

ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

生态学报

Acta Ecologica Sinica



第 33 卷 第 13 期 Vol.33 No.13 **2013**

中国生态学学会
中国科学院生态环境研究中心
科学出版社

主办
出版



中国科学院科学出版基金资助出版

生态学报

(SHENGTAI XUEBAO)

第 33 卷 第 13 期 2013 年 7 月 (半月刊)

目次

前沿理论与学科综述

- 强度干扰后退化森林生态系统中保留木的生态效应研究综述..... 缪宁,刘世荣,史作民,等 (3889)
- AM 真菌对重金属污染土壤生物修复的应用与机理..... 罗巧玉,王晓娟,林双双,等 (3898)

个体与基础生态

- 东灵山不同林型五角枫叶性状异速生长关系随发育阶段的变化..... 姚婧,李颖,魏丽萍,等 (3907)
- 不同温度下 CO₂ 浓度增高对坛紫菜生长和叶绿素荧光特性的影响..... 刘露,丁柳丽,陈伟洲,等 (3916)
- 基于 LULUCF 温室气体清单编制的浙江省杉木林生物量换算因子..... 朱汤军,沈楚楚,季碧勇,等 (3925)
- 土壤逐渐干旱对菖蒲生长及光合荧光特性的影响..... 王文林,万寅婧,刘波,等 (3933)
- 一株柠条内生解磷菌的分离鉴定及实时荧光定量 PCR 检测..... 张丽珍,冯利利,蒙秋霞,等 (3941)
- 一个年龄序列巨桉人工林植物和土壤生物多样性..... 张丹桔,张健,杨万勤,等 (3947)
- 不同饵料和饥饿对魁蚶幼虫生长和存活的影响..... 王庆志,张明,付成东,等 (3963)
- 禽畜养殖粪便中多重抗生素抗性细菌研究..... 祁诗月,任四伟,李雪玲,等 (3970)
- 链状亚历山大藻赤潮衰亡的生理调控..... 马金华,孟希,张淑,等 (3978)
- 基于环境流体动力学模型的浅水草藻型湖泊水质数值模拟..... 李兴,史洪森,张树礼,等 (3987)

种群、群落和生态系统

- 干旱半干旱地区围栏封育对甘草群落特征及其分布格局的影响..... 李学斌,陈林,李国旗,等 (3995)
- 宁夏六盘山三种针叶林初级净生产力年际变化及其气象因子响应..... 王云霓,熊伟,王彦辉,等 (4002)
- 半干旱黄土区成熟柠条林地土壤水分利用及平衡特征..... 莫保儒,蔡国军,杨磊,等 (4011)
- 模拟酸沉降对鼎湖山季风常绿阔叶林地表径流水化学特征的影响..... 丘清燕,陈小梅,梁国华,等 (4021)
- 基于改进 PSO 的洞庭湖水源涵养林空间优化模型..... 李建军,张会儒,刘帅,等 (4031)
- 外来植物火炬树水浸液对土壤微生物生态系统的化感作用..... 侯玉平,柳林,王信,等 (4041)
- 崇明东滩抛荒鱼塘的自然演替过程对水鸟群落的影响..... 杨晓婷,牛俊英,罗祖奎,等 (4050)
- 三峡水库蓄水初期鱼体汞含量及其水生食物链累积特征..... 余杨,王雨春,周怀东,等 (4059)
- 元江鲤种群遗传多样性..... 岳兴建,邹远超,王永明,等 (4068)

景观、区域和全球生态

- 中国西北干旱区气温时空变化特征..... 黄蕊,徐利岗,刘俊民 (4078)
- 集水区尺度下东北东部森林土壤呼吸的模拟..... 郭丽娟,国庆喜 (4090)
- 增氮对青藏高原东缘高寒草甸土壤甲烷吸收的早期影响..... 张裴雷,方华军,程淑兰,等 (4101)
- 基于生态系统服务的广西水生态足迹分析..... 张义,张合平 (4111)
- 深圳市景观生态安全格局源地综合识别..... 吴健生,张理卿,彭建,等 (4125)

庐山风景区碳源、碳汇的测度及均衡..... 周年兴,黄震方,梁艳艳 (4134)

气候变化对内蒙古中部草原优势牧草生长季的影响 李夏子,韩国栋,郭春燕 (4146)

民勤荒漠区典型草本植物马蔺的物候特征及其对气候变化的响应..... 韩福贵,徐先英,王理德,等 (4156)

血水草生物量及碳贮量分布格局..... 田大伦,闫文德,梁小翠,等 (4165)

5 种温带森林生态系统细根的时间动态及其影响因子 李向飞,王传宽,全先奎 (4172)

资源与产业生态

干旱胁迫下 AM 真菌对矿区土壤改良与玉米生长的影响..... 李少朋,毕银丽,陈咄圳,等 (4181)

城乡与社会生态

上海环城林带保健功能评价及其机制..... 张凯旋,张建华 (4189)

研究简报

北京山区侧柏林林内降雨的时滞效应 史 宇,余新晓,张佳音 (4199)

采伐剩余物管理措施对二代杉木人工林土壤全碳、全氮含量的长期效应
..... 胡振宏,何宗明,范少辉,等 (4205)

期刊基本参数:CN 11-2031/Q * 1981 * m * 16 * 326 * zh * P * ¥90.00 * 1510 * 35 * 2013-07



封面图说: 岳阳附近的水源涵养林及水系鸟瞰——水源涵养林对于调节径流,减缓水、旱灾害,合理开发利用水资源具有重要的生态意义。洞庭湖为我国第二大淡水湖,南纳湘、资、沅、澧四水,北由岳阳城陵矶注入长江,是长江上最重要的水量调节湖泊。因此,湖周的水源涵养林建设对于恢复洞庭湖调节长江中游地区洪水的功能,加强湖区生物多样性的保护是最为重要的举措之一。对现有防护林采取人为干扰的调控措施,改善林分空间结构,将有利于促进森林生态系统的正向演替,为最大程度恢复洞庭湖水源林生态功能和健康经营提供重要支撑。

彩图及图说提供: 陈建伟教授 北京林业大学 E-mail: cites.chenjw@163.com

DOI: 10.5846/stxb201205090679

祁诗月,任四伟,李雪玲,葛洪欣,许园园,徐颖,陈宣宇,张昊,杨清香. 禽畜养殖粪便中多重抗生素抗性细菌研究. 生态学报, 2013, 33(13): 3970-3977.

Qi S Y, Ren S W, Li X L, GAO H X, XU Y Y, Xu Y, Cheng X Y, Zhang H, Yang Q X. Multidrug-resistant bacteria in livestock feces. Acta Ecologica Sinica, 2013, 33(13): 3970-3977.

