

УДК 582.37/39:581.1+577

DOI: <https://doi.org/10.17721/1728.2748.2024.98.42-46>

Олена ВАШЕКА, канд. біол. наук

ORCID ID: 0000-0002-8462-4800

e-mail: [olena\\_vasheka@knu.ua](mailto:olena_vasheka@knu.ua)

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

Катерина СЕМЕНОВА, студ.

e-mail: [katra7032@gmail.com](mailto:katra7032@gmail.com)

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

Лідія БАБЕНКО, канд. біол. наук

ORCID ID: 0000-0001-5391-9203

e-mail: [lilia.babenko@gmail.com](mailto:lilia.babenko@gmail.com)

Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України

## ПРОРОСТАННЯ СПОР ЧОЛОВІЧОЇ ПАПОРОТІ (*DRYOPTERIS FILIX-MAS*) ПІД ДІЄЮ ГЕКСАНОІЛГОМОСЕРИНАКТОНУ

**Вступ.** Рослини існують у тісній взаємодії з мікроорганізмами. Бактерії використовують особливу систему міжклітинної комунікації, яка отримала назву "quorum sensing" (QS). Ця система залежить від щільності бактеріальної популяції та координує формування відповіді на зміну умов середовища. Системам QS належить ключова роль у регуляції метаболічних і фізіологічних процесів бактеріальної клітини. Бактеріальний сигналінг сприймається еукаріотами, які утворюють симбіоз із мікробними спільнотами. Ріст і розвиток рослин, асиміляція поживних речовин, стресостійкість багато в чому визначаються характером такої взаємодії. Ключовою групою QS-взаємодії у популяції грамнегативних бактерій є ацилгомосеринактони (АГЛ), які впливають на ріст та розвиток рослин. Вплив АГЛ на квіткові рослини був ретельно проаналізований. Існують дані і щодо впливу цих речовин на гаметофіти мохів, однак інформація щодо впливу АГЛ на представників Папоротеподібних (*Polypodiopsida*) зовсім відсутня.

**Методи.** Динаміку проростання спор *Dryopteris filix-mas* визначали на рідкому середовищі Кнопа із вмістом 1 мкМ, 0.1 мкМ, 0.01 мкМ та 0.001 мкМ С<sub>6</sub>-ГГЛ. Контроль проростання здійснювали методом світлової мікроскопії (Zeiss AxioCam MRc 5, Carl Zeiss).

**Результати.** У роботі вперше проаналізовано вплив гексаноїлгомосеринактону (С<sub>6</sub>-ГГЛ), бактеріальної сигнальної молекули класу АГЛ, на проростання спор та початкові етапи розвитку гаметофітів рівносторової папороті *Dryopteris filix-mas*. Було встановлено помірний стимулюючий вплив (зростання на 6%) низьких концентрацій С<sub>6</sub>-ГГЛ (0.01 мкМ та 0.001 мкМ) та інгібуючий ефект (зниження на 5.7%) більш високих концентрацій (1 мкМ, 0.1 мкМ) на проростання спор та розвиток гаметофітів.

**Висновки.** Результати свідчать про чутливість гаметофіту *Dryopteris filix-mas* до впливу АГЛ бактеріальної природи.

**Ключові слова:** *Dryopteris filix-mas*, спори, проростання, гаметофіт, гексаноїлгомосеринактонон, quorum sensing.

### Вступ

Бактерії співіснують із рослинами впродовж мільйонів років і виробили певні механізми взаємодії. Ключовим способом взаємодії бактерій є дифузні молекули "quorum sensing" (QS), які впливають на щільність популяції в колонії або біоплівці (Schikora, Schenk, & Hartmann, 2016; Babenko, Kosakivska, & Romanenko, 2022). Одним із добре охарактеризованих підмножин молекул QS є ацилгомосеринактони (АГЛ) (Hartmann, & Schikora, 2012; Babenko et al., 2024). АГЛ продукуються грамнегативними бактеріями і відіграють ключову роль у контролі експресії множинних генів скоординованим чином у популяції (Shrestha et al., 2020). Оскільки бактерії та еукаріотичні організми спільно еволюціонували протягом мільйонів років, то у рослин-симбіонтів сформувалася система сприйняття QS-сигналінгу. Показано, що явище QS та його учасники причетні до регуляції прокариотично-еукаріотичних взаємодій, зокрема формування біоплівок, синтезу фітогормонів, трансферу плазмід, продукції факторів вирулентності, біолюмінесценції, споруючості, утворення бульб (Liu et al., 2012; Miao et al., 2012; Moshynets et al., 2019; Kosakivska et al., 2024).

