鲢鱼感染嗜水气单胞菌 FAH5 后免疫因子的变化研究

余文杰,谢建华*　(漳州职业技术学院食品工程学院,福建漳州 363000)

摘要　为研究鲢鱼受到嗜水气单胞菌 FAH5 感染后机体免疫因子的变化过程,在健康鲢鱼体内注射嗜水气单胞菌 FAH5,感染后 12~108 h 收集鲢鱼的血液和肝脏,使用分光光度计测定血液铁浓度和载体蛋白浓度,使用 ICP-AES 测定肝脏铁浓度,使用实时荧光定量 PCR 测定铁调素基因 *hepc*20、白细胞介素基因 *il*-1、酪氨酸激酶基因 *jak*1、应激因子基因 *stat*1 的表达量。结果表明,健康鲢鱼受到嗜水气单胞菌 FAH5 感染不同时间后,鲢鱼血液铁浓度出现不同程度的降低,其中 24 和 36 h 时与对照组比较,达到显著差异;血液载铁蛋白浓度与对照组比较,出现不同程度上升,但均未达到显著差异;肝脏铁浓度与对照组比较,出现不同程度上升,但均未达到显著差异。肝脏中 *hepc*20 铁调素基因的表达量在 12 和 24 h 时与对照组比较上升,达到显著差异;肝脏中 *il*-1 白细胞介素基因的表达量在 24 和 36 h 时与对照组比较上升,达到显著差异;肝脏中酪氨酸激酶 *jak*1 基因的表达量在 12 和 24 h 时与对照组比较上升,达到显著差异;肝脏中 *stat*1 应激因子基因的表达量在 12 和 24 h 时与对照组比较上升,达到显著差异。因此,鲢鱼机体通过调节铁调素基因 *hepc*20、白细胞介素基因 *il*-1、酪氨酸激酶基因 *jak*1、应激因子基因 *stat*1 等免疫基因的表达的变化,降低机体游离铁浓度和增加储存铁浓度来应对嗜水气单胞菌 FAH5 的感染。

关键词　鲢鱼;嗜水气单胞菌 FAH5;免疫因子;基因表达
中图分类号　S917.4　　**文献标识码**　A
文章编号　0517-6611(2022)15-0083-04
doi:10.3969/j.issn.0517-6611.2022.15.022
开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Study on Changes of Immune Factors in *Silver carp* Infected with *Aeromonas hydrophila* FAH5

YU Wen-jie, XIE Jian-hua　(College of Food Engineering, Zhangzhou Vocational and Technical College, Zhangzhou, Fujian 363000)

Abstract　In order to study the change process of immune factors of *Silver carp* infected with *Aeromonas hydrophila* FAH5, after injecting *Aeromonas hydrophila* FAH5 into healthy *Silver carp*, the blood and liver of *Silver carp* were collected 12-108 h after infection, the blood iron concentration and blood ferritin concentration were measured by spectrophotometer, and the liver iron concentration was measured by ICP-AES. The expressions of *hepc*20, *il*-1, *jak*1 and *stat*1 were measured by real-time fluorescence quantitative PCR. After healthy *Silver carp* were infected with *Aeromonas hydrophila* FAH5 for different times, the blood iron concentration of *Silver carp* decreased in varying degrees, and there was significant difference compared with the control group at 24 and 36 hours. Compared with the control group, the blood ferritin concentration increased in varying degrees, but there was no significant difference. Compared with the control group, liver iron concentration increased in varying degrees, but there was no significant difference. The expression of *hepc*20 ferritin gene in liver increased significantly compared with the control group at 12 and 24 hours. The expression of *il*-1 interleukin gene in liver increased significantly compared with the control group at 24 and 36 hours; the expression of tyrosine kinase *jak*1 gene in liver increased significantly compared with the control group at 12 and 24 hours; the expression of *stat*1 stress factor gene in liver increased significantly compared with the control group at 12 and 24 hours. Therefore, the *Silver carp* body responds to the infection of *Aeromonas hydrophila* FAH5 by regulating the expression of immune genes such as *hepc*20, *il*-1, *jak*1 and *stat*1, reducing the free iron concentration and increasing the stored iron concentration.

