

表达广谱抗真菌蛋白转基因水稻秸秆的化学成分与纤维素结构

宋永康^{1,2}, 黄薇^{1,2}, 姚清华^{1,2}, 陈丽华^{1,2}, 刘文静^{1,2}, 李玥仁^{1,2}

¹福建省农业科学院中心实验室; ²福建省精密仪器农业测试重点实验室, 福建 福州 350003

摘要: 为了给表达广谱抗真菌蛋白转基因水稻的安全性评估提供基础数据, 本文以表达广谱抗真菌蛋白转基因水稻转品 1 和转品 8 及非转基因七丝软粘(对照)为试材, 对其秸秆化学成分进行分析, 同时, 采用傅立叶变换红外光谱(FTIR)和 X-射线衍射(XRD)方法观察秸秆中不同部位纤维素结构的变化情况。研究结果显示: (1) 转基因水稻转品 1 和转品 8 与对照在秸秆相同部位的化学成分含量不存在显著差异; (2) 转基因水稻转品 1 和转品 8 及对照在秸秆相同部位纤维素的红外吸收峰形状基本一致, 且品种间的吸收峰强度和结晶指数($O'KI$ 和 $N \cdot O'KI$)也无显著差异; (3) 转品 1 和转品 8 秸秆的 X-射线衍射图与对照相似, 且结晶度(CrI)与对照无显著差异。综上所述, 广谱抗真菌基因的导入不会对水稻的化学成分、纤维素结构及晶体结构产生明显影响。

关键词: 转基因水稻; 秸秆; 化学成分; 纤维素结构

Chemical composition and cellulosic structure of straw from transgenic rice (*Oryza sativa*) plants expressing broad-spectrum antifungal proteins

Yong-kang SONG^{1,2}, Wei HUANG^{1,2}, Qing-hua YAO^{1,2}, Li-hua CHEN^{1,2}, Wen-jing LIU^{1,2}, Yue-ren LI^{1,2}

¹Central Laboratory, Fujian Academy of Agricultural Sciences; ²Fujian Key Laboratory of Precise Measurement of Agricultural, Fuzhou, Fujian 350003, China

Abstract: Using two transgenic rice (*Oryza sativa*) plant lines, Zhuanpin 1 and Zhuanpin 8, expressing broad-spectrum antifungal proteins and their non-transgenic parent cv. Qisiruanzhan as materials, the chemical composition of straw was analyzed, and the changes of cellulose in different parts of straw were studied by fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) and X-ray diffractometer (XRD). Infrared absorption spectra of cellulose from leaf blade, leaf sheath, and stem was basically the same in the transgenic vs. non-transgenic rice plants, and the differences of absorption intensity and crystal index ($O'KI$ or $N \cdot O'KI$) among them were not significant. XRD spectra and cellulose crystallinity (CrI) showed no significant differences either by crystal type or structure between transgenic vs. non-transgenic rice.

Key words: transgenic rice; straw; chemical composition; cellulose structure

水稻是我国重要的粮食作物, 稻瘟病、纹枯病等真菌病害, 是水稻生产的主要限制因素之一。通过转基因技术, 将外源抗病基因导入水稻, 培育出抗病水稻新品种, 是解决这一问题的有效途径(张志忠等, 2005)。几丁质和 β -1, 3-葡聚糖都是组成真菌细胞壁的主要碳水化合物, 因此, 起降解作用的几丁质酶和 β -1, 3-葡聚糖酶在防御病原真菌侵害中具有重要作用。病原真菌细胞壁中几丁质的降解, 能够破坏细胞新物质的沉积, 致使病原体死

亡, 且其产生的细胞壁碎片具有诱导作用, 从而刺激寄主植物产生抗病反应。 β -1, 3-葡聚糖酶和几丁质酶具有协同的抗真菌作用(王关林和方宏筠, 2009)。另外, 在抗病性研究中发现, 植物的形态结构与抗病性有关, 如寄主植物表面蜡质层的有无、角质层和木栓层的厚薄、硅质化的程度等。植物形态结构的差异可以对病原菌产生物理上的障碍, 或通过诱导植物形态结构发生改变而机械地阻碍病原菌的侵染(董金皋和黄梧芳, 1995)。已有研究表

