

陈 心,马 蓉,张 艺,等. 2 种海洋弧菌的鉴定及人工感染大黄鱼病理分析[J]. 江苏农业科学,2014,42(11):251-253,478.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2014.11.090

## 2 种海洋弧菌的鉴定及人工感染大黄鱼病理分析

陈 心<sup>1</sup>, 马 蓉<sup>1</sup>, 张 艺<sup>2</sup>, 石志祥<sup>1</sup>

(1. 南通大学生命科学学院/南通大学海洋学院, 江苏南通 226019; 2. 福建省宁德市水产技术推广站, 福建宁德 352100)

**摘要:**从形态学、生化特性、分子生物学水平对 2 种海洋弧菌进行菌种鉴定,将这 2 株菌制作成混合菌液,对大黄鱼进行攻毒试验。对 2 菌株 16S rDNA 进行 PCR 扩增,产物长度分别为 1 389、1 477 bp。利用 BLAST 进行比对,结果显示菌株 090625 的序列与哈维氏弧菌的同源性高达 99%;而菌株 070925 的序列与副溶血弧菌同源性高达 99%。攻毒试验发现,大黄鱼体亲鱼表皮下出血和肝脏、脾脏等组织都出现了典型的弧菌感染病症,大黄鱼幼鱼则未出现感染现象。菌株 090625 为哈维氏弧菌,菌株 070925 为副溶血弧菌。大黄鱼亲鱼比幼鱼更容易感染细菌。

**关键词:**菌种鉴定;哈维氏弧菌;副溶血弧菌;大黄鱼

**中图分类号:**S944 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2014)11-0251-03

随着海水养殖业的蓬勃发展特别是高密度养殖模式的推广,养殖生物的细菌性疾病发生频率和发病范围逐渐增大。据调查,在细菌性疾病中,弧菌属细菌引起的疾病占很大比例。弧菌属细菌广泛存在于沿岸海水<sup>[1]</sup>、沉积物、海洋动物体中,被认为是海水鱼、虾、蟹类的一种常见致病菌<sup>[2-4]</sup>。大黄鱼(*Pseudosciaena crocea*)隶属于鲈形目(Perciformes)石首鱼科(Sciaenidae),主要分布于中国、朝鲜沿海水域,为我国主要海产经济鱼类之一<sup>[3]</sup>。随着大黄鱼亲鱼培育和人工育苗等关键技术的突破,以及人工养殖技术的不断提高,大黄鱼养殖产业得到迅猛发展。但由于养殖规模扩大等原因,各种病害发生也日益频繁,尤其是细菌性疾病严重威胁着大黄鱼养殖业的健康发展<sup>[5-7]</sup>。本研究从患病中华乌塘鳢(*Bostyrchus sinensis*)内分离出致病菌,对大黄鱼进行人工感染,观察病症发生情况,旨在为大黄鱼临床诊断、致病机理研究奠定基础。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料

- 1.1.1 菌株来源 2 种海洋弧菌从患病中华乌塘鳢中分离。
- 1.1.2 供试材料 健康大黄鱼(均质量 0.5 kg)购自福建省宁德市养殖网箱;患病中华乌塘鳢(均质量 0.5 kg)由福建省东山县鑫宇海水养殖场提供;健康褐菖鲉(*Sebastiscus marmoratus*, 平均质量 0.5 kg)购自福建省厦门市大学路水产市场。
- 1.1.3 试剂 蛋白胨(tryptone, LP0042)、酵母提取物(yeast extract, LP0042)、TCBS 培养基均购自英国 Oxoid 公司;RNA-later 购自北京 Bioteke 公司;ExTaq DNA 聚合酶购自宝生物工程(大连)有限公司。其他试剂均为进口或国产分析纯。
- 1.1.4 仪器设备 自动微生物检测系统(AMS)VITEK JR 和自动微生物检测系统革兰氏阴性菌种鉴定卡为法国生物梅

里埃公司产品;9 700 型 PCR 仪为美国 PE 公司产品;水平电泳槽为北京六一仪器厂产品;恒温培养箱为太仓市华美生化仪器厂产品;HVE-50 型全自动高压灭菌锅为日本 Hirayama 公司产品;AFX-1002-P 型艾科浦超纯水系统为台湾颐洋企业发展有限公司产品;血小板计数器为浙江玉环县求精医用仪器厂产品。

