

The Content of Phenolic Compounds in the Pea Seedling Root Exudates Depends on the Size of Their Roots and Inoculation of Bacteria Mutualistic and Antagonistic Type of Interactions

L.E. Makarova*, L.V. Dudareva, I.G. Petrova

Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry, Siberian Branch of RAS, Irkutsk, Russia

*E-Mail: makarova@sifibr.irk.ru

Received August 31, 2015

The effect of the bacteria *Rhizobium* and *Pseudomonas* on total content of phenolic compounds (PC) and their individual components (apigenin, naringenin, dibutyl-ortho-phthalate, pisatin, N-phenyl-2-naphthylamine) in the root exudates of the pea seedlings (*Pisum sativum* L.) at two different growth stages was studied. Bacteria have similar affect on the total number of PC and the number of constituent apigenine, phthalate and pisatine. Difference at the impact of these bacteria on the content of naringenin and N-phenyl-2-naphthylamine was detected, which can be attributed to the peculiarities of the interactions of plants of peas with bacteria-antagonists and mutualists.

Key words: *Rhizobium*, *Pseudomonas*, *Pisum sativum* L., seedling, plant-microbe interaction, root exudates, phenolic compounds

Среди метаболитов, выделяемых корнями и семенами растения во внешнюю среду, содержится целый спектр разнообразных по химической структуре соединений, воздействующих на микроорганизмы (Makarova, 2012, Kuzmicheva *et al.*, 2014). Участие соединений корневых экссудатов в растительно-микробных взаимодействиях широко изучается и наиболее успешно оно исследовано для бобово-ризобиального симбиоза. В частности, доказано, что первыми и значимыми агентами контроля нодуляции при взаимодействии бобового растения с *Rhizobium* на уровне ризосферы являются фенольные соединения (ФС) его семенных и корневых экссудатов (Long, 2001). Практически не изучена роль ФС корневых экссудатов бобовых в их взаимодействии с бактериями, вызывающими патогенез.

Трансформации в составе секретлируемых растением фенольных веществ могут быть вызваны многими факторами (абиотическими, биотическими, процессом онтогенеза растения и т.д.) и, вероятно, определяют их эффективность в регуляции важных для симбиоза процессов, включая активизацию и размножение микроорганизмов в его ризосфере (Long, 2001). Среди многообразия ФС в экссудатах бобового растения (Makarova, 2012), присутствуют не только стимулирующие, но и подавляющие активацию и рост микрофлоры. У бобовых растений веществами негативного действия на микрофлору являются фитоалексины

изофлавоноидного происхождения. Наряду с фитоалексином пизатином в составе экссудатов гороха присутствуют соединения, которые могут быть интересны своими аналогичными действиями на живые организмы. Это сложнэфирные соединения орто-фталевой кислоты и N-фенил-2-нафтиламин (Makarova *et al.*, 2012). Подавление этими веществами микроорганизмов отмечено в литературе (Se-Jin *et al.*, 1997; Alim Al-Bari *et al.*, 2006) и показано нами (Makarova *et al.*, 2012; 2015).

Ранее показано, что общее содержание ФС в корневых экссудатах проростков гороха изменялось по мере их роста и развития (Makarova *et al.*, 2007). Эти изменения мы связываем с ростом и развитием корня, в частности, с возникновением у него вторичных корней. А позднее также были замечены вариации количества N-фенил-2-нафтиламина и фталатов в корневых экссудатах растущих проростков гороха (Makarova *et al.*, 2012).

Область корня, в которой происходит экссудации ФС, вероятно, определяет область адгезии и проникновения бактерий в его клетки. Экссудацию фенольных индукторов *nod*-генов отмечали в области от кончика корня до зрелых корневых волосков (Redmon *et al.*, 1986; Peters, Long, 1988).

При бобово-ризобиальном симбиозе реакция на ризобии выражается началом искривлений корневых волосков (расширения на кончиках корневых волосков, изгибы в виде ручки зонтика,

спиралевидные закручивания и т.д.) (Hadri, Bisseling, 2002). Установлено, что корневые волоски могут подвергаться искривлениям под влиянием Nod-факторов ризобий и инфицированию этими бактериями на определенных этапах их роста (Roughley et al., 1970; Bhuvaneshwari et al., 1980; Heidstra et al., 1994; Hadri, Bisseling, 2002).