Рослини реагують на бактеріальні АГЛ специфічними змінами в метаболітах та протеомі. У роботі Mathesius et al. (2003) уперше було показано, що в процесі обробки коренів *Medicago truncatula* N-3-оксододеканоїл-L-гомосеринактоном (оксо-С<sub>12</sub>-ГГЛ) і

N-3-оксо-(тетрагідро-2-оксо-3-фураніл) оксо-С<sub>16</sub>:1-гомосеринактоном змінюється експресія 150 генів. Серед них близько 23% пов'язані із захисними функціями рослин і 37% – з енергетичними та метаболічними процесами. Після обробки N-3-оксооктаноїл-L-гомосеринактоном (оксо-С<sub>8</sub>-HSL) у протеомі *Arabidopsis thaliana* були виявлені зміни в експресії 53 генів, 34 з яких були задіяні в енергетичному і вуглеводному обміні, біосинтезі протеїнів, захисних функціях та беруть участь у ремоделюванні цитоскелету. Найбільш чутливими до впливу оксо-С<sub>8</sub>-ГГЛ виявились хлоропласти (Miao et al., 2012).

Відомо, що АГЛ пом'якшує дію сольового стресу на рослини *A. thaliana*, індукує зменшення вмісту малонного діальдегіду та посилює активність антиоксидантних ензимів. При цьому посилюється акумуляція 97 протеїнів, пов'язаних із захистом, фотосинтезом, сигналінгом, біогенезом клітинної стінки (Ding et al., 2016). У рослин *A. thaliana* N-бутирил-L-гомосеринактонон (С<sub>4</sub>-ГГЛ) викликає зростання рівня цитозольного Ca<sup>2+</sup> (Song et al., 2011).

Окрім метаболічних змін обробка АГЛ суттєвим чином впливає на морфологічні характеристики. Фенотиповим маркером впливу є зміна довжини головного кореня. Під впливом коротколанцюгових С<sub>4</sub>-ГГЛ, N-гексаноїл-L-гомосеринактонону (С<sub>6</sub>-ГГЛ) та оксо-С<sub>8</sub>-ГГЛ (у концентрації 1 нМ – 10 мкМ) у *A. thaliana* подовжується головний корінь, тоді як довголанцюговий деканоїл-L-

© Вашека Олена, Семенова Катерина, Бабенко Лідія, 2024

гомосерин лактон (C<sub>10</sub>-ГГЛ) не впливає на ріст кореня (Liu et al., 2012; von Rad et al., 2008). C<sub>6</sub>-ГГЛ-індуковані зміни в експресії генів призводять до зростання вмісту ауксинів і зниження – цитокинінів. Зміна співвідношення ауксини / цитокиніни після обробки коротколанцюговими АГЛ розглядається як можливий шлях регуляції росту головного (зародкового) кореня (von Rad et al., 2008). Модифікація архітектури кореня *A. thaliana* під впливом 10<sup>-6</sup> М концентрації довголанцюгових АГЛ, особливо C<sub>10</sub>-ГГЛ, відбувається через пригнічення росту головного кореня і стимулювання росту бічних коренів та кореневих волосків, що, на думку авторів, зумовлено змінами в процесах поділу і диференціації клітин меристеми зародкового кореня (Ortiz-Castro et al., 2008). Оксо-C<sub>6</sub>-ГГЛ та оксо-C<sub>8</sub>-ГГЛ опосередковано індукують подовження кореня в *A. thaliana* через вплив на рецептори, пов'язані з G-протеїном, які реагують на гормональний сигналінг і відіграють важливу роль у процесах росту кореневої системи (Liu et al., 2012).

Переважає більшість досліджень щодо ефектів впливу АГЛ стосується квіткових рослин. Чи можуть бактеріальні сигнальні молекули безпосередньо впливати на процеси розвитку наземних спорових рослин (мохів, плаунів та папоротей) значною мірою невідомо. Було встановлено, що симбіотичні бактерії роду *Methylobacterium* мають цитокіноподібну дію на розвиток гаметофіту моху *Funaria hygrometrica*, сприяючи утворенню бруньок і стимулюючи ріст протонеми за рахунок поділу клітин (Horns Schuh, Grotha, & Kutschera, 2002; Kutschera, 2007). В експериментах з мохом *Physcomitrella patens* було продемонстровано, що АГЛ можуть впливати на динаміку проростання спор (Prigge, & Bezanilla, 2010; Vesty, Whitbread, & Needs, 2020). Відомо і про вплив AHL-бактерій, пов'язаних з водоростями, на ріст та розвиток морських макрофітів (Wheeler et al., 2006; Joint, Tait, & Wheeler, 2007; Twigg et al., 2014; Singh et al., 2015).

