

# 克螟稻秸秆 *cry 1Ab* 基因表达产物对土壤生物学活性的影响\*

吴伟祥<sup>1</sup> 叶庆富<sup>2</sup> 闵航<sup>1†</sup> 陈华儿<sup>1</sup>

(浙江大学生物科学系, 杭州 310029)

(浙江大学原子核农业科学研究所, 杭州 310029)

**摘要** 通过实验室条件下的秸秆还土试验, 比较了转基因克螟稻及其亲本稻秸秆对土壤各微生物生理群的数量、土壤酶活性以及土壤呼吸强度的影响差异。与亲本对照相比, 转基因克螟稻秸秆的添加对土壤好氧性细菌、放线菌和真菌的数量没有显著性影响; 土壤氨化细菌、自生固氮菌和纤维素降解菌的数量在培养中期有些差异, 但差异并不持续; 对土壤蛋白酶、中性磷酸酶、脲酶和土壤呼吸强度没有显著性影响; 土壤脱氢酶对转基因克螟稻秸秆的添加极其敏感。转基因克螟稻秸秆处理土壤中脱氢酶的活性在培养的前 9 周明显地高于非转基因秸秆处理土壤 ( $p < 0.05$ )。尽管如此, 培养 63 d 后, 两种秸秆处理土壤脱氢酶活性差异逐渐消失。试验结果表明, 转 Bt 基因克螟稻秸秆中的 *cry 1Ab* 蛋白对土壤可培养的微生物没有明显的毒害作用。

**关键词** 转 Bt 基因克螟稻秸秆, *cry 1Ab* 蛋白, 土壤微生物, 土壤酶  
**中图分类号** X172, S154.36, X171

转基因技术的发展, 将外源 Bt 基因导入水稻, 使之产生杀虫活性, 为水稻虫害的防治开辟了全新的途径。然而, 转 Bt 基因作物所表达的外源物质在环境中的释放和积累可能引发环境污染和导致潜在的生态风险等问题<sup>[1, 2]</sup>。美国的 Stotzky<sup>[3, 4]</sup> 和 Donegan<sup>[5]</sup> 研究小组先后对转 Bt 棉花和转 Bt 玉米所产生的杀虫蛋白的环境行为进行了研究。他们发现, 转 Bt 玉米和转 Bt 棉花的表达产物杀虫蛋白能迅速和紧密地与粘土矿物和腐殖酸及土壤表面活性颗粒等结合, 其在土壤中的持留期可达 180 d 以上, 并且仍保留相当高的杀虫活性 (56 (±11.9) % 和 68 (±11.9) %) <sup>[6]</sup>。由于生产实践中水稻的秸秆以及生长发育阶段的残枝败叶等通常“还田”。因此, 水稻转 Bt 基因表达产物可以经秸秆还田和根系分泌等途径, 释放到农田生态系统中。若这些转基因表达产物在环境中积累, 则有可能导致土壤中对植物生长发育和抗病特性相关的有益微生物种群结构和功能甚至土壤肥力负面影响。迄今, 对转 Bt 基因农作物的生态风险性评价研究对象主要集中在转 Bt 玉米、转 Bt 棉花以及转 Bt 马铃薯等旱田作物。至今未见有关转 Bt 基因水稻对土壤微生物及其生物学特性影响的研究报道。

本文以转 Bt 基因克螟稻及其亲本稻秸秆为试材, 通过实验室条件下的秸秆还土试验, 研究了克螟稻转基因表达产物对旱土土壤生物学活性的影响。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料

**1.1.1 供试水稻秸秆及其处理** 试验秸秆来源于转 Bt 基因“克螟稻”RT11 及其亲本水稻(秀水 11)。“克螟稻”RT11 为浙江大学原子核农业科学研究所与加拿大渥太华大学合作采用农杆菌介导法培育而成的第 11 代转 Bt *cry 1Ab* 基因纯合株系<sup>[7]</sup>。经喂虫试验表明, 转基因克螟稻对 8 种鳞翅目害虫具有 100% 的致死率<sup>[8]</sup>。试验用秸秆为收割后的水稻秸秆, 经常温风干, 旋风捣碎器磨碎, 60 目过筛后置 4℃

