

微生物学报 *Acta Microbiologica Sinica*

54(7):821-827; 4 July 2014

ISSN 0001-6209; CN 11-1995/Q

http://journals.im.ac.cn/actamicrocn

doi: 10.13343/j.cnki.wsxb.2014.07.013

一株利用内醚糖产类胡萝卜素菌株的分离及鉴定

赵乙萱¹, 陈育如^{1*}, 孙欢¹, 刘军利², 卫民², 夏文静¹

¹南京师范大学生命科学学院, 江苏省微生物资源产业化工程技术研究中心, 江苏省微生物与基因组学重点实验室, 江苏省生物多样性与生物技术重点实验室, 江苏 南京 210023

²中国林业科学院林产化工研究所, 江苏 南京 210037

摘要:【目的】筛选一株能高效利用内醚糖的菌株, 该菌株能以内醚糖为碳源产类胡萝卜素, 以实现对其生物质的有效利用。【方法】以纤维素生物质热解产物内醚糖为唯一碳源, 筛选得到的真菌 ZS1 菌株。通过 rDNA ITS 基因序列分析, 构建进化树, 并结合菌落形态特征确定菌株系统发育学地位。通过高效液相色谱分析其利用内醚糖的能力, 利用分光光度法检测类胡萝卜素含量。【结果】实验表明筛选得到的真菌 ZS1 对内醚糖有很好的同化能力, 培养 4 d 后内醚糖的利用率为 67.0%, 经 ITS 测序和菌落形态特征鉴定该菌为红冬孢酵母菌 (CGMCC No:6365)。优化培养条件后, 内醚糖的利用率在 5 d 内达 98.7%, 菌体中类胡萝卜素含量为 427.1 $\mu\text{g/g}$ (干重)。以内醚糖为碳源得到的类胡萝卜素量为 460.4 $\mu\text{g/g}$ (内醚糖)。【结论】筛选得到的红冬孢酵母菌 *Rhodospiridium Kantochvilovae*, 能有效地利用内醚糖并产类胡萝卜素。

关键词: 内醚糖, 生物质热解液, 红冬孢酵母, 类胡萝卜素

中图分类号: Q935 **文章编号:** 0001-6209(2014)07-0821-07

纤维素生物质是地球上最丰富的可再生资源之一, 其热解主要产物为以内醚糖为主的热解液^[1-4], 如果内醚糖和热解液能得到经济有效的利用, 可为纤维素生物质的快速转化利用提供新的途径和方法, 以缓解人们面临的日益严重的资源和能源问题。

纤维素生物质热解是目前生物质利用的研究热点之一^[5-6]。热解后所得的纤维素热解液含有内醚糖 (Levoglucosan, 1,6-脱水- β -D 吡喃葡萄糖, 简称 LG)、羟基乙醛 (HAA)、糠醛 (FF)、香草醛等成份^[7]。近年来, 内醚糖的生物转化是生物质热解产物利用的关键。研究表明能利用内醚糖的微生物较少, 如斯达油脂酵母菌 (*Liomyces siarkeyi* YZ-215)

培养 3 d 后对内醚糖的转化率为 64.13%^[8]。黑曲霉 (*Aspergillus niger* CBX-209) 经 γ -射线诱变后转化内醚糖为柠檬酸的转化率为 87.5%^[9]。红酵母 (*Rhodotorula glutinis*) 利用内醚糖可产单细胞蛋白 (SCP) 和油脂 (2.7 g/L), 但产量有待提高^[10]。

类胡萝卜素主要包括番茄红素、 β -胡萝卜素和虾青素, 作为食品添加剂和营养增补剂, 其优良的品质和功效已被人们公认是最有发展潜力的天然产物之一^[11-12]。类胡萝卜素不仅具有防止肿瘤, 增强人体免疫力, 抗辐射的作用^[13], 还有治疗光敏性疾病等功能^[14]。

类胡萝卜素的生产主要有植物提取 (如新疆从

基金项目: 林业行业公益专项 (200904055)

