

大豆根瘤非侵染细胞的主要功能^{*}

韩善华

(四川师范大学细胞生物研究室, 成都 610066)

MAIN FUNCTION OF UNINFECTED CELLS IN SOYBEAN ROOT NODULES

Han Shanhua

(Cell Biology Laboratory, Sichuan Normal University, Chengdu 610066)

中图分类号 S 565.1 文献标识码 A 文章编号 1000-9841(2006)03-0304-05

生物固氮种类繁多, 其中以共生固氮效率较高, 固氮量较大, 但它只能在一种极其精细复杂而又高度专一的结构—根瘤中进行。在共生固氮中, 由于固氮酶的催化, 根瘤菌能将大气中的分子氮转化为氨, 然后输入所在的侵染细胞(寄主细胞), 继而合成有关的固氮产物。同时, 侵染细胞又将氧、水分、矿物质、有机养分和能量供给根瘤菌, 使其进行正常的新陈代谢。因此, 根瘤菌与侵染细胞处在一个相互影响, 相互依赖, 相互促进, 相互制约的关系之中。由此不难看出, 豆科根瘤不仅是共生固氮的场所, 也是研究寄主细胞与根瘤菌之间相互关系较为理想的材料。

大豆根部能产生大量的固氮根瘤。虽然它的结瘤状况和固氮活性常因品种和环境不同而异, 但结瘤较多, 固氮活性较高, 固氮量较大在豆科根瘤中却是不争的事实。因此, 大豆根瘤一直受世人关注, 为了进一步阐明它的固氮机理, 增强固氮效率, 提高单位面积产量, 增加蛋白含量和改善品质, 许多学者用不同的方法, 从不同的角度, 不同的方面对大豆根瘤的结构和功能进行了深入而详细的研究^[1-7], 已成为国内外研究最多的豆科根瘤之一。

大豆根瘤由侵染细胞、非侵染细胞、皮层细胞、厚壁细胞和维管束等组成^[8]。虽然对它进行过大量研究, 但主要集中在它的侵染细胞方面, 而与其同存于根瘤中心组织中不含根瘤菌的非侵染细胞却一直未受到足够重视。特别是在国内, 几乎无人触及这一领域, 对它了解不多, 知之甚少。早先, 一般认为它的产生是随机的, 在根瘤中最多也只起一种支持

作用。随着研究的深入, 逐渐认识到除了支持作用外, 它还有气体扩散、物质运输和淀粉筹备等功能。后来研究发现, 它甚至还参与了根瘤最后固氮产物(酰胺)的合成与输出, 并在其中起了其它细胞无法取代的关键作用^[9]。

1 气体扩散

在所有的豆科根瘤中, 至今还未发现一种没有非侵染细胞的根瘤, 说明非侵染细胞的存在并不是偶然的。在大豆根瘤中, 由侵染细胞组成的侵染组织和由非侵染细胞组成的非侵染组织相比, 两者在根瘤中心组织中所占的比例悬殊很大, 前者高达根瘤中心组织的 78% 左右, 后者仅约占 21%, 其余 1% 则为细胞间隙^[10]。不仅如此, 而且它们的细胞形态结构也不一样, 前者体积较大, 细胞质较多, 细胞器较丰富, 只有小液泡。后者体积较小, 细胞质较少, 细胞器相对缺乏, 而且自始至终都有一个很大的中央液泡, 但它不是死细胞, 而是一种活的细胞^[11]。非侵染细胞分散在侵染细胞之中, 由此形成的非侵染组织呈辐射线分布, 常有空气通道位于其中, 故非侵染细胞可能具有气体扩散和交换功能^[12]。

豆科固氮根瘤中存在着大量的豆血红蛋白, 但一般认为它只存在于侵染细胞中, 其功能是降低氧分压, 保护固氮酶不受破坏^[13-15]。近来研究表明, 非侵染细胞中也有这种蛋白^[16], 而且还有在抗坏血酸—谷胱甘肽途径中与氧化还原有关的抗坏血酸氧化酶和单脱氢还原酶, 因此非侵染细胞可能还与氧