На начальных этапах бобово-ризобиального симбиоза длина корней определяет размер зоны экссудации ФС и зоны корневых волосков, способных к реакции на действие бактерий (Makarova, Nurminsky, 2005 a,b). Исходя из этого, в настоящей работе мы ставили цель - изучить особенности секреции ароматических соединений корнями, начинающими взаимодействовать с микроорганизмами в периоды отсутствия у них зоны корневых волосков и появления на корнях растущих корневых волосков. В конкретную задачу входило изучение влияния бактерий с разной стратегией взаимодействия с растением-хозяином: *Rhizobium leguminosarum* (мутуалист) и *Pseudomonas siringae* pv. *pisi* (фитопатоген), на содержание в экссудатах двух групп ароматических веществ - относящихся к индукторам экспрессии *nod*-генов *R. leguminosarum* (апигенин, нарингенин) и негативных аллелопатических веществ антимикробного действия (дибутил-ортофталат, пизатин, N-фенил-2-нафтиламин).

MATERIALS AND METHODS

Растительным объектом служили проростки гороха (*Pisum sativum* L.) сорта Аксайский усатый 3, выращенные по схеме, описанной ранее

(Makarova, Dudareva, 2013). Этиолированные проростки на 1 сут переносили в камеру BINDER KBW-240 при температуре $21 \pm 0,2$ °C (постоянно) и освещении (фотопериод 16/8 ч - день/ночь, $81 \mu\text{M}^{-2}\text{сек}^{-1}$), поместив их на водную среду. Водная среда содержала минимальный набор микроэлементов и внесенные в нее бактерии (*Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae* штамма 245a, *Pseudomonas siringae* pv. *pisi* штамм 1845, вирулентный и токсичный для двудольных). Титр бактерий (10^8 клеток /мл среды), вносимых в водную среду одновременно с помещением на нее проростков, рассчитывали по стандарту мутности на планшетном спектрофотометре «Immunochem-2100» при длине волны 655 нм. Контролем служили проростки, помещенные на водную среду без бактерий. В эксперименте использовали 2 группы исходных проростков, полученных в разные периоды от момента замачивания. Так, длина корней у проростков более раннего периода развития была в пределах 20-22 мм, а у проростков более позднего периода развития - 25-35 мм.

Экстракты ФС получали по схеме, описанной в работе (Makarova et al., 2012). Общее количество ФС определяли по реакции с реактивом Фолина-Дениса (Zaprometov, 1974). Методом ВЭЖХ-анализа в комплексе ФС определяли содержание отдельных компонентов (апигенин, нарингенин, пизатин, N-фенил-2-нафтиламин, дибутил-ортофталат), используя хроматограф Shimadzu LC-10ATvp с УФ-детектором («Shimadzu», Япония). Разделение осуществляли на обращенно-фазной колонке Perfect Bond (MZ Analysentechnik), 250x4,6

мм, 5 μ м, в градиенте концентрации А:Б от 30 до 90% в течение 80 мин, где А- 100% ацетонитрил, Б- 0,2 перхлорат Li в 0,1 % водном растворе трифторуксусной кислоты. Для идентификации и получения калибровочных графиков для расчетов количества изучаемых веществ использовали аутентичные коммерческие образцы и изолированные нами из корневых экссудатов гороха по ранее разработанной схеме N-фенил-2-нафтиламин и дибутил-орто-фталат (Makarova *et al.*, 2012).

Полученные данные статистически обработаны. В таблице приведены средние значения для полученных показателей и стандартные ошибки для них, которые получены по данным из трех независимых экспериментов.

RESULTS AND DISCUSSION

Экссудация фенольных соединений осуществляется благодаря клеткам небольшой части корня, приближенной к его апексу, а проникновение ризобий может происходить в области растущих корневых волосков (Roughley *et al.*, 1970; Bhuvanewari *et al.*, 1980; Heidstra *et al.*, 1994; Hadri, Bisseling, 2002). На примере проростков гороха нами показана связь между размерами восприимчивой к инфицированию зоны (адгезии и проникновения) и длиной корня (Makarova, Nurminsky, 2005,a,b). При этом, только по достижению корнями длины более 22 мм мы фиксировали (микроскопическим методом) появление зоны корневых волосков, начинающих реагировать искривлениями под влиянием ризобий. Эта зона увеличивалась по мере роста