* 通信作者。Tel: +86-25-85891527; E-mail: chenyruru@njnu.edu.cn

作者简介: 赵乙萱 (1986-), 女, 黑龙江省大庆市人, 硕士研究生, 从事应用微生物专业方面的研究。

收稿日期: 2013-09-23; 修回日期: 2014-01-13

蕃茄中提取)、化学法合成及生物法。化学法合成产品的安全性是其被限制使用的重要原因^[15]。植物提取法存在着原料受区域限制或成本的不足。产类胡萝卜素的微生物主要有4类:真菌类有三孢布拉氏霉和红酵母,细菌类有光合细菌,藻类有杜氏盐藻。杜氏盐藻的产业化需解决养殖条件受限(需海水或高盐养殖环境)等问题,光合菌因菌体小,发酵液的液固分离成本较高。另外,有研究报道,沼泽生红冬孢酵母经培养条件优化后,生物量和类胡萝卜素量分别为11.72 g/L和3.55 mg/L(干重),经换算类胡萝卜素含量为303 μg/g,产量还有待于提高^[16]。因而能利用生物质内醚糖的红冬孢酵母是很有潜力的产类胡萝卜素微生物。

本工作筛选了对内醚糖的有转化作用并产类胡萝卜素的红冬孢酵母菌株,对菌种鉴定和利用内醚糖产类胡萝卜素进行了研究。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 菌种来源:从南京师范大学仙林校区土壤中筛选,本实验室保存。

1.1.2 培养基:筛选培养基,2%内醚糖、0.5% (NH₄)₂SO₄、0.1% KH₂PO₄、0.04% MgSO₄、2% 琼脂、pH5.0。发酵培养基,1%内醚糖、1%酵母粉、0.1% KH₂PO₄、0.04% MgSO₄、0.1% K₂HPO₄、0.03% FeSO₄、pH 5.0。

1.1.3 主要试剂:内醚糖,河南高的医药科技有限公司(纯度98%)。纤维素热解液,中国林科院林产化学工业研究所提供。

1.2 菌种筛选

土壤浸提液用常规涂布方法涂布于固体筛选培养基平板,30℃恒温培养5 d后,挑取大菌落在筛选培养基平板上划线纯化单菌落,挑取单菌落接至斜面,于4℃冰箱保藏。

1.3 内醚糖同化能力检测

将筛选到的菌株接种于以内醚糖为碳源的液体筛选培养基中,于30℃、180 r/min条件下培养,每24 h取样并进行HPLC分析。

1.4 菌种鉴定

1.4.1 形态学鉴定:将菌种接到多种碳源的培养基中,观察菌落形态,利用插片法培养,借助显微镜观

察其显微形态特征。

1.4.2 分子生物学鉴定:PCR扩增引物为ITS1: TCCGTAGGTGAACCTGCGG; ITS4: TCCTCCGCTTTTGATATGC。PCR反应体系(20 μL): 10 × Ex Taq buffer 2.0 μL; MgCl₂ (25 mmol/L) 1.6 μL; dNTP (2.5 mmol/L) 1.6 μL; 引物各1 μL; Template 0.5 μL; 5U Ex Taq 0.2 μL; ddH₂O 12.1 μL。PCR反应条件:95℃预变性5 min;95℃变性30 s,55℃退火30 s,72℃延伸1 min 30 s,共24个循环;72℃延伸10 min。所得测序结果用Blast与GenBank中的核酸数据进行比对分析,用MEGA4.0软件构建进化树。

1.5 发酵及类胡萝卜素提取分析

将活化后的红冬孢酵母接种于液体发酵培养基中,30℃、180 r/min条件下培养5 d后离心收集菌体,破壁后用蒸馏水洗涤2次后,加入等体积丙酮提取类胡萝卜素,离心后上清液即为类胡萝卜素提取液,475 nm下测定吸光值定量。

类胡萝卜素含量(μg/g) = (Aλ_{max} × D × V) / (0.16 × W),其中Aλ_{max}为475 nm最大吸收波长下的吸光度,V为提取所用有机溶剂的总体积(mL),D为浸提液稀释倍数,W为酵母干重,0.16为类胡萝卜素的消光系数。