#### 1.2 方法

1.2.1 菌株分离 用 1.5% 无菌生理盐水反复清洗患病中华乌塘鳢体表。用 75% 乙醇拭擦体表,对取样部位进行消毒。用无菌接种环分别穿刺体表溃烂部位组织,取少量样品在 TCBS 培养基上划线,30 ℃ 培养 1 d。挑取优势菌落在 TCBS 培养基平板划线分离数次,直至获得纯培养物菌株 1、菌株 2。

1.2.2 回归感染 取 15 尾健康褐菖鲉置于水箱中,28 ℃ 海水充气暂养 2 d,每天换水 1/2。暂养无异常后用于回归感染,将其中 10 尾鱼分为 A、B 2 个试验组,另外 5 尾为对照组。用血小板计数法对菌株 1、菌株 2 进行计数;用无菌生理盐水分别将菌株 1、菌株 2 稀释,制成菌悬液 1、菌悬液 2,浓度均为  $1 \times 10^{10}$  CFU/mL。A 组:每尾鱼腹腔注射 0.2 mL 菌悬液 1;B 组:每尾鱼注射 0.2 mL 菌悬液 2;对照组:每尾鱼注射 0.2 mL 灭菌生理盐水。观察、记录试验鱼发病及死亡情况。

1.2.3 菌株再次分离 取回归感染试验组中出现病灶的褐菖鲉体表溃烂部位样品,在 TCBS 培养基和 LB 培养基平板上划线分离数次,直至得到纯化菌株。

#### 1.2.4 菌株鉴定

1.2.4.1 形态学观察 利用肉眼直接观察细菌菌落的外部形态。

1.2.4.2 生化特性鉴定 从分离菌株中取单菌落,利用自动微生物检测仪 VITEK JR 的 GNI 鉴定卡进行生理生化鉴定,再分离菌株经自动微生物检测仪 GNI 鉴定卡,检测 30 个生化检测项目。

1.2.4.3 分子生物学方法鉴定 将单菌落用 dd H<sub>2</sub>O 溶解,用作 PCR 反应的模板。以 16S rRNA 的保守区设计引物,进行 PCR 扩增,其中正向引物为 16S-F(ATCGAACGCTGGCG-

收稿日期:2014-01-22

基金项目:江苏省高校自然科学研究面上项目(编号:12KJD240001);南通大学人才引进项目(编号:12R078)。

作者简介:陈 心(1979—),女,江苏海门人,博士,讲师,主要从事海洋生物学研究。E-mail:chenxin\_790523@163.com。

GCAGGC),反向引物为 16S - R (TCACCCAGTCATGAAC)。PCR 扩增反应体系:10 × *exTaq* buffer 5 μL,*exTaq* DNA 聚合酶 0.25 μL(1.25 U),dNTP 4 μL(各 2.5 mmol),模板 DNA 2 μL(约0.5 μg),引物 1(16S - R) 1 μL(10 μmol),引物 2(16S - F) 1 μL(10 μmol),加灭菌去离子水补足体积至 20 μL。反应程序:95 ℃ 预变性 5 min;95 ℃ 变性 1 min,55 ℃ 退火 45 s,72 ℃ 延伸 90 s,30 个循环;72 ℃ 终延伸 7 min。接着进行电泳检测。将 5 μL 样品和 2 μL 6 × 上样缓冲液混合,加入点样孔进行电泳。电压为 120 V,约 30 min。电泳结束后,将琼脂糖胶放入紫外灯下观察。回收有目的条带的样品。配制 1% TAE 琼脂糖胶进行产品回收。PCR 产物检测、测序。

1.2.5 攻毒材料的制备 将鉴定出的 2 种菌株涂布于 LB 培养基,30 ℃ 培养 16 h。用 1.5 % 生理盐水溶解菌株,2 种菌株在生理盐水中的最终浓度为 1 × 10<sup>8</sup> CFU/mL。采用哈维氏弧菌和副溶血弧菌的混合菌悬液为攻毒材料,比例为 3 : 1。

1.2.6 攻毒试验 将大黄鱼(均质量 400 g)分别置于约 25 ℃ 的海水中暂养 2 d。分为 1 个试验组、1 个对照组,每组 4 尾鱼。加入 1 ~ 2 滴丁香酚于水桶中麻醉试验用鱼。对试验组注射混合菌液,注射剂量为 1 mL/kg;对照组注射同等剂量的生理盐水。随时观察攻毒组和对对照组鱼体的活动情况,并及时进行记录和拍照。

