

微生物学报 *Acta Microbiologica Sinica*
49(4) 0498-0503; 4 April 2009
ISSN 0001-6209; CN 11-1995/Q
<http://journals.im.ac.cn/actamicrocn>

华重楼内生菌抗菌肽的分离纯化及其特性

程媛媛, 雍彬, 张超, 刘强, 严伟, 王一丁*

(四川师范大学生命科学学院, 成都 610068)

摘要 【目的】华重楼内生菌 PCE45 具有较强的抗菌活性, 本文将对 PCE45 产生的抗菌物质进行分离纯化和性质分析报道。【方法】PCE45 发酵液经硫酸铵盐析、丙酮沉淀、SephadexG75 柱、DE52 纤维素柱和 SephadexG25 凝胶柱纯化分离得到抗菌肽 PCP-1。【结果】稳定性测试表明该抗菌肽对蛋白酶不敏感, 对高温、强酸、强碱有较好的耐受性, 可造成稻瘟病菌菌丝畸形并抑制孢子萌发。抑菌谱表明该抗菌肽对玉米弯孢病菌等真菌和大肠杆菌等细菌有较强的抑菌效果。质谱测得其分子量为 1058.3。氨基酸组成分析表明该小肽主要由 7 种氨基酸组成。茚三酮反应呈阴性, 酸水解后, 茚三酮反应和双缩尿反应呈阳性。【结论】根据茚三酮反应和双缩尿反应结果推测 PCP-1 可能为低分子量的环状小肽。这是首次关于华重楼内生菌抗菌肽的研究报道。

关键词: 华重楼; 内生菌; 抗菌肽; 纯化

中图分类号: Q816 **文献标识码:** A **文章编号:** 0001-6209(2009)04-0498-06

重楼是一类极具药用价值的植物, 化学成分复杂, 药理活性强。临床应用广, 具有清热解毒、消肿止痛、凉肝定惊、止血、祛痰和抑菌等功效。但由于重楼自然繁殖率很低, 生长周期长以及市场需求的不断扩大, 导致重楼资源匮乏, 供需矛盾突出。

药用植物内生菌的研究表明, 其内生菌不但可以自身合成药物活性成分, 还具有促进宿主植物合成活性成分的能力。例如 Stierle 从短叶红豆杉 (*Taxus brevifolia*) 中分离得到能合成抗癌物质紫杉醇的内生真菌 (*Taxomyces andreanae*)^[1], 江东福等在内生菌和龙血树血竭形成关系的研究中, 发现内生菌对龙血树血竭形成具有很强的促进作用^[2]。

目前, 国内学者主要着重于滇重楼的繁殖技术、提取工艺和化学成分的研究^[3-5], 现已从重楼属植物中分离出 50 多种化合物, 主要成分为皂甙^[6], 但对华重楼尤其是其内生菌的研究较少。在重楼的驯

化和组织培养没有取得突破性进展的情况下, 利用重楼内生菌寻找新型可再生替代资源成为解决重楼资源短缺、确保重楼药材供应、保护重楼野生资源和保障名贵中成药质量的一条新途径。2005 年赵明等筛选出产甙体皂甙的华重楼内生菌^[7-9], 尚没有关于华重楼内生菌抗菌肽的研究报道。本实验前期工作中从华重楼根状茎中分离出一株具有较强抗菌活性的细菌 PCE45, 本文将对该菌产生的抗菌肽 PCP-1 的分离纯化及特性的研究做报道。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 供试菌种: 华重楼内生菌 *Paris polyphylla* var. *chinensis* PCE45 由本实验室分离得到。病原指示菌: 稻瘟病菌 *Pyricularia oryzae* Cav、松赤枯病菌 *Pestalotiopsis funerea*、玉米纹枯病菌 *Rhizoctonia solani*

基金项目: 国家自然科学基金(30670218)