корней. Исходя из этого, в представляемой работе для выяснения связи между длиной корня и количеством секретиремых его клетками ФС в качестве исходных мы брали 2 группы проростков гороха. Эти проростки были получены в разные периоды от момента замачивания семян и размеры их корней по длине были в определенных нами пределах (см. Методику). Причем, в первую группу входили проростки, у которых отсутствовала зона корневых волосков, реагирующих искривлениями на ризобии. У проростков второй группы только начиналось образование этой зоны. Подтверждение тому мы получали в результате просмотра под микроскопом. Через 1 сут экспозиции на водной среде и на свету у проростков более раннего периода развития длина корней в среднем достигала 30 мм, а у проростков более позднего периода развития находилась в пределах 35-45 мм.

Через 1 сут экспозиции на водной среде разница в длине корней у этих двух групп проростков напрямую отразилась на количестве ФС в их экссудатах. Так, разница по общему количеству ФС в расчете на 1 корень в среднем у них составляла 3,2- 3,5 (зависело от варианта выращивания). При этом бактерии *Rhizobium* и *Pseudomonas* незначительно (не более, чем на 15 %) и практически одинаково в оба периода развития проростков усиливали экссудацию ФС.

В обзоре (Long, 2001) отмечено, что «коктейль флавоноидов» оказывающих влияние на ризобии, количественно и по спектру компонентов может варьировать в зависимости от возраста и

физиологического состояния растения. Результаты наших исследований с применением методов ВЭЖХ-анализа свидетельствуют о возникновении различий по количеству отдельных фенольных компонентов в корневых экссудатах проростков гороха при инокуляции их бактериями, относящимися к разным родам: *Rhizobium* и *Pseudomonas* (табл.). Различия нами установлены в составе двух групп веществ. Первая из них включает флавоноиды апигенин и нарингенин, вторая – пизатин, N-фенил-2-нафтиламин и дибутил-ортофталат. О роли этих соединений в ризосфере бобового растения, которая различна, будет сказано ниже.

Относительно первой из групп веществ известно, что перечисленные выше флавоноиды – апигенин, нарингенин, и эриодиктиол, относящийся к этому же классу веществ при формировании симбиоза между растениями гороха и *R. leguminosarum* bv. *viceae* являются основными индукторами *nod*-генов у микросимбионта (Zaat et al., 1987). Но при этом до сих пор не выяснено значение этих флавоноидов во взаимодействии растения гороха со специфичным для него патогеном – *P. siringae* pv. *pisi*. Показано также, что бобовые растения выделяют во внешнюю среду фенольные индукторы *nod*-генов ризобий в очень малых количествах (пикомоли) (Scheidemann, Wetzell, 1997). Это подтверждают и результаты наших исследований (табл.). По-видимому, этих количеств флавоноидных индукторов вполне достаточно для активизации у ризобий синтеза сигнальных

молекул, запускающих первые этапы проникновения этих бактерий в ткани корней и образование клубеньков.

Общее количество апигенина и нарингенина в экссудатах заметно выше у проростков более позднего периода развития (табл.). Различие влияния бактерий *Rhizobium* и *Pseudomonas*, которое можно выявить при сравнении контрольных проростков и росших на среде с бактериями, обнаруживается только на содержании нарингенина в экссудатах. Ризобии не изменяли его содержания в экссудатах, патоген же почти в 3 раза увеличивал его количество в экссудатах, причем, на обоих этапах роста проростков. На раннем этапе их роста оба вида бактерий не оказывали влияния на содержание в экссудатах апигенина, но в более поздний период количество этого вещества возрастало почти трехкратно.

Причины разного влияния ризобий и псевдомонад на содержание нарингенина в корневых экссудатах не ясны. Некоторые объяснения отсутствия влияния ризобий на содержание обсуждаемого флавоноида можно найти в работе (Recourt et al., 1989). В ней приводятся факты, указывающие на то, что нарингенин в достаточно больших количествах может аккумулироваться в клетках *R. leguminosarum* и при этом, вероятно, не подвергается метаболизации. Исходя из этого, можно предположить, что его аккумуляция в клетках этих бактерий может быть одной из причин

не проявленного влияния ризобий на количество нарингенина в составе экссудатов.