2 结果与分析

2.1 病原菌的获取

采用无菌操作挑取样品,细菌分离培养等方法,从福建省东山县鑫宇海水养殖场患病中华乌塘鳢皮肤溃烂的病灶部位分离得到 2 种病原菌。2 种菌株在 TCBS 平板上的菌落基本为黄色,圆形,隆起,边缘整齐,不透明,其中 1 种较为黏稠。

2.2 回归感染结果

回归感染 3 d 后,A 组褐菖鲉全部死亡,B 组有 3 尾褐菖鲉死亡。死亡褐菖鲉肝脏和鳃的颜色发白,胆囊肿大,有的个体尾鳍和臀鳍边缘出现轻微溃疡。未死亡的试验鱼对外界刺激反应迟钝,鳍出血,体表病变的部位有暗红色瘀血,鳞片脱落,皮肤出现溃烂,表现出典型的弧菌病病症。对照组褐菖鲉表现正常。从患病褐菖鲉重新分离纯化感染菌株,进行生化和分子生物学鉴定。

2.3 病原菌鉴定

2.3.1 菌落外部形态鉴定 回归感染后再分离获得的菌株,在 TCBS 平板上 98% 以上的优势菌落基本为黄色,菌落均为圆形、隆起、边缘整齐、不透明;其中菌株 2 较为黏稠。菌落直径约 1 mm,另外在大量优势菌落中还夹杂少数绿色和菌落直径约 2 mm 的浅黄色菌落,均生长良好。回归感染后鉴定,将菌株 1 命名为 090625,菌株 2 命名为 070925。

2.3.2 生理生化检测 再分离菌株经自动微生物检测仪 GNI 鉴定卡,结果见表 1。其中,葡萄糖氧化、生长控制、蔗糖发酵等都显阳性,具有典型的海洋弧菌生化特性。根据全自动细菌鉴定仪检测结果,初步判断这 2 种菌株均为海洋弧菌。

2.3.3 分子生物学鉴定 以再分离菌株菌液为模板,利用 PCR 方法,扩增出 2 条大小为 1 000 ~ 2 000 bp 的条带。经过测序,得出 2 条长度分别为 1 389、1 477 bp 的 DNA 链(图 1、图 2)。BLAST 程序搜索 NCBI 基因库中所有已登录的同源

表 1 2 种菌株生化检测结果

检测项目	检测结果	
	菌株 090625	菌株 070925
蛋白胨 - 300(DP3)	-	-
葡萄糖氧化(OFG)	+	+
乙酰胺(ACE)	-	-
七叶酸(ESC)	-	-
尿兰母(PLI)	-	-
尿素(URE)	-	-
枸缘酸(CIT)	-	-
麦芽糖(MAL)	-	-
色氨酸(TDA)	-	-
多黏菌素(PXB)	-	-
乳糖发酵(LAC)	-	-
麦芽糖(MLT)	+	+
甘露醇发酵(MAN)	+	-
木糖(XYL)	-	-
棉子糖发酵(RAF)	-	-
山梨醇发酵(SOR)	-	-
蔗糖发酵(SUC)	+	+
侧金盏花醇发酵(ADO)	-	-
COU	-	-
硫化氢(H2S)	-	-
半乳糖苷酶(ONP)	-	-
鼠李糖发酵(RHA)	-	-
阿拉伯糖发酵(ARA)	-	-
核糖(GLU)	+	-
精氨酸(ARG)	-	-
赖氨酸(LYS)	+	+
鸟氨酸(ORN)	-	-
氧化酶(OXI)	-	-

注:“+”表示阳性,“-”表示阴性。

序列,结果显示菌株 090625 的序列与哈维氏弧菌最为相似,同源性高达 99%;而菌株 070925 的序列与副溶血弧菌最为相似,同源性也高达 99%。据此确认菌株 090625 为哈维氏弧菌,菌株 070925 为副溶血弧菌,并将二者的 16S rRNA 部分序列上传 GenBank,登录号分别为 GQ327950、EU170469。

2.3.4 大黄鱼攻毒试验结果

2.3.4.1 体表病变情况分析 对大黄鱼亲鱼(已注射催产素)和大黄鱼幼鱼同时进行攻毒试验。结果发现,攻毒后的大黄鱼出现典型的海洋弧菌病灶。攻毒 18 h 后,部分大黄鱼亲鱼浮上水面,胸鳍、腹鳍、尾鳍、鳃盖等部位均有出血症状,鳞片出现脱落(图 3)。