* 通信作者。Tel: +86-28-84480650; E-mail: wwwyiding@163.net

作者简介: 程媛媛 (1981-), 女, 山西太原人, 硕士, 研究方向为微生物化学与分子生物学。E-mail: chengyuanyuan910@163.com

收稿日期: 2008-12-13; 修回日期: 2009-01-07

Kuha, 玉米弯孢病菌 *Curvularia lunata* (Walk) Boed, 小麦赤霉病菌 *Fusarium graminearum* Schw, 绿色木霉 *Trichoderma viride*, 油菜病核菌 *Sclerotinia sclerotiorum*, 镰刀霉菌 *Fusarium* sp., 冬瓜枯萎病菌 *Fusarium oxysporum*, 苹果轮纹病菌 *Physalospora piricola*, 绿色粘帚霉 *Gliocladium viriens*, 球孢白僵菌 *Beauveria bassiana*, 大肠杆菌 *Escherichia coli*, 金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus*, 枯草芽孢杆菌 *Bacillus subtilis*, 白色念珠菌 *Candida albicans*, 由本实验室保存。

1.1.2 培养基:马铃薯培养基(土豆 200 g, 葡萄糖 18 g, 水 1000 mL, 自然 pH), 牛肉膏蛋白胨培养基(牛肉膏 10 g, 蛋白胨 10 g, NaCl 5 g, 水 1000 mL, pH 7.2)

1.1.3 主要试剂与仪器:DE52 纤维素(Whatman), SephadexG75(Amersham Biosciences), Sephadex G25(Pharmacia), 蛋白酶 K(Amresco), 高速冷冻离心机(Beckman), AKTA purifier100 层析系统(GE), 紫外分光光度计 UV-1700(Shimadzu), 傅里叶变换红外光谱仪 Nexus670(Nicolet), 质谱仪 BioTOF(Bruker), 氨基酸分析仪 L-8800(Hitachi), 显微镜(Nikon)

1.2 粗提液的制备

将 PCE45 接种于发酵培养基 48 ~ 72 h, 37°C 摇床培养, 发酵液离心后除菌体(4800 × g, 30 min), 上清液采用硫酸铵沉淀法, 分别制备 30% ~ 40%、40% ~ 50%、50% ~ 60%、60% ~ 70%、70% ~ 80% 盐析液 4°C 静止过夜。离心弃上清(19200 × g, 10 min), 沉淀物用适量磷酸缓冲液(10 mmol/L Na₂HPO₄-NaH₂PO₄, pH7.2)充分溶解, 取溶解液加入 2 倍的 -20°C 丙酮, -20°C 静置 2 ~ 3 h, 离心去杂质(19200 × g, 10 min), 上清液经过旋转蒸发除去丙酮, 透析冷冻干燥浓缩后得到粗提液。采用管碟法^[10]检测抑菌圈大小, 确定最佳硫酸铵饱和度。

1.3 抗菌肽的分离纯化

1.3.1 SephadexG75 层析:将预处理的 SephadexG75 用 10 mmol/L NaCl(Tris-HCl 缓冲液, pH8.5)平衡装柱(10 mm × 700 mm), 取粗提液上样, 用 100 mmol/L NaCl(Tris-HCl 缓冲液, pH8.5)洗脱, 流速为 0.5 mL/min, 同时在 215 nm、245 nm、280 nm 处检测收集活性组分, 冷冻浓缩后供进一步纯化。

1.3.2 DEAE52 纤维素层析:将预处理的 DEAE52 纤维素用 100 mmol/L NaCl(Tris-HCl 缓冲液, pH8.5)平衡装柱(10 mm × 200 mm), 取以上活性组分上样, 用 100 ~ 600 mmol/L NaCl(Tris-HCl 缓冲液, pH8.5)梯度洗脱, 流速为 0.5 mL/min, 在 215 nm 处检测收