Исследуемую нами вторую группу веществ, которая включает пизатин, N-фенил-2-нафтиламин и дибутил-орто-фталат, относят к негативным аллелопатическим веществам. Содержание этих ароматических веществ в экссудатах значительно превышает содержание флавоноидов (табл.). Высокое содержание в составе корневых экссудатов растения-хозяина и способность подавлять микрофлору обуславливает их важную для растения функцию - контролирование концентрации бактерий в его ризосфере. Показатели в таблице для всех трех веществ и данные по содержанию N-фенил-2-нафтиламина и фталатов в экссудатах растений гороха сорта Ямальский, полученные нами ранее (Makarova *et al.*, 2012), говорят об изменении их количества в ризосфере растения с его возрастом.

При анализе данных таблицы можно заметить, что содержание в экссудатах пизатина, N-фенил-2-нафтиламина и дибутил-орто-фталата зависело от возраста проростков, если точнее - от длины их корней. Влияние бактерий *Rhizobium* и *Pseudomonas* на содержание дибутил-орто-фталата и фитоалексина пизатина было схожим, а на содержание N-фенил-2-нафтиламина - различалось. Примечательно, что на раннем этапе развития у контрольных проростков в их корневых экссудатах содержание дибутил-орто-фталата превышало содержание пизатина и, в еще большей мере, содержание N-фенил-2-нафтиламина. В этот период бактерии вызывали заметное снижение

количества дибутил-орто-фталата в корневых экссудатах. Возможно, это снижение объясняется активным использованием дибутил-орто-фталата этими бактериями для трофических целей в связи с недостаточным количеством в экссудатах других субстратов, включая ФС. Факты из литературы, свидетельствуют о способности у многих видов бактерий катаболизировать фталаты (Pastukhova *et al.*, 2010). При этом фталаты относят к числу подавляющих микроорганизмы (см. Введение). Возможно, негативный эффект фталатов на микроорганизмы обусловлен образованием продукта их деструкции - орто-фталевой кислоты. Некрозы бактерий связывают с накоплением этой кислоты в их клетках (Krishnan *et al.*, 2004).

Оба вида бактерий практически одинаково повышали содержание пизатина в экссудатах, причем, более резкое повышение количества этого вещества они вызывали у первой группы проростков (табл.). Вместе с тем, есть основание полагать, что действие пизатина на изучаемые виды бактерий отличается некой специфичностью для каждого из них. Так, о действии пизатина на ризобии можно судить по результатам исследований К. Новака с соавторами (Novak *et al.*, 1995). Они обнаружили отсутствие влияния пизатина на экспрессию *nod*-генов у микросимбионта растений гороха *R. leguminosarum* bv *viceae*, которое объяснили неузнаванием его рецептором NodD у ризобий. Авторы показали, что пизатин незначительно подавлял рост ризобий, но только при высокой концентрации в среде. Какое значение может

иметь пизатин для патогена *P.siringae* pv. *pisi*, также способного инфицировать растения гороха, - пока под вопросом.

Из-за низкого содержания в корневых экссудатах на первом этапе развития проростков гороха N-фенил-2-нафтиламин едва ли может заметно воздействовать на присутствующие в их ризосфере бактерии (табл.). У проростков более позднего периода развития содержание N-фенил-2-нафтиламина в экссудатах возросло на порядок. Бактерии *Rhizobium* и *Pseudomonas* различно влияли на содержание N-фенил-2-нафтиламина:

ризобии повышали его количество, а в присутствии патогена количество этого вещества оказывалось ниже, чем у одновозрастных проростков контрольного варианта. Возможно, более низкое содержание N-фенил-2-нафтиламина в среде с *Pseudomonas* потенциально указывает на деструктивную способность в отношении этого вещества у использованного в наших экспериментах представителя этого рода бактерий. Тем более, что у некоторых видов *Pseudomonas* выявлена способность катаболизировать нафталиновые группировки до образования орто-фталатов (Krishnan et al., 2004).

Table 1. Количества фенольных соединений в корневых экссудатах проростков гороха через 1 сут экспозиции на водной среде с бактериями *Rhizobium leguminosarum* bv *viciae* и *Pseudomonas siringae* pv. *pisi* (в контроле среда без бактерий).