2.3.4.2 大黄鱼体内各组织病变特征分析 通过解剖发现,大黄鱼幼鱼头肾、肝脏等组织结构清晰,保持较为完整状态。但患病亲鱼的头肾、肝脏等组织出现糜烂等症状(图 4)。

3 结论与讨论

菌种鉴定是一项繁琐的工作。海洋细菌数量繁多、种类复杂,特别是同一属菌株间性质相似度较高,更增加了鉴定工作的难度。因此,通常须要同时采用多种仪器、生化指标、试验手段,经综合测定分析后才能较准确鉴定细菌种类<sup>[8]</sup>。本研究首先采用选择性培养基 TCBS 进行病原菌培养。TCBS

GGCGGACGGG TGAGTAATGC CTAGGAAATT GCCCTGATGT GGGGGATAAC CATTGGAAAC  
 GATGGCTAAT ACCGCATAAT ACCTACGGGG CAAAGAGGGG GACCTTCGGG CCTCTCGCGT  
 CAGGATATGC CTAGGTGGGA TTAGCTAGTT GGTGAGGTAA TGCTCACCAC AGGCGACGAT  
 CCCTAGCTGG TCTGAGAGGA TGATCAGCCA CACTGGAAC GAGACACGGT CCAGACTCCT  
 ACCGGAGGCA CGAGTGGGGA ATATTGCACA ATGGGCGCAA GCCTGATGCA GCCATGCCGC  
 GTGTGTGAAG AAGGCCTTCG GGTGTGAAG CACTCTCAGT CGTGAGGAAG GTAGTGTAGT  
 TAATAGCTGC ATTATTTGAC GTTAGCGACA GAAGAAGCAC CGGCTAACTC CGTGCCAGCA  
 AGATCTGAAAG GAATACCGGT GCGAGCGTTA ATCGGAATTA CTGGGCGTAA AGCGCATGCA  
 GGTGGTTTGT TAAGTCAGAT GTGAAAGCCC GGGGCTCAAC CTCGGAATAG CATTGTAAAC  
 TGGCAGACTA GAGTACTGTA GAGGGGGGTA GAATTTCCAG TGTAGCGGTG AAATGCGTAG  
 AGATCTGAAAG GAATACCGGT GCGAGAGGCG GCCCCTTGA CAGATACTGA CACTCAGATG  
 CGAAAGCGTG GGGAGCAAAAC AGGATTAGAT ACCCTGGTAG TCCACGCCGT AAACGATGTC  
 TACTTGGAGG TGTGGCCTT GAGCCGTGGC TTTCGGAGCT AACGCGTTAA GTAGACCGCC  
 TGGGGAGTAG GTTGCAGAAGA TTAATACTGA CGGGGGCCCG CACAAGCGGT  
 GGAGCATGTG GTTTAATTCG ATGCAACGCG AAGAACCTTA CCTACTCTTG ACATCCAGAG  
 AACTTTCCAG AGATGGATTG GTGCCTTCGG GAATCTGTAG ACAGGTGCTG CATGGCTGTC  
 GTCAGCTCGT GTTGTAATAT GTTGGGTAA GTCCCGCAAC GAGCGCAACC CTTATCCTTG  
 TTTGCCAGCA CTTCCGGTGG GAACTCCAGG GAGACTCCCG GTGATAAAC AGGGAAGGT  
 GGGGACGACG TCAAGTCATC ATGGCCCTTA CGAGTAGGGC TACACACGTG CTACAATGGC  
 GCATACAGAG GCGCGGCAAC TTGCGAGAGT GAGCGAATCC CAAAAGTGC GTGCTAGTCC  
 GGATCCGAGT CTGCAACTCG ACTCCGTGAA GTCGGAATCG CTAGTAATCG TGGATCAGAA  
 TGCCACGGTG AATACGTTCC CGGGCCTTGT ACACACCGCC CGTCACACCA TGGGAGTGGG  
 CTGCAAAAGA AGTAGGTAGT TTAACCTTCG GGAGGACGCT TACCACCTTG TGGTTCATGA  
 CTGGGGTGA

