

# 苯酚对多刺裸腹溘糖及蛋白质代谢酶的影响

王茜 姜美玲 武玉珑 张志明 王兰\*

(山西大学生命科学学院 太原 030006)

**摘要:**采用急性毒性方法,研究了苯酚对多刺裸腹溘(*Moina macrocopa*)糖及蛋白质代谢的影响。实验设对照组和5个苯酚处理组,苯酚浓度分别为0.25、0.75、1.25、1.75、2.25 mg/L。分别在苯酚处理24 h和48 h后用分光光度法测定丙酮酸激酶(PK)、乳酸脱氢酶(LDH)、琥珀酸脱氢酶(SDH)、谷草转氨酶(GOT)和谷丙转氨酶(GPT)的活力。结果显示,随着苯酚浓度的增加和处理时间的延长,LDH活力呈现升高趋势,PK和SDH活力与对照组相比没有显著性差异。GOT活力在处理24 h后先升后降,处理48 h后活力降低;GPT活力在处理24 h、48 h后活力均升高。结论是:苯酚中毒需要高水平的代谢能量,导致裸腹溘代谢发生重大改变,诱导能量代谢一定程度上由碳水化合物分解代谢向蛋白分解代谢转变。

**关键词:**多刺裸腹溘;代谢酶;苯酚

中图分类号:Q494 文献标识码:A 文章编号:0250-3263(2010)06-78-07

## Effects of Phenol on the Carbohydrate and Protein Metabolism Enzymes of *Moina macrocopa*

WANG Qian JIANG Mei-Ling WU Yu-Long ZHANG Zhi-Ming WANG Lan\*

(School of Life Science, Shanxi University, Taiyuan 030006, China)

**Abstract:** To explore the effects of phenol on the carbohydrate and protein metabolism, *Moina macrocopa* were exposed to phenol (0.25, 0.75, 1.25, 1.75, 2.25 mg/L) for 24 and 48 hours. Activities of several key metabolic enzymes including pyruvate kinase (PK), lactate dehydrogenase (LDH), succinate dehydrogenase (SDH), glutamic oxaloacetic transaminase (GOT) and glutamic pyruvic transaminase (GPT) were investigated. The results showed that the activity of LDH was gradually increased following the increase of phenol concentration and treatment duration. PK and SDH activities remained almost unchanged. After 24 h, the activity of GOT firstly showed increase and then decrease. After 48 h, the activity of GOT decreased. The activity of GPT was slightly elevated, but there was no significant difference when compared with controls. All these results indicate that phenol intoxication demands high level metabolic energy and leads to significant changes of the metabolic profile of the daphnia, inducing to a certain extent a shift from carbohydrate catabolism to protein catabolism. The LDH may serve as a biomarker of aquatic animal for assessing the biochemical toxicity of phenolic contamination.

**Key words:** *Moina macrocopa*; Metabolism enzymes; Phenol

苯酚及其衍生物是一类重要的一类化工原料,也作为非特异性杀虫剂、除草剂和杀菌剂被广泛使用<sup>[1]</sup>。在煤、焦生产过程中排出的废水含有大量酚类化合物,导致境内河流、水库等水体中苯酚及其衍生物浓度严重超标<sup>[2]</sup>。苯酚

基金项目 山西省青年自然科学基金项目(No. 20051035);

\* 通讯作者, E-mail: lanwang@sxu.edu.cn;

第一作者介绍 王茜,女,讲师;研究方向:环境毒理学;

E-mail: wangqian@sxu.edu.cn.

收稿日期:2010-03-22,修回日期:2010-07-08

具有亲脂性,可以通过食物链在水生生物体内富集,同时还具有遗传毒性、免疫毒性和致癌效应,对水环境和人类健康造成威胁<sup>[3]</sup>。

为了降低和消除外来化学物质的毒性效应,机体将通过增加解毒酶合成、配体结合等应激反应来消除不利影响,而解毒酶的合成或配体结合需机体提供能量,这将导致机体蛋白质的减少<sup>[4]</sup>。蛋白质通过水解产生自由氨,自由氨一般通过三羧酸循环(TCA)释放能量<sup>[5]</sup>,此过程需要一些代谢酶参与。因此,机体代谢酶活力的变化将反映机体受到外来化合物胁迫的程度。苯酚对机体的影响主要集中在对高等无脊椎动物和鱼类中间代谢酶活力的研究<sup>[1,3,6]</sup>。早期研究发现,苯酚能通过鱼体 LDH 活力来影响乳酸和丙酮酸的相互转化,通过 SDH 活力影响厌氧代谢和有氧代谢的平衡<sup>[3]</sup>。Gupta 等研究也发现,酚类化合物通过增强鱼类组织 GOP、GPT 活力来改变氨基酸的转运能力,从而改变蛋白质代谢<sup>[1]</sup>。目前对水蚤的代谢途径了解甚少,对其中间代谢产物及各种酶对毒物的效应也缺乏深入研究<sup>[7]</sup>。仅有一些报道发现,林丹和氯化汞能够干扰大型蚤(*Daphnia magna*)碳水化合物代谢<sup>[8]</sup>。但苯酚对水蚤糖及蛋白质代谢的影响尚未见详细报道。