禽畜养殖粪便中多重抗生素抗性细菌研究

祁诗月,任四伟,李雪玲,葛洪欣,许园园,徐颖,陈宣宇,张昊,杨清香*

(河南师范大学生命科学学院, 新乡 453007)

摘要:通过对新乡地区 8 家养猪场和 11 家养鸡场饲喂抗生素情况的调研,发现头孢氨苄、阿莫西林、卡那霉素、庆大霉素等 4 种抗生素是该地区被普遍使用的兽药抗生素。通过多点取样法和微生物培养技术对 3 家养鸡场和 3 家养猪场不同养殖时期的粪便进行单一抗生素和多重抗生素抗性细菌的检测,结果表明养鸡场堆置 1 周的粪便中抗头孢氨苄的细菌比例最高,达到 65.90%,对所研究的 3 种和 4 种抗生素同时抗性的比例高达 8.60%—12.51% 和 9.73%,明显高于饲喂中药的对照养鸡场样本检测结果(0.02%—2.73% 和 0.12%)。养猪场堆置 1 周的粪便中检测到抗头孢氨苄的细菌比例也是最高,达到 49.12% 上,但养猪场粪便中多重抗生素抗性细菌的比例明显低于养鸡场。同时研究发现,在两种养殖场中,幼龄期粪便中检测到的多重抗性细菌比例明显高于成熟期粪便,这可能与养殖过程中鸡、猪在幼龄期由于防病和促生长等因素而同时大剂量使用多种抗生素有关。

关键词:抗生素;禽畜粪便;多重抗生素抗性;养鸡场;养猪场

Multidrug-resistant bacteria in livestock feces

QI Shiyue, REN Siwei, LI Xueling, GAO Hongxin, XU Yuanyuan, XU Ying, CHEN Xuanyu, ZHANG Hao, YANG Qingxiang*

College of Life Sciences, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China

Abstract: The increase in the prevalence of bacteria resistant to multiple antibiotics (i. e., multidrug-resistant bacteria), especially “super bacteria,” has received considerable attention around the world. In addition to the effects on human health, these bacterial strains can have a considerable impact on agriculture. The feces of livestock have become a reservoir for antibiotic-resistant bacteria because of the wide use of various antibiotics in animal production. However, there are only a few systematic studies that have reported on the development of multidrug-resistant bacteria in livestock feces and its relationship with antibiotics in feed. In this study, we evaluated the use of antibiotics on 8 pig farms and 11 chicken farms. The survey investigated several factors, such as breeding scale, commonly used antibiotics, antibiotic usage and dosage, feces scale of everyday and destination of feces, among other factors. Our survey results indicated that cefalexin, amoxicillin, kanamycin, and gentamycin were the main antibiotics used, and the antibiotics were almost always used at levels exceeding the recommended dosage. Bacteria isolated from feces specimens collected during different feeding periods from 3 chicken farms and 3 pig farms were analyzed using multi-sampling and microbial culture enumeration techniques to identify bacteria resistant to one or multiple antibiotics. In chicken manure, microbial enumeration results revealed 2.37×10^{12} to 3.91×10^{12} CFU/g cultivable bacteria, 2.03×10^{10} to 1.85×10^{11} CFU/g Actinomyces, and 1.72×10^7 to 1.42×10^8 CFU/g fungi. A greater percentage of bacteria was resistant to cefalexin (65.90%) than to the other four antibiotics

基金项目:国家自然科学基金资助项目(21077032)

收稿日期:2012-05-09; 修订日期:2012-11-15

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: yangqx66@163.com

tested. Moreover, 8.60% to 12.51% of cultivable bacteria were resistant to three of the antibiotics tested, and 9.73% were resistant to all four antibiotics. These rates were significantly higher than rates observed on chicken farms using traditional Chinese medicines (0.02% to 2.73% and 0.12%, respectively). In pig manure, microbial enumeration results revealed 4.85×10^{11} to 1.90×10^{12} CFU/g cultivable bacteria, 3.04×10^{10} to 6.26×10^{10} CFU/g Actinomyces, and 1.89×10^7 to 5.89×10^7 CFU/g fungi. Similar to the results observed on chicken farms, more bacteria were resistant to cefalexin (49.12%) than the other antibiotics tested; however, fewer multidrug-resistant bacteria were found in pig manure (<1% total cultivable bacteria) compared with chicken manure. The different distributions of multidrug-resistant bacteria between chicken and pig farms may be the result of differences in factors such as the antibiotic dosages used, drug metabolism, or breeding cycles. The rates of bacteria resistant to two or more antibiotics isolated from the feces of newborn chickens and pigs (chickens, 3.00%—25.20%; pigs, 0.15%—9.35%) were significantly higher than the rates in mature animals (chickens, 4.45%—13.71%; pigs, 0.01%—6.40%). This difference is likely related to the relatively common practice of simultaneous use of high concentrations of more than one antibiotic in young animals to prevent disease and promote growth. These high rates of multidrug-resistant bacteria in livestock feces indicate that regulating the standard use of antibiotics in the livestock farming process is imperative to control the prevalence of bacteria resistant to multiple antibiotics. Further research to identify the genes associated with multidrug-resistance as well as the underlying modes of action of the gene products is currently underway.

Key Words: antibiotics; livestock dung; multiple antibiotic resistance; chicken farm; pig farm

随着医学和生物技术的发展,新型抗生素不断涌现,为临床提供了更多的选择。抗生素的应用范围也由原来的人畜感染控制发展到水产养殖、饲料添加等。在所有消费的抗生素中,有 50% 用于畜牧业和水产养殖业,其中将近一半用于动物生长促进剂^[1]。近 10 年来,因为抗生素抗性在致病菌中的出现和发展,禽畜养殖中使用的抗生素剂量和种类一直在增加^[2]。目前仅我国就有 17 种抗生素、抗氧化剂和激素类药物以及 11 种抗菌剂作为添加剂进入饲料中^[3]。

抗生素在动物体内不能被完全吸收,约有 60%—90% 的药物随动物粪便排出体外。这些残余的抗生素会随着动物粪便施肥过程释放到环境中,并最终成为抗性细菌和多重抗性细菌的选择因子^[4]。Jiang 等人研究指示菌——大肠杆菌的抗性中发现,高达 81% 的菌株对 5—6 种不同抗生素同时具有抗性,其中 1 株菌对全部的 22 种抗生素都有抗性^[5]。另有研究发现,对生病的未断奶牛犊加大抗生素的使用剂量将导致共生菌和病原菌产生高水平的抗性^[6]。动物源性耐药菌的产生和增加不但对动物生长造成危害,更可能直接威胁人类健康。目前临床上耐药菌、多重耐药菌,甚至“超级细菌”的产生已经给疾病治疗带来巨大麻烦并引起人们的高度关注。

禽畜粪肥是环境中抗性细菌和抗生素混合存在的一个重要的库,由于其在农业土壤肥力保持中的重要作用,因而很大程度上提高了抗性基因和抗性细菌在土壤中的选择和传播过程^[7]。研究发现植物的根际存在大量抗性的人类机会致病菌^[8],这些抗性致病菌在环境中的存在和传播将会成为人类健康的巨大威胁。然而目前对于起源于畜禽养殖过程中的抗生素污染、抗性细菌产生,特别是多重抗生素抗性细菌产生和分布的研究和报道还不多,缺乏系统的风险评估。本研究选取了新乡地区经常施以抗生素喂养的养鸡场和养猪场为研究对象,以中药喂养为主的养鸡场作为对照,通过对不同养殖时期鸡粪和猪粪中抗生素抗性细菌,特别是多重抗生素抗性细菌的检测,来评估规模化养殖过程中抗生素使用所带来的环境风险。