明,水稻秸秆由 37%~40% 纤维素、27%~30% 半纤维素及 5%~8% 木质素紧密交联在一起而成,且秸秆纤维素具有较高的结晶度(彭维和向志明,2007)。而作为秸秆主要成分的纤维素,其含量和结构,在抗真菌转基因水稻和非转基因水稻之间是否存在差别,是本研究主要关注的问题。本文通过化学法、傅立叶变换红外光谱(fourier transform infrared spectroscopy,FTIR)法以及 X-射线衍射(X-ray diffractometer,XRD)方法分析了抗真菌转基因水稻和非转基因水稻中化学成分和纤维素结构的变化情况,以期为进一步深入地研究转基因水稻的抗病性提供思路。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试水稻为表达广谱抗真菌蛋白转基因水稻转品 1、转品 8 及非转基因七丝软粘(对照)。其中,转品 8 为双价抗真菌转基因水稻,导入水稻碱性几丁质酶基因(RC24)和苜蓿葡聚糖酶基因(β -1、3-Glu);转品 1 为三价抗真菌转基因水稻,导入水稻碱性几丁质酶基因(RC24、RCH10)以及水稻酸性几丁质酶基因(RAC22)。上述材料均由广东海洋大学提供。

供试地点位于福州市闽侯县良种场,地貌为闽江两岸丘陵河谷区,属亚热带季风气候。试验水田面积约 500 m²,为梯田形式,土壤为黄红壤,土壤总碳含量 16.44 g·kg⁻¹、总氮 1.15 g·kg⁻¹、有效磷 33.31 mg·kg⁻¹、速效钾 68.97 mg·kg⁻¹,pH 5.56,分别种植早、晚两季转基因水稻转品 1、转品 8 及对照。每个品种种植 3 个小区。

试验所用秸秆为早稻收割后的转品 1、转品 8 及七丝软粘的秸秆,采回的样品叶片、叶鞘和茎分开,在 105 ℃下杀青 15 min,然后在 80 ℃烘 24 h,粉碎后 60 目过筛,装入样品袋存放于干燥器内,待用。

1.2 秸秆的化学成分分析

采用 Soest *et al.* (1985、1991) 的方法,测定秸秆的半纤维素、纤维素、木质素、硅的总含量,可溶解硅的含量,硅的溶解效率。根据 GB/T 6432 - 1994 (国家技术监督局,1994),测定秸秆叶片、叶鞘、茎的粗蛋白质含量。每个样品设 3 个重复。

1.3 纤维素的红外光谱分析

将样品与适量溴化钾(光谱纯)磨细混匀并压片,在傅立叶变换红外光谱仪(尼高丽 360 智能型)

上进行测定。光谱仪扫描波数 4000~450 cm⁻¹,分辨率为 0.5 cm⁻¹,波数精度为 0.01 cm⁻¹。根据测定得到的红外光谱图,按式(1)、(2)计算红外结晶指数(叶君和熊捷,1999):

沃康诺指数($O'KI$) = A_{1429}/A_{893} (1)

纳耳森沃康诺指数($N\cdot O'KI$) = A_{1372}/A_{2900} (2)

式中, A_{1429} 、 A_{893} 、 A_{1372} 、 A_{2900} 分别为红外光谱图中波数为 1429、893、1372、2900 cm⁻¹ 谱带的吸光度。式(1)、(2)为经验公式,没有明确的物理意义,但可用来表征纤维素结晶度的变化。

1.4 纤维素的 X-射线衍射分析

采用菲力普公司生产的 X-射线衍射仪(X'pert Pro MPD, Philip) 对样品进行分析。分析条件:采用 Co 靶,加速电压 40 kV,电流 30 mA,步长 0.013°/2 θ ,扫描速度 2°/min,扫描范围 4.9°~95°。

根据式(3)计算纤维素的结晶度(Esat & Mustafa,2006):

结晶度(CrI) = $[(I_{002} - I_{18.0^\circ})/I_{002}] \times 100$ (3)