本课题组在前期研究中发现,苯酚能够胁迫多刺裸腹蚤(*Moina macrocopa*)发生氧化损伤并产生神经毒性<sup>[9]</sup>。在此基础上,本论文就苯酚胁迫对多刺裸腹蚤糖及蛋白质代谢酶活力的影响进行了研究,同时分析探讨了苯酚影响糖酵解、三羧酸循环与氨基酸代谢的机理,为进一步深入了解苯酚的毒性机理奠定基础。本研究结果还具有环境检测与防治的应用价值。

## 1 材料与方 法

**1.1 实验材料** 多刺裸腹蚤采自山西省太原市小店区北张村二里河,经鉴定后在水温 20~25℃条件下,经过实验室三代以上培养,其敏感度达到了中华人民共和国国家标准《水质、物质对蚤类(大型蚤)急性毒性测定方法》(GB/T13266-91)<sup>[10]</sup>。实验动物为 1 日龄幼蚤。

## 1.2 实验方法

**1.2.1 染毒处理** 通过苯酚对裸腹蚤的急性毒性试验,由概率单位法求得 48 h LC<sub>50</sub> 为 2.45 mg/L。根据 LC<sub>50</sub> 等间距设置对照组和 5 个浓度组(0.25、0.75、1.25、1.75、2.25 mg/L),处理时间为 24、48 h。测试液的配置采用母液稀释法,选取生长状况良好的 1 日龄幼蚤,分别接种到盛有梯度浓度的苯酚溶液烧杯(250 ml)中。处理期间不喂食,溶氧量约为 6.0 mg/L。实验重复 3 次。

**1.2.2 酶活力的测定** 分别在苯酚处理 24、48 h 取样,匀浆,匀浆液在 4℃ 冷冻离心 10 min,离心力为 10 000 g。取上清液进行丙酮酸激酶(PK)、乳酸脱氢酶(LDH)、琥珀酸脱氢酶(SDH)、谷草转氨酶(GOT)和谷丙转氨酶(GPT)活力的测定。酶活力测定的方法参照南京建成生物工程研究所试剂盒说明书。

**1.2.3 总蛋白含量测定** 总蛋白含量测定采用 Bradford 方法<sup>[11]</sup>,以牛血清白蛋白为标准蛋白。

**1.3 数据分析** 实验结果用平均值±标准差(Mean±SD)表示,运用 SPSS 15.0 统计学软件进行分析,采用单因素方差分析(One-Way ANOVA),并应用 Dunnett 法对处理组和对照组进行比较, $P < 0.05$  为差异显著, $P < 0.01$  为差异极显著。

## 2 结 果

**2.1 苯酚对多刺裸腹蚤糖代谢酶的影响** 如图 1 所示,在苯酚处理后,PK 活力与对照组相比无显著性差异( $P > 0.05$ );但是,在处理 48 h 后,活力略有降低。由图 2 可知,随着苯酚处理浓度的升高 LDH 活力升高。处理 24 h,浓度为 1.75 mg/L 时 LDH 活力显著升高( $P < 0.05$ );浓度为 2.25 mg/L 时活力达到最高,与对照组相比存在极显著差异( $P < 0.01$ )。处理 48 h,浓度 $\geq 0.75$  mg/L 时 LDH 活力均极显著升高( $P < 0.01$ );浓度为 1.25 mg/L 时 LDH 活力达到最高,随后降低,但均高于对照组。由图 3 所知,不同浓度苯酚处理 24、48 h 后,SDH 活力均