Key words　*Silver carp*; *Aeromonas hydrophila* FAH5; Immune factor; Gene expression

鲢鱼属于鲤形目的鲤科,体侧扁平,腹部大。鲢鱼肉质柔软细腻,富含蛋白质、维生素、矿物质和氨基酸,对人体营养价值较高,特别适合小孩、孕妇食用。鲢鱼作为滤食性淡水生物,食用浮游生物和硅藻及其衍生物、动植物碎屑等。目前福建省漳州地区和漳浦地区形成了较大规模的养殖基地和养殖场。但是养殖场为了获得较大的经济效益,采用高密度养殖和高蛋白饵料投食,使得鲢鱼的水生环境恶化,引起鲢鱼传染性疾病经常暴发,养殖场为了防治这些传染性疾病耗费了大量的人力物力和财力。实验室前期研究发现,这些传染病的源头主要是嗜水气单胞菌 FAH5 的感染[1]。嗜水气单胞菌是隶属于气单胞菌科和气单胞菌属的革兰阴性菌,存在于水体环境中。嗜水气单胞菌会使得水生生物产生气单胞菌败血症和溶血病。嗜水气单胞菌体内存在的溶血素和气溶素会引发寄主细胞破裂,细胞内容物分散出来,最终导致其死亡。鲢鱼血液铁元素可以和蛋白质合成载铁血红蛋白,主要功能是输送氧气和二氧化碳[2]。同样鲢鱼体内铁元素参与免疫系统发挥积极有效作用,可以增加巨噬细胞的杀菌作用。但是铁元素也是病原体的生长元素,使得病原体生长迅速。所以,水产动物鲢鱼可以通过调节铁元素相关基因的表达过程来控制血液铁浓度和载铁蛋白浓度,从而抑制和拮抗外来病原体的生长。铁调素蛋白可以由 *hepc*20 基因表达得到,在鲢鱼肝细胞产生,具有很强的抑菌活性。铁调素蛋白的含量高低与鲢鱼体内的铁元素浓度有密切关系[3]。白细胞介素 *il*-1 由 *il*-1 基因编码,可以调节免疫细胞,有助于激活蛋白酪氨酸激酶和应激因子信号通路,可以增加铁调素基因表达,促进铁调素成熟和发挥生物学功能,达到机体免疫的基本目的[4]。该研究通过检测健康鲢鱼感染嗜水气单胞菌 FAH5 后,分析鲢鱼机体血液铁浓度、血液载铁蛋白浓度和肝脏铁浓度的变化,以及鲢鱼肝脏中 *hepc*20、*il*-1、*jak*1 和 *stat*1 基因表达变化情况,从而探讨溶血性嗜水气单胞菌 FAH5 感染鲢鱼对免疫因子的变化情况,获得水生生物鲢鱼铁元素相关基因和铁元素浓度在感染嗜水气单胞菌 FAH5 过程中的作用机制。

基金项目　国家自然科学基金项目(30900915);福建省科技厅科学研究项目(JK2012012);福建省科技计划项目(2018N2002);福建省中青年教师教育科研项目(JAT191420)。
作者简介　余文杰(1977—),男,福建漳州人,讲师,硕士,从事生物科学的教学及科研工作。*通信作者,副教授,硕士,从事生物化学与应用研究。
收稿日期　2021-09-17

1 材料与方法

1.1 健康鲢鱼的获取 健康鲢鱼从福建省淡水水产研究所鲢鱼养殖基地购买得到,健康鲢鱼幼体外表光亮、整洁、活动灵活、反应灵敏。获得的幼鱼重量是(80±10)g,长度是(18±2)cm。按照试验目的将健康鲢鱼随机分成试验组和对照组,每组设定 3 个平行,每个平行有 50 尾鲢鱼,总共 300 尾。

1.2 嗜水气单胞菌 FAH5 感染样品的收集 将前期分离得到的感染活性嗜水气单胞菌 FAH5 采用琼脂富集培养基进行培养,30 ℃培养 24 h。培养至对数期后,使用 0.65%无菌生理盐水将培养菌稀释成 5.0×10^5 CFU/mL,然后使用一次性注射针吸取 0.1 mL 菌体腹腔注射试验组鲢鱼[5]。对照组鲢鱼腹腔注射 0.1 mL 0.65%无菌生理盐水。试验处理后 12、24、36、48、60、72、84、96 和 108 h 作为试验点,收集每个平行中的 3 尾鲢鱼。收集得到鲢鱼尾部静脉血 0.5~0.6 mL,血液中加肝素钠防止凝集,并保存在 4 ℃冰箱备用。抽血完成后鲢鱼超净工作台中解剖,得到肝脏保存在-80 ℃冰箱中备用。

1.3 血液铁浓度和载铁蛋白浓度的测定 血液铁浓度和载铁蛋白浓度的测定是采用供应商的血液铁浓度和载铁蛋白浓度检测试剂盒(上海瑞楚生物科技有限公司)进行。该试验使用紫外分光光度计(UV-1800,上海清华科学仪器有限公司)对样本进行重复测定 3 次,取其平均值作为试验结果。