粗体字为引物所在位置

图1 菌株 090625 16S rRNA 的部分序列

ATCGAACGCT GGGCGGACGG CTAACACATG CAAGTCGAGC GAAACGAGT TATCAAAGCC  
 TTCGGGGAC GATAACGGCG TCGAGCGGCG GACGGGTGAG TAATGCCTAG GAAATTGCCC  
 TGATGTGGGG GATAACCAT TGAACGATG GCTAATACCG CATGATGCCT ACGGCCAAAC  
 GAGGGGACG TCGGGGCTC TCGCGTCAGG ATATGCCTAG GTGGGATTAG CTAGTTGGTG  
 AGGTAAGGCG TCACCAAGGC GACGATCCCT AGCTGGTCTG AGAGGATGAT CAGCCACAT  
 GAACTGAGA CACGCTCCAG ACTCCTACGG GAGGACGAG TGGGAATAT TGCACAATGG  
 GCGCAAGCCT GTAGCAGCCA TGCCGCGTGT GTGAAGAAG CCTTCGGGTG GTAAAGCACT  
 TTCAGTCGTG AGGAAGCGCG GTACGTTAAT AGCGTATTTC TTTGACGTTA GCGACAGAAG  
 AAGCACCAGC TAATCCGCTG CCAGCAGCGC CGGTAATACG GAGGGTGCAG GCGTTAATCG  
 GAATTACTGG GCGTAAAGCG CATGCAGGTG GTTGTGAAG TCAGATGTGA AAGCCCGGGG  
 CTCACCTCGG GAATAGCAAT TGAACCTGGC AGACTAGAGT ACTGTAGAGG GGGGTAGAAT  
 TTCAGGTGTA GCGGTGAATAT GCGTAGAGAT CTGAAGGAAT ACCGGGTGGC GAAGGCGGCC  
 CCCTGGACAG ATACTGACAC TCAGATGCGA AAGCGTGGG AGCAAAACAGG ATTAGATACC  
 CTGTTAGTCC ACGCGTAAAC CGATGTCTAC TTGGAGGTTG TGGCCTTGAG CGGTGGCTTT  
 CGGAGCTAAC GCGTTAAGTA GACCGCTGCG GGAGTACGGT CGCAAGATTA AAACCTAAAT  
 GAATTGACGG GGGCCCGCAC AAGCGGTGGA GCATGTGGTT TAATTCGATG CAACGCGAAG  
 AACCTTACCT ACTCTTGACA TCCAGAGAAC TTTCAGAGA TGGATTGGTG CCTTCGGGAA  
 CTCTGAGACA GTGCTGCTC GGTGCTGCTC AGCTCGTGTG GTGAATGTT GGGTTAAGTC  
 CCGCAACGAG CGCAACCTCT ATCCTTGTGT GCCAGCGAGT AATGTGCGGA ACTCCAGGGA  
 GACTGCGGCT GATAAACCGG AGGAAGGTGG GGACGACGTC AAGTCATCAT GGCCCTTACG  
 AGTAGGGCTA CACACGTGCT ACAATGGGCG ATACAGAGGG CGGCCAACTT GCGAAAGTGA  
 GCGAATCCCA AAAAGTGCCT GGTAGTCGCG ATTTGAGTCT GCAACTCCAG TCCTAGAGT  
 CGGAATCGCT AGTAATCGTG GATCAGAATG CCACGGTGAA TACGTTCCCG GGCCTTGTAC  
 ACACCCCGCG TCACACCATG GAGGTGGCTG GCGAAAGAAG TAGGTAGTT AACCTTCGGG  
 GGGACGCTTA CCACCTTGTG GTTCATGACT GGGGTGA

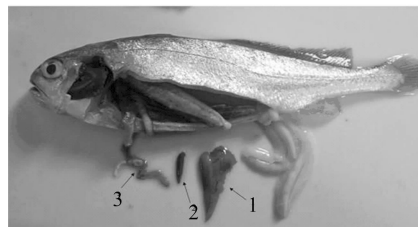
粗体字为引物所在位置

图2 菌株 070925 16S rRNA 的部分序列



图3 大黄鱼亲鱼攻毒后的病症

培养基上形成的菌落基本为黄色,其中含有少量绿色菌株。在 TCBS 培养基上,菌落呈圆形,隆起,边缘整齐,表现出海洋弧菌在 TCBS 培养基上生长的典型症状。培养过程中,发现菌株 070925 较为黏稠,与副溶血弧菌的特性相符<sup>[9]</sup>。哈维氏