Як бачимо, дані про вплив сигнальних молекул бактеріальної природи на ріст та розвиток спорових рослин малочисельні. Тому **метою роботи** було встановлення впливу C<sub>6</sub>-ГГЛ на проростання спор та початкові етапи розвитку гаметофітів рівноспорової папороті (Polypodiales) – щитника чоловічого (*Dryopteris filix-mas* (L.) Schott).

**Методи**

Спори щитника чоловічого (*Dryopteris filix-mas* (L.) Schott) були зібрані на експозиційній ділянці вищих спорових рослин Ботанічного саду ім. акад. О.В. Фоміна

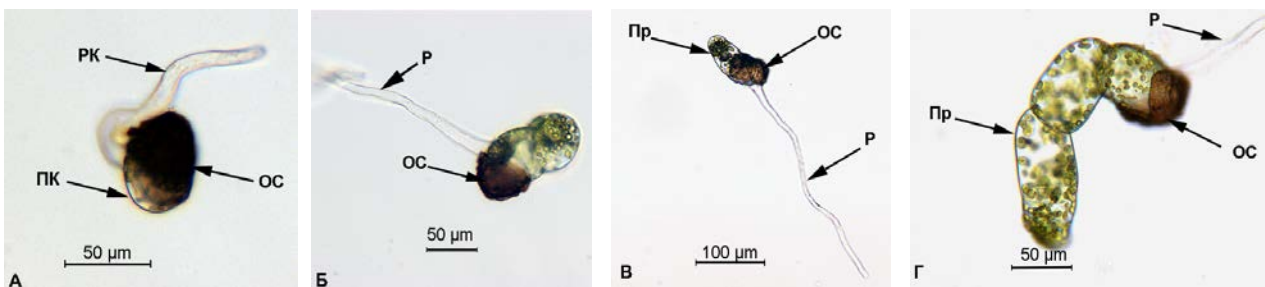
(м. Київ) у червні 2024 р. Фертильні листки поверхнево стерилізували впродовж 2 хв розчином гіпохлориту натрію (10 %), тричі промивали стерильною дистильованою водою та поміщали у стерильні паперові пакети, які зберігали в лабораторних умовах до висипання спор. Спори висівали на стерильне рідке живильне середовище Кнопа (рН 5,8–6,0) у чашки Петрі та вирощували за 20–22 °С, щільності фотонного потоку 35–40 мкМ м<sup>-2</sup>·с<sup>-1</sup>, за фотоперіоду 16 : 8 (день : ніч).

Використаний в експерименті гексанойлгомосерин-лактон (C<sub>6</sub>-ГГЛ) був синтезований в Інституті біоорганічної хімії та нафтохімії ім. В.П. Кухаря НАН України за усталеним методом (Moshynets et al., 2019). Спори вирощували за концентрацій C<sub>6</sub>-ГГЛ 1 мкМ, 0,1 мкМ, 0,01 мкМ та 0,001 мкМ. За контроль слугувало середовище Кнопа. Щоденно з поверхні рідкого середовища бактеріологічною петлею відбирали зразки спор, які аналізували методом світлової мікроскопії (Zeiss AxioCam MRc 5, Carl Zeiss) за допомогою системи аналізу зображень (Axiovision AC). Кожен із варіантів досліду був проведений у трьох повторностях. Проростання визначали як відсоток пророслих спор у семи полях зору. Пророслою вважали спору, у якій з-під оболонки спори було візуально помітно кінчик ризоїда.

Статистична обробка була проведена за допомогою програм Excel 10 та Past 4.02 відповідно до рекомендацій, прийнятих для біологічних досліджень (Dytham, 2011). Достовірність різниці між вибірками та контролем оцінювали за допомогою Student's t-test, між собою – із застосуванням ANOVA тесту (Analisis of Variances), множинні порівняння – з використанням Tukey's HSD (honestly significant difference) тесту. Відмінності між варіантами вважали достовірними за рівня значущості ≤ 5 % (P-value ≤ 0,05).

**Результати**

Проростання спор *D. filix-mas* у всіх варіантах експерименту розпочиналось на 5-й день. Першою ставала помітною ризоїдальна клітина (рис. 1, А). Це безхлорофільна прозора клітина, що дає початок ризоїду (рис. 1, Б–Г). Проталіальна клітина з'являлась з протилежного боку від ризоїдальної (рис. 1, А). Ця клітина містила хлоропласти та формувала в результаті поділу нитчасту протонему (рис. 1, Б–Г), яка є початковою стадією утворення пластинки гаметофіту. Оболонка спори у процесі проростання розривалась та залишалась прикріпленою до клітин гаметофіту, або опадала.