1.4 肝脏铁浓度的测定 该试验采用干法消化的技术测定肝脏铁元素浓度[6]。鲢鱼肝脏解冻后,采用无菌生理盐水清洗 3 次,采用滤纸吸干表面水分,并称重,然后放入坩埚中,使用马弗炉 600 ℃灼烧约 5 h,直到样品呈现白色或灰白色。最后自然冷却至室温,灼烧后样品再加入 1∶1的硝酸水溶液 5 mL,电炉消化至沸腾,滤纸过滤消化液后移入容量瓶,使用双蒸水多次冲洗坩埚,滤纸过滤后移入容量瓶,使用双蒸水定容至 50 mL。使用电感耦合等离子体发射光谱仪(ICP-1200,北京吉田仪器有限公司)对样本重复测定 3 次,取其平均值作为试验结果。

1.5 鲢鱼肝脏铁元素相关基因表达的变化 通过 NCBI 数据库设计鲢鱼 *hepc*20 基因 cDNA 序列[7]、*il*-1 基因 cDNA 序列[8]、*jak*1 基因 cDNA 序列和 *stat*1 基因 cDNA 序列引物[9],具体引物序列见表 1。而后采用 RNAiso plus total RNA 提取试剂盒(宝生物工程大连有限公司)获取鲢鱼肝脏总 RNA,反转录制备 cDNA,使用实时荧光定量仪(RTQ-960 pro,艾康生物技术杭州有限公司)对这 4 种基因进行分析。这 4 种基因的相对表达量使用鲢鱼 18S rRNA 基因表达量为对照。QR-PCR 扩增反应溶液:10 倍 PCR 缓冲液 5.0 μL、dNTP 混合液 3.0 μL、正向引物 0.5 μL、反向引物 0.5 μL、cDNA 模板 2.0 μL、*Taq* 酶 0.5 μL,ddH_2O 补足终体积 30.0 μL。QR-PCR 扩增条件:预变性 93 ℃,3 min;90 ℃变性 10 s,55 ℃退火 15 s,72 ℃延伸 30 s,30 个循环;最后 72 ℃延伸 10 min。每个样本进行重复性试验平行检测 3 次。

表 1 鲢鱼肝脏铁元素相关基因 QR-PCR 引物序列

Table 1 QR-PCR primer sequences of iron related genes in *Silver carp* liver

基因 Genes	引物序列(5′-3′) Primers(5′-3′)	退火温度 Annealing temperature//℃	预计扩增片段长度 Estimated length of amplified fragment//bp	NCBI 登录号 Accession Number of NCBI
*hepc*20	GCTACAGCCCGATCCTTACG AGTAGTGTAGTCGATGCGA	59	263	TC528544.3
il-1	ATAGCGTATGCTGATGCGCC GCCAGTCTAGTCGTAGCAAG	55	163	FQ763589.2
*jak*1	CGTCATGCTGATGCTGCAG TGAGAGGGTTCCTGATTGC	57	153	JF146556.5
*stat*4	ATCATCACGCTAGTCGTGTC TCAGCTACTAGTGCTGATGT	65	196	FS236559.4
18S rRNA	CGGAGGTTCGAGACGATCA GGGTCGGGCATCTTTAGATC	62	177	AB860236.1

1.6 统计学方法 所有获得的数据使用 SPSS 18.0 软件进行分析,采用 *t* 检验分析差异显著性[10]。所有数据均表示为平均值±标准差。

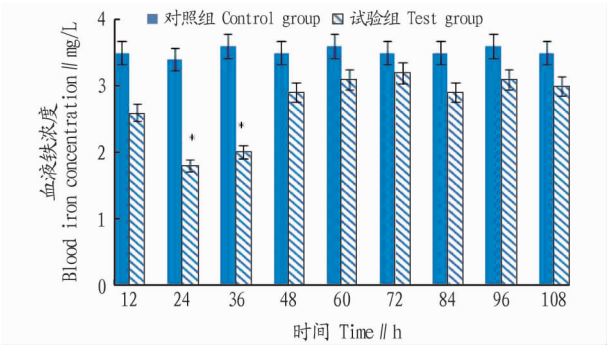
2 结果与分析

2.1 鲢鱼受到嗜水气单胞菌 FAH5 感染后血液铁浓度的变化 鲢鱼受到嗜水气单胞菌 FAH5 感染后 12~108 h 时血液铁浓度的变化情况见图 1。鲢鱼受到嗜水气单胞菌 FAH5 感染后 12~108 h 时,试验组相比较对照组,血液铁浓度均出现降低,其中在 24 和 36 h 时达到显著差异($P<0.05$)。