* 收稿日期: 2005-08-16

基金项目: 国家自然科学基金(39470349)资助

作者简介: 韩善华(1940-), 男, 教授, 主要从事细胞结构与功能的研究。E-mail: hanshanhua_6288@sina.com

的扩散有关^[17]。在根瘤皮层细胞内也存在着气体交换和扩散,并具有由环境变化而产生的自我调节机制。通过这种机制既可调节根瘤中心组织中氧气的浓度,也可调节其它气体,如 N_2 , H_2 , CO_2 等^[18, 19]。最近查明,氧扩散由氧扩散栓(ODB)进行调节^[20]。

侵染细胞与侵染细胞之间的细胞壁上很少有胞间连丝和质膜孔,而在非侵染细胞与非侵染细胞之间,非侵染细胞与侵染细胞之间的细胞壁上却十分丰富^[10, 22]。因而根瘤中心组织细胞之间,根瘤中心组织细胞与皮层细胞之间大量气体的扩散和交换只能主要由非侵染细胞来完成。

2 物质运输

大豆根瘤的侵染细胞与非侵染细胞之间的联系非常密切,每个侵染细胞至少与一个非侵染细胞相连。它们相连的比例虽然在不同的切面上存在着一定的差异,但至少也有 90%,有时甚至接近 100%^[10]。从立体角度观察大豆根瘤表明,非侵染组织总是位于侵染组织之间,并以根瘤中心为圆心,形成一个个的面和一条条的线向根瘤四周辐射,其末端与皮层细胞相接。这些辐射面上或线上的非侵染细胞不呈圆形,而是长而窄,其长轴与辐射面和辐射线的长轴一致。不仅如此,而且非侵染细胞与侵染细胞之间的细胞壁上和非侵染细胞与非侵染细胞之间的细胞壁上都有丰富的胞间连丝,因此非侵染细胞可能具有物质运输的功能^[21]。

众所周知,在根瘤发育过程中,细胞数量不断增多,体积逐渐变大;细菌数量大量增加,体积日趋变大;根瘤菌在将大气中的分子氮转化为能被植物利用的化合氮时也需要大量物质(如碳水化合物等)^[22],因此根瘤在生长发育和固氮过程中有大量的物质需要运进和运出。由于胞间连丝是细胞,特别是植物细胞之间进行物质运输的通道,而非侵染细胞与侵染细胞之间的细胞壁上和非侵染细胞与非侵染细胞之间的细胞壁上又有丰富的胞间连丝,故大豆根瘤中心组织细胞之间的物质运输可能主要通过非侵染细胞壁上的这些通道来实现的。加之辐射面和辐射线上末端的非侵染细胞又与根瘤皮层细胞相交,于是在根瘤中便形成了一个以非侵染细胞为主体的完善的物质(包括气体)运输体系。

3 淀粉储备

大豆根瘤细胞中积累着大量的淀粉,但在不同的根瘤,甚至同一根瘤不同的细胞中淀粉的含量却不完全相同。在中国大豆根瘤侵染细胞中,质体中的淀粉含量非常丰富,常常挤压四周的类囊体,使其变成薄薄一层。这些质体的体积很大,多呈圆球形。它们的外面通常有一条由多条普通线粒体融合而成的巨形线粒体^[23]。这些线粒体部分或几乎完全包围着附近含有大量淀粉的质体,形成一种特殊的线粒体—质体紧密联合。不过这种联合是一种动态结构,随着根瘤的发育,质体淀粉逐渐消失,这种联合也就宣告解体,故特殊线粒体—质体紧密联合的形成可能与细胞中淀粉的水解和能量转换有关^[24]。

豆科根瘤固氮不仅需要大量的物质,而且也需要大量的能量。固定一个克分子的氮大约需要 15 个克分子的 ATP,这些能量主要来自细胞淀粉的水解^[25]。同时,豆科根瘤也需要大量的碳水化合物,为固定氮的转移和同化提供碳架,每固定 1g 的氮约需要高达 25g 的碳水化合物^[26, 27]。有人甚至认为,糖还具有调节根瘤细胞渗透压,促进细胞生长,减轻氮胁迫等作用^[28, 29]。由此可见,作为主要碳水化合物的淀粉及其水解产物(如糖)对根瘤固氮是十分必要的^[30]。