\* 国家自然科学基金项目(20177021; 30070156)资助

† 通讯作者: minhang@zju.edu.cn

收稿日期: 2002-07-26; 收到修改稿日期: 2002-11-25

冰箱存放备用。其基本理化性状如表 1 所示。

表 1 供试秸秆的基本理化性状  
Table 1 General characteristics of the straws

样品名称 Straws	水解性氮 Available N (g kg <sup>-1</sup> )	速效磷 Available P (g kg <sup>-1</sup> )	速效钾 Available K (g kg <sup>-1</sup> )	全碳 Total carbon (g kg <sup>-1</sup> )	<i>cry1Ab</i> 蛋白 <i>cry1Ab</i> toxin (μg g <sup>-1</sup> )
亲本水稻秸秆	8.0(±0.1)	1.26(±0.04)	9.6(±0.0)	353.7(±3.45)	
克螟稻秸秆	8.9(±0.6)	1.72(±0.05)	4.9(±0.2)	326.8(±3.45)	5.563±0.073

注: 样品用浓 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 消煮, 水解性氮用碱解扩散法, 速效磷用钼锑抗比色法, 速效钾用火焰光度法, 全碳用 K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> 氧化法测定。 *cry1Ab* 蛋白的测定采用 Lateral Flow Quickstix 免疫学分析法(EnviroLogix, Portland, ME)

1.1.2 供试土壤及其处理 供试土壤为具代表性的简约水耕人为土, 采自浙江大学华家池校区实验农场未种植过转基因克螟稻的水稻田耕层土(0~15 cm)。土样经室温风干, 碾碎, 过筛(2 mm) 去杂后置 4℃ 冰箱保存备用。供试土壤基本理化性状为: 有机质 14.1 g kg<sup>-1</sup>, 水解性氮 115.5 mg kg<sup>-1</sup>, 速效磷 25.2 mg kg<sup>-1</sup>, 速效钾 58.5 mg kg<sup>-1</sup>, pH(H<sub>2</sub>O) 为 7.0。

试验设置三个处理, 分别为 5 kg 纯风干土(NS)、含 30 g kg<sup>-1</sup> 克螟稻秸秆(BTS) 的风干土和含 30 g kg<sup>-1</sup> 亲本稻秸秆(NBTS) 的风干土。土样经滚筒充分混匀 30 min, 自来水调节含水量至最大持水量的 60% 后, 分别置于长 30 cm、宽 24 cm、高 12 cm 的盆钵中, 28℃ ± 1℃ 恒温室黑暗条件下培养, 定期测定土壤含水量以维持土壤湿度。采样用 Φ28 mm 无菌玻璃管九点垂直法采集, 经充分混匀后备用。

所有试验均设置 3 次重复。

## 1.2 微生物的培养与计数方法

1.2.1 培养基 细菌计数用牛肉膏蛋白胨培养基, 放线菌计数用高氏培养基, 真菌计数用马丁氏培养基。各培养基及氯化细菌培养基、自生固氮菌培养基、纤维素降解细菌培养基的配制参照文献[9]。

1.2.2 微生物计数方法 土壤好氧性细菌、放线菌和真菌的计数采用固体平板法; 土壤氯化细菌、自生固氮菌和纤维素降解菌的计数采用五管最大或然数法(MPN 法)。

## 1.3 土壤生物学活性的测定

1.3.1 土壤酶活性的测定 脲酶、蛋白酶、磷酸酶和纤维素酶活性的测定参照文献[9], 略作修改; 土壤脱氢酶活性的测定采用 TTC 还原法<sup>[10]</sup>。除土壤脱氢酶活性的测定采用湿土外, 其它土壤酶活性测定均采用风干土。