1.6 内醚糖分析

Agilent 1100 高效液相色谱仪(Agilent公司), Aminex HPX-87H柱(Bio-Rad, USA),流动相:0.05 mmol/L硫酸溶液,流速0.5 mL/min,柱温35℃,检测器:示差折光检测器。

1.7 内醚糖标准曲线

准确配制11.52 mg/mL内醚糖溶液,梯度稀释为5.76、2.88、1.44、0.72、0.36 mg/mL,经0.45 μm微孔滤膜过滤,HPLC分析,绘制内醚糖浓度-峰面积标准曲线。

内醚糖标准曲线: y (峰面积) = 379131.1 x (浓度 mg/mL) + 7.17 ($R^2 = 0.99958$)

内醚糖转化率(%) = [(原液中内醚糖量 - 转化液中内醚糖量) × 100%] / 原液中内醚糖量。

2 结果

2.1 内醚糖同化能力菌株的筛选

土壤浸提液涂布于固体筛选培养基平板后,30℃恒温培养5 d后,发现平板上长出一种红色的菌落,经纯化后接种于液体培养基,30℃、180 r/min

培养, 每 24 h 取样分析, 发现其对内醚糖有较强的同化能力, 将此红色菌株命名为 ZS1 (见图 1 和图 2)。

从图 1 和图 2 的比较可见, 经 ZS1 菌转化后

2% 内醚糖溶液中的内醚糖浓度有显著的降低, 培养 4 d 后, 对内醚糖的利用率为 67.0%, 说明此菌株对内醚糖有较强的同化能力, 进一步对其进行菌种鉴定。

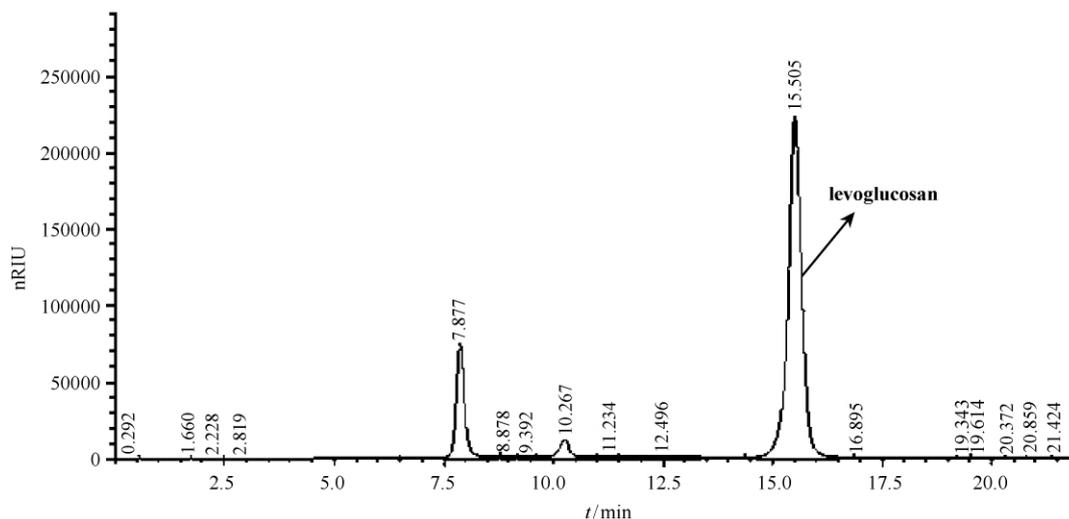


图 1. 内醚糖 2% 溶液的 HPLC 分析

Figure 1. The HPLC analysis of 2% Levoglucosan solution.

