

Cp-S316 菌株抗细菌活性物质对大肠杆菌的抑制作用及高产突变株选育

杨少波¹ 王娟² 张楠¹ 周启升¹ 曹宁宁¹ 姜维¹ 刘训理^{1*}

(1. 山东农业大学 山东 泰安 271018)

(2. 山东水利职业学院 山东 日照 276826)

摘要: 通过测定大肠杆菌K12 (*Escherichia coli* K12)菌悬液的 OD_{260} 的变化,研究了多粘类芽孢杆菌(*Paenibacillus polymyxa*)Cp-S316 抗细菌活性物质对其细胞膜完整性的影响,结果表明Cp-S316 抗细菌活性物质可损伤大肠杆菌K12 的细胞膜,从而引起胞内RNA、DNA等大分子物质的泄漏。为获得抗细菌活性物质高产菌株,以Cp-S316 为出发菌株,通过紫外诱变以及对自身产生的抗细菌活性物质的抗性筛选法进行预筛、摇瓶初筛和复筛,获得突变株多粘类芽孢杆菌A17,其发酵效价比出发菌株Cp-S316 提高91%,该突变株的高产遗传性状稳定。

关键词: 多粘类芽孢杆菌 Cp-S316, 活性物质, 抗菌机理, 诱变育种

Inhibition of Antibacterial Active Substances from *Paenibacillus polymyxa* Cp-S316 on *Escherichia coli* and Breeding of Higher-yield Mutant

YANG Shao-Bo¹ WANG Juan² ZHANG Nan¹ ZHOU Qi-Sheng¹ CAO Ning-Ning¹
JIANG Wei¹ LIU Xun-Li^{1*}

(1. Shandong Agricultural University, Taian, Shandong 271018, China)

(2. Shandong Vocational College of Water Conservancy, Rizhao, Shandong 276826, China)

Abstract: The effect of antibacterial active substances from *Paenibacillus polymyxa* Cp-S316 on the integrity of *Escherichia coli* K12 membrane was studied by determining the variation of OD_{260} values of bacterial suspensions. The results showed that the antibacterial substances could damage the *Escherichia coli* K12 membrane which led to the leakage of RNA, DNA and other cytoplasmic macromolecules. As an original strain, *Paenibacillus polymyxa* Cp-S316 was treated by ultraviolet mutagenesis. The mutated strain of A17 was obtained by prescreening of antibacterial active substances, screening and re-screening of shake flask culture. Compared with Cp-S316, the yield of antibacterial substances obtained from mutant A17 was increased by 91%. The subculture experiments indicated that the hereditary characteristic of high productivity of *Paenibacillus polymyxa* A17 was stable.

Keywords: *Paenibacillus polymyxa* Cp-S316, Active substance, Antibacterial mechanism, Mutation breeding

多粘类芽孢杆菌(*Paenibacillus polymyxa*)为革兰氏阳性好氧或兼性厌氧杆状细菌,原属芽孢杆菌属(*Bacillus*)。1994年,Ash等^[1]根据分子生物学研究结果,建立了类芽孢杆菌属(*Paenibacillus*),并将多粘类芽孢杆菌立为该属的模式菌种。多粘类芽孢杆菌对人和动物没有致病性,某些菌株可产生抗菌活性物质,因此,该菌作为拮抗菌和它所产生的抗菌活性物质在植物病害防治以及人和动物疾病治疗方面具有广阔的应用前景。

多粘类芽孢杆菌 Cp-S316(GenBank 登录号为 AY292989)由本实验室从泰山林地土壤中分离获得^[2],该菌可产生对大肠杆菌(*Escherichia coli*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、鸡白痢沙门氏菌(*Salmonella pullorum*)、出血性巴氏杆菌(*Pasteurella multocida*)、烟草赤星菌(*Alternaria alternata*)、立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*)、黄瓜枯萎病菌(*Fusarium oxysporium f.sp.cucumerinum*)等多种动、植物病原细菌和真菌具有较强拮抗作用的活性物质。并且,在不同的发酵培养基中,抗细菌活性物质和抗真菌活性物质的产量有很大差异^[3]。多粘类芽孢杆菌Cp-S316可产生至少5种线环状多肽类抗菌活性物质及1种抗真菌活性物质,其中有2种抗细菌活性物质组份分别为多粘菌素E、多粘菌素E1,其它组分有可能为新的抗细菌活性物质^[3]。本研究研究了抗细菌活性物质对大肠杆菌K12的抑制作用,并以野生型Cp-S316菌株为出发菌株,通过紫外诱变和在含有该菌株产生的抗细菌活性物质的PDA平板上进行抗性筛选,以期获得高产性状能稳定遗传的突变菌株。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 供试菌株:多粘类芽孢杆菌 Cp-S316 由本实验室分离;大肠杆菌 K12 由山东农业大学微生物实验室提供。