式中, I_{002} 为 002 面衍射强度; $I_{18.0^\circ}$ 为衍射角 2 θ = 18.0° 的衍射强度。

1.5 数据统计

采用 Excel 2003 软件进行数据的基本处理;采用 SPSS 软件包中的方差分析过程(ANOVA)对不同水稻品种各化学组分、红外光谱吸收峰相对强度、红外结晶指数以及红外结晶度进行比较。

2 结果与分析

2.1 水稻秸秆化学成分分析

秸秆化学成分可以说明其营养品质,与该水稻品种的营养生理和养分传输积累特性,以及特定的栽培管理与生产水平有关(沈恒胜等,2001b;Ma *et al.*,2001)。转基因水稻转品 1、转品 8 与对照的化学成分见表 1。不同部位的化学成分分析结果表明,秸秆叶片、叶鞘、茎中的粗蛋白含量表现为叶片>叶鞘>茎;纤维素含量为茎>叶鞘>叶片;半纤维素的含量以茎为最低,叶片与叶鞘含量近似。不同品种同一部位的化学成分分析结果显示,在秸秆叶片中,转基因水稻转品 1 和转品 8 与对照的纤维素、木质素及粗蛋白的含量基本相同,七丝软粘的半纤维素含量稍低于转品 1 和转品 8。在秸秆叶鞘中,七丝软粘的半纤维素、纤维素含量比转品 1 和转品 8 稍高,木质素及粗蛋白质的含量差异不大。

在秸秆茎中,半纤维素含量表现为转品 1 (34.6%) > 转品 8 (31.4%) > 七丝软粘 (28.2%) ;纤维素含量则表现为七丝软粘 (33.3%) > 转品 8 (31.5%) > 转品 1 (28.8%) 。试验数据的差异显著性分析表明,虽然不同品种间部分化学成分有所差异,但差异未达到显著水平。

表 1 表达广谱抗真菌蛋白转基因水稻秸秆不同组织部位的化学成分分析
Table 1 The chemical composition of different parts of transgenic rice plants expressing broad-spectrum antifungal proteins

形态学部位 Plant part	品种 Cultivar	化学成分占水稻秸秆干物质的含量 Chemical composition with total dry matter in straw/%			
		半纤维素 Hemicellulose	纤维素 Cellulose	木质素 Lignin	粗蛋白质 Crude protein
叶片 Leaf blade	七丝软粘 Qisiruanzhan	32.7 ± 3.8 Aa	26.9 ± 0.4 Aa	2.6 ± 0.3 Aa	7.9 ± 0.1 Aa
	转品 1 Zhuanpin 1	36.3 ± 4.7 Aa	26.1 ± 1.2 Aa	2.6 ± 0.3 Aa	8.1 ± 0.7 Aa
	转品 8 Zhuanpin 8	37.0 ± 5.4 Aa	26.0 ± 0.9 Aa	2.1 ± 0.3 Aa	8.0 ± 0.8 Aa
叶鞘 Leaf sheath	七丝软粘 Qisiruanzhan	39.4 ± 5.2 Aa	29.8 ± 5.1 Aa	2.1 ± 0.9 Aa	3.1 ± 0.5 Aa
	转品 1 Zhuanpin 1	35.0 ± 1.1 Aa	26.6 ± 0.4 Aa	3.2 ± 1.2 Aa	3.0 ± 0.2 Aa
	转品 8 Zhuanpin 8	34.0 ± 0.9 Aa	26.8 ± 1.0 Aa	2.4 ± 0.2 Aa	3.4 ± 0.2 Aa
茎 Stem	七丝软粘 Qisiruanzhan	28.2 ± 4.0 Aa	33.3 ± 2.8 Aa	2.3 ± 0.5 Aa	2.0 ± 0.1 Aa
	转品 1 Zhuanpin 1	34.6 ± 5.5 Aa	28.8 ± 2.8 Aa	2.8 ± 1.0 Aa	2.0 ± 0.4 Aa
	转品 8 Zhuanpin 8	31.4 ± 1.0 Aa	31.5 ± 1.4 Aa	1.6 ± 0.5 Aa	1.7 ± 0.3 Aa

同列数据后附相同大、小写字母者分别表示在 $P < 0.05$ 、 $P < 0.01$ 水平上差异不显著。
Different small and capital letters in the same row indicate significance levels of $P < 0.01$ and $P < 0.05$ respectively.