大豆根瘤非侵染细胞中含有大量的造粉^[9, 10],它象其它豆科根瘤一样,一般不随根瘤发育而迅速减少,在整个发育过程中变化不大,保持着一种相对稳定的状态^[31]。虽然非侵染细胞中的淀粉属于一种临时贮藏淀粉,一般不轻易动用,但当根瘤受到外界环境影响,碳水化合物的合成和运输出现不正常时它就会大量水解。这种水解需要淀粉水解酶,而在非侵染细胞中确实存在着大量的淀粉水解酶^[32]。非侵染细胞作为根瘤物质和能量的筹备库,在保证根瘤正常生长发育,支持根瘤固氮方面均起着重要作用。

Newcomb^[10]在研究寒带豆科根瘤时观察到一种与众不同的奇特现象。他发现,这些根瘤的非侵染细胞中有大量染色较深的脂滴,因脂的大量产生能提高植物的抗寒性^[11],故他推测,非侵染细胞可能与该种根瘤具有高度的耐寒性有关。最近我们在豌豆根瘤非侵染细胞中观察到有许多脂质体,但侵染细胞中却很少见到这种结构。它们主要分布在邻近侵染细胞的细胞壁附近,而在其它部分却不多。它们可单独存在,也可多个相聚在一起。研究表明,它们的存在与侵染细胞的发育有关。当侵染细胞中根瘤菌较少时,这种现象比较明显,但随

着根瘤菌数量增多, 体积的变大, 固氮活动的增强, 非侵染细胞中的脂质体不仅数量减少, 而且体积也变得越来越小。由此可见, 脂质体与造粉体一样, 可能也是一种物质贮备, 也是为了保证侵染细胞生长发育, 特别是固氮活动的正常进行, 因为生长发育和固氮都需要大量的能量和碳源。

4 根瘤固氮

4.1 参与根瘤固氮假说的提出

过去一般认为, 非侵染细胞与根瘤固氮关系不大, 这种观点维持了很长一段时间, 直到上世纪 80 年代前后才开始受到质疑。

大豆木质部细胞中氮的输出主要是酰胺、尿囊素和尿囊酸^[33]。用生化方法定位大豆根瘤细胞中酰胺、尿囊素和尿囊酸等合成酶时发现, 尿酸酶(uricase)和过氧化物酶(catalase)活性都出现在过氧化物酶体上, 尿囊素酶(allantoinase)则出现在来自内质网的微体上^[34, 35]。Newcomb等^[36]在研究大豆根瘤的超微结构时观察到, 非侵染细胞内含有大量的过氧化物酶体, 并随根瘤的发育数量不断增多, 体积不断变大。根瘤发育成熟时, 它的数量达到最多, 体积达到最大。伴随着过氧化物酶体的增多, 非侵染细胞中的管状内质网越来越丰富, 一些内质网甚至膨大并形成许多分支, 组成一个复杂的内质网网络系统。侵染细胞中虽然也有过氧化物酶体和管状内质网, 但体积很小, 数量很少, 而且它们一般不随根瘤发育的变化而变化。因此他们首次提出, 非侵染细胞可能参与了固氮, 并在酰胺产生方面起了一个不可取代的关键作用。大豆根瘤非侵染细胞中存在着大量的过氧化物酶体不是个别现象, 在其他人的研究中也发现^[37, 38]。非侵染细胞与侵染细胞中虽然都有过氧化物酶体, 但彼此差异很大。统计表明, 非侵染细胞每单位体积细胞质中的过氧化物酶体约为侵染细胞质中过氧化物酶体的 60 倍, 并随管状内质网的增加而增加^[39]。为了进一步了解根瘤每步固氮反应发生的准确位置, 除了应用生化方法了解参与根瘤固氮过程有关酶与细胞器的关系^[34, 40~42]外, 许多学者还利用组织化学和细胞化学技术对大豆根瘤中的尿酸酶^[40~43]和过氧化物酶^[36, 37, 43~49]进行细胞和亚细胞定位, 而且发现它们都大量存在于非侵染细胞的过氧化物酶体上。进一步研究还指出, 不仅非侵染细胞过氧化物酶体上有尿酸酶活性, 而且大豆根瘤皮层细胞的过氧化物酶