1.3.2 土壤呼吸强度的测定 土壤呼吸强度的测定采用上海分析仪器厂生产的 102 型气相色谱仪, 热导池检测器检测 CO<sub>2</sub> 的产生量。称取不同处理新鲜土样 10 g 于 100 ml 血清瓶中, 加入 1 ml 0.1 mol L<sup>-1</sup> 的无菌葡萄糖溶液, 混匀。盛有土样的血清瓶经无 CO<sub>2</sub> 空气换气 2 min 后, 用异丁基橡胶塞封住, 置 28℃ ± 1℃ 恒温培养箱中培养 10 h。抽取血清瓶气样, 以标准 CO<sub>2</sub> 作参照气相色谱测定, 外标法计算 CO<sub>2</sub> 的产生量。

## 1.4 数据分析

试验处理间数据的差异性分析采用 DPS 数据处理软件<sup>[11]</sup>中的 Duncan's 新复极差测定方法进行(在 p = 0.05 水平上进行比较)。

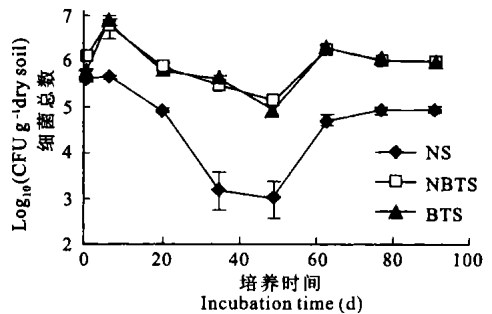


图 1 转基因克螟稻及其亲本稻秸秆还土对土壤好氧性细菌数量影响的差异

Fig. 1 Difference in the CFU of aerobic bacteria between soils amended with BTS and NBTS

## 2 结果

### 2.1 转基因克螟稻秸秆还土对土壤微生物数量的影响

2.1.1 对土壤中好氧性细菌总数的影响 转基因克螟稻及其亲本稻秸秆还土对土壤好氧性细菌总数的影响见图1所示。结果表明,两种水稻秸秆处理土壤好氧性细菌总数没有明显的差异。

2.1.2 对土壤放线菌数量的影响 由图2可见,在整个土壤培养过程中,添加转基因和非转基因水稻秸秆的土壤放线菌数量的变化趋势基本相似;与亲本稻秸秆处理土壤相比,转基因克螟稻秸秆处理土壤放线菌的数量除在培养的第49d明显偏高外,其它培养时期两者之间未见有显著性差异。

2.1.3 对土壤真菌数量的影响 转基因克螟稻和亲本稻秸秆还土对土壤真菌数量影响的差异类似于好氧性细菌。尽管两种秸秆所含的真菌数量明显不同,但在整个培养过程中,两种秸秆处理土壤中的真菌数量之间未呈现有显著性差异(图3)。

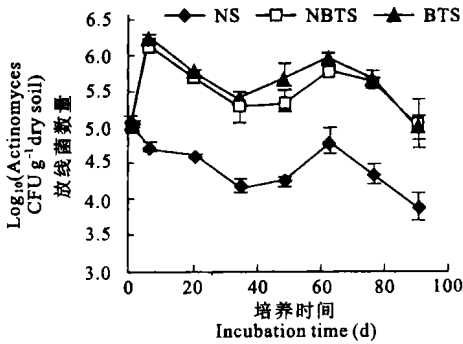


图2 转基因克螟稻及其亲本稻秸秆还土对土壤放线菌数量影响的差异

Fig. 2 Difference in the CFU of actinomycetes between soils amended with BTS and NBTS