**Рис. 1. Проростання спор та початкові етапи утворення гаметофіту *Dryopteris filix-mas*:**  
 А – початок проростання; Б, В – фаза двоклітинної протонеми; Г – фаза чотириклітинної протонеми  
 (PK – ризоїдальна клітина; ПК- проталіальна клітина; ОС – оболонка спор, Р – ризоїд; Пр – протонема)

У контролі кількість пророслих спор збільшувалась із часом та наближалась до 30 % на 9-й день досліду (рис. 2). Переважали гаметофіти з одним ризоїдом та 2-клітинною протонемою. У варіантах досліду з низькими концентраціями C<sub>6</sub>-ГГЛ (0,01 мкМ та 0,001 мкМ)

спостерігали стимулювання проростання спор. Наприклад, на 8-й день досліду за концентрації C<sub>6</sub>-ГГЛ 0,01 мкМ відсоток пророслих спор перевищував контроль на 6 %, а гаметофіти перебувала на стадії 3–4 проталіальних клітин (рис. 1, Г).

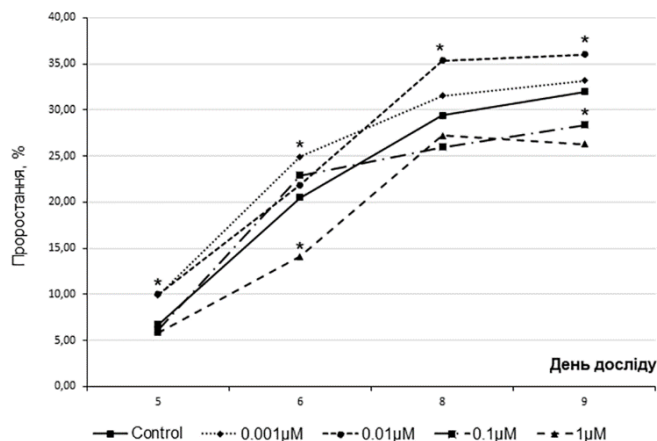


Рис. 2. Динаміка проростання спор *Dryopteris filix-mas* під дією ацилгомосериллактону (С<sub>6</sub>-ГГЛ)  
(\* вказує на достовірну різницю між варіантом дослідю та контролем  $p < 0,05$ , Student's t-test)

Вищі концентрації С<sub>6</sub>-ГГЛ, особливо 1 мкМ, мали інгібуючий вплив. На 9-й день дослідю відсоток пророслих спор був достовірно меншим на 5,7 % порівняно з контролем, а більшість гаметофітів перебували на стадії 1-2 проталіальних клітин, тобто розвиток цих гаметофітів був загальмований.

#### Дискусія і висновки

Отже, вищезначені дослідження підтверджують, що АГЛ можуть впливати на проростання спор та розвиток гаметофітів рівноспорових папоротей, стимулюючи або інгібуючи ріст та розвиток залежно від концентрації. Наші дослідження є першими, що доводять вплив АГЛ на гаметофіти папоротей, що свідчить про наявність механізмів чутливості до бактеріальних сигнальних метаболітів у цих рослин.

В експериментах з *Physcomitrella patens* було продемонстровано, що АГЛ можуть впливати на проростання спор мохів. Зокрема, низькі (менше 1 мкМ) концентрації АГЛ сприяють проростанню спор, тоді як вищі концентрації (5–10 мкМ) пригнічують проростання. У цілому було показано, що довголанцюгові АГЛ (С<sub>8</sub>-С<sub>12</sub>) мають більш виражену дію, ніж коротколанцюгові АГЛ (С<sub>4</sub>-С<sub>6</sub>). Заміна бічних груп у ланцюгу молекули впливає на рівень ефективності. Зокрема, АГЛ із замінами 3-О і 3-ОН у бічному ланцюгу демонструють невелике зниження ефективності впливу (Vesty, Whitbread, & Needs, 2020).

Показано, що інгібуючий ефект високих концентрацій АГЛ на проростання спор мохоподібних подібний до впливу на проростання зооспор зеленої водорості *Ulva*. Продемонстровано, що АГЛ у концентраціях, вищих за 5 мкМ, пригнічують ріст водоростей та проростання їх зооспор (Joint, Tait, & Wheeler, 2007). Більш високі концентрації (25–125 мкМ) довголанцюгових АГЛ інгібують швидкість руху спор *Ulva*, сприяючи їх осіданню. АГЛ, що містять 3-О у бічному ланцюгу, проявляють найбільше інгібуння росту (Joint, Tait, & Wheeler, 2007). Ефект субмікромольних концентрацій АГЛ у цих експериментах не досліджувався.

Рослини не існують ізольовано в навколишньому середовищі, а взаємодіють із широким спектром організмів з усіх царств та доменів. Ці взаємодії можуть мати глибокі наслідки для адаптації, росту та розвитку рослин. Знання механізмів такої взаємодії можуть бути корисними для людини, оскільки відкривають широкі перспективи для розробки стимуляторів росту та адаптогенів для сільськогосподарських культур.