集活性组分, 冷冻浓缩后供进一步纯化。

1.3.3 SephadexG25 层析:操作同 1.3.1, 流速为 0.2 mL/min, 在 215 nm 处检测并收集活性组分, 冷冻干燥备用。

1.4 抗菌肽稳定性的测定

1.4.1 热稳定性:将样品分别进行 100°C 沸水浴 30 min、115°C、121°C 高压蒸气灭菌锅处理 20 min 后, 以玉米弯孢霉菌作为指示菌检测抑菌活性。以未处理的样品为对照, 将对照的抑菌活性定为 100%。

1.4.2 pH 稳定性:直接调节样品的 pH 值(pH 值分别为 3.0、3.5、4.0……11.0)静置过夜, 以玉米弯孢霉菌作为指示菌检测抑菌活性。以未经酸碱处理的样品为对照, 将对照的抑菌活性定为 100%。

1.4.3 蛋白酶稳定性:37°C 水溶条件下, 用反应浓度均为 1 mg/mL 蛋白酶 K 和胰蛋白酶处理样品 2 ~ 3 h, 以玉米弯孢霉菌作为指示菌检测抑菌活性。以未加酶处理的样品为对照, 将对照的抑菌活性定为 100%。

1.5 抑菌活性的测定

采用滤纸片扩散法^[11]测试内生菌对细菌的抑制作用, 28°C 培养 12 h ~ 48 h 观察是否有抑菌圈出现。采用生长速率法^[12], 每隔 24 h 测试样品对病害真菌的抑制率, 直至真菌长满对照平板。菌丝生长抑制率 = (对照菌落直径 - 处理菌落直径) / (对照菌落直径 - 5) × 100%

1.6 抗菌肽的特性分析

样品的紫外吸收采用日本岛津紫外分光光度计 UV-1700 紫外扫描。官能团检测采用傅里叶变换红外光谱方法进行红外光谱测定。分子量测定采用质谱仪测定。样品经酸水解后采用氨基酸自动分析仪检测氨基酸组成。茚三酮反应实验比较酸水解处理前后茚三酮显色结果。

1.7 抗菌肽对真菌菌丝和孢子的影响

采用平板对峙法^[13], 待牛津杯周围形成抑菌圈时镜检观察比较正常生长的菌丝和抑菌圈边缘处的菌丝。

2 结果

2.1 PCP-1 的分离纯化

2.1.1 粗提液的提取:通过对 PCE45 发酵液不同硫酸铵浓度处理和抑菌能力测定, 结果发现当硫酸铵饱和度在 30% 以下时抑菌活性较小, 在 50% ~ 70% 时抑菌效果最强, 当浓度大于 70% 时抑菌效果增强不明显, 所以粗提液制备采用硫酸铵浓度为 50% ~ 70%。经过丙酮处理后得到浅黄色粗提液。

2.1.2 SephadexG75 层析和 DEAE52 纤维素层析: SephadexG75 层析和 DEAE52 纤维素层析后得到 4 个洗脱峰,用玉米弯孢病菌为指示菌进行检测,第 3 和第 4 个峰有很强的抑菌活性,而第 1 和第 2 个峰没有发现抑菌活性。收集活性组分(图 1-A),冷冻浓缩后低温保存。

2.1.3 SephadexG25 层析: SephadexG25 层析后得到 2 个洗脱峰,用玉米弯孢病菌为指示菌进行检测,第 1 个峰有很强的抑菌活性,而第 2 个峰没有发现抑菌活性。收集活性峰(图 1-B),冷冻干燥后得到样品 PCP-1 为白色粉末。1 L 细菌发酵液可得到 1 mg PCP-1 纯品。