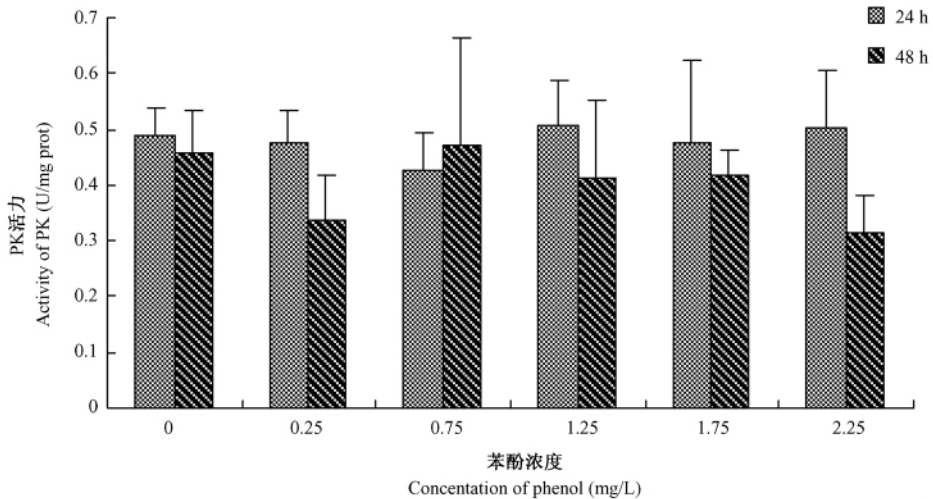


图 1 苯酚对多刺裸腹溞 PK 活力的影响

Fig. 1 Effects of phenol on PK activity of *Moina macrocopa* in acute toxicity test

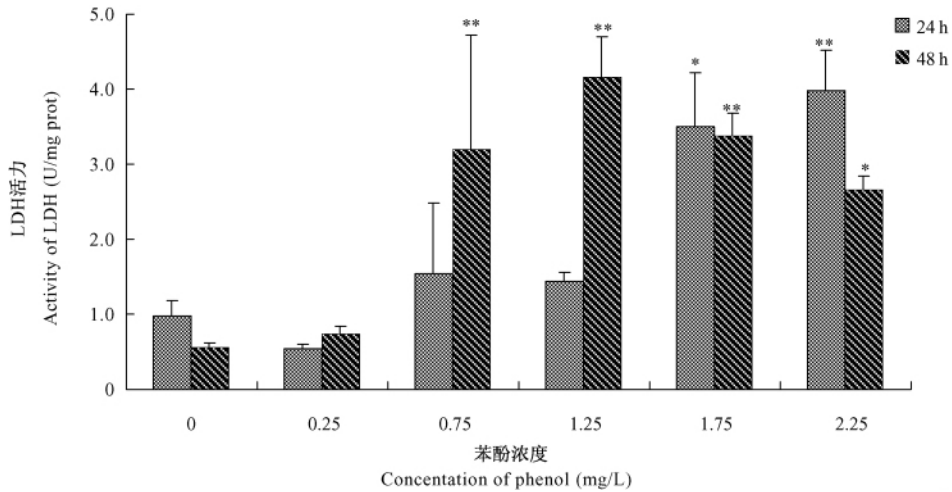


图 2 苯酚对多刺裸腹溞 LDH 活力的影响

Fig. 2 Effects of phenol on LDH activity of *Moina macrocopa* in acute toxicity test

与对照组比较, \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ 。Compared with the control group, \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ .

未与对照组产生显著性差异 ( $P > 0.05$ );但在处理 48 h 后,活力稍有降低。

### 2.2 苯酚对多刺裸腹溞蛋白质代谢酶的影响

由图 4 得知,苯酚处理 24 h,GOT 活力与对照组相比无显著性差异 ( $P > 0.05$ )。处理 48 h,GOT 活力降低,浓度为 2.25 mg/L 时和对照组相比存在极显著性差异 ( $P < 0.01$ )。从图 5 可知,苯酚处理 24、48 h,GPT 活力与对照组相比差异并不显著 ( $P > 0.05$ )。但苯酚处理 48 h,GPT 活力升高。

## 3 讨论

### 3.1 苯酚对多刺裸腹溞糖代谢酶活力的影响

糖的主要生理功能是氧化供能,是机体首先利用的能量物质<sup>[12]</sup>。在有氧条件下,葡萄糖经过分解代谢生成丙酮酸,进入细胞中线粒体的 TCA 循环,释放 ATP 最后形成  $CO_2$  和  $H_2O$ 。当机体受到环境胁迫时,首先通过增加糖的分解代谢提供更多的能量来合成各种应急蛋白和解毒分子,增加能量的消耗,而糖代谢过程中一些