2.2 水稻秸秆硅化及其溶解特性分析

沈恒胜等(2001)对稻草硅的吸收、传递、在不同组织部位的分布以及可溶性与不可溶硅的存在形式进行研究,发现品种的嗜硅能力关系着品种的光系统活性和抗病、抗倒伏特性,同时,硅的溶解比率影响秸秆的化学成分和降解效率。表达广谱抗真菌蛋白转基因水稻转品 1 和转品 8 秸秆的总硅含量和硅溶解特性见图 1。分析结果表明,转基因水稻转品 1 和转品 8 与对照的总硅含量和硅溶解率接近,且总硅含量表现为叶片、叶鞘 > 茎,可溶硅和硅溶解率表现为叶片 > 茎、叶鞘。已有研究(胡定金等,1995; Yoshida *et al.*, 1962)显示,秸秆不同组织部位的总硅含量及硅溶解率的改变可能与水稻成熟时硅的传输途径有关,为避免过度蒸腾作用,在叶鞘的外表皮层和叶片的上下表皮层形成了大量不可溶硅质细胞与叶毛。不同品种同一部位的分析结果显示,在叶片中,转基因水稻转品 1 和转品 8 与对照的总硅含量基本相同,硅溶解率稍高于七丝软粘;在叶鞘中,转品 1 和转品 8 的硅溶解率略低于七丝软粘,总硅含量差异不大;茎中的硅溶解率表现为转品 8 (56.5%) 高于七丝软粘 (51.7%) 和

转品 1 (48.9%)。差异显著性分析结果显示,3 个供试水稻品种的总硅及硅溶解率不存在显著差异。

2.3 纤维素的红外光谱特征

秸秆中纤维素的官能团和化学键在红外光谱中的特定频率均已明确,因此,通过红外光谱可以定性和定量分析纤维素中存在的官能团以及它们在转基因水稻及对照中的变化。转基因水稻及对照秸秆纤维素的红外光谱图分析表明,3 个水稻品种秸秆不同部位纤维素的红外吸收峰形状基本相同。

红外光谱图中各吸收峰的相对吸收强度见表 2。其中,波数 3400 cm^{-1} 表征纤维素分子内羟基 O-H 伸缩振动谱带,波数 2900 cm^{-1} 表征纤维素分子间羟基 O-H 伸缩振动的吸收峰,波数 1637 cm^{-1} 表征吸附水的吸收峰,波数 1432 cm^{-1} 表征纤维素 $-\text{CH}_2$ 弯曲振动和剪切振动的吸收峰。波数 1372 cm^{-1} 和 1163 cm^{-1} 分别表征纤维素和半纤维素中 $-\text{CH}$ 弯曲变型振动和 C-O-C 不对称伸缩振动的吸收峰, $1058\sim 1060\text{ cm}^{-1}$ 表征纤维素和半纤维素中 C=O 伸缩振动的吸收峰, 898 cm^{-1} 处为 β -糖苷键振动吸收峰。这些吸收峰强度在转基因水稻及对照间无显著差异,说明转基因水稻与对照秸秆纤维大分子的结构基本一致。