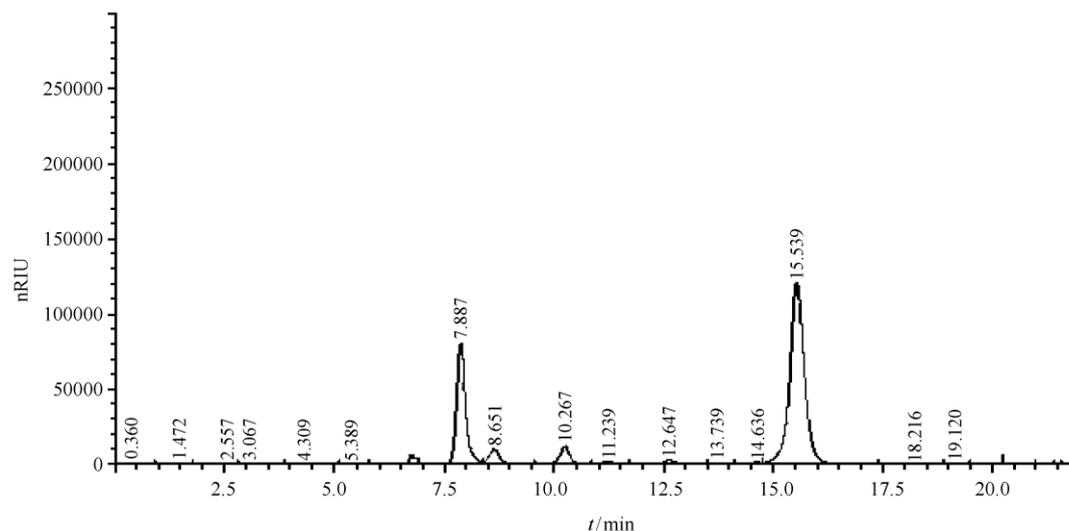


图 2. 经 ZS1 菌同化后的 2% 内醚糖溶液 HPLC 分析 (培养 4 天)

Figure 2. The HPLC analysis of 2% Levoglucosan after bioconversion by ZS1 strain (4 d).

2.2 菌种鉴定

2.2.1 形态及生理特性: 培养液呈红色, 静置时菌体沉淀。显微观察细胞为球形或卵圆形 ($2.6 - 5.0 \mu\text{m} \times 4.3 - 5.8 \mu\text{m}$), 细胞间相互交联, 多端出芽生殖, 可形成假菌丝, 属担子菌类。在内醚糖培养基平板上菌落呈圆形橘红色,

直径 1 mm - 2 mm, 凸起、边缘齐整、表面光滑湿润、有光泽、橙红色较透明, 可产类胡萝卜素。好氧, 化能异养型。在 PDA 培养基上也可以生长。可同化葡萄糖、蔗糖等多种碳源。但是不能以葡萄糖为碳源发酵产乙醇。后续进一步进行分子生物学鉴定。

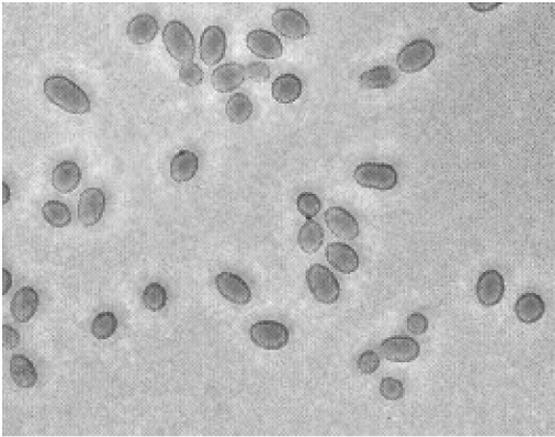


图 3. ZS1 菌的显微照片 (40 ×)

Figure 3. The micrograph of ZS1 strain (40 ×).

2.2.2 分子鉴定: 将测序结果用 Blast 与 GenBank 中的核酸数据进行比对分析, 构建进化树如图 4 所示。

用 Blast 与 GenBank 中的数据进行了比对分析, 发

现 ZS1 菌与红冬孢酵母属的亲缘关系最近, 与红冬孢酵母菌 (*Rhodosporidium kratochvilovae*. [JN662395]) 序列的相似性为 99%, 与其相邻属粘红酵母属 (*Rhodotorula glutinis*) 亲缘关系则较远, 且与此属中的其他种也有显著的差别, 如与倒卵形红冬孢酵母菌 (*Rhodosporidium diobovatum*) 有较大差异 (相似性不足 80%)。结合菌株形态和菌落特征等综合分析, 鉴定该菌为红冬孢酵母菌属 (*Rhodosporidium kratochvilovae*) 提交的菌种保藏号为 CGMCC NO:6365。

