Ekerlund, H.E. & Andersson, B. (1986). Isolation and characterization of the 10 kDa and 22 kDa polypeptides of higher plant photosystem 2. *European journal of biochemistry*, No. 158 (3), pp. 477-482.
18. Povortnia, M.M. (2016). Ekolofo-fiziolochnii analiz stiikosti vydiv rodu *Acer* u technohennyh umovah teplovyh elektrostancii Dnipropetrovshchyny: (Doctoral thesis). O. Honchar Dnipropetrovsk National University, Dnipropetrovsk, Ukraine [in Ukrainian].
19. Topchii, N.M. (2010). Effect of heavy metals on photosynthesis. *Fiziologia i biokhimiia kulturnykh rastenyi*, 42, No. 2, pp. 95-106 [in Ukrainian].
20. Sanita, L. di Toppi, L. & Gabbrielli, R. (1999). Response to cadmium in higher plants. *Environ. Exp. Bot.*, No. 41, pp. 105-130.
21. Neumann, D., Lichtenderger, O., Gunther, D., Tschiersch, K. & Nover, L. (1994). Heatshock proteins induce heavy-metal tolerance in higher plants. *Planta*, No. 194 (3), pp. 360-367.
22. Hofmann, G.E., Buckley, B.A., Airaksinen, S., Keen, J. & Somero, G.N. (2000). Heatshock protein expression is absent in the Antarctic fish *Trematomus bernacchii* (Family Nototheniidae). *J. Exp. Biol.*, No. 203, pp. 2331-2339.
23. Sergeeva, L.E., Mykhalska, S.I., Kurchii, V.M. & Tischenko, E.N. (2015). The free proline content in corn seedlings as the in 7 dicator of rapid reactions during lethal osmotic stresses in vitro. *Fiziol. rast. genet.*, 47, No. 6, pp. 491-496 [in Ukrainian].
24. Nevmerzhitskaya, Yu.Yu. & Timofeyeva, O.A. (2012). Praktikum po fiziologii i biokhimii rastenyi (belki i fermenty). Kazan': Kazanskiy universitet [in Russian].
25. Ovcharenko, O.O., Rudas, V.A., Shcherbak, N.L. & Kuchuk, M.V. (2018). Obtaining of transgenic potato plants (*Solanum tuberosum* L.) that contain antisense sequence of proline dehydrogenase gene. *Fakt. eksp. evol. org.*, 22, pp. 299-304 [in Ukrainian].
26. Hernandez-Nistal, J., Dopico, B. & Labrador, E. (2002). Cold and salt stress regulates the expression and activity of a chickpea cytosolic Cu/Zn superoxide dismutase. *Plant Sci.*, 163, pp. 507-514.
27. Stolarska, A., Wrobel, J. & Przybulewska, K. (2008). Free proline content in leaves of *Salix viminalis* as an indicator of their resistance to substrate salinity. *Ecol. Chem. Eng.*, No. 15, pp. 139-146.
28. Stolarska, A. & Klimek, D. (2008). Free proline synthesis in leaves of three clones of basket willow (*Salix viminalis*) as a response to substrate salinity. *Environment Protection Engineering*, 34, No. 4, pp. 97-101.
29. Babeanu, C. & Dodocioiu, A.M. (2018). Antioxidant enzymes activities and proline content in leaves of *Salix* species grown on fly ash dumps. *Annals of the University of Craiova-Agriculture, Montanology, Cadastre Series*, 47, No. 2, pp. 20-24.

Received 16.07.2020

THE EFFECT OF SALINIZATION ON PROTEIN COMPOSITION AND PROLINE CONTENT IN ORGANS OF *SALIX VIMINALIS* L. PLANTS

A.B. Fetsiukh, L.V. Bunio, O.I. Patsula, O.I. Terek

Ivan Franko Lviv National University
4 Hrushevskiy St., Lviv, 79005, Ukraine
e-mail: anastasiia.fetsiukh@lnu.edu.ua

The salinization effect on protein accumulation and proline content in organs of *Salix viminalis* L. plants was investigated. The plants had been growing in pots with Stebnyk's tailing

soil (during 30 days). The soil of tailing with renewed biocenosis was used like control, for experiment we used soil with spreading of *hlikohalophytes*. Under saline stress the accumulation of proteins in stems and roots of *S. viminalis* plants was noticed. This may indicate a plant adaptation to stress. Only low molecular weight polypeptides, in particular proteins with M_r 30, 23, 22, 20, 17, 15, 12, 10 and 8 kD, were found in the electropherograms of all analyzed organs of *S. viminalis* plants (leaves, stems, roots). Their content significantly varied depending on the organ of the plant. The spectrums of low molecular weight proteins in organs of *S. viminalis* plants had qualitative and quantitative differences under normal and stress conditions, especially changes of proteins in experimental organs were more expressive. Low molecular weight proteins with M_r 19–21 kD were found in the roots of *S. viminalis* plants, both in the control and in the experimental variants, but their quantity was higher under salinity stress. An increased content of 22 kD proteins were detected in the stems of the plant, compared to the control. Also, 17 kD M_r proteins were found in the stems during stress, unlike under normal conditions. Less proteins with a molecular weight of 20–23 kD were synthesized in the plants compared to the control. However, we have found an increased content of M_r 10 kD protein in experimental leaves. The accumulation of proline due to salinity in the shoots and roots of *S. viminalis* plants was established, compared with the control. This can be explained by the water stress that occurs during salinization. Thus, due to the effect of salt stress in the organs of *S. viminalis* plants, the accumulation of low molecular weight stress proteins and proline was observed, which may indicate certain peculiarities of plant adaptation to salinity conditions.

Key words: *Salix viminalis* L., salinization, low molecular weight stress proteins, proline, plant resistance, adaptation.