Вплив АГЛ на проростання спор наземних рослин (мохоподібних, лікофітів і папоротей) вивчені недостатньо. Нами було встановлено помірний стимулюючий вплив (зростання на 6 %) низьких концентрацій С<sub>6</sub>-ГГЛ (0,01 мкМ та 0,001 мкМ) та інгібуючий ефект (зниження на 5,7 %) більш високих концентрацій (1 мкМ, 0,1 мкМ) на проростання спор та розвиток гаметофітів *D. filix-mas*. Наше дослідження є першим, що доводить вплив С<sub>6</sub>-ГГЛ на гаметофіти папоротей, що свідчить про наявність механізмів чутливості до бактеріальних метаболітів у цих рослин. Це лише перша спроба оцінити існування взаємодії між бактеріями та папоротями, тож дослідження мають бути продовжені.

**Внесок авторів:** Олена Вашека – дизайн дослідження, статистична обробка результатів, підготовка ілюстративного матеріалу, написання і редагування рукопису; Катерина Семенова – проведення експерименту, отримання результатів; Лілія Бабенко – формулювання концепції дослідження, узагальнення результатів наукового дослідження, написання і редагування рукопису.

#### Список використаних джерел

- Babenko, L. M., Futorna, O. A., Romanenko, K. O., Smirnov, O. E., Rogalsky, S. P., Kosakivska, I. V., Skwarek, E., & Wisniewska, M. (2024). Exogenous N-hexanoyl-L-homoserine lactone mitigates acid rain stress effects through modulation of structural and functional changes in *Triticum aestivum* leaf. *Applied Soil Ecology*, 193, 105151. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2023.105151>
- Babenko, L. M., Kosakivska, I. V., & Romanenko, K. O. (2022). Molecular mechanisms of N-acyl homoserine lactone signals perception by plants. *Cell Biology International*, 46, 523–534. <https://doi.org/10.1002/cbin.11749>
- Ding, L., Cao, J., Duan, Y., Li, J., Yang, Y., Yang, G., & Zhou, Y. (2016). Proteomic and physiological responses of *Arabidopsis thaliana* exposed to salinity stress and N-acyl-homoserine lactone. *Physiol Plantarum*, 158, 414–434. <https://doi.org/10.1111/ppl.12476>
- Dytham, C. (2011). *Choosing and Using Statistics: A Biologist's Guide*. 3rd ed. Wiley-Blackwell.
- Hartmann, A., & Schikora, A. (2012). Quorum Sensing of Bacteria and Trans-Kingdom Interactions of N-Acyl Homoserine Lactones with Eukaryotes. *J. Chem. Ecol.*, 38, 704–713. <https://doi.org/10.1007/s10886-012-0141-7>
- Homschuh, M., Grotha, R., & Kutschera, U. (2002). Epiphytic bacteria associated with the bryophyte *Funaria hygrometrica*: Effects of *Methylobacterium* strains on protonema development. *Plant Biol.*, 4, 682–687. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2023.105151>
- Joint, I., Tait, K., & Wheeler, G. (2007). Cross-kingdom signalling: Exploitation of bacterial quorum sensing molecules by the green seaweed *Ulva*. *Philos. Trans. R. Soc. B. Biol. Sci.*, 362, 1223–1233. <https://doi.org/10.1098/rstb.2007.2047>
- Kosakivska, I. V., Babenko, L. M., Vasyuk, V. A., Voytenko, L. V., & Shcherbatiuk, M. M. (2024). Natural growth regulators as inducers of resistance in cereal plants against extreme environmental factors. In T. O. Yastreba, Y. E. Kolupaev, A. I. Yemets, Y. B. Blume (Eds.), *Regulation of Adaptive Responses in Plants*. Nova Science Publishers, Inc., 33–81.