1—肝脏; 2—脾脏; 3—肠道

图4 攻毒后大黄鱼亲鱼体内各组织病症

弧菌在过夜培养时,培养温度低于 30 ℃ 时可以正常生长,而副溶血弧菌的培养温度必须维持在 30 ℃ 才能过夜培养,该结果与副溶血弧菌对低温较为敏感的报道<sup>[10-12]</sup>一致。在生理生化水平方面,采用自动微生物检测系统 (AMS) 和鉴定卡 GNI 进行菌种鉴定,结果表明 2 种病原菌均为海洋弧菌。另外,参照文献中葡萄糖氧化、生长控制、蔗糖发酵等生化特征<sup>[13]</sup>,初步判断这 2 种菌为海洋弧菌。最后根据 16S rDNA 序列确定为哈维氏弧菌 (*Vibrio harveyi*) 和副溶血弧菌 (*V. parahaemolyticus*)。

哈维氏弧菌和副溶血弧菌是条件性致病菌<sup>[14]</sup>。随着养殖水域生态环境的恶化,海洋弧菌已成为引起鱼类病害的主要致病菌之一。本研究通过人工感染发现,哈维氏弧菌和副溶血弧菌的混合菌液对大黄鱼具有较强的毒力,针对不同体质的大黄鱼,其致病性有所不同。大黄鱼亲鱼更容易感染细菌,同时显示出较明显的病症,而对于幼鱼而言,其致病性相对较弱。

本研究对 2 种海洋弧菌进行了鉴定,同时对 2 种不同生理状态的大黄鱼感染 2 种海洋弧菌的发病机制进行了初探,这为大黄鱼人工繁育、亲鱼抗病力的研究提供了理论基础,也为大黄鱼免疫机制的深入研究奠定了基础。

## 参考文献:

- [1] Vezzulli L, Pezzati E, Huete - Staufer C, et al. 16S rDNA pyrosequencing of the mediterranean gorgonian *Paramuricea clavata* reveals a link among alterations in bacterial holobiont members, anthropogenic influence and disease outbreaks [J]. PLOS One, 2013, 8 (6): e67745.
- [2] Dupont S, Carré - Mlouka A, Descarrega F, et al. Diversity and biological activities of the bacterial community associated with the marine sponge *Phorbos tenacior* (Porifera, Demospongiae) [J]. Letters in Applied Microbiology, 2014, 58 (1): 42 - 52.
- [3] 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 Immunology, 2013, 35 (2): 513 - 524.
- [4] 阎斌伦, 秦国民, 暴增海, 等. 三疣梭子蟹病原副溶血弧菌的分离与鉴定 [J]. 海洋通报, 2010, 29 (5): 560 - 566.
- [5] 倪海儿, 王国良. 网箱养殖大黄鱼溃疡病的预报模型 [J]. 水产学报, 2009, 33 (2): 334 - 341.
- [6] 王 军, 苏永全, 张朝霞, 等. 闽南地区养殖大黄鱼细菌性疾病的病原生物学研究 [J]. 厦门大学学报: 自然科学版, 2001, 40 (1): 85 - 91.

(下转第 478 页)

表 2 Logistic 回归模型结果

变量	系数	标准误	Wald 值	显著性	优势比	95% 置信区间	
						下限	上限
$x_1$	-1.331	0.767	3.011	0.083	0.264	0.059	1.188
$x_2$	0.964	0.487	3.923	0.048	2.623	1.010	6.811
$x_3$	1.473	0.587	6.292	0.012	4.362	1.380	13.791
$x_4$	-1.029	0.538	3.655	0.056	0.357	0.125	1.026
$x_5$	2.822	1.282	4.844	0.028	16.807	1.362	207.389
$x_6$	0.667	0.345	3.735	0.053	1.949	0.991	3.835
常量	-4.071	3.165	1.655	0.198	0.017		

居住提供了比较好的经济基础,自然会不拘于农业生产,更希望通过宅基地使用权入市让“死产”转换,投入于其他经营活动。

(4)农户对政策的认知度对农户宅基地使用权入市意愿具有正向作用。在农户对宅基地政策不了解的情况下,农户担心在宅基地使用权入市交易过程中无法保障自身利益,而选择不愿意参与宅基地使用权入市交易。只有农户充分了解宅基地政策,才能保证农户在宅基地使用权入市交易中没有压力。