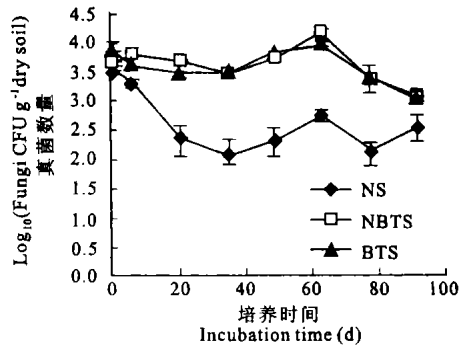


图3 转基因克螟稻及其亲本稻秸秆还土对土壤真菌数量影响的差异

Fig. 3 Difference in the CFU of fungi between soils amended with BTS and NBTS

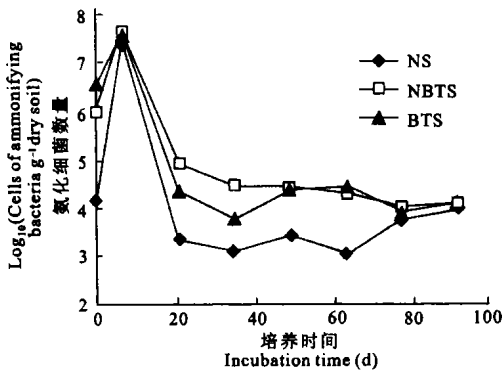


图4 转基因克螟稻及其亲本稻秸秆还土对土壤氨化细菌数量影响的差异

Fig. 4 Difference in the population of ammonifying bacteria in soils amended with BTS and NBTS

2.1.4 对土壤氨化细菌数量的影响 克螟稻秸秆还土对土壤氨化细菌数量影响的测定采用MPN法。与非转基因亲本稻秸秆还土相比,在培养的第21d和第35d,添加转基因克螟稻秸秆的土壤氨化细菌数量明显偏低,仅为非转基因秸秆处理土壤的27.62%和21.18%。但随着培养时间的延长,两种秸秆处理土壤氨化细菌数量的差异逐渐缩小,培养后期数量基本相近(图4)。

2.1.5 对土壤中自生固氮菌数量的影响 两种秸秆处理土壤中自生固氮菌数量的变化见图5所示。在培养的第35d和第49d,转基因克螟稻秸秆处理土壤中自生固氮菌数量明显大于非转基因亲本秸秆对照。但这种显著性差异并不持续,培养后期,两者之间的差异逐渐消失。

2.1.6 对土壤中纤维素降解菌数量的影响 由图6可见,除培养的第35d和第49d,两种秸秆处理土

壤中纤维素降解菌数量略有波动外,其它培养时间取样分析未观察到两者之间纤维素降解菌数量存在明显的差异。

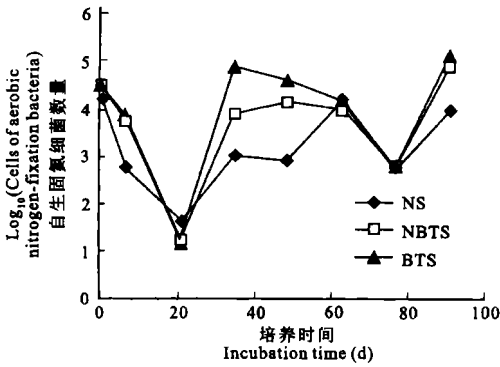


图 5 转基因克螟稻及其亲本稻秸秆还土对土壤固氮细菌数量影响的差异

Fig. 5 Difference in the population of aerobic nitrogen-fixation bacteria between soils amended with BTS and NBTS

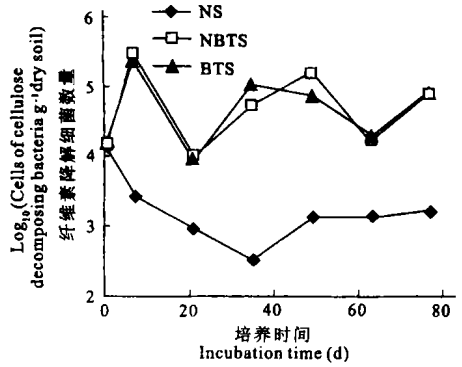


图 6 转基因克螟稻及其亲本稻秸秆还土对土壤纤维素降解菌数量影响的差异

Fig. 6 Difference in the population of cellulose decomposing bacteria between soils amended with BTS and NBTS