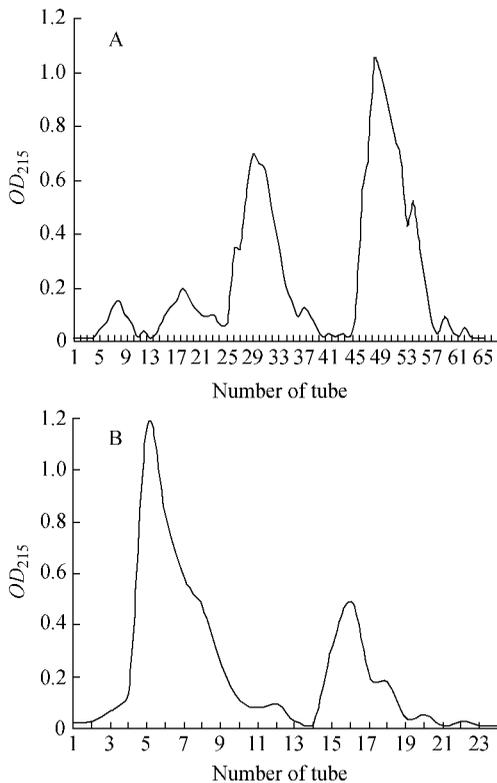


图 1 PCP-1 的层析图谱
Fig.1 Chromatogram of PCP-1. A DEAE52 cellulose column; B Sephadex G25 column.

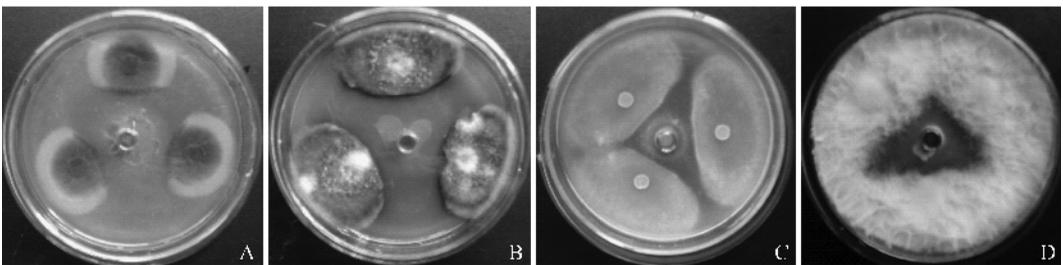


图 2 PCP-1 的抑制效果

Fig.2 The effect of PCP-1 against (A) *Curvularia lunata* (Walk.) Boed (B) *Pyricularia oryzae* Cav (C) *Rhizoctonia solani* Kuha (D) *Fusarium graminearum* Schw.

2.2 PCP-1 的稳定性

2.2.1 PCP-1 对温度的敏感性: 样品经 100℃ 沸水浴 30 min, 115℃、121℃ 高压蒸气灭菌锅处理 20 min 后, 抑菌活性保持在 95% 以上, 表明 PCP-1 具有很好的热稳定性。

2.2.2 PCP-1 对 pH 的敏感性: 在不同酸碱度下的抑菌活性表明, pH 值在 5.5 ~ 10.5 范围内时样品均有抗菌活性, 最适 pH 范围是 7.5 ~ 8.5, 抑菌活性保持在 90% 以上; 当 pH < 4.0 或 pH > 11.0 时抑菌活性不明显。

2.2.3 PCP-1 对蛋白酶的敏感性: 样品经蛋白酶 K 和胰蛋白酶处理后, 抑菌活性仍保持在 90% 以上, 说明 PCP-1 对蛋白酶 K 和胰蛋白酶具有很好的耐受性。

2.3 抑菌谱

PCP-1 对多种病害菌都有抑制作用。对玉米弯孢病菌和稻瘟病菌抑菌效果最强, 抑菌率达到了 95.5% 和 93.5%; 对绿色木霉、玉米纹枯病菌、和松赤枯病菌、镰刀霉菌也有较好的抑制效果, 抑制率达到 80% 以上; 对其他菌株也有较好的抑制效果(图 2)。说明 PCP-1 对病原菌的抑制作用具有广谱性(表 1)。

2.4 PCP-1 的性质

2.4.1 紫外光谱分析: 对抗菌肽 PCP-1 进行紫外扫描, 发现最大吸收峰位于 210 nm 左右, 在 250 nm ~ 280 nm 附近有稍弱的吸收峰, 与肽键(215 nm)的最大吸收峰相符合。(图 3-A)