体上也有这种酶的活性, 但它一般只存在于紧靠根瘤中心组织的三层内皮层细胞中, 其它皮层细胞却没有或很少有这种酶的活性。于是作者认为, 这些内皮层细胞与非侵染细胞一样, 也具有合成酰胺的功能。所以如此, 其原因可能是根瘤中心组织表面的某些侵染细胞不与非侵染细胞相连, 因此它们无法将固定的氮运输到非侵染细胞, 只能转入到与此连接的皮层细胞中, 并在其中合成酰胺^[46]。一些研究指出, 在非侵染细胞中还有其它一些固氮产物的合成酶^[50, 51]。

Hanks等^[42]经过精心设计, 从大豆根瘤中分离出了非侵染和侵染两种不同的细胞, 并分别测定了它们中参与酰胺合成的主要酶类。结果表明, 大多数尿酸酶、过氧化物酶和尿囊素酶都位于非侵染细胞中, 而不是存在于侵染细胞内。在大豆根瘤中, 根瘤菌先将空气中的分子氮同化为氨, 然后转入侵染细胞, 但氨的浓度不能太高, 若超过了侵染细胞合成氨基酸和蛋白质需要的浓度, 细胞就会出现氨中毒。所以根瘤必须要把细胞中多余的氨转化为酰胺、尿囊素和尿囊酸等固氮产物, 而后再运送到植物的地上部分, 以满足植物生长发育的需要。由于合成这些固氮产物的酶主要是在非侵染细胞中, 因此酰胺、尿囊素和尿囊酸等固氮产物的同化是在非侵染细胞中进行。他们的这一研究有力地支持了Newcomb等人^[36]关于非侵染细胞参与了大豆根瘤固氮中酰胺合成的观点。

4.2 大豆根瘤固氮的主要过程

在豆科根瘤中, 固氮产物的输出可能有两种类型, 一种是豌豆、羽扇豆根瘤型, 输出的固氮产物主要是酰胺; 另一种是大豆、豇豆根瘤型, 输出的固氮产物主要不是酰胺, 而是酰胺^[51]。

在大豆豇豆型根瘤中, 氮的固定要经过一系列化学反应, 最后才以酰胺、尿囊素和尿囊酸等固氮产物的形式输送到植物的其它部分^[52]。这些根瘤的固氮由侵染细胞和非侵染细胞共同完成, 但有明确的分工, 相互不能代替。它的固氮过程大致可分为早期和后期两个阶段, 前者包括氨的同化与嘌呤的合成, 后者涉及嘌呤的氧化和酰胺的产生^[53]。分析发现, 固氮酶以及与固氮产物合成有关的某些酶, 如磷酸-甘油脂脱氢酶、天冬氨酸氨基转移酶、葡萄糖-6-磷酸脂脱氢酶、6-磷酸-葡萄糖酸酯水解酶等主要分布在侵染细胞中。虽然它们在非侵染细胞中也有存在, 但含量很少, 一般只有侵染细胞的 1/2 至 1/4^[54, 43]。

大豆根瘤固氮的这两个阶段是不同的。第一阶

段经历的时间较长,先是由根瘤菌内的固氮酶将大气中的分子氮同化为氨。然后再将自由氨转入所在的侵染细胞中,在有关酶的催化下将其生成氨基酸,进而合成嘌呤。随后在细胞液中将嘌呤降解成次黄嘌呤,并在脱氢酶的催化下氧化成尿酸^[54]。上述这些反应虽然步骤较多,各步的反应底物和生成物都不相同,要求的反应条件也不一样,但它们有一个共同特点,即这些反应都在侵染细胞中进行。第二阶段别于第一阶段,它只占根瘤固氮活动的一小部分,而且是在非侵染细胞中完成的。研究表明,尿酸在侵染细胞中生成后,通过细胞壁上的胞间连丝通道将其转移到相邻的非侵染细胞中,在过氧化物酶体上由尿酸酶和过氧化氢酶氧化变为尿囊素。尿囊素再在内质网上经尿囊素酶催化,水解为尿囊酸。最后尿囊酸被分泌到细胞质中,再生成酰胺,并以此形式转移到植物的地上部分^[55]。因此,酰胺不是由尿合成,而是由嘌呤降解而来。在豆科根瘤中,固氮的最后产物为酰胺(大豆豇豆型)或酰胺(豌豆羽扇豆型),二者相比,前者可能是一种进步,因为它在根瘤输出等量氮时比后者需较少的碳原子^[9]。