2.2 鲢鱼受到嗜水气单胞菌 FAH5 感染后血液载铁蛋白浓度的变化 鲢鱼受到嗜水气单胞菌 FAH5 感染后 12~108 h 血液载铁蛋白浓度的变化情况见图 2。鲢鱼受到嗜水气单胞菌 FAH5 感染后 12~108 h 时,试验组相比较对照组,血液载铁蛋白浓度均出现上升,但均未达到显著差异($P>0.05$)。

2.3 鲢鱼受到嗜水气单胞菌 FAH5 感染后肝脏铁浓度的变化 鲢鱼受到嗜水气单胞菌 FAH5 感染后 12~108 h 肝脏铁浓度的变化情况见图 3。鲢鱼受到嗜水气单胞菌 FAH5 感染后 12~108 h 时,试验组相比较对照组,肝脏铁浓度均出现上升,但均未达到显著差异($P>0.05$)。

2.4 鲢鱼受到嗜水气单胞菌 FAH5 感染后肝脏 *hepc*20 基因表达的变化 鲢鱼受到嗜水气单胞菌 FAH5 感染后 12~108 h 肝脏 *hepc*20 基因表达的变化情况见图 4。鲢鱼受到嗜水气单胞菌 FAH5 感染后 12~108 h 时,试验组相比较对照组,肝脏 *hepc*20 基因表达量均出现增加,在 12 和 24 h 时达到显著差异($P<0.05$)。



注：* 表示差异显著（$P<0.05$）

Note：* means significant difference（$P<0.05$）

图 1　鲢鱼受到嗜水气单胞菌 FAH5 感染后 12～108 h 血液铁浓度的变化

Fig. 1　Changes of blood iron concentration in *Silver carp* at 12–108 h after infection with *Aeromonas hydrophila* FAH5

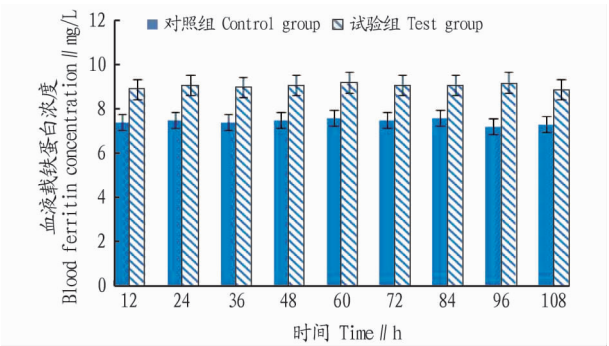


图 2　鲢鱼受到嗜水气单胞菌 FAH5 感染后 12～108 h 血液载铁蛋白浓度的变化

Fig. 2　Changes of blood ferritin concentration in *Silver carp* at 12－108 h after infection with *Aeromonas hydrophila* FAH5

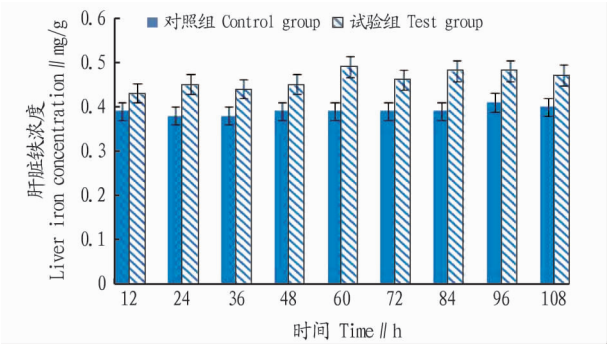
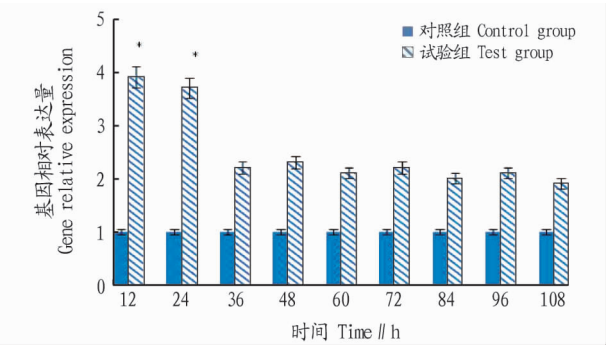


图 3　鲢鱼受到嗜水气单胞菌 FAH5 感染后 12～108 h 肝脏铁浓度的变化

Fig. 3　Changes of liver iron concentration in *Silver carp* at 12–108 h after infection with *Aeromonas hydrophila* FAH5