2.4.2 官能团分析: 红外光谱分析结果: 谱图的基团特征吸收峰显示有 C=O(1652 cm⁻¹)、-NH(1557 cm⁻¹、3321 ~ 3285 cm⁻¹)、-OH(1039 cm⁻¹、3321 ~ 3285 cm⁻¹)、C-H(2964 cm⁻¹、2925 cm⁻¹、2849 cm⁻¹)、-CH₂(1460 cm⁻¹) (图 3-B)。

2.4.3 分子量分析: 由质谱分析图谱可判断 PCP-1 的分子量为 1058.3 D(图 3-C)。

表 1 PCP-1 对病害菌的抑菌活性

Table 1 The antimicrobial activities of PCP-1

| Microorganism | Antimicrobial activity* | Inhibition rate/% |
|---------------------------------------|-------------------------|-------------------|
| Fungi | | |
| <i>Rhizoctonia solani</i> Kuha | +++ | 89.3 |
| <i>Fusarium graminearum</i> Schw | +++ | 86.5 |
| <i>Curvularia lunata</i> (Walk.) Boed | ++++ | 95.5 |
| <i>Pestalotiopsis funerea</i> | +++ | 86.3 |
| <i>Pyricularia oryzae</i> Cav | ++++ | 93.5 |
| <i>Trichoderma viride</i> | +++ | 83.3 |
| <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> | +++ | 88.5 |
| <i>Fusarium</i> sp. | +++ | 86.3 |
| <i>Fusarium oxysporum</i> | ++ | 75.3 |
| <i>Phyalospora piricola</i> | ++ | 72.5 |
| <i>Gliocladium viriens</i> | ++ | 79.5 |
| <i>Beauveria bassiana</i> | ++ | 81.3 |
| <i>Candida albicans</i> | | undeternined |
| Bacteria | | |
| <i>Escherichia coli</i> | + | undeternined |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | + | undeternined |
| <i>Bacillus subtilis</i> | + | undeternined |

* The antimicrobial activity is expressed by the diameter of inhibition zone, + 3~5mm, ++ 5~10mm, +++ 10~15mm, ++++ 15~20mm

2.4.4 氨基酸组成分析 氨基酸分析结果表明, PCP-1 主要含有 7 种氨基酸, 氨基酸残基数为 9。其中极性氨基酸 (Ser、Tyr、Glu、Asp) 相对含量为 61.64%, 与

PCP-1 易溶于水、极性强的特征相符合 (表 2)。

表 2 PCP-1 的氨基酸组成

Table 2 Amino acid component of PCP-1

| Amino acids | Content/mol% | No. of residues |
|-------------|--------------|-----------------|
| Gly | 13.31 | 1.88(2) |
| Leu | 11.76 | 0.95(1) |
| Pro | 8.6 | 0.79(1) |
| Ser | 14.4 | 1.45(1) |
| Tyr | 10.57 | 0.61(1) |
| Asp | 13.45 | 1.07(1) |
| Glu | 23.22 | 1.67(2) |

2.4.5 茚三酮反应性测试 PCP-1 茚三酮反应呈阴性, 说明它无自由 N-端。酸水解后, 茚三酮反应和双缩尿反应呈阳性, 故推测它可能为环肽。

2.5 PCP-1 对真菌菌丝和孢子的影响

PCP-1 对稻瘟病菌丝和孢子的生长有强烈的抑制作用。抑菌平板抑菌圈边缘处的菌落稀薄, 而其他部位菌丝生长旺盛。镜检观察到抑菌圈边缘处的菌丝成串珠状、分枝增多、聚集成丛枝状, 有的生长菌丝的顶端畸形, 孢子仅有少数萌发, 而正常菌丝分枝少, 间节长, 菌丝光滑、均匀, 孢子轮廓清晰, 数目较多 (图 4)。