1 材料方法

1.1 养鸡场和养猪场抗生素使用现状调研

选取新乡市周边养殖规模在 3000—30000 只的养鸡场 11 家和 60—1000 头的养猪场 8 家,进行为期半年的追踪走访、问询、实地观察和笔录调研,获得第一手资料。

1.2 样品采集

选取 3 家抗生素使用种类相似并且养殖规模在 5000 只左右的鸡场粪便和 3 家抗生素使用种类相似并且养殖规模在 100 头左右的猪场粪便作为样品来源。采用五点取样法,即选定养殖场粪区后,先将粪区对角线的中点作为中心抽样点,再在对角线上选择 4 个与中心样点距离相等的点作为采样点,五点取样之后将采集到的样品充分混合。分别对 3 家养鸡场的雏鸡粪(养殖 50 d 以内的鸡粪)、成鸡粪(养殖 50 d 之后的鸡粪)、鸡堆粪和 3 家养猪场的仔猪粪(养殖 75 kg 以下的猪粪)、成猪粪(养殖 75 kg 以上的猪粪)、猪堆粪进行了取样。

1.3 好氧异养微生物总数的计数

分别取 3 g 新鲜粪便加入含有 300 mL 无菌水和玻璃珠的三角瓶中,摇床震荡 3 h,制备成菌悬液。采用平板菌落计数法,取混合均匀的菌悬液进行梯度稀释后,分别涂布在制备好的平板上,每一浓度均设置 3 个重复。细菌用牛肉膏蛋白胨平板 37 ℃ 培养 24—48 h;真菌用马丁氏培养基平板 28 ℃ 培养 3—5 d;放线菌用高氏一号培养基平板 37 ℃ 培养 24—48 h,根据平板上菌落数目和稀释度计算样品中的细菌、真菌和放线菌的总浓度并观察菌落形态^[9]。

1.4 多重抗性细菌的培养和计数

将 4 种抗生素——阿莫西林、卡那霉素、庆大霉素和头孢氨苄,分别配成初始浓度 5000、10000、3200、10000 μg/mL 的母液,使用时分别取适量上述抗生素母液,加入到已灭菌的牛肉膏蛋白胨培养基中,使其终浓度分别为阿莫西林 50 μg/mL,卡那霉素 100 μg/mL,庆大霉素 32 μg/mL,头孢氨苄 100 μg/mL,制备单种抗生素抗性平板。多重抗生素平板的制备是将上述抗生素的 2 种、3 种、4 种混合后加入灭菌培养基中,每种抗生素的终浓度均为相应的单抗生素平板上所使用浓度。

将 1.3 中制成的菌悬液样品进行梯度稀释,取 3 个合适的稀释度分别涂布于上述含抗生素的平板上,37 ℃ 培养 24—48 h,进行抗性细菌计数:

$$\text{抗性细菌比例}(\%) = \text{抗性细菌数量} \div \text{细菌总数} \times 100\%$$

2 结果与分析

2.1 养鸡场和养猪场抗生素使用现状调研

本研究于 2011 年 8 月到 2012 年 3 月在河南省新乡市周边选择了养殖规模不等的 11 家养鸡场和 8 家养猪场,从养殖规模、常用的抗生素种类、常用抗生素的用量与用法、日出粪量以及堆粪去向等几个方面进行了调研。

在 11 家养鸡场中,养殖规模在 3000 只的有 3 家,5000—8000 只的 4 家,10000 只以上的 4 家。调研中发现有一家规模在 5000 只左右的养鸡场完全使用中药防病,其余 10 家全部使用抗生素,每家所使用的抗生素种类最少 3 种,多则 7 种。调研中养鸡场使用的抗生素类型涉及到氨基糖苷类(主要是庆大霉素和卡那霉素)、青霉素类(阿莫西林)、头孢菌素类(头孢噻肟和头孢氨苄)以及磺胺类、喹诺酮类和酰胺醇类等共 10 种。各类型抗生素使用情况如图 1。在幼鸡养殖过程中,将一种或多种抗生素混合在饲料或饮水中作为日常防病或促生长饲喂,成鸡采用同样方法或通过针剂注射方法防病和治病。在这些养鸡场中,各种抗生素的使用量都严重超过抗生素的标准使用量^[10]。例如,青霉素类抗生素在养鸡场中的使用率达 70%,其中 50% 使用剂量超标,超标量达到 4.4—10 倍;氨基糖苷类抗生素的使用率达 60%,55.6% 超标,超标量达到 1.3—100 倍;头孢菌素类使用率达 50%,其中 16.70% 超标,超标达到 2—2.4 倍;喹诺酮类使用率达 50%,其中 83.30% 超标,超标量达到 2—32 倍;另外还有磺胺类、大环内酯类、硝基呋喃类等类型的抗生素也有使用,使用率低于 50%,但使用剂量都严重超标。根据养殖规模不同,养鸡场每天的出粪量在 300—4000 kg。

在所调研的 8 家养猪场中,养殖规模在 100 头以下的 3 家,100—300 头的 4 家,1000 头的 1 家。所有养猪场全部都使用抗生素,甚至有养猪场 8 种抗生素同时或者交替使用,使用的抗生素类型涉及到氨基糖苷类(主要是庆大霉素、阿米卡星和卡那霉素)、青霉素类(阿莫西林和青霉素)、头孢菌素类(头孢氨苄和头孢曲

松)以及磺胺类、喹诺酮类和酰胺醇类等共 9 种,使用情况如图 1。抗生素的使用方式与养鸡场类似,用量比较随意,没有严格定量。幼猪饲喂过程中抗生素用量明显多于成猪。在这些养猪场中,抗生素的使用量也存在严重超过标准用量的现象,例如头孢菌素类抗生素在养猪场的使用率达 87.50%,使用剂量 100% 超标,超标达到 1.25—2 倍;青霉素类使用率达 75%,其中 66.70% 使用剂量超标,超标量达到 1.2—2 倍;氨基糖苷类抗生素使用率达 62.50%,其中 66.70% 超标,超标达到 4—45 倍;林克胺类使用率达 50%,其中 100% 超标,超标量达到 1.5—3 倍;另外还有大环内酯类、磺胺类和四环素类等类型的抗生素也有使用,使用率低于 30%,但使用剂量都严重超标。不同规模的养猪场每天的出粪量在 100—3000 kg 之间,养鸡场和养猪场的粪便在养殖场堆置 1 周之后直接施于大棚蔬菜或大田作物中。

目前多数有关养殖场粪便中抗生素残留情况的报道是关于四环素类和磺胺类,而本研究调研的结果表明这两类抗生素在养鸡场和养猪场的使用率都不足 50%,而氨基糖苷类、头孢菌素类和青霉素类抗生素是使用频率最高的抗生素类型(都超过 50%),具体来说主要有头孢氨苄、庆大霉素、阿莫西林、卡那霉素等,这些抗生素都是临床上使用频率很高的人用抗生素,因此这些抗生素滥用对环境对人类健康的威胁和意义值得重视。