1.1.2 菌株发酵培养基:土豆 200 g,牛肉膏 5.0 g,葡萄糖 20 g, MgSO₄ 1.0 g, (NH₄)₂SO₄ 1.0 g, KH₂PO₄ 0.6 g, CaCO₃ 3.0 g, 蒸馏水定容至 1000 mL。

1.1.3 肉汤培养基:牛肉膏 5 g, 蛋白胨 10 g,

NaCl 5 g, 蒸馏水定容至 1000 mL。

1.1.4 PDA培养基:土豆 200 g, 牛肉膏 5.0 g, 葡萄糖 20 g, 琼脂 15 g, (NH₄)₂SO₄ 1.0 g, MgSO₄ 1.0 g, KH₂PO₄ 0.6 g, CaCO₃ 3.0 g, 蒸馏水定容至 1000 mL。

1.1.5 抗细菌活性物质的活性检测培养基:底层培养基:琼脂 18 g, 蒸馏水定容至 1000 mL;上层培养基:NaCl 10 g, 蛋白胨 10 g, 酵母浸膏 5 g, 琼脂 15 g, 蒸馏水定容至 1000 mL, pH 6.8。

1.2 方 法

1.2.1 发酵液效价生物测定方法的建立:生物检测平板的制备:采用双层平板法。底层:在直径为 90 mm 的无菌平皿中加入 15 mL 融化的抗细菌活性物质活性检测培养基底层培养基,置水平台冷却。上层:取灭菌冷却到 50°C~55°C 的上层培养基,加入 3% 的大肠杆菌 K12 菌悬液,按照 10 mL/皿加入培养皿中,冷凝后备用。在每个平板上等距离均匀放置牛津杯(内径 6 mm±0.1 mm, 高 10 mm±0.1 mm, 外径 8 mm±0.1 mm)4 个。向每个杯中准确加入 250 μL 不同浓度的标准液,每个浓度设 3 个重复。37°C 培养 18 h 后用游标卡尺测量抑菌圈直径。

发酵液效价生物测定工作曲线的制作:准确称取抗细菌活性物质配制成浓度分别为 500 μg/mL、1000 μg/mL、1500 μg/mL、2000 μg/mL、2500 μg/mL 和 3000 μg/mL 的溶液,进行生物测定。以抗细菌活性物质浓度的对数值为横坐标,以抑菌圈直径为纵坐标制作的标准曲线,如图 1 所示。可见,浓度的对数

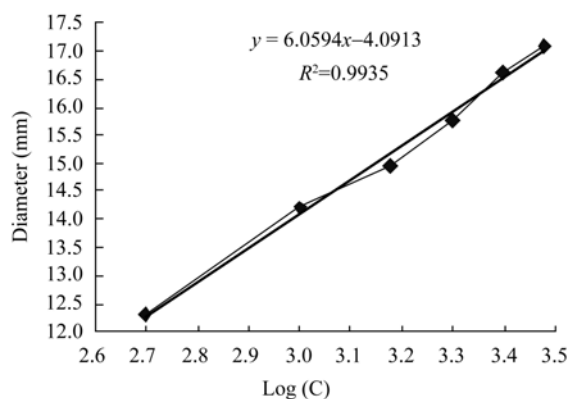


图 1 杯碟法测定效价工作曲线

Fig. 1 The curve for working of portency mensuration by means of cylinde-plate method

值与抑菌圈直径呈线性关系, 其决定系数 $R^2=0.9935$, 可以满足效价测定的要求。由此, 可得到发酵液效价计算方程: $Y=10^{(x+4.0913)/6.0594} \times n$ [Y : 发酵液效价($\mu\text{g}/\text{mL}$); x : 抑菌圈直径($12.3 \text{ mm} < x < 17.0 \text{ mm}$); n : 发酵液稀释倍数]。