2.3 碳源对类胡萝卜素产量的影响

该红冬孢酵母菌能产类胡萝卜素, 本工作首先考察其利用不同碳源的能力, 以综合考虑菌体生物量与类胡萝卜素产量。分别以葡萄糖、蔗糖、内醚糖、淀粉和乳糖为碳源, 将活化后的红冬孢酵母接种于不同碳源的培养基中, 碳源浓度为 1% (W/W), 氮源为蛋白胨, 在 30℃, 180 r/min 条件下培养后提取类胡萝卜素, 结果见表 1 所示。

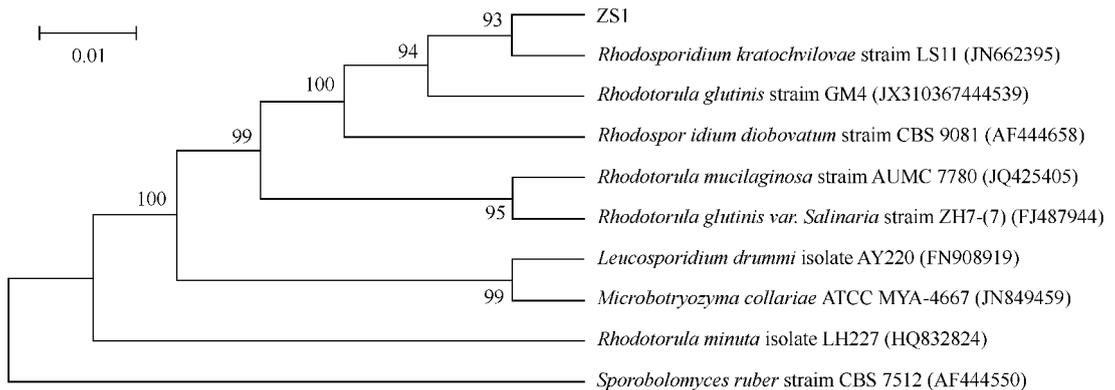


图 4. ZS1 菌株的系统进化树

Figure 4. Phylogenetic tree of *Rhodosporidium kratochvilovae* ZS1. Phylogenetic tree of strain ZS1 and relevant strains constructed from complete sequences of 18S rDNA. Numbers in bracket represent the sequences accession number in Gene Bank. The number at each branch points is the percentage supported by bootstrap. Bar, 0.01 sequence divergence.

表 1. 碳源对红冬孢酵母菌生物量和类胡萝卜素产量的影响

Table 1. Effect of carbon source on the yield of biomass and carotenoids by *Rhodosporidium kratochvilovae*

carbon source	strain biomass/ (g/L) (wet weight)		carotenoids/ (μg/g) (dry weight)	
	mean	standard deviation	mean	standard deviation
glucose	15.9	0.70	164.8	3.66
sucrose	19.3	0.53	259.4	4.51
levoglucosan	28.4	0.36	241.0	7.21
starch	2.43	0.23	17.5	0.62
lactose	1.17	0.14	4.36	0.53

由表 1 可见,以蔗糖和内醚糖为碳源时红冬孢酵母菌的生物量较高,其中以内醚糖为碳源时的红冬孢酵母菌生物量最高,达 28.4 g/L(湿重)。以内醚糖和蔗糖为碳源时,类胡萝卜素含量分别达到 241.0 $\mu\text{g/g}$ 和 259.4 $\mu\text{g/g}$ (干重),而内醚糖可由生物质的快速热解制得,是一种新型碳源,因此本工作

优选内醚糖作为红冬孢酵母菌的碳源。

2.4 氮源对类胡萝卜素产量的影响

分别以蛋白胨、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 、尿素、豆粕粉、酵母粉为氮源(1%, W/W)(内醚糖为碳源),考察氮源对红冬孢酵母菌生物量及类胡萝卜素产量的影响,结果如表 2 所示。