### 2.2 转基因克螟稻秸秆还土对土壤酶活性的影响

**2.2.1 对土壤中磷酸酶活性的影响** 土壤中磷酸酶对两种不同来源水稻秸秆的反应见图 7 所示。在整个培养过程中,转基因克螟稻秸秆处理土壤中磷酸酶的活性略高于非转基因亲本稻秸秆处理土壤。尽管如此,两种秸秆处理土壤中磷酸酶活性之间没有产生明显的差异。克螟稻秸秆处理土壤磷酸酶活性总体略高的主要原因可能是由于克螟稻秸秆速效磷含量相对偏高(表 1)所致。

**2.2.2 对土壤蛋白酶活性的影响** 与土壤磷酸酶活性的变化相比,土壤蛋白酶对两种秸秆的添加反应相对较为复杂(图 8)。尽管如此,数据分析表明,转基因克螟稻秸秆还土与非转基因亲本稻秸秆还土对土壤蛋白酶活性的影响不存在显著性差异。

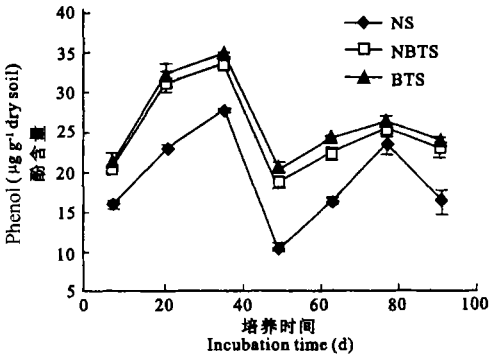


图 7 转基因克螟稻及其亲本稻秸秆还土对土壤磷酸酶活性影响的差异

Fig. 7 Difference in the neutral phosphatase activities between soils amended with BTS and NBTS

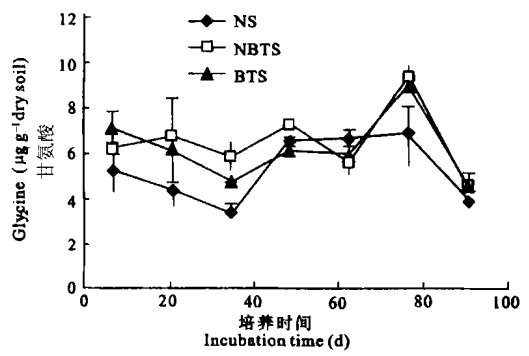


图 8 转基因克螟稻及其亲本稻秸秆还土对土壤蛋白酶活性影响的差异

Fig. 8 Difference in the protease activities between soils amended with BTS and NBTS

**2.2.3 对土壤脲酶活性的影响** 由图 9 可见,除培养的第 42 d 转基因克螟稻秸秆处理土壤中脲酶活性明显高于非转基因对照外,两种秸秆处理土壤中脲酶的活性基本相近,没有显著性差别。

**2.2.4 对土壤脱氢酶活性的影响** 不同于其它酶,土壤脱氢酶对转基因克螟稻和非转基因亲本稻秸秆的添加反应截然不同。由图 10 可见,与亲本稻秸秆相比,在培养的前 9 周,转基因克螟稻秸秆的添加显著促进了土壤脱氢酶的活性( $p < 0.05$ )。脱氢酶活性在培养的第 49 d 达到高峰,此时转基因克螟稻

秸秆处理土壤中脱氢酶的活性高达亲本秸秆处理土壤的 1.77 倍。但随着培养时间的延长,促进作用逐渐减弱,63d 以后两种秸秆处理土壤中脱氢酶活性的显著性差异逐渐消失。