2.5　鲢鱼受到嗜水气单胞菌 FAH5 感染后肝脏 *il*－1 基因表达的变化　鲢鱼受到嗜水气单胞菌 FAH5 感染后 12～108 h 肝脏 *il*－1 基因表达的变化情况见图 5。鲢鱼受到嗜水气单胞菌 FAH5 感染后 12～108 h 时，试验组相比较对照组，肝脏 *il*－1 基因表达量均出现增加，在 24 和 36 h 时达到显著差异（$P<0.05$）。

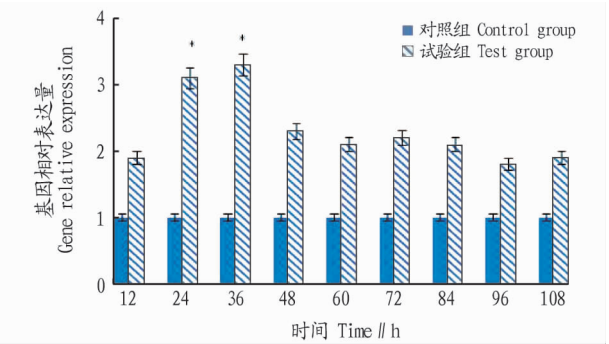


注：* 表示差异显著（$P<0.05$）

Note：* means significant difference（$P<0.05$）

图 4　鲢鱼受到嗜水气单胞菌 FAH5 感染后 12～108 h 肝脏 *hepc*20 基因表达的变化

Fig. 4　Changes of liver *hepc*20 gene expression in *Silver carp* at 12－108 h after infection with *Aeromonas hydrophila* FAH5



注：* 表示差异显著（$P<0.05$）

Note：* means significant difference（$P<0.05$）

图 5　鲢鱼受到嗜水气单胞菌 FAH5 感染后 12～108 h 肝脏 *il*-1 基因表达的变化

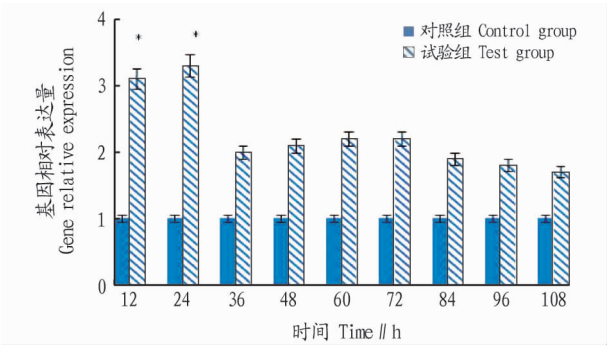
Fig. 5　Changes of liver *il*-1 gene expression in *Silver carp* at 12–108 h after infection with *Aeromonas hydrophila* FAH5

2.6　鲢鱼受到嗜水气单胞菌 FAH5 感染后肝脏 *jak*1 基因表达的变化　鲢鱼受到嗜水气单胞菌 FAH5 感染后 12～108 h 肝脏 *jak*1 基因表达的变化情况见图 6。鲢鱼受到嗜水气单胞菌 FAH5 感染后 12～108 h 时，试验组相比较对照组，肝脏 *jak*1 基因表达量均出现增加，在 12 和 24 h 时达到显著差异（$P<0.05$）。

2.7　鲢鱼受到嗜水气单胞菌 FAH5 感染后肝脏 *stat*1 基因表达的变化　鲢鱼受到嗜水气单胞菌 FAH5 感染后 12～108 h 肝脏 *stat*1 基因表达的变化情况见图 7。鲢鱼受到嗜水气单胞菌 FAH5 感染后 12～108 h 时，试验组相比较对照组，肝脏 *stat*1 基因表达量均出现增加，在 12 和 24 h 时达到显著差异（$P<0.05$）。

3　讨论

鲢鱼体内的铁元素可以合成机体多种活性酶，发挥免疫学功能，增加巨噬细胞的杀菌能力。同时会生成铁合血红蛋白，功能是输送氧气和二氧化碳。与此同时，铁元素作为病原体生长必需元素，可以增加其生长速度和生长数量。病原体和鲢鱼水生生物存在相互竞争关系，使得鲢鱼铁元素相关

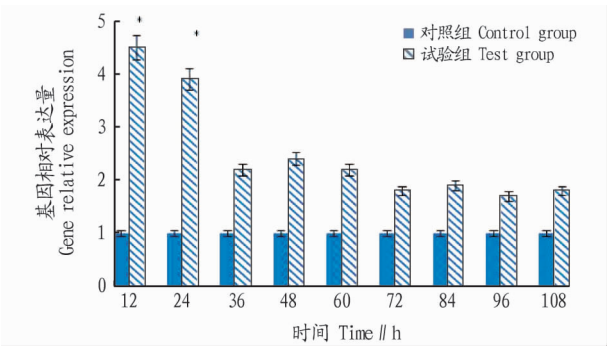


注：* 表示差异显著（$P<0.05$）

Note：* means significant difference（$P<0.05$）

图 6 鲢鱼受到嗜水气单胞菌 FAH5 感染后 12~108 h 肝脏 *jak*1 基因表达的变化

Fig. 6 Changes of liver *jak*1 gene expression in *Silver carp* at 12-108 h after infection with *Aeromonas hydrophila* FAH5