表 2. 氮源对红冬孢酵母菌生物量与类胡萝卜素产量的影响

Table 2. Effect of nitrogen source on the yield of carotenoids and biomass by *Rhodospiridium kratochvilovae*

nitrogen source	strain biomass (g/L) (wet weight)		carotenoids ($\mu\text{g/g}$) (dry weight)	
	mean	standard deviation	mean	standard deviation
peptone	25.9	1.39	222.7	2.86
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	7.6	0.30	23.6	1.13
urea	10.4	0.46	68.0	0.75
bean power	8.2	0.44	26.5	0.56
yeast power	30.1	0.78	238.1	6.74

由表 2 可见,以酵母粉、蛋白胨作为氮源时,红冬孢酵母的生物量和类胡萝卜素量均较高,其中以酵母粉为氮源时菌量最高(30.1 g/L,湿重),类胡萝卜素量达 238.1 $\mu\text{g/g}$ (干重),因此酵母粉是红冬孢酵母菌培养的适宜氮源。

2.5 优化条件下类胡萝卜素的产量与内醚糖转化率

综合以上实验结果,以 1% 内醚糖为碳源,1% 酵母膏为氮源,其他条件经优化后确定为添加 0.1% KH_2PO_4 、0.04% MgSO_4 、0.1% K_2HPO_4 、0.03% FeSO_4 无机盐,最适 pH 5.0。30 $^\circ\text{C}$ 、180 r/min 条件下培养。取样分析内醚糖的转化率和类胡萝卜素产量,结果见图 5。

由图 5 可见,在优化培养条件下内醚糖的转化率为 98.7%,类胡萝卜素的产量为 427.1 $\mu\text{g/g}$ (干重)。

2.6 红冬孢酵母对生物质热解液的利用

将红冬孢酵母接种到稀释 50 倍的纤维素热解液中,调 pH 至 6.0,30 $^\circ\text{C}$,180 r/min,的条件下培养 5 d 后,发现菌体受抑制不生长,HPLC 检测结果表明热解液中的内醚糖也未减少。进一步将热解液用 5% 活性炭脱毒后,接入红冬孢酵母在上述相同条件下培养,结果与未脱毒前未见明显改善,因此在后续研究中深入探讨热解液中对红冬孢酵母的抑制物种类是解决其利用热解液并产类胡萝卜素的关键。

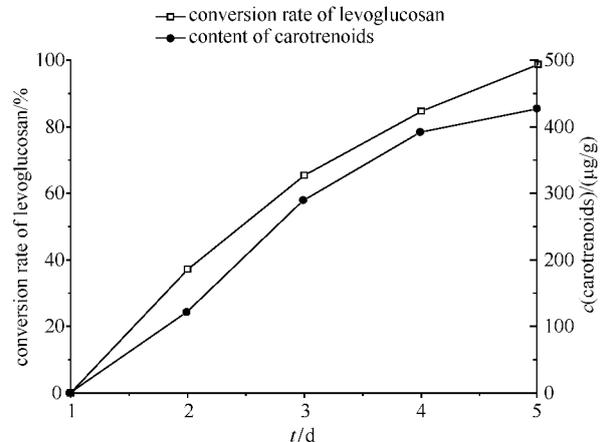


图 5. 优化条件下内醚糖转化率和类胡萝卜素产量

Figure 5. Time course of conversion rate of levoglucosan and carotenoids production after conditions optimization.