5 小结

综上所述可见,非侵染细胞是大豆根瘤必不可少的组成部分,在其根瘤发育和固氮中起着非常重要的作用,如参与根瘤的气体扩散,物质运输,淀粉筹备,能量和碳架供应以及最后固氮产物(酰胺)的合成与输出等等。因此,没有它的存在,侵染细胞很难进行正常的气体 and 物质交换,固氮很难获得足够的能量和碳架,同化后的氨很难转移和合成酰胺。

对非侵染细胞的研究虽然已经取得了巨大进展,但还有一些问题,如非侵染细胞的主要功能是否就是目前知道的这些,是否还有新的功能。又如根瘤固定的氮同化为酰胺,在此过程中它们的反应步骤及其细胞与亚细胞定位是否完全准确等等仍不十分清楚,还需要作进一步的深入研究。其次是要解决研究的方法问题,除进一步改进细胞和亚细胞组分的分离与纯化技术外,应用放射自显影进行追踪可能是一种较好的选择。

参 考 文 献

- 1 韩善华. 内质网在细菌周膜形成中的作用[J]. 植物学报, 1991, 33(8): 569—573.

- 2 韩善华. 大豆根瘤中公共细菌周膜形成的一种特殊方式[J]. 微生物学报, 1993, 33(6): 400—404.
- 3 韩善华, 周向军. 侵染细胞中一种内含物的组化研究[J]. 实验生物学报, 1994, 27(2): 251—258.
- 4 Kanayama Y, Kinura K, Kanamura Y, Ike T. Purification and characterization of nitrate reductase from nodule cytosol of soybean[J]. Plants Physiol Plantarum, 1999, 105: 396—401.
- 5 Fujikake H, Yashima H, Sato T, et al. Rapid and reversible nitrate inhibition of nodule growth and N_2 fixation activity in soybean (*Glycin max* (L.) Merr.). Soil Sci and Plant Nutr, 2002, 48: 211—217.
- 6 Serral R, Vasquez DH, Dervon JJ. Effects of salt on nitrogen fixation, oxygen diffusion, and ion distribution in soybean, common bean, and alfalfa[J]. J Plant Nutr, 1998, 21: 475—488.
- 7 Le Thi Phuong Hoa, Nomura M, Kajiura H, et al. Proteomic analysis on systemic differentiation of mitochondria in soybean nodules[J]. Plant Cell Physiol, 2004, 45: 300—308.
- 8 Newcomb W, Sippel D, Peterson RL. The early morphogenesis of *Glycine max* and *Pisum sativum* root nodules[J]. Can J Bot, 1979, 57: 2603—2616.
- 9 Newcomb EH, Selker JML, Tandon SR, et al. Uninfected cells in ureide and amide exporting legume root nodules[C]. In Nitrogen fixation and CO_2 metabolism, Edited by RL Ludden and JE Burris. Elsevers, New York, 1985 31—39.
- 10 Selker JML, Newcomb EH. Special relationship between uninfected and uninfected cells in root nodules of soybean[J]. Planta, 1985, 165: 446—454.
- 11 韩善华, 潘元翔. 非侵染细胞的形态特征[J]. 细胞生物学杂志, 1992, 14(4): 145—148.
- 12 Bergersen FG, Goodchild DJ. Aeration pathways in soybean root nodules[J]. Aust J Biol Sci, 1973, 26: 729—740.
- 13 Harper JF, Akai S, Kouchi H. Changes in concentration of leghemoglobin components in hypernodulation mutants of soybean[J]. Soil Sci and Plant Nutr, 1997, 43: 1091—1096.
- 14 Arrese-Igor C, Minchin FR, Gordon AJ, et al. Possible causes of the physiological decline in soybean nitrogen fixation in the presence of nitrogen[J]. J Experim Bot, 1997, 48: 905—913.
- 15 Arrese-Igor C, Gordon AJ, Minchin FR, et al. Nitrate and nitrite formation in infected region of soybean nodules[J]. J Experim Bot, 1998, 49: 41—48.
- 16 VandenBosch KA, Newcomb EH. The occurrence of leghemoglobin protein in the uninfected interstitial cells of soybean root nodules[J]. Planta, 1988, 175: 442—451.
- 17 Dalton DA, Baird LM, Labgeberg L, et al. Subcellular localization of oxygen defense enzymes in soybean (*Glycine max* [L.] Merr.) root nodules[J]. Plant Physiol., 1993, 102: 461—489.
- 18 Layzell DB, Gaiyo ST, Hunt S. Model of gas exchange and diffusion in legume nodules[J]. Planta, 1988, 137: 117—127.
- 19 Hunt S, Gaiyo ST, Layzell DB. Model of gas exchange and diffusion in legume nodules[J]. Planta, 1988, 137: 128—141.
- 20 Neo HH, Layzell DB. Phenylalanine and the regulation of O_2 diffusion in legume nodules[J]. Plant Physiol, 1997, 113: 259—268.