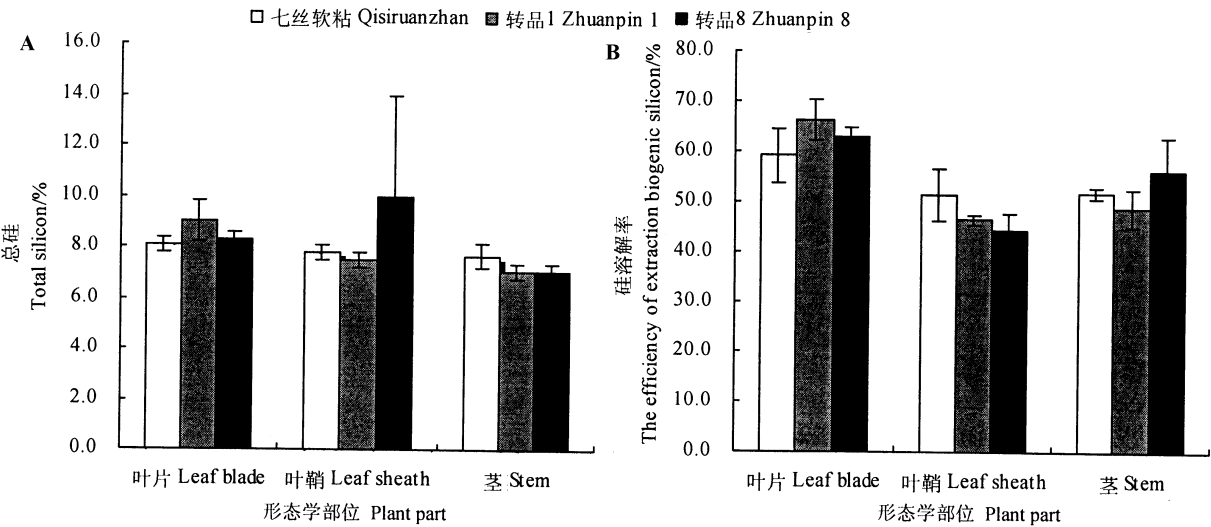


图1 表达广谱抗真菌蛋白转基因水稻秸秆的总硅含量(A)和硅溶解效率(B)
Fig. 1 Mean total silicon content (A) and the efficiency of extraction of biogenic silicon (B) of transgenic vs. non-transgenic rice plants expressing broad-spectrum antifungal proteins

表2 表达广谱抗真菌蛋白转基因水稻秸秆纤维素红外光谱吸收峰相对强度
Table 2 The relative intensity of infrared spectrum absorption peaks of straw cellulose in transgenic rice plants expressing broad-spectrum antifungal proteins

波数 Wave number cm ⁻¹	吸收峰相对强度 Relative intensity of absorption peak								
	叶片 Leaf blade			叶鞘 Leaf sheath			茎 Stem		
	七丝软粘 Qisiruanzhan	转品 1 Zhuanpin 1	转品 8 Zhuanpin 8	七丝软粘 Qisiruanzhan	转品 1 Zhuanpin 1	转品 8 Zhuanpin 8	七丝软粘 Qisiruanzhan	转品 1 Zhuanpin 1	转品 8 Zhuanpin 8
898	1.03 Aa	1.22 Aa	1.14 Aa	1.07 Aa	1.06 Aa	1.18 Aa	1.15 Aa	1.05 Aa	1.06 Aa
1058 ~ 1060	0.88 Aa	0.51 Aa	0.64 Aa	0.79 Aa	0.83 Aa	0.49 Aa	0.76 Aa	0.83 Aa	0.81 Aa
1163	0.96 Aa	0.77 Aa	0.83 Aa	0.90 Aa	0.91 Aa	0.71 Aa	0.91 Aa	0.92 Aa	0.92 Aa
1372	1.00 Aa	1.00 Aa	1.00 Aa	1.00 Aa	1.00 Aa	1.00 Aa	1.00 Aa	1.00 Aa	1.00 Aa
1432	1.01 Aa	1.05 Aa	1.04 Aa	1.01 Aa	1.01 Aa	1.05 Aa	1.02 Aa	1.01 Aa	1.02 Aa
1637	0.97 Aa	0.78 Aa	0.84 Aa	0.97 Aa	0.96 Aa	0.96 Aa	0.98 Aa	0.99 Aa	0.96 Aa
2900	1.04 Aa	1.09 Aa	1.10 Aa	1.04 Aa	1.01 Aa	1.13 Aa	1.02 Aa	1.04 Aa	1.03 Aa
3400	0.98 Aa	0.58 Aa	0.71 Aa	0.82 Aa	0.79 Aa	0.55 Aa	0.76 Aa	0.85 Aa	0.76 Aa

表中数值为相应波数吸收峰的吸光度与 1372 cm⁻¹ 的吸光度之比。同列数字后附相同大、小写字母者分别表示在 $P < 0.05$ 、 $P < 0.01$ 水平上差异不显著。
Values in the table are the proportion of the absorbance of the corresponding wave number absorption peak and 1372 cm⁻¹. The same small and capital letters in the same row indicate no difference at $P < 0.01$ and $P < 0.05$.