(5)农业依赖度对农户宅基地使用权入市意愿具有反向作用,这与假设相符。一般情况下,农户的农业依赖度越高,意味着家庭农业收入比重越大,家庭对种植土地和宅基地的依赖性越强,在城镇工作和定居的可能性较小,对宅基地使用权入市的意愿越低;随着非农收入的提高,农户对土地的依赖性逐渐减弱,农户参与宅基地使用权入市意愿变强。

(6)族别对农户宅基地使用权入市意愿具有反向作用。汉族农户比少数民族农户更愿意宅基地使用权入市;少数民族由于生活习惯、宗教信仰与汉族有很大区别,少数民族农户生活主要依靠农业生产,对宅基地和农村土地的依恋度较高。

5 政策建议

5.1 增加农户家庭年均总收入,提高农户生活水平

农户家庭年均纯收入越高,其宅基地使用权入市的积极性越高。经济收入是硬指标,经济收入越高,农户的心里越踏实,追求更好生活环境的意识越强,也越能引导农户参与到宅基地使用权入市中来。建议政府以提高农户家庭年均纯收入水平为基本目的,多渠道、多方式进行扶农、支农、富农,只有提高经济收入,才能增强农户对政府的信任程度,加大农户对政府新农村建设和旧村改造的支持度。

5.2 制定宅基地入市法律政策,加大法律政策宣传力度

(上接第 253 页)

[7]卫 玮. 大黄鱼对鳃弧菌减毒活疫苗免疫应答差异表达基因的筛选与鉴定[D]. 上海:华东理工大学,2010:58-60.

[8]覃映雪. 养殖青石斑鱼(*Epinephelus awoara*)溃疡病细菌病原及其 DNA 疫苗的研究[D]. 厦门:厦门大学,2005:15-17.

[9]夏小安,吴清洋,李远友,等. 锯缘青蟹混合感染症致病菌的分离鉴定与感染治疗[J]. 热带海洋学报,2010,29(5):103-110.

[10]邱德全,蔺红苹,谭龙艳. 一株副溶血弧菌噬菌体生理特性的研究[J]. 微生物学通报,2007,34(4):735-739.

[11]丁云娟,彭 勇,林 洪,等. 一株副溶血弧菌噬菌体的分离鉴

定及生理特性[J]. 微生物学通报,2011,38(11):1639-1646.

[12]钟琳红,陈吉祥,姜莹安,等. 非可培养状态哈维氏弧菌(*Vibrio harveyi*)复苏后生理特征及毒力相关基因表达[J]. 海洋与湖沼,2010,41(3):435-439.

[13]Holt J G. Bergey's manual of determinative bacteriology[M]. Ninth edition. Baltimore:Williams and Wilkins,1993:345-367.

[14]Austin B,Austin D A. Bacterial fish pathogens:diseases of farmed and wild fish[M]. 4th ed. Chichester:Springer-Praxis,2007:189-202.

5.3 进行宅基地确权登记,为宅基地入市做基础

调查中有部分农户拥有不止 1 处宅基地。应进一步推进农村宅基地确权登记发证工作,将宅基地确权政策落到实处,明晰宅基地产权归属,细化宅基地产权结构,增强农户对宅基地使用权稳定性预期,为流转市场的建立打好基础,也为下一步建立城乡统一的土地市场做好准备。

参考文献:

[1]张志强. 农村集体建设用地“入市”研究[D]. 北京:中共中央党校,2010.

[2]顾永才,顾丽媛. 宅基地入市是解决城市发展综合症的重要途径[J]. 经济师,2013(2):72-75.

[3]赵国玲,杨钢桥. 农户宅基地流转意愿的影响因素分析——基于湖北二县市的农户调查研究[J]. 长江流域资源与环境,2009,18(12):1121-1124.

[4]陈秋分,刘彦随,翟荣新. 基于农户调查的东部沿海地区农地规模经营意愿及其影响因素分析[J]. 资源科学,2009,31(7):1102-1108.

[5]张怡然,邱道持,李 艳,等. 农民工进城落户与宅基地退出影响因素分析——基于重庆市开县 357 份农民工的调查问卷[J]. 中国软科学,2011(2):62-68.

[6]刘新平. 新疆新农村建设用地流转模式研究[M]. 北京:中国大地出版社,2009.

[7]陈胜可. SPSS 统计分析从入门到精通[M]. 北京:清华大学出版社,2010.