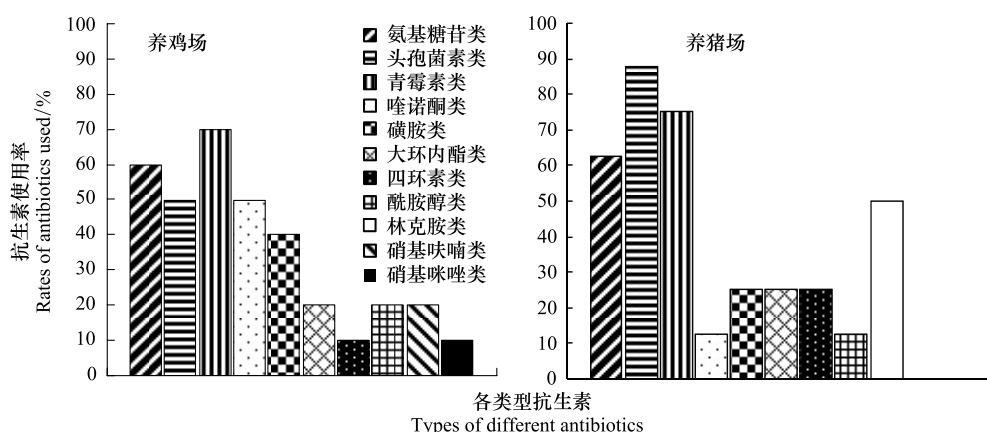


图 1 畜禽养殖过程中不同种类抗生素使用率

Fig. 1 Rates of different types of antibiotics used in livestock farming

2.2 养鸡场和养猪场粪便中多重抗生素抗性细菌的分布

根据调研结果,本研究选择养殖场使用率最高的庆大霉素、卡那霉素、阿莫西林、头孢氨苄作为主要检测的抗生素种类,分别选择 3 家养殖规模相似并且主要以这 4 种抗生素饲喂的养鸡场和养猪场进行抗性细菌和多重抗性细菌的分布研究。根据 CLSL (抗菌药物敏感性实验执行标准)^[11],这 4 种抗生素的最低抑菌浓度 (MIC) 分别为:阿莫西林 $\geq 32 \mu\text{g/mL}$,卡那霉素 $\geq 64 \mu\text{g/mL}$,庆大霉素 $\geq 16 \mu\text{g/mL}$,头孢氨苄 $\geq 64 \mu\text{g/mL}$ 。本研究选择略高于其 MIC 值的抗生素浓度,即阿莫西林的终浓度为 $50 \mu\text{g/mL}$,卡那霉素为 $100 \mu\text{g/mL}$,庆大霉素为 $32 \mu\text{g/mL}$,头孢氨苄为 $100 \mu\text{g/mL}$ 进行了单一抗生素抗性和多重抗生素抗性细菌的检测,同时选择以中药饲喂为主的鸡场样品作为对照(以下简称中药养鸡场),对禽畜粪便中的可培养抗性菌株进行了统计。

在检测的 3 个养鸡场堆置一周的堆粪中,可培养细菌、放线菌、真菌总数量分别为 $2.37 \times 10^{12} - 3.91 \times 10^{12}$ cfu/g, $2.03 \times 10^{10} - 1.85 \times 10^{11}$ cfu/g 和 $1.72 \times 10^7 - 1.42 \times 10^8$ cfu/g,细菌为明显的优势菌群。在饲喂抗生素的养殖场,单抗生素抗性细菌数量在 $2.65 \times 10^{11} - 4.01 \times 10^{12}$ cfu/g,双抗生素抗性细菌数量在 $7.37 \times 10^{10} - 7.77 \times 10^{11}$ cfu/g,3 种以上抗生素抗性细菌数量 $1.44 \times 10^{11} - 7.60 \times 10^{11}$ 。而饲喂中药的养鸡场堆粪中,各种抗生素抗性细菌数量明显减少,其与总细菌数相比,低 1—3 个数量级,单抗细菌数量在 $4.90 \times 10^9 - 3.50 \times 10^{11}$ cfu/g,双抗数量在 $1.67 \times 10^9 - 4.83 \times 10^{10}$ cfu/g,3 种以上抗生素抗性在 $3.34 \times 10^8 - 5.48 \times 10^{10}$ cfu/g。养鸡场各种抗生素抗性细菌占总可培养细菌的比例如图 2。

由图 2 可知,饲喂中药的养鸡场粪便中各种抗生素抗性细菌的检出比例均明显低于饲喂抗生素的样品。中药养殖场中,所研究的 4 种抗生素单一抗性细菌的比例在 0.64%—26.87%,双重抗生素抗性和多重抗生素抗性的比例很低(低于 5%)。而在以饲喂抗生素为主的养鸡场粪便中,单一抗生素抗性细菌的比例高达 20.91%—65.9%,对 2 种抗生素同时抗性细菌的比例达到 8.24%—20.63%,在 3 个养鸡场的样品中均检测到高比例的三重和四重抗生素抗性细菌,比例分别达到 8.60%—17.98% 和 9.73%。该研究结果说明,饲喂抗生素的养鸡场可以明显产生高比例的抗生素抗性细菌,特别是多重抗性细菌,而饲喂中药防止鸡瘟和鸡病可以明显降低粪便中抗性微生物的产生。

养猪场堆置 1 周的粪肥中,细菌、放线菌、真菌总数量分别达到 4.85×10^{11} — 1.90×10^{12} cfu/g、 3.04×10^{10} — 6.26×10^{10} cfu/g、 1.89×10^7 — 5.89×10^7 cfu/g,细菌为明显的优势菌群。单抗和 4 种抗生素抗性细菌的数量均和细菌总数在同一个或低 1—2 个数量级,单抗细菌数量在 2.44×10^{10} — 1.71×10^{12} cfu/g,双抗生素抗性细菌数量在 4.12×10^9 — 3.42×10^{11} cfu/g 之间,3 种以上抗生素抗性在 1.84×10^8 — 2.15×10^{10} cfu/g 之间。养猪场堆置 1 周粪便中抗生素抗性细菌占总细菌的比例如图 2。在养猪场的粪便中,各种抗生素抗性细菌的比例明显低于饲喂抗生素的养鸡场,在单一抗性细菌中,除了抗头孢氨苄和抗卡那霉素的细菌数量明显高于饲喂中药的对照养鸡场外,其他抗生素抗性细菌比例与对照养鸡场接近。不同抗生素单抗细菌的比例在 4.21%—8.18% 之间,不同抗生素组合双抗的比例为 0.07%—7.70%,对 3 种以上抗生素抗性的比例不超过 1%。