Вариант	Группа проростков	Пикомоль/ корень				
		апигенин	нарингенин	дибутил-орто-фталат	пизатин	N-фенил-2-нафтил-амин
Контроль	I	22,2±5,0	5,9±1,4	2335,0±293,3	213,1±36,2	41,6±8,4
	II	35,7±5,7	129,6±31,3	4776,4±515,1	15812,3±1072,6	678,8±57,7
<i>R.l egumino-sarum</i> bv. <i>viciae</i>	I	14,8±3,1	4,2±1,4	1700,1±50,2	1855,3±82,0	74,3±10,9
	II	59,6±7,2	109,98±22,4	3898,8±101,8	22308,9±2269,0	778,5±82,5
<i>P. siringae</i> pv. <i>pisi</i>	I	17,2±6,3	16,9±4,7	1442,2±166,3	1556,4±303,1	26,2±1,7
	II	62,7±8,1	390,6±41,9	4248,7±261,2	21788,4±2601,5	472,0±53,8

Обозначения в табл.: I, II – группы проростков, помещенных на водную среду, соответственно, в ранний и более поздний периоды их роста (см. Методику).

Итак, полученные результаты позволяют констатировать, что при инокуляции бактериями возникают изменения в составе фенольных комплексов корневых экссудатов. Они являются показателями реакции растения на

воздействующие на него микроорганизмы и включения процессов регуляции взаимодействия с ними на протяжении роста корня и с формированием у него зоны восприимчивости к присутствующим в его ризосфере бактериям.

Выявленные различия по влиянию бактерий *Rhizobium* и *Pseudomonas* на содержание в экссудатах нарингенина и N-фенил-2-нафтиламина, по-видимому, можно отнести к особенностям взаимодействий растений гороха с бактериями-мутуалистами и антагонистами.

ACKNOWLEDGEMENT

Авторы приносят благодарность Г.Г. Васильевой за техническую помощь при выполнении эксперимента и О.В. Кузаковой за помощь при получении бактериальных культур.

REFERENCES

- Al-Bari M.A.A., Sayeed M.A., Rahman M.S., Mossadik M.A. (2006) Characterization and Antimicrobial Activities of Phthalic Acid Derivative Produced by *Streptomyces bangladeshiensis* A Novel Species Collected in Bangladesh. *Research Journal of Medicine and Medical Sciences*, **1(2)**, 77-81.
- Bhuvanewari T.V., Turgeon B.G., Bauer W.D. (1980) Early Events in the Infection of Soyebean (*Glycine max* L.Merr.) by *Rhizobium japonicum*. Localization of Infectible Root Cells. *Plant Physiology*, **66**, 1027-1031.
- Hadri A.-E., Bisseling t. (2002) Reactions of plants to Nod factors. In ed. Spajnka, G., Kondoroši, A., Hukasa, P. *Rhizobiaceae. Molecular Biology of Model Plant-Associated Bacteria*. (In russian translating) Rossel'hozakademiâ: St. Petersburg, pp. 435-450.
- Heidstra R., Geurts R., Franssen H., Spaink H.P., van Kammen A., Bissiling T. (1994). Root Hair Deformation Activity of Nodulation Factors and Their Fate on *Vicia sativa*. *Plant Physiol.*, **105**, 787-797.
- Krishnan S., Prabhu Y., Phale P.S. (2004) o-Phthalic acid, a dead-end product in one of the two pathways of phenanthrene degradation in *Pseudomonas* sp. Strain PP2. *Indian Journal of Biochemistry & Biophysics*, **41**, 227-232.
- Kuzmicheva Yu.V., Shaposhnikov A.I., Azarova T.S., Petrova S. N., Naumkina T.S., Borisov A.Yu., Belimov A.A., Kravchenko L.V., Parakhin N.V., Tikhonovich I.A. (2014) Composition of Root Exometabolites of the Symbiotically Effective Pea Cultivar Triumph and its Parental Forms. *Russian Journal of Plant Physiology*, **61**, 112-118.
- Long S.R. (2001) Genes and Signals in the *Rhizobium* – Legume Symbiosis. *Plant Physiol.*, **125**, 69-72.
- Makarova L.E. (2012) Physiological Role of Phenolic Compounds in the Formation of Legume-*Rhizobium* Symbiosis at pre- Infection Stage. *The Bulletin of Kharkiv National Agrarian University*, **2**, 25-39.
- Makarova L.E., Dudareva L.V. (2013) Participation of N-phenyl-2-naphthylamine Secreted by Legume Roor Cells in the Regulation of Symbiotic Interactions with *Rhizobium* at Different Temperatures. *Agrochemistry*, **9**, 59-64.
- Makarova L.E., Latysheva S.E., Putilina T.E. (2007) The Effect of the Phenolic Compounds Exuded by Pea Roots in Darkness on the Reproduction of *Rhizobium*. *Appl. Biochem. Microbiol.*, **43**, 479-