注：* 表示差异显著（$P<0.05$）

Note：* means significant difference（$P<0.05$）

图 7 鲢鱼受到嗜水气单胞菌 FAH5 感染后 12~108 h 肝脏 *stat*1 基因表达的变化

Fig. 7 Changes of liver *stat*1 gene expression in *Silver carp* at 12-108 h after infection with *Aeromonas hydrophila* FAH5

基因产生积极调节，可以减少体内血液铁浓度，增加血液载铁蛋白浓度，进而可以减少病原体的生长速度和生长数量，降低病原体的危害程度。该研究开展了鲢鱼血液铁浓度和血液载铁蛋白浓度的比较试验，鲢鱼在受到嗜水气单胞菌 FAH5 感染后，鲢鱼血液铁浓度开始减少，24、36 h 时达到显著差异；鲢鱼肝脏铁浓度出现上升，但是均未达到显著差异。说明鲢鱼受到病原体感染后，通过自身免疫调节，降低机体铁元素循环，进而抑制病原体的生长。鲢鱼受到病原体感染后，血液载铁蛋白浓度出现上升，但均未达到显著差异。血液铁浓度和载铁蛋白浓度的比值会出现明显下降，从而减少嗜水气单胞菌 FAH5 生长所需的铁元素，自然就会降低病原体的生长速度和生长数量。

鲢鱼体内存在铁元素代谢相关基因，鲢鱼受到嗜水气单胞菌 FAH5 感染后，机体内肝脏组织的 *hepc*20、*il*-1、*jak*1 和 *stat*1 基因表达量出现明显上升，证实相关基因有助于提升鲢鱼机体免疫反应，达到免疫调节的目的，进而调节机体内的铁元素浓度。*Hepc*20 铁调素基因的表达产物抑制肠道铁元素的吸收，抑制肝脏铁元素的释放，增加血液载铁蛋白浓度，进而降低血液铁浓度。众多研究也证实了这个现象，鲫鱼受到嗜水气单胞菌感染后，肝脏、脾脏、鳃体组织器官的 *hepc*20 基因的表达量会出现明显上升；草鱼受到链球菌感染后，肝脏组织 *hepc*20 基因转录产生的 mRNA 水平会出现明显上升；鳗鱼受到鳗利斯顿氏菌感染后，肝脏组织 *hepc*20 基因表达量会出现明显上升[11-13]。该研究结果与前人基本一致，*hepc*20 基因在受到嗜水气单胞菌 FAH5 感染后，表达量出现上升，12、24 h 时具有显著差异。鲢鱼受到嗜水气单胞菌 FAH5 感染后，免疫细胞也会通过调控 *il*-1 基因表达量，合成和分泌白细胞介素 *il*-1，感染程度与其浓度关系紧密。白细胞介素 *il*-1 通过免疫反应过程调控 *hepc*20 基因的表达量，也会调节鲢鱼铁元素浓度。*il*-1 白细胞介素结合免疫因子受体后可以调控 *jak*1 基因，从而可以调控 *stat*1 基因，最后调节 *hepc*20 基因的表达量。该研究结果发现，鲢鱼受到嗜水气单胞菌 FAH5 感染后，肝脏组织 *il*-1 基因表达量出现上升，24、36 h 时达到显著差异（$P<0.05$）。肝脏组织 *jak*1 基因的表达量出现上升，12、24 h 时达到显著差异（$P<0.05$）。肝脏组织 *stat*1 基因的表达量出现上升，12、24 h 时达到显著差异（$P<0.05$）。这些研究结果证实，鲢鱼受到嗜水气单胞菌 FAH5 感染后，其机体会快速产生免疫反应，*il*-1 基因的表达影响到 *jak*1 和 *stat*1 基因的表达，然后影响到 *hepc*20 基因的表达量，从而调节水生生物铁元素浓度，使得病原体生长速度和生长数量降低，降低其危害程度。