— 267

- 21 Selker JML. Three-dimensional organization of uninfected tissue in soybean root nodules and its relation to cell specialization in the central region[J]. *Protoplasma*, 1988, 147: 178—191.
- 22 Werner D, Moschel E. Differentiation of nodules of *Glycine max* [J]. *Planta*, 1978, 141: 69—177.
- 23 韩善华, 郑国昌. 巨型线粒体形成机理的探讨[J]. *大豆科学*, 1994, 13(1): 27—31.
- 24 Han Shanhua, Zheng Guochang. Formation and features of close association of mitochondrion-plastid[J]. *Chinese Science Bulletin*, 1991, 36(19): 1636—1640.
- 25 Postgate J. Consequences of the transfer of nitrogen fixing genes to new hosts[J]. *Annbio*, 1977, 6: 176—180.
- 26 Heytler PG, Reddy GS, Hardy RWF. In vivo energetics of symbiotic nitrogen fixation in soybeans. In *Nitrogen fixation and CO₂ metabolism*[R]. Edited by PL Ludden and JE Burris[E]. Elsevier, New York, 1985, 283—292.
- 27 Stitt M, Krapp A. The interaction between elevated carbon dioxide and nitrogen nutrition: the physiological and molecular background[J]. *Plant Cell and Environ*, 1999, 22: 583—562.
- 28 Gordon AJ, Skot L, James CL, et al. Short-term metabolism responses of soybean root nodules to nitrate[J]. *J Experim Bot*, 2002, 53: 423—428.
- 29 Fujikake H, Yamazaki A, Ohtake N, et al. Quick and reversible inhibition of soybean root nodules growth by nitrate involves a decrease in sucrose supply to nodules[J]. *J Experim Bot*, 2003, 54: 1379—1388.
- 30 Gorton AJ, Minchin FR, James CL, Komina O. Sucrose synthesis in legume nodules for nitrogen fixation[J]. *Plant Physiology*, 1999, 120: 867—877.
- 31 Hostak MS, Henson CA, Duke SH, et al. Starch-granule distribution between cell types of alfalfa nodules as affected by symbiotic development[J]. *Can J Bot*, 1987, 65: 1108—1115.
- 32 Streeter JG. Integration of plant and bacterial metabolism in nitrogen fixing system[A]. In *Nitrogen Fixation: Fundamentals and Applications* edited by I A Tikhonovich et al. Kuwer Academic Publishers, London, 1995, 67—76.
- 33 McClure PR, Isread DW. Transport of nitrogen in the xylem of soybean plants[J]. *Plant Physiology*, 1979, 64: 411—416.
- 34 Beevers S. Microbodies in higher plants[J]. *Annu Rew Plant Physiology*, 1979, 30: 153—193.
- 35 Hanks JF, Tolbert NE, Schubert KR. Localization of enzymes of ureide biosynthesis in peroxisomes and microsomes of nodules[J]. *Plant Physiology*, 1981, 68: 65—69.
- 36 Newcomb EH, Tandon SR. Uninfected cells of soybean root nodules: Ultrastructure suggests key role in ureide production[J]. *Science*, 1981, 212: 1394—13969.
- 37 Cohen HP, Gautam S, Lee K, et al. Soybean root nodules ultrastructure during dark-induced stress and recovery[J]. *Protoplasma*, 1986, 132: 69—75.
- 38 韩善华, Yang AF. 大豆根瘤的超微结构特征[J]. *微生物学报*, 1987, 27(3): 217—222.
- 39 Newcomb EH, Kowal RR. Ultrastructural specialization for ureide production in uninfected cells of soybean root nodules[J]. *Protoplasma*, 1985, 125: 1—12.