- 485
- Makarova L.E., Lomovatskaya L.A., Kuzakova O.V., Kuznetsova V.E. (2015) N-phenyl-2-naphthylamine Influence on Growth and Activity of Components of Adenylatecyclase Signal System *Pseudomonas siringae* pv. *pisii* and *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*. Zagorskina, N.V. (ed.), *Phenolic compounds: fundamental and applied aspects of materials of IX International Symposium*. Moscow: IFR, pp. 351-355.
- Makarova L.E., Nurminsky V.N. (2005a) Temperature Impact on Localization of "Free" Phenolic Compounds in the Root Tissues and Deformation of Hairs in Pea Seedlings Inoculated by *Rhizobium*. *Cytology*, **47**, 519-525.
- Makarova L.E., Nurminsky V.N. (2005b). Temperature impact on the deformation of roots hairs with *Rhizobium* inoculated pea seedlings. *Academic Open Internet Journal*, **15**, part 2, p. 1. (www.Acadjournal.com.).
- Makarova L.E., Smirnov V.I., Klyba L.V., Petrova I.G., Dudareva L.V. (2012) Role of Allelopathic Compounds in the Regulation and Development of Legume-Rhizobial Symbiosis. *Appl. Biochem. Microbiol.*, **48**, 355-362.
- Novak K., Kropáčová M., Havlíček V., Škrdleta V. (1995) Isoflavonoid Phytoalexin Pisatin is not Recognized by the Flavonoid Receptor NodD of *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*. *Folia Microbiol.*, **40**, 535-540.
- Pastukhova E.S, Egorova D.O., Yastrebova O.V., PlotnikovaYe.G. (2010) Bacteria-destructors ortho-phthalic acid Isolated from potash Production Wastes. *The Bulletin of Perm University. Biology*, **3**, 24-28.
- Peters N., Long S.R. (1988). Alfalfa Root Exudates and Compounds which Promote or Inhibit Induction of *Rhizobium meliloti* Nodulation Genes. *Plant Physiol.*, **88**, 396-400.
- Recourt K., Schripsema J., Kijne J.W., van Brussel A.A.N., Lugtenberg B.J.J (1989) Accumulation of a *nod*- gene inducer, the flavonoid naringenin, in the cytoplasmic membrane of *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae* is caused by the pH-dependent hydrophobicity of naringenin. *J. Bacteriol.*, **171**, 4370-4377.
- Redmond J.W., Batley M., Djorjevic M.A., Innes R.W., Kuempel P.L., Rolfe B.G. (1986) Flavones induce expression of nodulation genes in *Rhizobium*. *Nature*, **323**, 632-635.
- Roughley R.J., Dart P.J., Nutman P.S., Clarke P.A. The Infection of *Trifolium subterraneum* (1970) Root hairs by *Rhizobium trifolii*. *Journal of Experimental Botany*, **21**, 186-194.
- Scheidemann P., Wetzel A. (1997) Identification and characterization of flavonoids in the root exudates of *Robinia pseudoacacia*. *Trees*, **11**, 316-321.
- Se-Jin K., Soon-Im K., Young-Sil H. (1997) Isolation and Identification of Antimicrobial Compound from Green Laver (*Enteromorpha Linza*). *Corean Journal of Gerontology*, **49**, 70-76.
- Zaat S.A.J., Wijffelman C.A., Spaink H.P., van Brussel

A.A.N., Okker R.J.H., Lugtenberg B.J.J. (1987)

Induction of the *nodA* Promoter of *Rhizobium leguminosarum* Sym Plasmid pRL1JI by plant Flavanones and Flavones. *Journal of*

Bacteriology, **169**, 198-204.

Zaprometov M.N. (1974) *Principles of Biochemistry of Phenolic Compounds*. Moscow: Vyssh. Shkola.