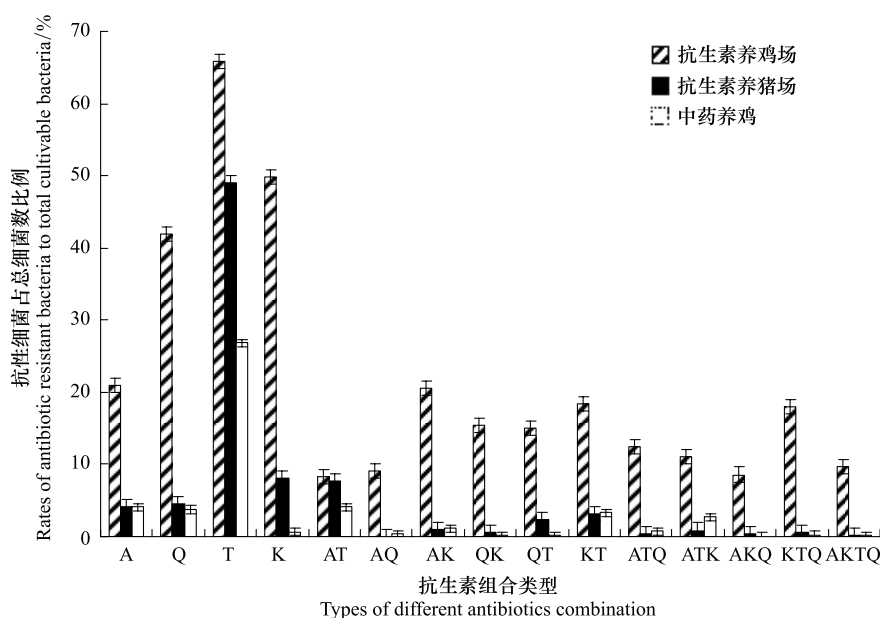


图 2 养殖场堆置 1 周粪便中抗生素抗性细菌占总细菌的比例

Fig. 2 Rates of antibiotic resistant bacteria to total cultivable bacteria in chicken and pig dung

A: 分别指阿莫西林, K: 卡那霉素, T: 头孢氨苄, Q: 庆大霉素; 图中数据分别为 3 个养殖场的平均数据

2.3 不同养殖时期鸡粪和猪粪中多重抗生素抗性细菌的分布

根据对养鸡场抗生素饲喂方式的调研,在幼鸡中抗生素使用频率和使用量明显高于成鸡,因此按照材料和方法所述,分别取幼鸡、成鸡粪便以及幼鸡和成鸡混合堆置 1 周左右之后的粪便进行抗性细菌分布研究,结果如图 3。

抗性细菌检测结果表明,幼鸡粪便中,单抗和 4 种抗生素抗性细菌的数量均和细菌总数在同一个或低 1—2 个数量级,单抗细菌数量在 6.30×10^{11} — 3.54×10^{12} ,双抗数量在 0.60×10^{10} — 3.13×10^{12} ,3 种抗生素抗性以上的 0.85×10^{10} — 1.46×10^{12} 。成鸡粪便中,单抗和 4 种抗生素抗性细菌的数量均比细菌总数低 1—2 个数量级,单抗细菌数量在 8.65×10^{10} — 9.66×10^{11} ,双抗数量在 7.41×10^{10} — 3.97×10^{11} ,3 种抗生素抗性以上的 1.37×10^{11} — 4.08×10^{11} 。从图 3 可见,单一抗生素抗性细菌的比例在堆粪中(20.91%—65.90%)明显高于幼

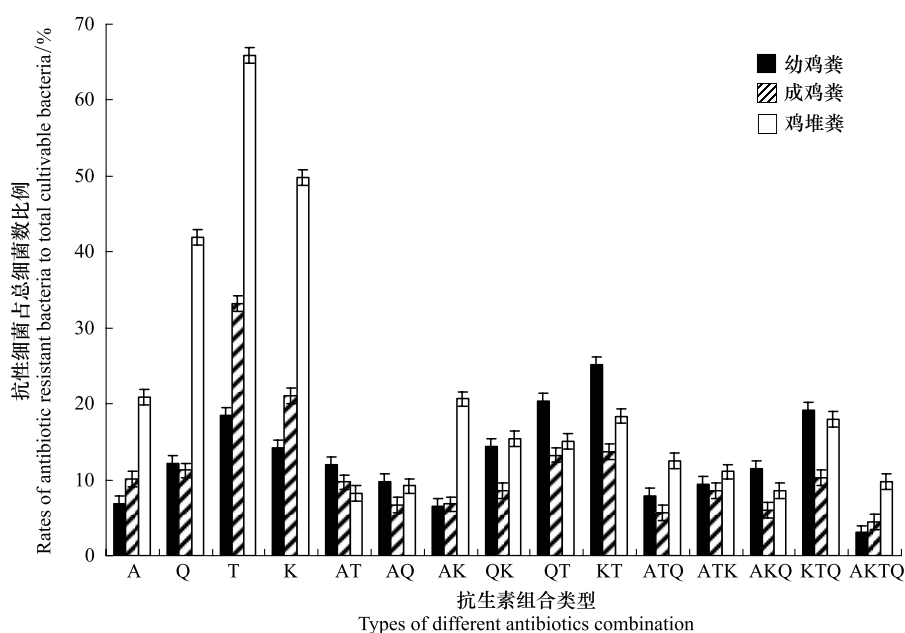


图3 幼鸡、成鸡粪便以及混合堆置的鸡粪中抗性细菌占总细菌的比例

Fig.3 Rates of antibiotic resistant bacteria to total cultivable bacteria in infant, mature and mixed-stacking chicken dung

鸡粪(6.88%—18.51%)和成鸡粪便(10.15%—33.17%)。而双重抗性细菌和三重以上的多重抗性细菌的比例,堆粪(8.24%—20.63%)和幼鸡粪便(3.00%—25.20%)则普遍高于成鸡粪便(4.45%—13.71%)。

养猪场在养猪过程中,抗生素的使用一般在幼猪期,成猪则很少使用。抗性细菌检测结果表明,幼猪粪便中,单抗和4种抗生素抗性细菌的数量均和细菌总数在同一个或低1—3个数量级,单抗细菌数量在 4.08×10^9 — 2.01×10^{12} ,双抗数量在 0 — 5.44×10^{11} ,3种抗生素抗性以上的 0 — 1.06×10^{11} 。成猪粪便中,单抗和4种抗生素抗性细菌的数量均比细菌总数低1—3个数量级,单抗细菌数量在 3.45×10^9 — 2.19×10^{12} ,双抗数量在 0 — 3.24×10^{11} ,3种抗生素抗性以上的 0 — 7.50×10^{10} 。如图4所示幼猪粪便中,单抗(3.95%—88.71%)和4种抗生素不同组合的双抗或多抗细菌的比例(0.15%—9.35%)都明显高于成猪粪便(3.68%—72.27%)和(0.01%—6.40%)。在所检测的3家养猪场粪便中,2种以上抗生素抗性细菌以及多重抗生素抗性细菌的检出比例均比较低,在0.01%—28.02%。

3 讨论

抗生素暴露与抗性细菌产生之间具有相关性,Mckinney 等人在对动物粪便或者受粪便污染的地表水中的抗性微生物研究表明,饲喂抗生素与出现抗生素抗性细菌之间具有明显的正相关性,相对于牛和羊,由于在养猪的过程中抗生素使用量较大,在猪粪中携带有抗生素抗性的细菌比例明显增高^[12]。本研究也发现,当利用不同浓度的四环素或土霉素处理小麦根际土壤时,土壤中抗生素细菌产生的情况明显不同,高浓度抗生素暴露下,土壤中抗性细菌产生比例明显高于低浓度处理下的样品^[13-14]。因此,养殖场高比例抗性细菌的出现(明显高于中药喂养的养鸡场)与抗生素长期大剂量使用明显相关。