发酵液效价的测定及效价单位定义: 发酵结束后, 迅速将摇瓶连同发酵液 100°C 水浴加热灭菌 10 min, 12000 r/min 离心 5 min, 取上清液, 用无菌水稀释至合适浓度后利用杯碟法进行生物测定, 测量落在效价测定有效区间内的抑菌圈直径, 将数值代入效价计算方程, 计算发酵液效价。发酵液中抗细菌活性物质的效价单位定义为: $1 \text{ U} = 1 \mu\text{g}/\text{mL}$ 。

1.2.2 Cp-S316 菌株的摇瓶发酵: 将培养好的液体种子按 2% 的接种量接种于装有 50 mL 发酵培养基的 250 mL 三角瓶中, 28°C 、200 r/min, 振荡培养 72 h。灭菌、离心、测定效价。

1.2.3 Cp-S316 抗细菌活性物质的制备: Cp-S316 菌株发酵液经大孔吸附树脂处理后^[4], 再经 CM Sepharose FF 离子交换层析和 Sephadex G-25 分子筛层析获得抗细菌活性物质, 冷冻干燥后备用。

1.2.4 Cp-S316 抗细菌活性物质对大肠杆菌 K12 最低抑菌浓度(MIC)和最低杀菌浓度(MBC)的测定: 采用试管肉汤二倍稀释法测定^[5]。将 Cp-S316 抗细菌活性物质溶于蒸馏水, 用肉汤培养基稀释, 使其浓度分别为 $100 \mu\text{g}/\text{mL}$ 、 $50 \mu\text{g}/\text{mL}$ 、 $25 \mu\text{g}/\text{mL}$ 、 $12.5 \mu\text{g}/\text{mL}$ 和 $6.25 \mu\text{g}/\text{mL}$, $1 \times 10^5 \text{ Pa}$ 灭菌 30 min 后分别接种大肠杆菌 K12, 使接种的终浓度为 $10^5 \text{ CFU}/\text{mL} \sim 10^6 \text{ CFU}/\text{mL}$ 。 30°C 振荡培养 18 h 后观察结果, 以完全无细菌生长的最低药物浓度作为大肠杆菌 K12 对该抗细菌活性物质的敏感度, 即最低抑菌浓度(MIC)。

将高于最低抑菌浓度的清亮管进行平板菌落计数, 平板培养基上出现的细菌数少于 5 个菌落者的最低浓度, 为该抗细菌活性物质的 MBC^[5]。

1.2.5 Cp-S316 抗细菌活性物质对大肠杆菌 K12 杀菌曲线的测定: 将大肠杆菌 K12 接种于肉汤培养基, 30°C 振荡培养 18 h, 转接于抗细菌活性物质浓度分别为 2 倍 MIC 和 4 倍 MIC 的肉汤培养基中, 使细菌最终浓度为 $10^5 \text{ CFU}/\text{mL} \sim 10^6 \text{ CFU}/\text{mL}$, 以只接种大肠杆菌 K12 而不含抗细菌活性物质的肉汤培养基作为对照, 30°C 振荡培养, 分别在 1 h、2 h、4 h、6 h、8 h、

12 h 和 24 h 取培养液进行平板菌落计数, 绘制杀菌曲线。

1.2.6 Cp-S316 抗细菌活性物质对大肠杆菌 K12 细胞膜完整性的影响: 将大肠杆菌 K12 接种于肉汤培养基, 30°C 振荡培养 18 h, 12000 r/min 离心后悬浮于生理盐水, 接种于 2 倍、4 倍 MIC 浓度的抗细菌活性物质溶液, 并使大肠杆菌 K12 接种的终浓度为 $10^5 \text{ CFU}/\text{mL} \sim 10^6 \text{ CFU}/\text{mL}$ 。充分混合后立即用紫外分光光度计测定并记录 260 nm 处的吸光值随时间的变化。

1.2.7 Cp-S316 菌株的紫外诱变处理: 将 Cp-S316 菌悬液($10^7 \text{ CFU}/\text{mL}$)置于电磁搅拌器上, 放在紫外线灯(15 W)正中下方照射。取不同照射时间的菌悬液进行平板菌落计数, 以未经照射的菌悬液为对照计算致死率, 致死率 = $(1 - \text{照射菌液活菌数} / \text{未照射菌液活菌数}) \times 100\%$, 根据致死率选择最佳照射时间。