- Kutschera, U. (2007). Plant-associated methylobacteria as co-evolved phytosymbionts: A hypothesis. *Plant Signal. Behav.*, 2, 74–78. <https://doi.org/10.4161/psb.2.2.4073>
- Liu, F., Bian, Z., Jia, Z., Zhao, Q., & Song, S. (2012). The GCR1 and GPA1 participate in promotion of Arabidopsis primary root elongation induced by N-acyl homoserine lactones, the bacterial quorum-sensing signals. *Mol. Plant-Microbe Interact.*, 25(5), 677–683. <http://doi.org/10.1094/MPMI-10-11-0274>
- Mathesius, U., Mulders, S., Gao, M., Teplitski, M., Caetano-Anolles, G., Rolfe, B. G., & Bauer, W. D. (2003). Extensive and specific responses of a eukaryote to bacterial quorum-sensing signals. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 100(3), 1444–1449. <https://doi.org/10.1073/pnas.262672599>
- Miao, C., Liu, F., Zhao, Q., Jia, Z., & Song, S. (2012). A proteomic analysis of Arabidopsis thaliana seedling responses to 3-oxo-octanoyl-homoserine lactone, a bacterial quorum-sensing signal. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 427, 293–298. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2012.09.044>
- Moshynets, O. V., Babenko, L. M., Rogalsky, S. P., Iungin, O. S., Foster, J., Kosakivska, I. V., Potters, G., & Spiers A. J. (2019). Priming winter wheat seeds with the bacterial quorum sensing signal N-hexanoyl-L-homoserine lactone (C6-HSL) shows potential to improve plant growth and seed yield. *PLOS ONE*, 14(2), e0209460. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0209460>
- Ortiz-Castro, R. A., Martinez-Trujillo, M. I., Lypez-Bucio, J. O. (2008). N-acyl-L-homoserine lactones: a class of bacterial quorum-sensing signals alter post-embryonic root development in Arabidopsis thaliana. *Plant Cell Environ.*, 31(10), 1497–1509. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2008.01863.x>
- Prigge, M. J., & Bezanilla, M. (2010). Evolutionary crossroads in developmental biology: *Physcomitrella patens*. *Development*, 137, 3535–3543. <https://doi.org/10.1242/dev.049023>
- von Rad, U., Klein, I., Dobrev, P. I., Kottova, J., Zazimalova, E., Fekete, A., Hartmann, A., Schmitt-Kopplin, P., & Durner, J. (2008). Response of Arabidopsis thaliana to N-hexanoyl-DL-homoserine-lactone, a bacterial quorum sensing molecule produced in the rhizosphere. *Planta*, 229(1), 73–85. <https://doi.org/10.1007/s00425-008-0811-4>
- Schikora, A., Schenk, S.T., & Hartmann, A. (2016). Beneficial effects of bacteria-plant communication based on quorum sensing molecules of the N-acyl homoserine lactone group. *Plant Mol. Biol.*, 90, 605–612. <https://doi.org/10.1007/s11103-016-0457-8>
- Shrestha, A., Grimm, M., Ojiro, I., Krumwiede, J., & Schikora, A. (2020). Impact of Quorum Sensing Molecules on Plant Growth and Immune System. *Frontiers in microbiology*, 11, 1545. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01545>
- Singh, R. P., Baghel, R. S., Reddy, C. R. K., & Jha, B. (2015) Effect of quorum sensing signals produced by seaweed-associated bacteria on carpospore liberation from *Gracilaria dura*. *Front. Plant Sci.*, 6, 117. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00117>. eCollection 2015
- Song, S., Jia, Z., Xu, J., Zhang, Z., & Bian, Z. (2011). N-butyl-L-homoserine lactone, a bacterial quorum-sensing signaling molecule, induces intracellular calcium elevation in Arabidopsis root cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 414(2), 355–360. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2011.09.076>
- Twigg, M. S., Tait, K., Williams, P., Atkinson, S., & Cámara, M. (2014). Interference with the germination and growth of Ulva zoospores by quorum-sensing molecules from Ulva-associated epiphytic bacteria. *Environ. Microbiol.*, 16, 445–453.
- Vesty, E. F., Whitbread, A. L., & Needs, S. (2020). Cross-kingdom signalling regulates spore germination in the moss *Physcomitrella patens*. *Sci. Rep.*, 10, 2614. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59467-5>
- Wheeler, G. L., Tait, K., Taylor, A., Brownlee, C., & Joint, I. (2006). Acyl-homoserine lactones modulate the settlement rate of zoospores of the marine alga *Ulva intestinalis* via a novel chemokinetic mechanism. *Plant, Cell Environ.*, 29, 608–618. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2005.01440.x>
- References**
- Babenko, L. M., Futorna, O. A., Romanenko, K. O., Smirnov, O. E., Rogalsky, S. P., Kosakivska, I. V., Skwarek, E., & Wisniewska, M. (2024). Exogenous N-hexanoyl-L-homoserine lactone mitigates acid rain stress effects through modulation of structural and functional changes in *Triticum aestivum* leaf. *Applied Soil Ecology*, 193, 105151. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2023.105151>
- Babenko, L. M., Kosakivska, I. V., & Romanenko, K. O. (2022). Molecular mechanisms of N-acyl homoserine lactone signals perception by plants. *Cell Biology International*, 46, 523–534. <https://doi.org/10.1002/cbin.11749>
- Ding, L., Cao, J., Duan, Y., Li, J., Yang, Y., Yang, G., & Zhou, Y. (2016). Proteomic and physiological responses of Arabidopsis thaliana exposed to salinity stress and N-acyl-homoserine lactone. *Physiol Plantar*, 158, 414–434. <https://doi.org/10.1111/ppi.12476>
- Dytham, C. (2011). *Choosing and Using Statistics: A Biologist's Guide*. 3rd ed. Wiley-Blackwell.