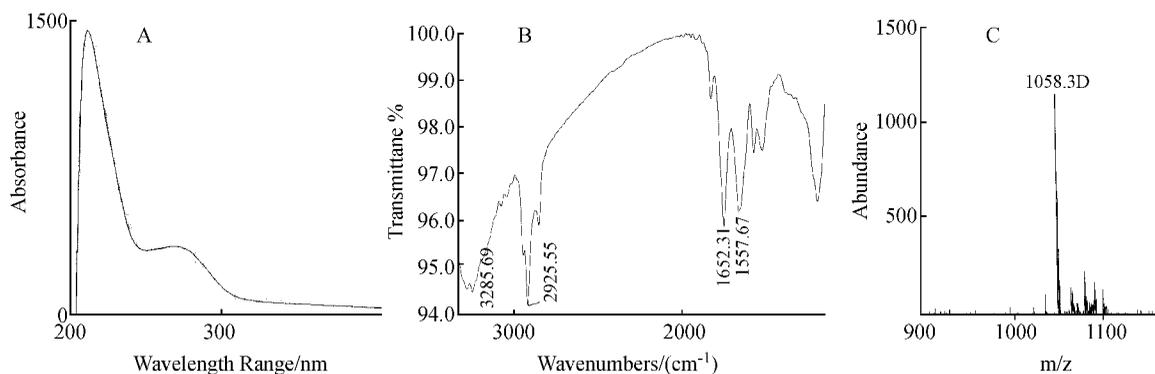


图 3 PCP-1 的性质分析图

Fig. 3 Character analysis of PCE45. A: UV spectrum; B: IR spectrum; C: MS profile.

3 讨论

自从 1974 年瑞典科学家 Boman 等人从诱导的眉纹天蚕蛾 (*Samia cynthia*) 蛹中发现抗菌肽以来^[14], 人们又在细菌、真菌、两栖类、哺乳动物、植物和人类中相继发现并分离得到了抗菌肽。这些小肽有许多共同特征: 分子量很小; 基本都是环状结构; 含有一些特殊氨基酸, 能耐受高温和蛋白酶的作用

等。本实验从华重楼内生菌中分离出的抗菌肽 PCP-1 热稳定性好, 且对蛋白酶 K 和胰蛋白酶都有较好的耐受性, 这可能与它的分子量小和环状结构有关。

由于 PCP-1 分子量较小, 序列较短, 所以 SDS-PAGE 分离时分辨率低, 效果不理想, 最终采用质谱分析测得 PCP-1 分子量为 1058.3D。本实验没有采用高效液相色谱做样品的纯度检测, 但由于质谱仪

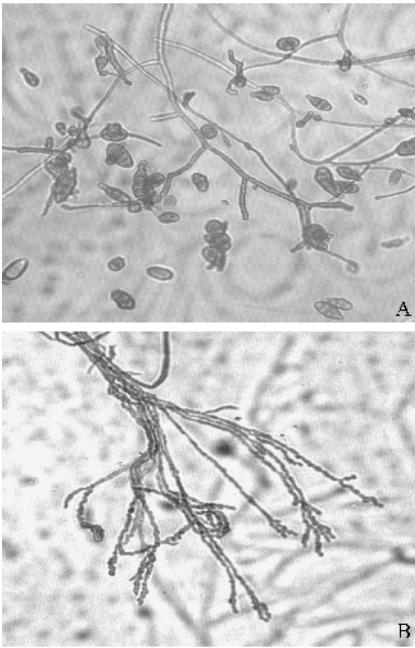


Fig. 4 PCP-1 对水稻稻瘟病菌菌丝形态的影响

Fig. 4 Effect of PCP-1 on the hyphal morphology of *Pyricularia oryzae* Cav. A: Normal hyphal morphology; B: Abnormal hyphal morphology.