1.2.8 利用抗自身次生代谢产物法对抗细菌活性物质高产菌株进行预筛: 将诱变处理后的菌液稀释适当倍数, 涂布于含抗细菌活性物质浓度为 $2000 \mu\text{g}/\text{mL}$ (Cp-S316 菌株发酵效价为 $650 \mu\text{g}/\text{mL}$) 的固体 PDA 平板培养基上。 30°C 培养 36 h, 在平板上随机挑选生长迅速、菌落直径大的单菌落做初筛^[6]。

1.2.9 抗细菌活性物质高产菌株的初筛: 将预筛选出的突变菌株及 Cp-S316 菌株摇瓶发酵, 测定发酵液效价, 挑选发酵效价比出发菌株高的菌株进行复筛。

1.2.10 抗细菌活性物质高产菌株的复筛: 将初筛挑选出的突变株及 Cp-S316 菌株摇瓶发酵, 测定发酵液效价, 筛选高产菌株。

2 结果与分析

2.1 Cp-S316 抗细菌活性物质对大肠杆菌 K12 的 MIC 和 MBC

按 1.2.4 节试管肉汤二倍稀释法进行的测定发现, 在抗细菌活性物质浓度分别为 $100 \mu\text{g}/\text{mL}$ 、 $50 \mu\text{g}/\text{mL}$ 、 $25 \mu\text{g}/\text{mL}$ 、 $12.5 \mu\text{g}/\text{mL}$ 和 $6.25 \mu\text{g}/\text{mL}$ 的试管中, 浓度 $12.5 \mu\text{g}/\text{mL}$ 的试管中无细菌生长, 故确定 Cp-S316 抗细菌活性物质对大肠杆菌 K12 的 MIC 为 $12.5 \mu\text{g}/\text{mL}$ 。平板菌落计数结果显示, Cp-S316 抗细菌活性物质对大肠杆菌 K12 的 MBC 为 $25 \mu\text{g}/\text{mL}$ 。

2.2 Cp-S316 抗细菌活性物质对大肠杆菌 K12 的杀菌曲线

Cp-S316 抗细菌活性物质对大肠杆菌 K12 的杀菌曲线如图 2 所示, 2 倍和 4 倍 MIC 浓度的抗细菌活性物质对大肠杆菌 K12 显示杀菌作用; 当以 2 倍 MIC 浓度的抗细菌活性物质处理大肠杆菌 K12 时, 8 h 可将细菌杀死; 当以 4 倍 MIC 的抗细菌活性物质处理大肠杆菌 K12 时, 4 h 可将细菌杀死, 显示强烈的杀菌作用。

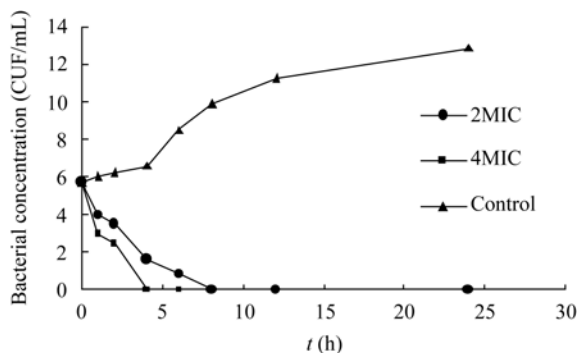


图 2 Cp-S316 抗细菌活性物质对大肠杆菌 K12 的杀菌曲线

Fig. 2 The lethal time of *Escherichia coli* K12 under different concentrations of antibacterial substances from Cp-S316

2.3 Cp-S316 抗细菌活性物质对大肠杆菌 K12 细胞膜完整性的影响

已有报道指出胞内物质外渗可作为评价细胞膜完整性的指标^[7], 当细菌细胞膜的完整性被破坏时, 就会造成胞内大分子物质如DNA、RNA等物质的泄漏, DNA、RNA等大分子在 260 nm处有强吸收, 因此, 对菌液DNA、RNA等大分子物质的检测被应用于测定细胞膜的完整性。