- 40 Bergman H, Preddie E, Verma DPS. Nodulin-35 a subunit of specific uricase(uricase11) induced and localized in uninfected cells of soybean nodules[J]. *EMBO J*, 1983, 2: 2333—2339.
- 41 Hanks KR, Schubert NE, Tolbert NE. Catalase uricase and allantoinase from soybean nodules[J]. *Plant Physiology*, 1980, 65: 107—111.
- 42 Hanks JF, Schubert KR, Tolbert NE. Isolation and characterization infected and uninfected cells from soybean nodules[J]. *Plant Physiology*, 1983, 71: 869—873.
- 43 Nguyen T, Zelekowska M, Forster LL, et al. Primary structure of the soybean nodulin-35 gene encoding uricase 11 localized in the proxisomes of uninfected cells of nodules[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1985, 82: 5040—5044.
- 44 VandenBosch KA, Newcomb EH. Immunogold localization of nodules specific uricase in developing soybean root nodules[J]. *Planta*, 1986, 167: 425—436.
- 45 VandenBosch KA. Light and electron microscopic visualization of uricase by immunogold labeling of section of resinembedded soybean nodules[J]. *J Microsc*, 1986, 143: 187—197.
- 46 Newcomb EH, Kaneko Y, VandenBosch KA. Specialization of the inner cortex for ureide production in soybean root nodules[J]. *Protoplasma*, 1989, 150: 150—159.
- 47 Kaneko Y, Newcomb EH. Cytochemical localization of uricase and catalase in developing root nodules of soybean[J]. *Protoplasma*, 1987, 140: 1—12.
- 48 Marks I, Spread JI. The localization of enzymes in fixed sections of soybean root nodules by electron microscopy[J]. *J Cell Sci*, 1974, 16: 623—637.
- 49 Vaughn KC. Structural and cytochemical localization of three specialized peroxisomes types in soybean[J]. *Physiol Plantarum*, 1985, 64: 1—12.
- 50 Vaughn KC, Duke SD, Duke SH, et al. Ultrastructural localization of urate oxidase in nodules of *Sesbania exaltata*, *Glycine max*, and *Medicago sativa*[J]. *Histochem*, 1982, 74: 309—318.
- 51 Suganuma N, Kitou M, Yamamoto Y. Carbon metabolism in relation to cellular organization of soybean root nodules and respiration of mitochondria aided by leghemoglobin[J]. *Plant Cell Physiology*, 1987, 28: 113—122.
- 52 Boland MJ, Blevins DG, Schubert KR, et al. Enzymes of amide and ureide biogenesis in developing soybean nodule[J]. *Plant Physiology*, 1982, 69: 1334—1338.
- 53 Sprent JI. Root nodule anatomy type of export product and evolutionary by origin in some legumes[J]. *Plant Cell Environ*, 1980, 3: 35—43, 50.
- 54 Triplett EW, Blevins DG, Randall DD. Allantoic acid synthesis in soybean root nodule cytosol via xanthine dehydrogenase[J]. *Plant Physiology*, 1980, 65: 1203—1206.
- 55 Schubert KR. Products of biological nitrogen fixation in higher plants synthesis transport and metabolism[J]. *Annu Rew Plant Physiology*, 1986, 37: 539—574.