- Hartmann, A., & Schikora, A. (2012). Quorum Sensing of Bacteria and Trans-Kingdom Interactions of N-Acyl Homoserine Lactones with Eukaryotes. *J. Chem. Ecol.*, 38, 704–713. <https://doi.org/10.1007/s10886-012-0141-7>
- Hornschuh, M., Grotha, R., & Kutschera, U. (2002). Epiphytic bacteria associated with the bryophyte *Funaria hygrometrica*: Effects of Methylobacterium strains on protonema development. *Plant Biol.*, 4, 682–687. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2023.105151>
- Joint, I., Tait, K., & Wheeler, G. (2007). Cross-kingdom signalling: Exploitation of bacterial quorum sensing molecules by the green seaweed *Ulva. Philos. Trans. R. Soc. B. Biol. Sci.*, 362, 1223–1233. <https://doi.org/10.1098/rstb.2007.2047>
- Kosakivska, I. V., Babenko, L. M., Vasyuk, V. A., Voytenko, L. V., & Shcherbatiuk, M. M. (2024). Natural growth regulators as inducers of resistance in cereal plants against extreme environmental factors. In T. O. Yastreb, Y. E. Kolupaev, A. I. Yemets, Y. B. Blume (Eds.), *Regulation of Adaptive Responses in Plants*. Nova Science Publishers, Inc., 33–81.
- Kutschera, U. (2007). Plant-associated methylobacteria as co-evolved phytosymbionts: A hypothesis. *Plant Signal. Behav.*, 2, 74–78. <https://doi.org/10.4161/psb.2.2.4073>
- Liu, F., Bian, Z., Jia, Z., Zhao, Q., & Song, S. (2012). The GCR1 and GPA1 participate in promotion of Arabidopsis primary root elongation induced by N-acyl homoserine lactones, the bacterial quorum-sensing signals. *Mol. Plant-Microbe Interact.*, 25(5), 677–683. <http://doi.org/10.1094/MPMI-10-11-0274>
- Mathesius, U., Mulders, S., Gao, M., Teplitski, M., Caetano-Anolles, G., Rolfe, B. G., & Bauer, W.D. (2003). Extensive and specific responses of a eukaryote to bacterial quorum-sensing signals. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 100(3), 1444–1449. <https://doi.org/10.1073/pnas.262672599>
- Miao, C., Liu, F., Zhao, Q., Jia, Z., & Song, S. (2012). A proteomic analysis of Arabidopsis thaliana seedling responses to 3-oxo-octanoyl-homoserine lactone, a bacterial quorum-sensing signal. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 427, 293–298. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2012.09.044>
- Moshynets, O. V., Babenko, L. M., Rogalsky, S. P., Iungin, O. S., Foster, J., Kosakivska, I. V., Potters, G., & Spiers A. J. (2019). Priming winter wheat seeds with the bacterial quorum sensing signal N-hexanoyl-L-homoserine lactone (C6-HSL) shows potential to improve plant growth and seed yield. *PLOS ONE*, 14(2), e0209460. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0209460>
- Ortiz-Castro, R. A., Martinez-Trujillo, M. I., Lypez-Bucio, J. O. (2008). N-acyl-L-homoserine lactones: a class of bacterial quorum-sensing signals alter post-embryonic root development in Arabidopsis thaliana. *Plant Cell Environ.*, 31(10), 1497–1509. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2008.01863.x>
- Prigge, M. J., & Bezanilla, M. (2010). Evolutionary crossroads in developmental biology: *Physcomitrella patens*. *Development*, 137, 3535–3543. <https://doi.org/10.1242/dev.049023>
- von Rad, U., Klein, I., Dobrev, P. I., Kottova, J., Zazimalova, E., Fekete, A., Hartmann, A., Schmitt-Kopplin, P., & Durner, J. (2008). Response of Arabidopsis thaliana to N-hexanoyl-DL-homoserine-lactone, a bacterial quorum sensing molecule produced in the rhizosphere. *Planta*, 229(1), 73–85. <https://doi.org/10.1007/s00425-008-0811-4>
- Schikora, A., Schenk, S.T., & Hartmann, A. (2016). Beneficial effects of bacteria-plant communication based on quorum sensing molecules of the N-acyl homoserine lactone group. *Plant Mol. Biol.*, 90, 605–612. <https://doi.org/10.1007/s11103-016-0457-8>
- Shrestha, A., Grimm, M., Ojiro, I., Krumwiede, J., & Schikora, A. (2020). Impact of Quorum Sensing Molecules on Plant Growth and Immune System. *Frontiers in microbiology*, 11, 1545. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01545>
- Singh, R. P., Baghel, R. S., Reddy, C. R. K., & Jha, B. (2015) Effect of quorum sensing signals produced by seaweed-associated bacteria on carpospore liberation from *Gracilaria dura*. *Front. Plant Sci.*, 6, 117. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00117>. eCollection 2015
- Song, S., Jia, Z., Xu, J., Zhang, Z., & Bian, Z. (2011). N-butyl-L-homoserine lactone, a bacterial quorum-sensing signaling molecule, induces intracellular calcium elevation in Arabidopsis root cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 414(2), 355–360. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2011.09.076>
- Twigg, M. S., Tait, K., Williams, P., Atkinson, S., & Cámara, M. (2014). Interference with the germination and growth of Ulva zoospores by quorum-sensing molecules from Ulva-associated epiphytic bacteria. *Environ. Microbiol.*, 16, 445–453.
- Vesty, E. F., Whitbread, A. L., & Needs, S. (2020). Cross-kingdom signalling regulates spore germination in the moss *Physcomitrella patens*. *Sci. Rep.*, 10, 2614. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59467-5>
- Wheeler, G. L., Tait, K., Taylor, A., Brownlee, C., & Joint, I. (2006). Acyl-homoserine lactones modulate the settlement rate of zoospores of the marine alga *Ulva intestinalis* via a novel chemokinetic mechanism. *Plant, Cell Environ.*, 29, 608–618. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2005.01440.x>