图 3 为经Cp-S316 抗细菌活性物质处理后, 大肠杆菌K12 菌悬液 260 nm吸光值随时间的变化曲线。当大肠杆菌K12 菌悬液以 2 倍MIC浓度的 Cp-S316 抗细菌活性物质处理后, 2 h内 OD_{260} 迅速增加, 然后增加速度有所减慢, 直至 8 h达到最大值, 这是由于Cp-S316 抗细菌活性物质破坏了大肠杆菌 K12 的细胞膜, 导致胞内DNA、RNA等大分子物质的泄漏。以 4 倍MIC浓度的Cp-S316 抗细菌活性物质处理大肠杆菌K12 菌悬液时, OD_{260} 在 4 h内达到最大值, 这说明Cp-S316 抗细菌活性物质对大肠杆菌 K12 细胞膜的破坏受抗细菌活性物质浓度的影响,

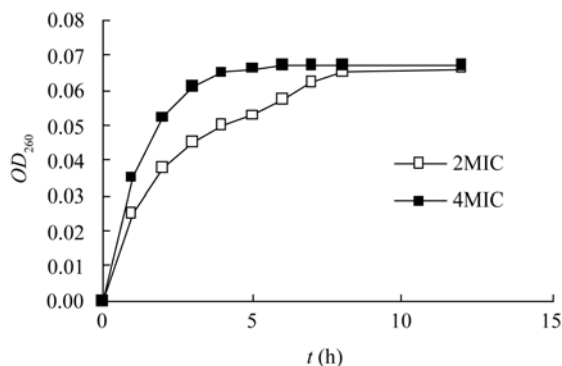


图 3 大肠杆菌K12 菌悬液 OD_{260} 变化曲线

Fig. 3 The OD_{260} value of *Escherichia coli* K12 suspensions at different time

这个结果与 Cp-S316 抗细菌活性物质对大肠杆菌 K12 的杀菌曲线的结果相一致。

2.4 最佳诱变时间的选择

取不同照射剂量处理的菌悬液, 稀释适当倍数进行平板菌落计数, 以未经照射的菌悬液为对照计算致死率。图 4 为紫外线对多粘类芽孢杆菌Cp-S316 的致死曲线。可以看出该菌株对紫外线非常敏感, 在 20 s时致死率为 99.4%, 为保证较高的突变率, 选用 20 s为照射时间的效果比较理想。

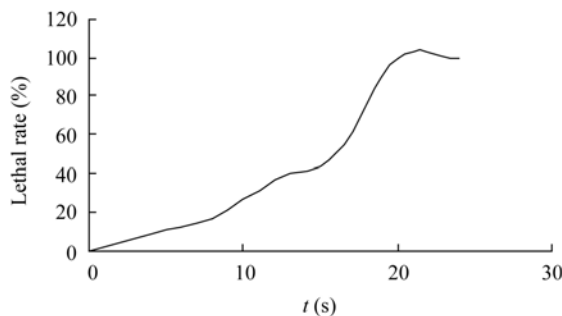


图 4 *Escherichia coli* K12 诱变效应-诱变时间曲线

Fig. 4 The relationship between UV radiation time and lethal rates

2.5 初筛结果

因为抗生素生产菌对自身所产的次生代谢物质的耐受水平与其产生抗生素的水平直接相关^[8], 因此, 通过Cp-S316 菌株自身产生的抗细菌活性物质预筛更有利于高产菌株的筛选。为了筛选掉发酵效价低的突变株, 将通过预筛获得的突变株进行摇瓶初筛, 共获得发酵效价为出发菌株发酵效价 130% 以上的突变株 17 株。初筛结果如图 5 所示, 对照为出发菌株多粘类芽孢杆菌Cp-S316。