2.4 纤维素的 X-射线衍射特征

秸秆中的纤维素是由结晶区和无定形区交错结合的复杂体系。利用 X 射线照射样品,具有结晶结构的物质会发生衍射并形成一定特性的 X-射线衍射图,由此可用来研究纤维素的内部微观结构。转基因水稻及对照秸秆不同组织部位纤维素的 X-射线衍射图见图 2。

从图 2 中可以看出,转基因水稻转品 1 和转品 8 秸秆的 X-射线衍射图与对照基本一致。在 22.0° 和 18.0° 都各有一个主要峰和次要峰,主要峰代表 002 面峰的强度,即结晶区的衍射强度;次要峰代表无定形区的衍射强度 (Masakazu & Yasuhiko,

1996)。由此可知,转基因水稻及对照秸秆不同组织部位的纤维素晶体类型相同,保持着晶区与非晶区共存的状态。

2.5 纤维素的红外结晶指数与结晶度分析

纤维素的结晶度是指纤维素构成的结晶区占纤维素整体的百分率,反映了纤维素聚集时形成结晶的程度,可由红外光谱图与 X-射线衍射图计算得出。何艳峰等 (2007) 采用 $O'KI$ 、 $N \cdot O'KI$ 以及 CrI 研究经碱处理的秸秆,发现其纤维素形态结构发生了变化。由表 3 可以看出,不同品种的组织部位,经红外光谱图计算得到的 $O'KI$ 、 $N \cdot O'KI$,以及经 X-射线衍射图计算得出的 CrI 数值略有不同,但