本研究中,养鸡场和养猪场抗性细菌的分布具有明显差异,造成这种差异的原因可能与抗生素饲喂量、两种动物对药物的代谢能力、养殖周期等有关,而粪便中抗生素残留应该与抗性细菌的产生之间具有相关性,但目前关于养鸡场和养猪场粪便中抗生素残留量的报道不尽一致^[3-15],并且与本研究选择的抗生素类型也不一致,因此需要通过测定粪便中抗生素残余量进一步研究造成这种差异的原因。

有关多重抗生素抗性的报道很少,相关报道主要涉及一些指示菌株和一些临床致病菌株。例如,Jiang 等人检测了广东省(健康的和疾病的)猪和家禽中大肠杆菌菌株对8类抗生素类药物的22种抗生素的抗性,研究表明大肠杆菌有高水平的耐氨苄西林(99.5%)、脱氧土霉素(95.6%)、四环素(93.4%)、复方新诺明

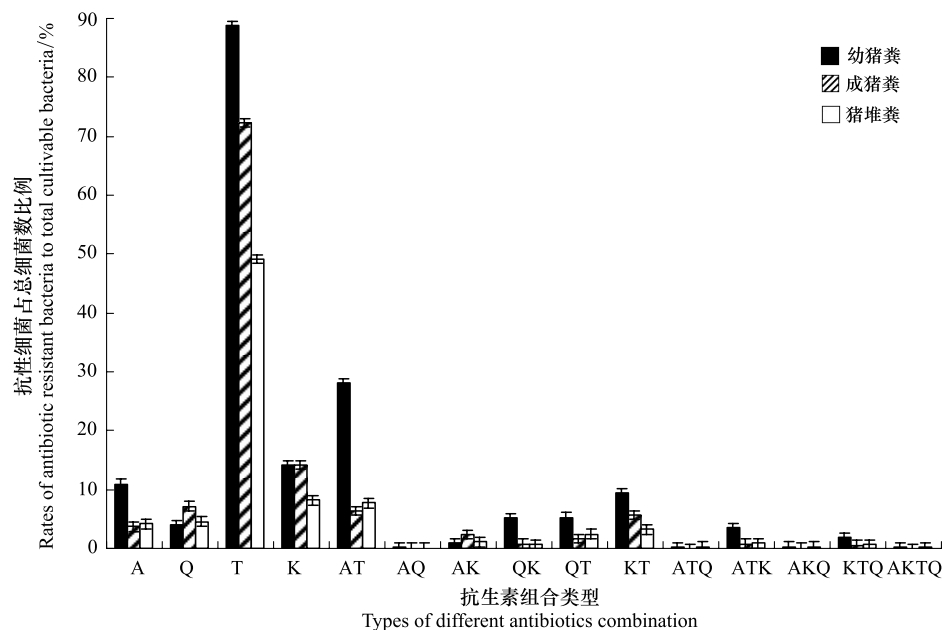


图4 幼猪、成猪粪便以及混合堆置的猪粪中抗性细菌比例

Fig.4 Rates of antibiotic resistant bacteria to total cultivable bacteria in infant, mature and mixed-stacking pig dung

(74.3%)、阿莫西林(65.1%)、链霉素(54.7%)、氯霉素(50.2%)^[5]。Alicia 等人研究了西班牙西北部鸡体内单核细胞增生性李斯特氏菌的抗生素抗性情况,其中,*L. monocytogenes* (68) 被检测出对 15 种当前常用兽药和人药有抗性^[16]。多重抗性细菌的产生可能与细菌细胞内的抗性基因岛以及抗性基因的水平转移有关,Heuer 等人认为,对于一个细菌种群来说,对一种抗生素产生抗性之后就会在抗生素的选择压力下占优势,同时说明种群对外源 DNA 进入细胞的容忍度增加,若遇到其他抗生素的选择压力,就会产生正反馈,而更容易产生多重抗生素抗性^[7]。然而目前对于养殖场粪便中多重抗性细菌比例的报道很少见。本研究中养殖场长期饲喂多种类型抗生素明显诱导粪便中高比例多重抗生素抗性细菌的产生。目前正在通过分子生物学和高通量测序技术对养猪场和养鸡场粪便中抗性细菌以及多重抗性细菌的种群进行研究,初步结果表明,这些多重抗性细菌中存在多种人类机会致病菌,因此在环境中的传播很可能会对人类健康造成威胁。

幼鸡和幼猪粪便中的多重抗性细菌比例高的原因可能与动物幼小时在防病和促生长过程中多种抗生素同时使用有关,而动物长成后抗病力增加,此时仅需要使用某一种抗生素的情况较多^[17]。养鸡场堆粪中单一抗生素和各种抗生素组合的抗性细菌所占比例普遍比较高,甚至高于幼鸡,其原因有待于进一步研究,但是随着堆粪堆放时间的延长,其中残余抗生素的长时间暴露是否会导致细菌抗性的选择性增加值得考虑。

另外值得注意的是,在养鸡场和养猪场粪便中,抗头孢氨苄的抗性细菌比例都明显最高,分别达到 65.90% 和 49.12%。头孢氨苄属于 β -内酰胺类抗生素,这类抗生素比较容易诱导产生抗性,例如有报道内蒙古牛子宫内膜炎中 57 株大肠杆菌检测到对头孢唑啉有抗性的菌株高达 70.6%^[18],另有报道,意大利猪肉生产线上的猪肉样品中,63.6% 的葡萄球菌携带对 β -内酰胺抗性的 *blaZ* 基因^[19]。

4 结论

(1)通过对新乡市多家养殖场进行抗生素使用状况的调研,发现阿莫西林、卡那霉素、庆大霉素、头孢氨苄等临床使用率很高的人用抗生素是这些养殖场主要使用的抗生素,并且 83.30% 养殖户对抗生素不合理使用和用量严重超标。

(2)在新乡地区养鸡场和养猪场粪便中均检测到高比例的抗性细菌和多重抗性细菌,其中养鸡场粪便中对阿莫西林、卡那霉素、庆大霉素、头孢氨苄多重抗生素抗性的比例高达 9.73%,明显高于饲喂中药的养鸡场 0.12%。

(3)养鸡场和养猪场养殖过程中,幼龄期的养殖粪便中多重抗生素抗性细菌的比例高于成年期,这与幼龄期抗生素使用量和使用种类多有关。

References:

- [1] Yang Q X, Zhang J, Zhu K F, Yu N. Sensitivity to veterinary antibiotics of dominant bacteria in wheat rhizosphere. *Environmental Science and Technology*, 2010, 33(2): 85-89.
- [2] Pan X, Qiang Z M, Ben W W, Chen M X. Residual veterinary antibiotics in swine manure from concentrated animal feeding operations in Shandong Province, China. *Chemosphere*, 2011, 84(5): 695-700.
- [3] Zhang S Q, Zhang F D, Liu X M, Wang Y J, Zou S W, He X S. Determination and analysis on main harmful composition in excrement of scale livestock and poultry feedlots. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2005, 11(6): 822-829.
- [4] Martinez J L. Environmental pollution by antibiotics and by antibiotic resistance determinants. *Environmental Pollution*, 2009, 157(11): 2893-2902.
- [5] Jiang H X, Lü D H, Chen Z L, Wang X M, Chen J R, Liu Y H, Liao X P, Liu J H, Zeng Z L. High prevalence and widespread distribution of multi-resistant *Escherichia coli* isolates in pigs and poultry in China. *The Veterinary Journal*, 2011, 187(1): 99-103.
- [6] Berge A C B, Atwill E R, Sisco W M. Animal and farm influences on the dynamics of antibiotic resistance in faecal *Escherichia coli* in young dairy calves. *Preventive Veterinary Medicine*, 2005, 69(1/2): 25-38.
- [7] Heuer H, Schmitt H, Smalla K. Antibiotic resistance gene spread due to manure application on agricultural fields. *Current Opinion in Microbiology*, 2011, 14(3): 236-243.
- [8] Yang Q X, Wang Y S, Zhang J, Zhang H, Zhu K F, Li X M. Isolation and distribution of oxytetracycline-resistant entophytic bacteria in plant of wheat. *Acta Ecologica Sinica*, 2009, 29(8): 4580-4587.
- [9] Shen P, Chen X D. *Experimental of Microbiology [M]*. Beijing: Higher Education Press, 2007: 241-242.
- [10] Wang Y T. The usage and dosage of poultry commonly used medicine [J]. *Technical Advisor for Animal Husbandry*, 2010, (1): 143-143.
- [11] NCCLS. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Nineteenth Informational Supplement. CLSI Document, 2009, 29(3).
- [12] McKinney C W, Loftin K A, Meyer M T, Davis J G, Pruden A. *Tet* and *sul* antibiotic resistance genes in livestock lagoons of various operation type, configuration, and antibiotic occurrence. *Environmental Science and Technology*, 2010, 44(16): 6102-6109.
- [13] Yang Q X, Zhang J, Zhu K F, Zhang H. Influence of oxytetracycline on the structure and activity of microbial community in wheat rhizosphere soil. *Journal of Environmental Sciences*, 2009, 21(7): 954-959.
- [14] Yang Q X, Zhang J, Zhang W Y, Wang Z, Xie Y S, Zhang H. Influence of tetracycline exposure on the growth of wheat seedlings and the rhizosphere microbial community structure in hydroponic culture. *Journal of Environmental Science and Health Part B*, 2010, 45(3): 190-197.
- [15] Zhao L, Dong Y H, Wang H. Residues of veterinary antibiotics in manures from feedlot livestock in eight provinces of China. *Science of the Total Environment*, 2010, 408(5): 1069-1075.
- [16] Alonso-Hernando A, Prieto M, García-Fernández C, Alonso-Calleja C, Capita R. Increase over time in the prevalence of multiple antibiotic resistance among isolates of *Listeria monocytogenes* from poultry in Spain. *Food Control*, 2012, 23(1): 37-41.
- [17] Ji C X. Analysis on Some Resistant Genes of *Escherichia coli* with Multiple Drug Resistance [D]. Hunan: Agricultural University of Hunan, 2007: 1-1.
- [18] Zhao H X, Shen J Z, An X P, Fan H L, Cao J S, Li P F. Characterization of integrons in multiple antimicrobial resistant *Escherichia coli* isolates from bovine endometritis. *Research in Veterinary Science*, 2011, 91(3): 412-414.
- [19] Simeoni D, Rizzotti L, Cocconcini P, Gazzola S, Dellaglio F, Torriani S. Antibiotic resistance genes and identification of *staphylococci* collected from the production chain of swine meat commodities. *Food Microbiology*, 2008, 25(1): 196-201.

参考文献:

- [1] 杨清香, 张晶, 朱孔方, 俞宁. 小麦根际优势菌对畜禽用抗生素的敏感性研究. *环境科学与技术*, 2010, 33(2): 85-89.
- [3] 张树清, 张夫道, 刘秀梅, 王玉军, 邹绍文, 何绪生. 规模化养殖畜禽粪主要有毒成分测定分析研究. *植物营养与肥料学报*. 2005, 11(6): 822-829.
- [8] 杨清香, 王育水, 张晶, 张昊, 朱孔方, 李学梅. 小麦土霉素抗性内生细菌分离、鉴定及分布. *生态学报*, 2009, 29(8): 4580-4587.
- [9] 沈萍, 陈向东. *微生物学实验*. 北京: 高等教育出版社, 2007: 241-242.
- [10] 王彦涛. 家禽常用药物的用法用量(上). *养殖技术顾问*, 2010, (1): 143-143.
- [17] 纪春晓. 多抗性猪源大肠杆菌的部分耐药性基因分析 [D]. 湖南: 湖南农业大学, 2007: 1-1.

ACTA ECOLOGICA SINICA Vol. 33, No. 13 Jul. ,2013 (Semimonthly)

CONTENTS

Frontiers and Comprehensive Review

- A review of ecological effects of remnant trees in degraded forest ecosystems after severe disturbances MIAO Ning, LIU Shirong, SHI Zuomin, et al (3889)
- Mechanism and application of bioremediation to heavy metal polluted soil using arbuscular mycorrhizal fungi LUO Qiaoyu, WANG Xiaojuan, LIN Shuangshuang, et al (3898)

Autecology & Fundamentals

- Changes of allometric relationships among leaf traits in different ontogenetic stages of *Acer mono* from different types of forests in Donglingshan of Beijing YAO Jing, LI Ying, WEI Liping, et al (3907)
- The combined effects of increasing CO₂ concentrations and different temperatures on the growth and chlorophyll fluorescence in *Porphyra haitanensis* (Bangiales, Rhodophyta) LIU Lu, DING Liuli, CHEN Weizhou, et al (3916)
- Research on biomass expansion factor of chinese fir forest in Zhejiang Province based on LULUCF greenhouse gas Inventory ZHU Tangjun, SHEN Chuchu, JI Biyong, et al (3925)
- Influence of soil gradual drought stress on *Acorus calamus* growth and photosynthetic fluorescence characteristics WANG Wenlin, WAN Yinjing, LIU Bo, et al (3933)
- Isolation, identification, real-time PCR investigation of an endophytic phosphate-solubilizing bacteria from *Caragana korshinskii* Kom. roots ZHANG Lizhen, FENG Lili, MENG Qixia, et al (3941)
- Plant's and soil organism's diversity across a range of *Eucalyptus grandis* plantation ages ZHANG Danju, ZHANG Jian, YANG Wanqin, et al (3947)
- Effects of diet and starvation on growth and survival of *Scapharca broughtonii* larvae WANG Qingzhi, ZHANG Ming, FU Chengdong, et al (3963)
- Multidrug-resistant bacteria in livestock feces QI Shiyue, REN Siwei, LI Xueling, et al (3970)
- Physiological regulation related to the decline of *Alexandrium catenella* MA Jinhua, MENG Xi, ZHANG Shu, et al (3978)
- Numerical simulation of water quality based on environmental fluid dynamics code for grass-algae lake in Inner Mongolia LI Xing, SHI Hongsen, ZHANG Shuli, et al (3987)