Отримано редакцією журналу / Received: 09.09.24  
 Прорецензовано / Revised: 11.10.24  
 Схвалено до друку / Accepted: 14.10.24

Olena VASHEKA, PhD (Biol.)  
ORCID ID: 0000-0002-8462-4800  
e-mail: olena\_vasheka@knu.ua  
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

Kateryna SEMENOVA, Student  
e-mail: katra7032@gmail.com  
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

Lidia BABENKO, PhD (Biol.)  
ORCID ID: 0000-0001-5391-9203  
e-mail: lilia.babenko@gmail.com  
M. G. Kholodny Institute of Botany, National Academy of Sciences of Ukraine

### MALE FERN (*DRYOPTERIS FILIX-MAS*) SPORES GERMINATION UNDER TREATMENT OF HEXANOYL HOMOSERINE LACTONE

**Background.** *Plants exist in close interaction with microorganisms. Bacteria use a special intercellular communication system called "quorum sensing" (QS). This system depends on the density of the bacterial population and coordinates the formation of responses to changing environmental conditions. QS systems play a key role in regulating the bacterial cell's metabolic and physiological processes. Bacterial signaling is perceived by eukaryotes that form a symbiosis with microbial communities. A plant's growth and development, nutrient assimilation, and stress resistance are largely determined by the nature of such interactions. The key group of QS interactions in the population of gram-negative bacteria is acyl homoserine lactones (AHLs), which affect plant growth and development. The effect of AHLs on Angiosperms has been extensively studied. There is also data on the impact of AHLs on moss gametophytes. However, there is no information on the impact of AHLs on Ferns gametophytes and sporophytes. We present here the first study on the effect of hexanoyl homoserine lactone (C6-HHL), a bacterial signaling molecule of the AHLs class, on spore germination and the initial stages of gametophyte development of the homosporous fern *Dryopteris filix-mas*.*

**Methods.** *The dynamic of spore germination was determined on a liquid Knop medium containing 1  $\mu$ M, 0.1  $\mu$ M, 0.01  $\mu$ M and 0.001  $\mu$ M C6-HHL. Germination was kept and checked on by light microscopy. (Zeiss Axiocam MRc 5, Carl Zeiss).*

**Results.** *A moderate stimulating effect (increasing by 6%) of low C6-HHL concentrations (0.01  $\mu$ M and 0.001  $\mu$ M) and an inhibitory effect (decrease by 5.7%) of higher C6-HHL concentrations (1  $\mu$ M, 0.1  $\mu$ M) on spore germination and gametophyte development were established.*

**Conclusions.** *The results indicate the sensitivity of *Dryopteris filix-mas* gametophyte to the influence of bacterial AHL.*

**Keywords:** *Dryopteris filix-mas, spore germination, gametophyte, acyl homoserine lactones, quorum sensing, AHL-signaling.*

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів. Спонсори не брали участі в розробленні дослідження; у зборі, аналізі чи інтерпретації даних; у написанні рукопису; в рішенні про публікацію результатів.

The authors declare no conflicts of interest. The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses or interpretation of data; in the writing of the manuscript; in the decision to publish the results.