3 讨论

内醚糖在自然界中十分稀少,能同化内醚糖的微生物不仅少且利用率低^[16]。本工作以内醚糖为唯一碳源,筛选到对内醚糖具有很高转化能力的红冬孢酵母(*Rhodospiridium kratochvilovae*),经条件优化后,培养 5 d 后内醚糖的转化率达 98.7%,类胡萝卜素产量为 427.1 $\mu\text{g/g}$ (干重)。高于以葡萄糖为碳源的沼泽生红冬孢酵母所产类胡萝卜素量(303 $\mu\text{g/g}$ 干重,以类胡萝卜素量 3.55 mg/L 折算而来)^[16]。本工作为内醚糖的高效利用提供了性能更好的菌株。纤维素类生物质原料来源广泛,红冬孢

酵母以其热解产物转化得到类胡萝卜素,对实现纤维素生物质的多途径利用具有深远的意义。

参考文献

- [1] Patwardhan PR, Satrio JA, Brown RC, Shanks BH. Influence of inorganic salts on the primary pyrolysis products of cellulose. *Bioresource Technology*, 2010, 101 (1): 4646-4655.
- [2] Lu Q, Xiong WM, Li WZ, Guo QX, Zhu XF. Catalytic pyrolysis of cellulose with sulfated metal oxides: a promising method of obtaining high yield of high furan compounds. *Bioresource Technology*, 2009, 100 (20): 4871-4876.
- [3] Hosoya T, Kanamoto H, Saka S. Cellulose-hemicellulose and cellulose-lignin interactions in wood pyrolysis at gasification temperature. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 2007, 80 (1): 118-125.
- [4] Kawamoto H, Morisaki H, Saka S. Secondary decomposition of levoglucosan in pyrolysis production from cellulose biomass. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 2009, 85 (1/2): 247-251.
- [5] Pittam CU, Mohan D, Eseyin A, Li Q, Lngam L. Characterization of bio-oils produced from fast pyrolysis of corn stalks in an auger reactor. *American Chemical Society*, 2012 (6): 3891-3896.
- [6] Bai XL, Patrick J, Robert CB. An experimental study of the competing processes of evaporation and polymerization of levoglucosan in cellulose pyrolysis. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 2013, 99: 130-136.
- [7] Lu Q, Zhu X. Production of levoglucosenone from pyrolysis of cellulose catalyzed by solid superacids. *Journal of Fuel Chemistry and Technology*, 2011, 39 (6): 425-431. (in Chinese)
陆强, 朱锡峰. 利用固体超强酸催化热解纤维素制备左旋葡萄糖酮. *燃料化学学报*, 2011, 39 (6): 425-431.
- [8] 张洪勋, 余志晟. 酵母菌株 CGMCC NO.1189 培养方法及其用途. 中国专利, CN1624104A, 2013. 2.
- [9] Zhuang XL, Zhang HX, Yang JZ, Qi HY. Preparation of levoglucosan by pyrolysis of cellulose and its citric acid fermentation. *Bioresource Technology*, 2001, 79: 63-66.
- [10] Lian JN, Manuel GP, Chen SL. Fermentation of levoglucosan with oleaginous yeasts for lipid production. *Bioresource Technology*, 2013, 133: 183-189.
- [11] Zhang C, Zhang Y, He L. Comparative study on microbial production of carotenoids. *Food Research and Development*, 2011, 32 (2): 179-182. (in Chinese)
张闯, 张玉苍, 何连芳. 不同微生物生产类胡萝卜素的研究现状. *食品研究与开发*, 2011, 32 (2): 179-182.
- [12] Liang H, Chen X, Li Z. Study on extraction of carotenoids from *Rhodotorula* sp. and stability of *Rhodotorula* pigment. *Hubei Agricultural Sciences*, 2011, 50 (4): 815-817. (in Chinese)
梁慧星, 陈欣, 李朝霞. 红酵母类胡萝卜素提取工艺及色素稳定性研究. *湖北农业科学*, 2011, 50 (4): 815-817.
- [13] Wei H, Wei C, Wang Z. Optimization of fermentation conditions of carotenoids by *Sporidiobolus pararoseus* W012. *Food Science and Technology*, 2012, 37 (8): 25-31. (in Chinese)
魏华, 魏春, 汪钊. *Sporidiobolus pararoseus* W012 产类胡萝卜素条件的优化. *食品科技*, 2012, 37 (8): 25-31.
- [14] Maidonade IR, Rodrigue Z, Amaya DB, Scamparini APP. Carotenoids of yeasts isolated from the Brazilian ecosystem. *Food Chemistry*, 2008, 107 (1): 145-150.
- [15] He H, Tan Y, Tan Y. Study on production of carotenoids by *Rhodotorula glutinis* R3-25. *Cereal and Feed Industry*, 2008 (10): 29-31. (in Chinese)
何海燕, 覃拥灵, 覃永勇. 粘红酵母 R3-25 发酵生产胡萝卜素的研究. *粮食与饲料工业*, 2008 (10): 29-31.
- [16] Yang S, Du Z, Jian J. Culture conditions and carotenoid production by *Rhodospiridium paludigenum*. *Journal of Microbiology*, 2011, 3 (31): 61-66. (in Chinese)
杨世平, 吴灶和, 简纪常. 沼泽生红冬孢酵母生长及产类胡萝卜素培养条件的研究. *微生物学杂志*, 2011, 3 (31): 61-66.