显著性分析结果表明,不同品种间的结晶指数和纤维素结晶区及无定形区与对照基本一致。晶度不存在显著差异,这说明转品 1 和转品 8 的纤

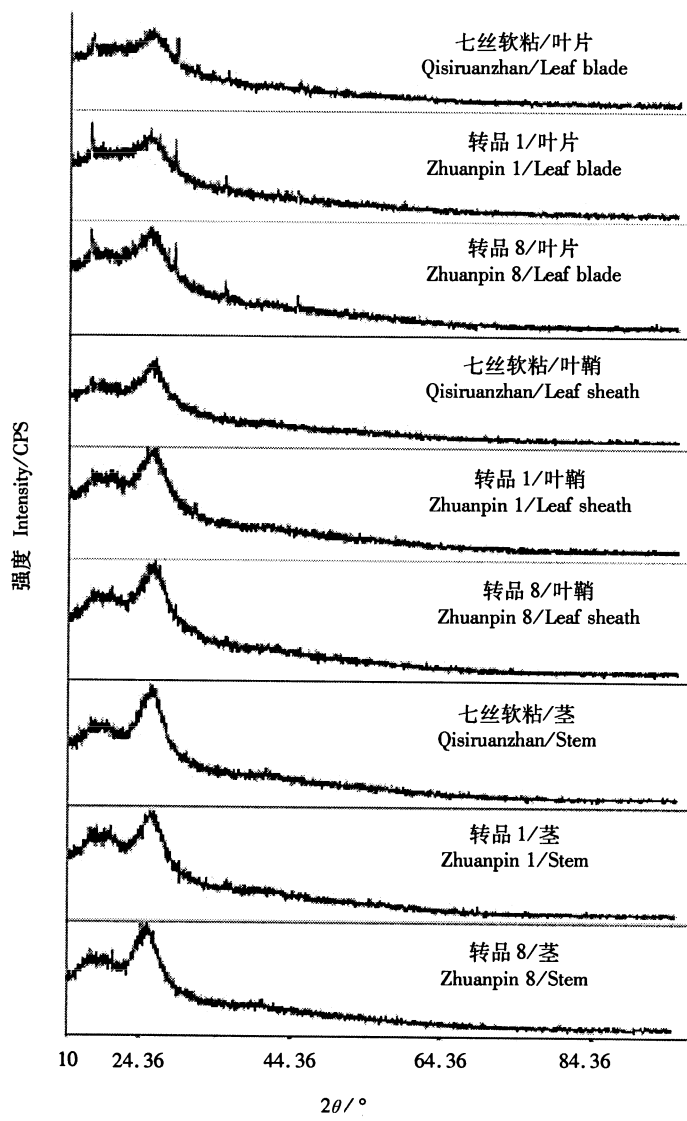


图 2 表达广谱抗真菌蛋白转基因水稻不同组织部位纤维素的 X-射线衍射图
Fig.2 XRD spectra of cellulose in different parts of straw in transgenic (Zhuanpin 1 and 8) rice plants expressing broad-spectrum antifungal proteins vs. non-transgenic equivalent (Qishiruanzhan)

表 3 表达广谱抗真菌蛋白转基因水稻秸秆不同组织部位纤维素的红外结晶指数与结晶度
Table 3 The infrared crystalline indices and crystallinity of cellulose in different parts of straw in transgenic rice plants expressing broad-spectrum antifungal proteins

形态学部位 Morphological part	品种 Variety	<i>O</i> / <i>KI</i>	<i>N</i> • <i>O</i> / <i>KI</i>	<i>CrI</i>
叶片 Leaf blade	七丝软粘 Qisiruanzhan	0.98 Aa	0.96 Aa	30.38 Aa
	转品 1 Zhuanpin 1	0.86 Aa	0.91 Aa	30.48 Aa
	转品 8 Zhuanpin 8	0.90 Aa	0.91 Aa	25.84 Aa
叶鞘 Leaf sheath	七丝软粘 Qisiruanzhan	0.94 Aa	0.96 Aa	35.87 Aa
	转品 1 Zhuanpin 1	0.96 Aa	0.99 Aa	29.14 Aa
	转品 8 Zhuanpin 8	0.87 Aa	0.88 Aa	28.62 Aa
茎 Stem	七丝软粘 Qisiruanzhan	0.88 Aa	0.98 Aa	32.17 Aa
	转品 1 Zhuanpin 1	0.96 Aa	0.96 Aa	22.14 Aa
	转品 8 Zhuanpin 8	0.95 Aa	0.97 Aa	31.94 Aa

同列数字后附相同大、小写字母者分别表示在 $P<0.05$ 、 $P<0.01$ 水平上差异不显著。
The same small and capital letters in the same row indicate no difference at $P<0.01$ and $P<0.05$.

3 讨论

国内外对水稻秸秆营养品质的研究较多,包括对秸秆硅含量的分析(王佳堃等,2008;Wang *et al.*, 2006),但有关转基因与非转基因水稻在化学组成方面是否存在差异的研究甚少。化学成分分析是评估转基因产品的非期望效应的基础,是转基因食品进行安全性评价的重要内容(唐茂芝等,2005)。因此,本研究对转基因水稻秸秆的化学成分和硅化及其溶解特性进行分析,结果显示,表达广谱抗真菌蛋白转基因水稻转品1、转品8与对照没有显著差异。沈恒胜等(2001a)对稻草不同组织部位的纤维组成与硅溶解特性分析后发现,稻草中纤维素含量表现为茎>鞘>叶,总硅和半纤维素的含量以茎为最低,木质素含量则以叶为最高。本研究结果与该结果基本一致。杨秉耀等(2006)和 Belanger *et al.* (1995)认为,水稻的硅质细胞大小和含量与水稻的真菌抗性存在着密切的联系。但本文的研究结果显示,抗真菌转基因水稻品种的总硅及硅溶解率与对照不存在显著差异,说明几丁质酶基因和苜蓿葡聚糖酶基因的导入未引起水稻植株化学成分的明显变化。

纤维素是构成细胞壁的基本物质,约占植物干重的50%,在植物体内起着重要的支撑作用,为水稻生殖生长奠定基础(韦存虚等,2008)。但外源基因的导入是否会使水稻秸秆纤维超微结构和晶体结构产生变化,目前还未见深入报道。本文采用FTIR和XRD方法研究转基因水稻不同部位的纤维素分子结构及晶体结构的变化情况,结果显示,其与对照并没有显著性差异。据此可以认为,广谱抗真菌基因的导入不会对籼稻纤维素分子结构和晶体结构产生明显影响。

对转基因作物植株化学成分的差异分析仅是转基因植物安全性评价的一个方面。要想完善转基因水稻的安全性评价体系,还需对其食用安全性以及对生态环境的影响进行深入研究。

参考文献

董金皋,黄梧芳. 1995. 植物的形态结构与抗病性. 植物病理学报,25(1):1-3.