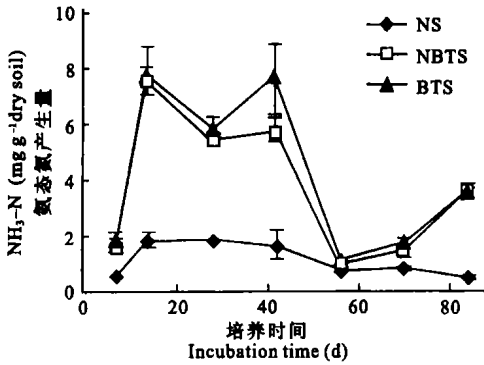


图 9 转基因克螟稻及其亲本稻秸秆还土对土壤脲酶活性影响的差异

Fig. 9 Difference in the urease activities between soils amended with BFS and NBFS

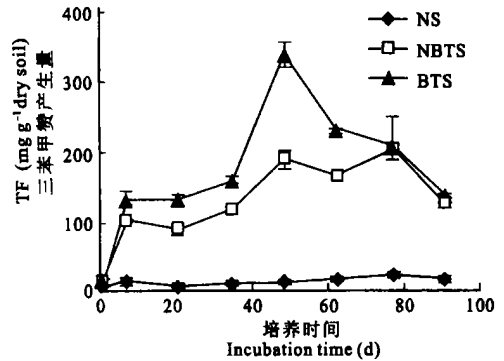


图 10 转基因克螟稻及其亲本稻秸秆还土对土壤脱氢酶活性影响的差异

Fig. 10 Difference in the dehydrogenase activities between soils amended with BFS and NBFS

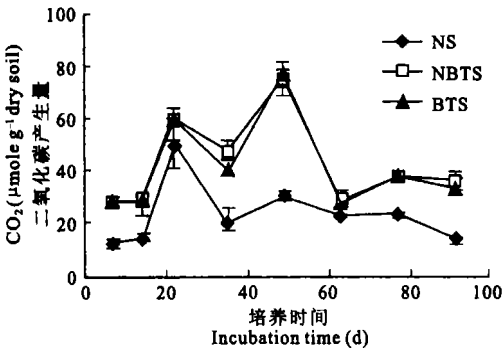


图 11 转基因克螟稻及其亲本稻秸秆还土对土壤呼吸强度影响的差异

Fig. 11 Difference in the respiration activities between soils amended with BFS and NBFS

### 2.3 转基因克螟稻秸秆还土对土壤呼吸强度的影响

转基因克螟稻秸秆还土对土壤呼吸强度的影响结果见图 11。由图可见,除培养的第 35 d 转基因克螟稻秸秆处理土壤的呼吸强度略低于非转基因亲本稻秸秆处理外,其它时间取样分析表明两种秸秆处理土壤的呼吸强度没有显著性差异。

### 3 讨论

土壤微生物分析已被广泛用于各种外源化学物质或环境污染物质(如除草剂、肥料、重金属等)对土壤肥力和农作物产量影响的评价<sup>[12, 13]</sup>。因此,土壤微生物种群数量变化的测定将有助于了解外源转入基因表达产物对土壤微生态的潜在风险性。秸秆还土试验表明,转 *cry 1Ab* 基因克螟稻秸秆与非转基因亲本稻秸秆的添加对土壤细菌、放线菌和真菌数量的影响没有显著性差异。结果与 Saxena<sup>[4]</sup>和 Donegan<sup>[14]</sup>等人的研究报道相似。他们发现,培养 45 d 和 56 d 后,转 Bt 基因玉米或棉花秸秆与相应的非转基因秸秆相比,土壤细菌、放线菌和真菌数量不存在显著性差异。尽管在整个培养过程的某些时段,转 Bt 基因克螟稻秸秆和非转基因亲本稻秸秆对土壤氨化细菌、好氧性自生固氮菌和纤维素降解菌等数量的影响存在一些差异,但这些显著性差异并不持续,随着培养时间的延长,差异逐渐消失。由此可见,克螟稻秸秆中释放的转基因表达产物 Bt 杀虫蛋白对土壤可培养的好氧性微生物没有明显的毒害作用。