4 结论

健康鲢鱼受到嗜水气单胞菌 FAH5 感染不同时间后，鲢鱼血液铁浓度出现不同程度的降低，其中 24 和 36 h 时与对照组比较，达到显著差异；血液载铁蛋白浓度与对照组比较，出现不同程度上升，但均未达到显著差异；肝脏铁浓度与对照组比较，出现不同程度上升，但均未达到显著差异。肝脏中 *hepc*20 铁调素基因的表达量均出现增加，在 12 和 24 h 时与对照组比较达到显著差异；肝脏中 *il*-1 白细胞介素基因的表达量均出现增加，在 24 和 36 h 时与对照组比较达到显著差异；肝脏中酪氨酸激酶 *jak*1 基因的表达量均出现增加，在 12 和 24 h 时与对照组比较达到显著差异；肝脏中 *stat*1 应激因子基因的表达量均出现增加，在 12 和 24 h 时与对照组比较达到显著差异。因此，鲢鱼机体通过调节铁调素基因 *hepc*20、白细胞介素基因 *il*-1、酪氨酸激酶基因 *jak*1、应激因子基因 *stat*1 等免疫基因的表达的变化，降低机体游离铁浓度和增加储存铁浓度来应对嗜水气单胞菌 FAH5 的感染。

参考文献

[1] 余文杰，陈观水. 鲤鱼源嗜水气单胞菌 FAH5 分离鉴定及其对寄主感染的解剖病理学研究[J]. 西南农业学报，2017，30(10)：2388-2392.

[2] 王远微，汤承，于学辉，等. 三重 PCR 检测鱼类致病性嗜水气单胞菌（*Aeromonas hydrophila*）[J]. 微生物学报，2008，48(7)：947-951.

[3] ZHU X，LI Y L，CHEN D X，et al. Selection of reference genes for microRNA quantitative expression analysis in Chinese perch，*Siniperca chuatsi* [J]. International journal of molecular sciences，2015，16(4)：8310-8323.

[4] FAN X J，LIU X L，HUANG R，et al. Identification and characterization of a novel thermostable pyrethroid-hydrolyzing enzyme isolated through metagenomic approach[J]. Microbial cell factories，2012，11：33-43.

（下转第 101 页）

国古树名木资源丰富,由于保护措施不力、自然和人为破坏等原因,许多古树名木生长势衰弱甚至濒临死亡,亟待加强养护。因此,应建立古树名木的养护制度,加强日常养护和专业养护。按照古树名木的权属和生长位置确定日常养护的责任单位和个人,明确日常养护责任。科学划定古树名木的保护范围,设立护栏等保护标识标志,科学修复受损的树干,避免因保护措施不当造成对古树名木的破坏。针对重大自然灾害、病虫害、人为破坏造成的古树名木生长异常,由县级古树名木保护行政主管部门组织专业技术人员开展专业养护,及时消除危害。建立古树名木养护投入机制,将专业养护资金纳入政府财政预算,针对个人和单位开展日常养护并给予补助。科学制订养护复壮技术标准,针对不同保护等级、不同生长势的古树名木采取针对性的养护措施。

4.3　价值评估制度　古树名木具有丰富的价值内涵,同时古树名木作为一种稀缺的自然和文化资源,具有生态产品和公共产品的属性,保护古树名木具有典型的"正外部性"。资源的稀缺性和保护古树名木所付出的人类劳动决定了自然资源和生态环境转化为生态资本,有偿使用及为古树名木资源付费是实现古树名木价值的有效途径。因此,应当建立古树名木的价值评估制度,科学评价古树名木的综合价值,既提升公众对古树名木价值重要性的认知,强化全社会保护古树名木的意识,又为科学制定古树名木生态补偿制度及打击各类破坏古树名木的行为提供了科学依据。要建立科学的价值评估体系,构建涵盖古树名木多种价值的评估指标体系,同时综合考虑树种的稀缺性、管理养护成本、地区经济差异等因素,形成科学合理的价值评估体系。要加强古树名木价值评估的应用,推动古树名木价值评估在实现其所有者经营权益,制定古树名木保护生态补偿标准及破坏古树名木行为的处罚等领域的应用。

4.4　生态保护补偿制度　建立古树名木生态保护补偿制度是保护古树名木的价值及其所有者权益,也是促进古树名木保护事业健康发展的重要措施。按照国务院办公厅《关于健全生态保护补偿机制的意见》(国办发〔2016〕31 号)要求,积极探索建立古树名木生态保护补偿制度[12]。明确古树名木生态保护补偿的主体和客体,科学界定古树名木所有者和管护人的权利与义务,结合古树名木的价值、保护投入、因保护古树名木而损失的机会成本等因素,科学确定补偿标准。建立古树名木保护生态补偿专项资金,明确中央和地方政府在古树名木保护中的事权和支出责任,加大中央财政对古树名木保护重点区域的转移支付力度。