对样品的纯度要求很高,质谱测量的精度可达千分之一,所以可以肯定该抗菌肽纯度达到一定的要求,所得的分子量是准确的。

氨基酸组成分析表明 PCP-1 主要含有 7 种氨基酸,是否含有特殊的氨基酸还需进一步验证。氨基酸测试时,还含有少量其他的氨基酸占 4.69%,可能是由于收集时误差引起的,但它们的含量微小,不影响氨基酸残基数。

在已报道的芽孢杆菌抗菌多肽类抗生素中,多数抑菌谱窄,大多数不能同时既抗细菌又抗真菌^[15-16]。本文报道的抗菌肽 PCP-1 抑菌谱广、活性强,对许多危害严重丝状真菌、细菌都表现出很强的抗菌活性,对深入研究和开发利用重楼资源提供了一定的理论依据,同时对华重楼新的生产途径及药用植物的保护具有十分重要的经济及生态效益,在农业或医药业中具有重要的应用潜力。PCP-1 的抑菌机理还有待进一步研究。

参考文献

[1] Stierle A, Strobel G, Stierle D. Taxol and taxane production by *Taxomyces andreae*, an endophytic fungus of pacific yew (*Taxus brevifolia*). *Science*, 1993, 260: 214 - 216.

- [2] 江东福, 马萍, 张玲琪, 等. 龙血树真菌群及其对血竭形成的影响. *云南植物研究 (Acta Botanica Yunnanica)*, 1995, 7(1): 79.
- [3] 周立刚, 曹晓冬, 杨成宗, 等. 重楼的内生真菌及真菌中甾体化合物的分析. *天然产物研究与开发 (Natural Product Research and Development)* 2004, 16(3): 198 - 200.
- [4] 张金渝, 虞泓, 张时刚, 等. 滇重楼与华重楼的野生驯化和繁殖技术研究. *西南农业学报 (Southwest China Journal of Agricultural Sciences)* 2004, 17(3): 314 - 317.
- [5] 韦建荣, 董汛. 重楼中薯蓣皂甙元的反相高效液相色谱测定. *色谱 (Chinese Journal of Chromatography)*, 1999, 17(5): 498 - 499.
- [6] 武珊珊, 高文远, 段宏泉, 等. 重楼化学成分和药理作用研究进展. *中草药 (Chinese Traditional and Herbal Drugs)* 2004, 35(3): 344 - 346.
- [7] 赵明, 贺声蓉, 陈小静, 等. 产甾体皂甙华重楼内生菌的筛选与鉴定. *微生物学报 (Acta Microbiologica Sinica)* 2005, 45(5): 776 - 778.
- [8] 张晓洁, 查岭生, 陈小静, 等. 一株产重楼皂甙内生细菌的分离与鉴定. *微生物学通报 (Microbiology)*, 2006, 33(5): 84 - 88.
- [9] 陈小静, 冯定胜, 赵明, 等. 四种华重楼内生细菌的初步研究. *四川大学学报 (Journal of Sichuan University)*, 2005, 42(4): 827 - 830.
- [10] 徐积恩, 朱明珍. *抗生素*. 北京: 科学出版社, 1982, 152.
- [11] 申屠旭萍, 陈宵峰, 俞晓平. 雷公藤内生真菌的分离及活性菌株的筛选. *浙江农业学报 (Acta Agriculturae Zhejiangensis)* 2006, 18(5): 308 - 312.
- [12] 黄国祥. *农药实验技术与评价方法*. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [13] 鲁素云. *植物病虫害生物防治学*. 北京: 北京农业大学出版社, 1993.
- [14] Boman HG, Nilsson-Faye I, Paul K, et al. Characteristics of an inducible cell-free antibacterial reaction in hemolymph of *Samia cynthia* pupae. *Infect Immunology*, 1974, 10(1): 136 - 145.
- [15] Hansen JN. Antibiotics synthesized by posttranslational modification. *Annual Review Microbiology*, 1993, 47: 535 - 564.
- [16] Katz E, Demain AL. The peptide antibiotics of *Bacillus*: chemistry, biogenesis and possible functions. *Bacteria Review*, 1997, 41: 449 - 474.