土壤酶在土壤营养物质的循环和能量的转移中起关键性作用,其主要来源于土壤微生物的生命活动。大量的研究将土壤酶作为土壤微生物活性和土壤肥力测定的重要指标<sup>[15-17]</sup>。本研究以亲本水稻秸秆为对照,考察了转基因克螟稻秸秆对土壤酶活性的影响。试验结果表明,转 Bt 基因克螟稻秸秆对土壤蛋白酶、中性磷酸酶、脲酶活性和土壤呼吸强度等没有显著性的影响。然而,值得注意的是,在培养的前 9 周,转基因克螟稻秸秆的添加对土壤脱氢酶活性具有显著性促进作用( $p < 0.05$ ) (图 10)。产生这种现象的原因可能是由于外源基因在水稻染色体中的插入引发基因表达的多效性效应,进而引起水稻秸秆化学组成成分的变化所致。由表 1 可见,亲本稻秀水 11 中导入苏云金杆菌杀虫蛋白基因(*cry 1Ab*)

等外源基因后,水稻秸秆中的化学物质含量发生了变化,如秸秆全碳和速效钾含量的下降以及氮和磷含量的上升等。营养基质组成和含量的细微变化可能导致土壤中微生物类群和数量的变化,进而引起土壤脱氢酶活性的显著性差异。

土壤脱氢酶活性通常反映土壤中存活的微生物的总体活性<sup>[18]</sup>,而土壤中可培养的微生物一般只占微生物总量的 0.1%~1% 左右,至多不超过 10%<sup>[19]</sup>。因此,作者认为有必要采用诸如变性梯度凝胶电泳(DGGE)、末端标记的限制性片段长度多态性分析(T-RFLP)以及单链构象多态性(SSCP)分析等分子生态学手段研究转基因表达产物对土壤中难培养微生物种群和数量的影响,以进一步阐明克螟稻秸秆的添加对土壤脱氢酶活性具促进作用的微生物学机理,以及基因表达产物在土壤和微生物中的可能分布与残存。尽管如此,在本试验期间克螟稻秸秆还土对土壤酶活性的影响试验结果可以间接证明,克螟稻转基因表达产物 *cry1Ab* 杀虫蛋白对土壤微生物没有明显的毒害作用。