4.5　社会参与制度　古树名木保护是一项公益型的社会事业,需要社会公众的广泛参与。在建立各级政府对区域内古树名木保护负主体责任的同时,要建立社会参与制度,广泛吸纳公益组织、社会公众参与到古树名木保护事业中。鼓励社会各界、个人通过募捐、认养等形式募集资金,资助古树名木保护事业,募捐、认养古树名木的,可以折抵义务植树任务。鼓励社会组织和个人对破坏古树名木的违法行为进行举报,古树名木保护部门应当建立举报的渠道,并及时受理。在古树名木保护政策制定以及涉及社会公众利益的政策时,通过公示信息、举办听证会、座谈会等形式,广泛吸纳公众意见,保障人民在社会治理中的知情权、参与权、表达权和监督权。

参考文献

[1] 全国绿化委员会. 全国绿化委员会关于进一步加强古树名木保护管理的意见[J]. 国土绿化,2016(2):8-10.
[2] 新华社. 中共中央国务院关于加快推进生态文明建设的意见[J]. 中华人民共和国国务院公报,2015(14):5-14.
[3] 新华社. 中共中央 国务院关于实施乡村振兴战略的意见[J]. 中华人民共和国国务院公报,2018(5):4-16.
[4] 中华人民共和国环境保护法[J]. 中华人民共和国全国人民代表大会常务委员会公报,2014(3):332-339.
[5] 中华人民共和国森林法[J]. 中华人民共和国全国人民代表大会常务委员会公报,2020(1):72-81.
[6] 四位院士、十位教授联名呼吁 加强古树名木保护刻不容缓[J]. 中国林业产业,2014(6):68-70.
[7] 陈俊愉,张秀英,周道瑛,等. 西安城市及郊野绿化树种的调查研究[J]. 北京林学院学报,1982(2):93-128.
[8] 卢炯林. 河南古树名木的调查研究[J]. 河南农学院学报,1983(2):79-87.
[9] 李振南. 雁荡山名木古树资源及开发利用[J]. 浙江林学院学报,1990,7(1):39-42.
[10] 杨淑艳. 全国绿化委员会办公室主要职责[J]. 国土绿化,1999(2):45.
[11] 董冬. 九华山风景区古树名木景观美学评价与保护价值评估[D]. 武汉:华中农业大学,2011.
[12] 王枫,秦仲,陈幸良. 古树名木保护地方立法评析与建议[J]. 资源开发与市场,2021,37(1):51-55.
[13] 吕忠梅. 新时代中国环境资源司法面临的新机遇新挑战[J]. 环境保护,2018,46(1):8-12.

(上接第 86 页)

[5] SHRESTHA A,CHITSIKE L,FU R Q,et al. Structure-function relationship studies of piscidin 1 bound to model tumor cell membranes[J]. Biophysical journal,2013,104:238-239.
[6] NIU S F,JIN Y,XU X,et al. Characterization of a novel piscidin-like antimicrobial peptide from *Pseudosciaena crocea* and its immune response to *Cryptocaryon irritans*[J]. Fish shellfish immunol,2013,35(2):513-524.
[7] CERMAK T,DOYLE E L,CHRISTIAN M,et al. Efficient design and assembly of custom TALEN and other TAL effector-based constructs for DNA targeting[J]. Nucleic acids research,2011,39(12):1-11.
[8] 郭松林,关瑞章,柳佩娟. 双重 PCR 法快速检测欧鳗鲡嗜水气单胞菌[J]. 集美大学学报(自然科学版),2007,12(4):294-300.
[9] CAO Y,YU R Q,LIU Y,et al. Design,recombinant expression,and antibacterial activity of the cecropins-melittin hybrid antimicrobial peptides [J]. Current microbiology,2010,61(3):169-175.
[10] WEI T,FENG S X,SHEN Y L,et al. Characterization of a novel thermophilic pyrethroid-hydrolyzing carboxylesterase from *Sulfolobus tokodaii* into a new family[J]. Journal of molecular catalysis B:Enzymatic,2013,97:225-232.
[11] YANG Z H,JI G D. Enantioselective degradation mechanism of beta-Cypermethrin in soil from the perspective of functional genes[J]. Chirality,2015,27(12):929-935.
[12] ZHOU R X,MENG T,MENG H B,et al. Selection of reference genes in transcription analysis of gene expression of the Mandarin fish,*Siniperca chuatsi*[J]. Zoological research,2010,31(2):141-146.
[13] ALQARNI B,COLLEY B,KLEBENSBERGER J,et al. Expression stability of 13 housekeeping genes during carbon starvation of *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Journal of microbiological methods,2016,127:182-187.