Purification and characterization of an antimicrobial peptide from *Paris polyphylla* var. *chinensis*

Yuanyuan Cheng, Bin Yong, Chao Zhang, Qiang Liu, Wei Yan, Yiding Wang*

(College of Life Science, Sichuan Normal University, Chengdu 610068, China)

Abstract : [**Objective**] We isolated an endophyte PCE45 from the rhizome of *Paris polyphylla* var. *chinensis*. From PCE45, we purified and characterized an antimicrobial peptide. [**Methods**] After ammonium sulfate salting-out, acetone precipitation, SephadexG75, DE52 and SephadexG25 column chromatography, we separated an antimicrobial peptide PCP-1 from the strain PCE45. The stability against high temperature and proteinase, and antimicrobial activity were also analyzed. [**Results**] The antimicrobial peptide PCP-1 was stable to proteinase and tolerated high temperature, strong acid and strong base. PCP-1 caused deformation of the hyphae of *Pyricularia oryzae* and prohibited the spore germination. It also inhibited fungi such as *Curvularia lunata* and bacteria such as *Escherichia coli*. Mass spectrogram measurement revealed its molecular weight of 1058.3 Da. The amino acid composition of the peptide composed of 7 amino acids. Ninhydrin reaction showed negative trait whereas after acid hydrolysis with positive ninhydrin reaction and biuret reaction. [**Conclusion**] The ninhydrin reaction and biuret reaction imply that the peptide PCP-1 is a cyclic lipopeptide. This is the first report about antimicrobial peptide from *Paris polyphylla* var. *chinensis*.

Keywords : *Paris polyphylla* var. *chinensis*; endophyte; antimicrobial peptide; purification

(本文责编: 张晓丽)

Supported by the National Natural Science Foundation of China(No. 30670218)

* Corresponding author. Tel : + 86-28-84480650 ; E-mail : wwyiding@163.com

Received : 13 December 2008/Revised : 7 January 2009

《微生物学报》答作者问——关于审稿

问: 我想知道我的稿件的处理状态, 如何查询?

答: 您可以登录主页 journals.im.ac.cn/actamicrocn, 在“作者稿件查询”处输入您的用户名、密码, 即可查询到稿件状态, 如有问题, 您也可以通 e-mail 询问, 请注意务必要提示稿件编号, 编辑部在收到您的来信会及时给予回复。

问: 我想尽早得到审稿结果, 或者提前发表, 有没有好的办法能使审稿老师快点。比如我们增加审稿费等方法?

答: 在给作者发送的“受理通知”中, 我们已经告知了本刊处理稿件的程序和大致时间进度。

- (1) 在作者向我刊投稿之前, 应详细了解我刊的规定。审稿人评审一篇文章, 并给出谨慎的评审意见是需要一定时间的。所以, 作者在投稿之前应该留出足够多的时间给编辑部, 以便于进行评审。我们的承诺是在 2 个月之内给予答复, 5~7 个月之内刊出。
- (2) 如要求提前发表, 请在投稿的同时提出书面报告, 说明该研究成果的重要性、创新性、竞争性和提前发表的必要性, 经过我刊编委会讨论并通过后, 可予提前刊出, 无需另加任何费用。

问: 我的文章现已审查完毕, 并收到了编辑部发来的“审稿意见”。我想咨询, 如果文章修改后, 再次投递, 是否还需要交稿件受理费? 是否仍然用原论文编号提交?

答: 这要分两种情况,

- (1) 如果你的文章已经被通知“退稿”了, 那么修改之后再投来的文章将按“新稿件”处理, 从程序上来讲和新投稿件是一样的, 仍需要缴纳稿件受理费。但是为便于稿件审理, 请作者投稿时在文题的后面加上“原稿件号+修后再投”字样。
- (2) 如果是编辑部在审稿意见中要求您修改后再提交本刊“复审”, 则不作为新稿处理, 请作者直接将修改稿上传到远程系统中, 不再另交稿件受理费。