国家技术监督局. 1994. 中华人民共和国国家标准 GB/T 6432-1994 饲料中粗蛋白测定方法. <http://www.tech-food.com/kndata/1029/0059792.htm>.

何艳峰,李秀金,方文杰,康佳丽. 2007. NaOH 固态预处理对稻草中纤维素结构特性的影响. 可再生能源, 25(5):31-34.

胡定金,谢振翅,王富华. 1995. 水稻硅、锌、锰配施效应. 植物营养与肥料学报,(Z1):3-4,81-88.

彭维,向志明. 2007. 水稻秸秆的纤维素酶水解研究. 四川食品与发酵,43(3):11-15.

沈恒胜,陈君琛,倪德斌. 2001a. 稻草硅化和溶解特性对稻草纤维降解率及其利用的影响. 中国农业科学,34(6):672-678.

沈恒胜,陈君琛,谢华安. 2001b. 汕优 63 稻草营养品质与品种特性的关系. 福建农业学报,16(2):1-5.

唐茂芝,黄昆仑,唐小革,周可,罗云波. 2005. 外源蛋白基因对棉籽营养成分影响的研究. 食品科学,26(11):55-58.

王关林,方宏筠. 2009. 植物基因工程. 北京:科学出版社.

王佳堃,叶丹妮,李文婷,刘建新. 2008. 化学预处理对稻草硅化程度的影响及其对瘤胃降解率的改善效果. 动物营养学报,20(2):170-175.

韦存虚,谢佩松,周卫东,陈义芳,严长杰. 2008. 水稻脆性突变体叶的解剖结构和化学特性. 作物学报,34(8):1417-1423.

杨秉耀,陈新芳,刘向东,郭海斌. 2006. 水稻不同品种叶表面硅质细胞的扫描电镜观察. 电子显微学报,25(2):146-149.

叶君,熊捷. 1999. 超声波处理引起纸浆纤维素结晶度变化. 广东造纸,(2):6-10.

张志忠,吴菁华,吕柳新,林义章. 2005. 植物几丁质酶及其应用研究进展. 福建农林大学学报:自然科学版,34(4):494-499.

Belanger R R, Bowen P A, Ehret D L and Menzies J G. 1995. Soluble silicon its role in crop and disease management of greenhouse crops. *Plant Disease*,79:329-335.

Esat G and Mustafa U. 2006. Dependence of chemical and crystalline structure of alkali sulfite pulp on cooking temperature and time. *Carbohydrate Polymers*,65:461-468.

Ma J F, Miyake Y and Takahashi E. 2001. Silicon as a beneficial element for crop plants//Datnoff L E, Snyder G H and Korndorfer G H. *Silicon in Agriculture*. New York: Elsevier Science,17-39.

Masakazu G and Yasuhiko Y. 1996. Ammoniation of barley straw: effect on cellulose crystallinity and water-holding capacity. *Animal Feed Science Technology*,58:239-247.

Soest P J and Robertson J B. 1985. *Analysis of Forages and Fibrous Food—A Laboratory Manual for Animal Science* 613. New York: Cornell University Press.

Soest P J, Robertson J B and Lewis B A. 1991. Method for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Sciences*,74:3583-3597.

Wang H F, Wu Y M, Liu J X and Qian Q. 2006. Morphological fractions, chemical compositions and *in vitro* gas production of rice straw from wild and brittle culm1 variety harvested at different growth stages. *Animal Feed Science and Technology*,129:159-171.

Yoshida S, Ohnishi Y and Kjttagishi K. 1962. Histochemistry of the rice plant. II. Localisation of silicon within the rice tissues. *Soil Science and Plant Nutrition*,8:36-41.