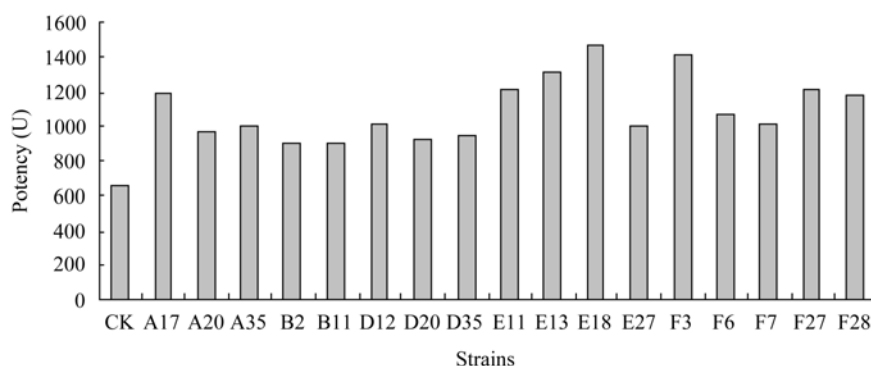


图5 突变菌株的发酵效价

Fig. 5 The fermentation potency of different mutant strains

2.6 复筛结果

为了确认并筛选出发酵效价高的突变株,将2.6中筛选得到的17株正突变株再进一步复筛。通过复筛,共获得5株发酵效价较高的突变株。复筛结果如图6所示,A17、E13、E18、E33和F28菌株发酵效价分别为出发菌株Cp-S316发酵效价的191%、167%、163%、160%和162%。为考察突变株的遗传稳定性,将菌株A17连续转接4次,并摇瓶发酵,从表1可以看出,转接第3代的发酵效价下降不超过4.9%,第4代的发酵效价比第1代的发酵效价高0.05%,说明该菌株的高产性能遗传特性稳定。

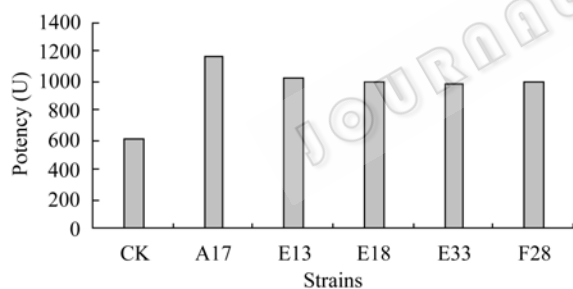


图6 突变菌株的发酵效价

Fig. 6 The fermentation potency of different mutant strains

表1 A17菌株的遗传稳定性
Table 1 Genetic stability of A17

传代次数 Passage times	发酵效价 Potency (U)
1	1172.28
2	1190.84
3	1115.16
4	1172.88

3 讨论

抗生素主要是通过阻止微生物新陈代谢的某些

环节,抑制某些酶活性的方式达到抗菌作用。概括来讲,其作用方式主要包括如下几种:抑制细菌细胞壁合成、改变细菌细胞质膜结构、抑制细菌蛋白质或核酸合成等。多粘菌素等多肽类抗生素分子内含有游离的氨基,可以与细胞膜脂蛋白中的磷酸基结合,引起细胞膜损伤,破坏细胞膜的正常渗透屏障功能,导致细胞内DNA、RNA等大分子物质泄漏^[9]。本研究前期研究结果表明,Cp-S316抗菌活性物质为至少由5种活性组分组成的环肽类抗菌物质^[3],这些活性组分的分子结构与多粘菌素相似,分子中含有游离的氨基。因此,大肠杆菌K12菌悬液经Cp-S316抗菌活性物质处理后 OD_{260} 逐渐增大,说明该抗菌活性物质可损伤大肠杆菌K12的细胞膜,引起胞内核酸类大分子物质的泄漏,具体的杀菌机理还需要进一步研究。

多粘类芽孢杆菌Cp-S316及其产生的抗菌活性物质对动、植物安全且菌株发酵性状好,抗菌活性物质抗菌谱广、性质稳定,具备一定的应用潜力。但是,野生型菌株的产素水平难以满足工业生产的要求,为了获得抗菌活性物质的高产菌株,本试验采用了传统的紫外诱变育种技术对出发菌株进行诱变处理,并且根据抗生素产生菌对其自身次生代谢产物的耐受程度与其所产抗生素水平有直接关系的原理,设计了以提高Cp-S316菌株对自身产生的抗菌活性物质耐受性的方法进行高产突变株的筛选,在一定程度上提高筛选的效率。通过初筛、复筛获得的突变株A17菌株的发酵效价比出发菌株Cp-S316提高91%,且该菌株的高产遗传性状稳定。