## 参考文献

1. Losey J E, Rayor L S, Carter M E. Transgenic pollen harms monarch larvae. *Nature*, 1999, 399: 214
2. Wolfenbarger L L, Phifer P R. The ecological risks and benefits of genetically engineered plants. *Science*, 2000, 290: 2 088
3. Tapp H, Stotzky G. Persistence of the insecticidal toxin from *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* in soil. *Soil Biol. Biochem.*, 1998, 30(4): 471~ 476
4. Saxena D, Stotzky G. *Bacillus thuringiensis* (Bt) toxin released from root exudates and biomass of Bt corn has no apparent effect on earthworms, nematodes, protozoa, bacteria, and fungi in soil. *Soil Biol. Biochem.*, 2001, 33: 1 225~ 1 230
5. Dongan K K, Seidler R J. Effects of transgenic plants on soil and plant microorganisms. *Recent Research Development in Microbiology*, 1999, 3: 415~ 424
6. Saxena D, Stotzky G. Bt toxin uptake from soil by plants. *Nature Biotechnology*, 2001, 19: 199
7. 舒庆尧,叶恭银,崔海瑞,等.转基因水稻“克螟稻”选育. *浙江农业大学学报*, 1998, 24(6): 579~ 580
8. Shu Q, Ye G, Cui H, *et al.* Transgenic rice plants with a synthetic *cry 1Ab* gene from *Bacillus thuringiensis* were highly resistant to eight lepidopteran rice pest species. *Molecular Breeding*, 2000, 6: 433~ 439
9. 李阜棣,喻子牛,何绍江. *农业微生物学实验技术*. 北京: 中国农业出版社, 1996, 67~ 137
10. Min H, Ye Y F, Chen Z Y, *et al.* Effects of butachlor on microbial populations and enzyme activities in paddy soil. *J. Environ. Sci. Health B*, 2001, 36(5): 581~ 595
11. 唐启义,冯明光著. *实用统计分析及其计算机处理平台*. 北京: 中国农业出版社, 1997. 48~ 62
12. Brendecke J W, Alexson R D, Pepper I L. Soil microbial activity as an indicator of soil fertility: long-term effects of municipal sewage sludge on an arid soil. *Soil Biology & Biochemistry*, 1993, 25: 751~ 758
13. McGrath S P. Effects of heavy metals from sewage sludge on soil microbes in agricultural ecosystems. *In: Ross S M. ed Toxic Metals in Soil Plant Systems*. New York: Wiley, 1994. 247~ 274
14. Denegan K K, Schaller D L, Stone J K, *et al.* Microbial populations, fungal species diversity and plant pathogen levels in field plots of potato plants expressing the *Bacillus thuringiensis* var. *tenebrionis* endotoxin. *Transgen. Res.*, 1996, 5: 25~ 35
15. Weaver R W, Angle J S, Bottomley P S. *Methods of Soil Analysis. Part 2 Microbiological and Biochemical Properties*, No. 5. *Soil Sci. Soc. Am.*, Madison, 1994
16. Alef K, Nannipieri P. *Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry*. San Diego, CA: Academic Press, 1995
17. Dick R P, Breakwell D P, Turco R F. Soil enzyme activities and biodiversity measurements as integrating microbiological indicators. *In: Doran J W, Jones A J. ed. Methods for Assessing Soil Quality*. Soil Science Society of America, Madison, WI, 1996. 247~ 272
18. Frankenberger Jr. W T, Dick W A. Relationships between enzyme activities and microbial growth and activity indices in soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 1983, 47: 945~ 951
19. Amann R I, Ludwig W, Scheidler K H. Phylogenetic identification and *in situ* detection of individual microbial cells without cultivation. *FEMS Microbiology Review*, 1995, 59: 143~ 269

## EFFECT OF *cry 1Ab* TOXIN RELEASED FROM STRAW OF Bt TRANSGENIC RICE ON MICROFLORA AND ENZYMATIC ACTIVITIES IN UPLAND SOIL

Wu Weixiang<sup>1</sup> Ye Qingfu<sup>2</sup> Min Hang<sup>1</sup> Chen Huier<sup>1</sup>

(1 Department of BioScience, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

(2 Institute of Nuclear Agricultural Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

### Summary

Differences in the population of culturable microorganisms and the enzymatic activities between soils amended with Bt transgenic rice straw and non-Bt transgenic rice straw, respectively, were investigated under laboratory conditions. No significant differences ( $p < 0.05$ ) were observed in CFU (colony forming units) of culturable bacteria, actinomycetes and fungi between the two soils. Although some apparent differences were observed in the populations of ammonifying bacteria, nitrogen-fixing bacteria and cellulose decomposing bacteria in the middle of the incubation, they did not last long. Responses of various soil enzymes to the incorporation of Bt transgenic rice straw and non-Bt transgenic rice straw varied. No significant differences ( $p < 0.05$ ) in protease activities, neutral phosphatase activities, urease activities and respiration activities were found between the soil amended with Bt transgenic rice straw and the soil blended with non-Bt transgenic rice straw. Soil dehydrogenase was more sensitive than the other enzymes to amendment of the Bt transgenic rice straw into soil. Dehydrogenase activities in the soil amended with Bt transgenic rice straw were significantly higher ( $p < 0.05$ ) as compared to those in the soil with non-Bt transgenic rice straw, and the apparent differences in the soil dehydrogenase activities, however, disappeared after incubation for 63 days. Results indicate that the *cry 1Ab* toxin in straws of Bt transgenic rice appears to be toxic to the culturable microorganisms in upland soil.

**Key words** Bt transgenic rice straw, *Cry 1Ab* toxin, Soil culturable microorganisms, Soil enzyme activities