Isolation and identification of a strain converting levoglucosan to carotenoid

Yixuan Zhao¹, Yuru Chen^{1*}, Huan Sun¹, Junli Liu², Min Wei², Wenjing Xia¹

¹College of Life Science, Nanjing Engineering Research Center for Industrialization of Microbial Resources, Jiangsu Key Lab for Biodiversity and Biotechnology, Jiangsu Key Lab for Microbes and Functional Genomics, Nanjing Normal University, Nanjing 210023, Jiangsu Province, China

²Institute of Chemical Industry of Forest Products, CAF, Nanjing 210037, Jiangsu Province, China

Abstract: [Objective] In order to use cellulosic biomass effectively, we screened a strain that can convert levoglucosan efficiently to carotenoids. [Methods] Strain ZS1 was isolated from soil using levoglucosan of cellulosis pyrolysis products as sole carbon source. It was identified based on rDNA ITS sequence analysis and morphological characteristics. Phylogenetic tree was constructed to determine its taxonomic status. The conversion rate of levoglucosan was analyzed by high performance liquid chromatography. Carotenoid in fermentation liquid was detected by spectrophotometry. [Results] The results show that ZS1 could ferment levoglucosan efficiently and the consumption rate of levoglucosan reached 67.0% after 4 days. Strain ZS1 was identified as *Rhodospiridium kratochvilovae* (CGMCC NO:6365) based on the morphology features and ITS sequence analysis. After optimization of culture conditions, the conversion rate of levoglucosan reached 98.7% after 5 days. The content of carotenoid in cells was 427.1 $\mu\text{g/g}$ (cell dry weight). After conversion, 460.4 $\mu\text{g/g}$ (levoglucosan) of carotenoids could be produced with levoglucosan as carbon source. [Conclusion] The strain capable fermenting levoglucosan was identified as *R. kratochvilovae* that could produce carotenoids with levoglucosan as carbon source.

Keywords: levoglucosan, biomass pyrolysis, *Rhodospiridium kratochvilovae*, carotenoids

(本文责编:张晓丽)

Supported by the Special Project for Forest Public Benefit (200904055)

* Corresponding author. Tel: +86-25-85891527; E-mail: chenyruru@njnu.edu.cn

Received: 23 September 2013 / Revised: 13 January 2014

《微生物学报》审稿程序

问:贵刊的审稿程序是怎样的?一般多长时间可以知道稿件是否被录用?

答:本刊严格遵守“三审制”,即:编辑部内审,专家外审,主编总审。从投稿日期开始,争取在2个月之内给出审稿结果,3-6个月之内发表。

(1) 收到来稿后,首先要由编辑初审,通过后再送外审。将请2位专家进行审阅,再送主编进行最后的总审,这个过程一般不会超过2个月。如果初审2位专家的意见分歧较大,编辑部将再请第3位专家进行初审,之后再送主编总审,那么此稿的审理时间可能会超过2个月。

(2) 完成审稿后(即主编给出总审意见),编辑会给作者发出E-mail告知修改意见(包括学术上的和写作格式上的)。作者在返回修改稿后,经本刊审核合格后方可被录用。

在此提醒作者,在没有完成全部审稿之前,不要在远程系统中看到初审意见时就急于返回修改稿件。