参考文献

[1] Ash C, Priest FC, Collins MD. Molecular identification of

- rRNA group 3 bacilli using a PCR probe test. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 1994, **64**: 253–260.
- [2] 刘训理, 孙长坡, 马迎飞, 等. 一株家蚕病原体拮抗细菌的分离与鉴定. *蚕业科学*, 2004, **30**(3): 273–276.
- [3] Zhi-Wen Wang, Xun-Li Liu. Medium optimization for anti-fungal active substances production from a newly isolated *Paenibacillus* sp. using response surface methodology. *Bio-resource Technology*, 2008, **99**: 8245–8251.
- [4] 刘训理, 薛东红, 王智文, 等. 用树脂法分离提取类芽孢杆菌(*Paenibacillus*)Cp-S316 抗菌活性物质. *蚕业科学*, 2007, **33**(1): 155–159.
- [5] 李仲兴, 郑家齐, 李家齐, 等. *临床细菌学*. 北京: 人民卫生出版社, 2002, p.356.
- [6] 陈家认, 陈弘, 胡厚芝. 用自身次生代谢产物抗性筛选宁南霉素高产菌株. *微生物学报*, 1998, **38**(60): 485–486.
- [7] Yang F, Cui XQ, Yang XR. Interaction of low-molecular-weight chitosan with membrane studied by electrochemical methods and surface plasmon resonance. *Biophysical Chemistry*, 2002, **99**: 99.
- [8] 周希贵, 戴鹏高, 刑维玲, 等. 粘杆菌素高产菌株的筛选. *微生物学通报*, 2001, **28**(5): 49–51.
- [9] Ahmad ZS, Ronald AD. Role of the cell envelope in the antibacterial activities of polymyxin B and polymyxin B nonapeptide against *Escherichia coli*. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2008, **31**: 224–227.

(上接 p.830)

征稿简则

3.4 摘要写作注意事项

3.4.1 英文摘要:

1) 建议使用第一人称, 以此可区分研究结果是引用文献还是作者得出的; 2) 建议用主动语态, 被动语态表达拖拉模糊, 尽量不用, 这样可以避免好多长句, 以求简单清晰; 3) 建议使用过去时态, 要求语法正确, 句子通顺; 4) 英文摘要的内容应与中文摘要一致, 但可比中文摘要更详尽, 写完后务必请英文较好且专业知识强的专家审阅定稿后再返回编辑部。5) 摘要中不要使用缩写语, 除非是人人皆知的, 如: DNA, ATP 等; 6) 在英文摘要中, 不要使用中文字体标点符号。

3.4.2 关键词: 应明确、具体, 一些模糊、笼统的词语最好不用, 如基因、表达……

4 特别说明

4.1 关于测序类论文

凡涉及测定 DNA、RNA 或蛋白质序列的论文, 请先通过国际基因库 EMBL (欧洲)或 GenBank (美国)或 DDBJ(日本), 申请得到国际基因库登录号 (Accession No.)后再投来。

4.2 关于版权

4.2.1 本刊只接受未公开发表的文章, 请勿一稿两投。

4.2.2 凡在本刊通过审稿、同意刊出的文章, 所有形式的 (即各种文字、各种介质的)版权均属本刊编辑部所有。作者如有异议, 敬请事先声明。

4.2.3 对录用的稿件编辑部有权进行文字加工, 但如涉及内容的大量改动, 将请作者过目同意。

4.2.4 文责自负。作者必须保证论文的真实性, 因抄袭剽窃、弄虚作假等行为引发的一切后果, 由作者自负。

4.3 审稿程序及提前发表

4.3.1 来稿刊登与否由编委会最后审定。凡被录用的稿件将及时发出录用通知, 对不录用的稿件, 一般在收稿 1 个月之内通过 E-mail 说明原因, 打印稿不退。稿件经过初审、终审通过后, 作者根据编辑部返回的退修意见进行修改补充, 然后以投稿时的用户名和密码登陆我刊网上传电子版修改稿, 待编辑部复审后将给作者发送稿件录用通知单, 请作者将修改稿纸稿和签字盖章后的承诺书一并寄回编辑部, 按照稿号顺序进入排队发表阶段。

4.3.2 对投稿的个人和单位一视同仁。坚持文稿质量为唯一标准, 对稿件采取择优先登的原则。如作者要求提前发表, 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, 经过我刊的严格审查并通过后, 可予提前刊出。

5 发表费及稿费

论文一经录用, 将在发表前根据版面收取一定的发表费并酌付稿酬、赠送样刊及单行本。

6 联系我们

地址: 北京市朝阳区北辰西路 1 号院 3 号中国科学院微生物研究所《微生物学通报》编辑部 (100101)

Tel: 010-64807511

E-mail: tongbao@im.ac.cn

网址: <http://journals.im.ac.cn/wswxtbcn>