Population, Community and Ecosystem

- Influence of enclosure on *Glycyrrhiza uralensis* community and distribution pattern in arid and semi-arid areas LI Xuebin, CHEN Lin, LI Guoqi, et al (3995)
- The interannual variation of net primary productivity of three coniferous forests in Liupan Mountains of Ningxia and its responses to climatic factors WANG Yunni, XIONG Wei, WANG Yanhui, et al (4002)
- Soil water use and balance characteristics in mature forest land profile of *Caragana korshinskii* in Semiarid Loess Area MO Baoru, CAI Guojun, YANG Lei, LU Juan, et al (4011)
- Effect of simulated acid deposition on chemistry of surface runoff in monsoon evergreen broad-leaved forest in Dinghushan QIU Qingyan, CHEN Xiaomei, LIANG Guohua, et al (4021)
- A space optimization model of water resource conservation forest in Dongting Lake based on improved PSO LI Jianjun, ZHANG Huiru, LIU Shuai, et al (4031)
- Allelopathic effects of aqueous extract of exotic plant *Rhus typhina* L. on soil micro-ecosystem HOU Yuping, LIU Lin, WANG Xin, et al (4041)
- The impact of natural succession process on waterbird community in a abandoned fishpond at Chongming Dongtan, China YANG Xiaoting, NIU Junying, LUO Zukui, et al (4050)
- Mercury contents in fish and its biomagnification in the food web in Three Gorges Reservoir after 175m impoundment YU Yang, WANG Yuchun, ZHOU Huaidong, et al (4059)

- Microsatellite analysis on genetic diversity of common carp, *Cyprinus carpio*, populations in Yuan River
 YUE Xingjian, ZOU Yuanchao, WANG Yongming, et al (4068)

Landscape, Regional and Global Ecology

- Research on spatio-temporal change of temperature in the Northwest Arid Area HUANG Rui, XU Ligang, LIU Junmin (4078)
- Simulation of soil respiration in forests at the catchment scale in the eastern part of northeast China
 GUO Lijuan, GUO Qingxi (4090)
- The early effects of nitrogen addition on CH₄ uptake in an alpine meadow soil on the Eastern Qinghai-Tibetan Plateau
 ZHANG Peilei, FANG Huajun, CHENG Shulan, et al (4101)
- Analysis of water ecological footprint in Guangxi based on ecosystem services ZHANG Yi, ZHANG Heping (4111)
- The integrated recognition of the source area of the urban ecological security pattern in Shenzhen
 WU Jiansheng, ZHANG Liqing, PENG Jian et al (4125)
- Carbon sources and storage sinks in scenic tourist areas: a Mount Lushan case study
 ZHOU Nianxing, HUANG Zhenfang, LIANG Yanyan (4134)
- Impacts of climate change on dominant pasture growing season in Central Inner Mongolia
 LI Xiazi, HAN Guodong, GUO Chunyan (4146)
- Phenological Characteristics of Typical Herbaceous Plants (*Lris lacteal*) and Its Response to Climate Change in Minqin Desert
 HAN Fugui, XU Xianying, WANG Lide, et al (4156)
- Biomass and distribution pattern of carbon storage in *Eomecon chionantha* Hance
 TIAN Dalun, YAN Wende, LIANG Xiaocui, et al (4165)
- Temporal dynamics and influencing factors of fine roots in five Chinese temperate forest ecosystems
 LI Xiangfei, WANG Chuankuan, QUAN Xiankui (4172)

Resource and Industrial Ecology

- Effects of AMF on soil improvement and maize growth in mining area under drought stress
 LI Shaopeng, BI Yinli, CHEN Peizhen, et al (4181)

Urban, Rural and Social Ecology

- Health function evaluation and exploring its mechanisms in the Shanghai Green Belt, China
 ZHANG Kaixuan, ZHANG Jianhua (4189)

Research Notes

- Time lag effects of rainfall inside a *Platycladus Orientalis* plantation forest in the Beijing Mountain Area, China
 SHI Yu, YU Xinxiao, ZHANG Jiayin (4199)
- Long-term effects of harvest residue management on soil total carbon and nitrogen concentrations of a replanted Chinese fir
 plantation HU Zhenhong, HE Zongming, FAN Shaohui, et al (4205)

《生态学报》2013 年征订启事

《生态学报》是由中国科学技术协会主管,中国生态学学会、中国科学院生态环境研究中心主办的生态学高级专业学术期刊,创刊于 1981 年,报道生态学领域前沿理论和原始创新性研究成果。坚持“百花齐放,百家争鸣”的方针,依靠和团结广大生态学科工作者,探索生态学奥秘,为生态学基础理论研究搭建交流平台,促进生态学研究深入发展,为我国培养和造就生态学科人才和知识创新服务、为国民经济建设和发展服务。

《生态学报》主要报道生态学及各分支学科的重要基础理论和应用研究的原始创新性科研成果。特别欢迎能反映现代生态学发展方向的优秀综述性文章;研究简报;生态学新理论、新方法、新技术介绍;新书评价和学术、科研动态及开放实验室介绍等。

《生态学报》为半月刊,大 16 开本,300 页,国内定价 90 元/册,全年定价 2160 元。

国内邮发代号:82-7,国外邮发代号:M670

标准刊号:ISSN 1000-0933 CN 11-2031/Q

全国各地邮局均可订阅,也可直接与编辑部联系购买。欢迎广大科技工作者、科研单位、高等院校、图书馆等订阅。

通讯地址:100085 北京海淀区双清路 18 号 电 话:(010)62941099; 62843362

E-mail: shengtaixuebao@rcees.ac.cn 网 址: www.ecologica.cn

本期责任副主编 彭少麟

编辑部主任 孔红梅

执行编辑 刘天星 段 靖

生 态 学 报

(SHENGTAI XUEBAO)

(半月刊 1981 年 3 月创刊)

第 33 卷 第 13 期 (2013 年 7 月)

ACTA ECOLOGICA SINICA

(Semimonthly, Started in 1981)

Vol. 33 No. 13 (July, 2013)

编 辑	《生态学报》编辑部 地址:北京海淀区双清路 18 号 邮政编码:100085 电话:(010)62941099 www.ecologica.cn shengtaixuebao@rcees.ac.cn	Edited by	Editorial board of ACTA ECOLOGICA SINICA Add:18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China Tel:(010)62941099 www.ecologica.cn shengtaixuebao@rcees.ac.cn
主 编	王如松	Editor-in-chief	WANG Rusong
主 管	中国科学技术协会	Supervised by	China Association for Science and Technology
主 办	中国生态学学会 中国科学院生态环境研究中心 地址:北京海淀区双清路 18 号 邮政编码:100085	Sponsored by	Ecological Society of China Research Center for Eco-environmental Sciences, CAS Add:18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China
出 版	科 学 出 版 社 地址:北京东黄城根北街 16 号 邮政编码:100717	Published by	Science Press Add:16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China
印 刷	北京北林印刷厂	Printed by	Beijing Bei Lin Printing House, Beijing 100083, China
发 行	科 学 出 版 社 地址:东黄城根北街 16 号 邮政编码:100717 电话:(010)64034563 E-mail:journal@cspg.net	Distributed by	Science Press Add:16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China Tel:(010)64034563 E-mail:journal@cspg.net
订 购	全国各地邮局	Domestic	All Local Post Offices in China
国外发行	中国国际图书贸易总公司 地址:北京 399 信箱 邮政编码:100044	Foreign	China International Book Trading Corporation Add:P. O. Box 399 Beijing 100044, China
广告经营 许 可 证	京海工商广字第 8013 号		

ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

国内外公开发行

国内邮发代号 82-7

国外发行代号 M670

定价 90.00 元