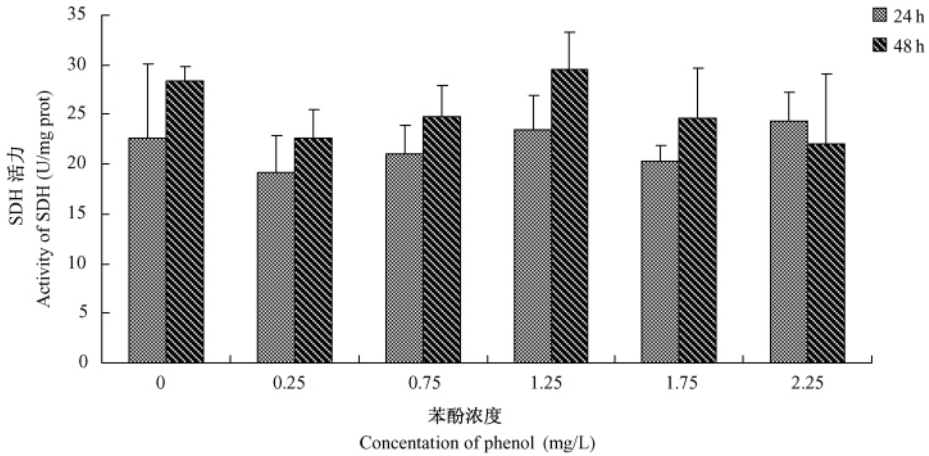


图 3 苯酚对多刺裸腹蚤 SDH 活力的影响

Fig. 3 Effects of phenol on SDH activity of *Moina macrocopa* in acute toxicity test

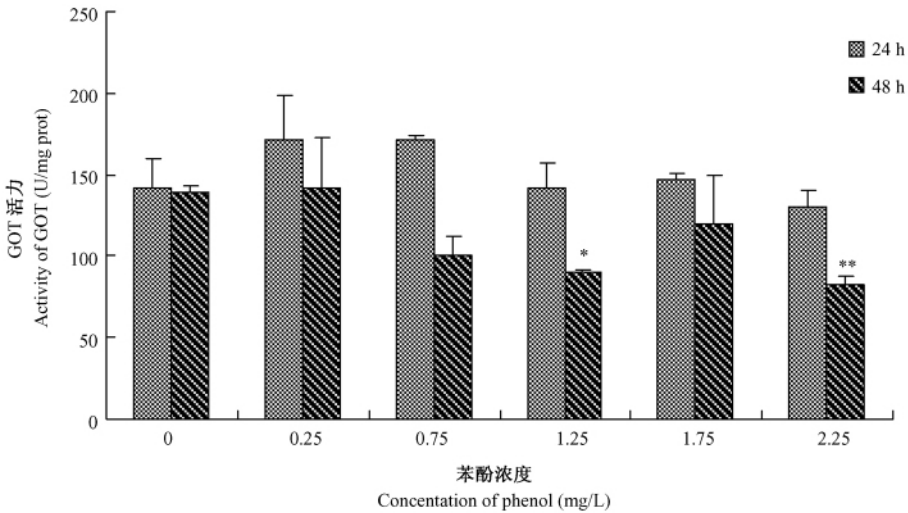


图 4 苯酚对多刺裸腹蚤 GOT 活力的影响

Fig. 4 Effects of phenol on GOT activity of *Moina macrocopa* in acute toxicity test

与对照组比较, \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ . Compared with the control group, \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ .

关键性酶如 PK、LDH 及 SDH 等活力会产生改变。本实验通过这 3 种酶活力的变化,反映苯酚胁迫后裸腹蚤体内糖代谢途径的改变。

通过实验结果得知,LDH 活力在苯酚处理 48 h,显著升高 ( $P < 0.05$ ),表明机体在苯酚胁迫后,更多的丙酮酸经过 LDH 生成乳酸,机体处于缺氧状态。同时生成的乳酸将可能造成机体乳酸酸中毒。LDH 活力的升高需要更多的丙酮酸,但由于 PK 活力无显著变化,说明丙酮酸还有其他的来源,可能通过转氨酶补充丙酮

酸含量。实验结果中还显示,SDH 活力在处理 48 h 后略有下降,表明 TCA 循环受到抑制,机体也处于缺氧状态。De Coen 等研究发现,大型蚤暴露于半致死浓度的  $Hg^{2+}$  后,LDH 活力升高<sup>[8]</sup>,与本实验结果一致;而暴露于半致死浓度的林丹后,乳酸合成受到抑制,同时加快了 TCA 循环,其原因可能在于糖代谢除了分解以外,还在细胞溶胶内存在另外一条重要的戊糖磷酸途径<sup>[8]</sup>。同时还有研究表明,3,4-二氯苯氨、溴化钠暴露后同样能够增强 LDH 活力<sup>[13]</sup>。

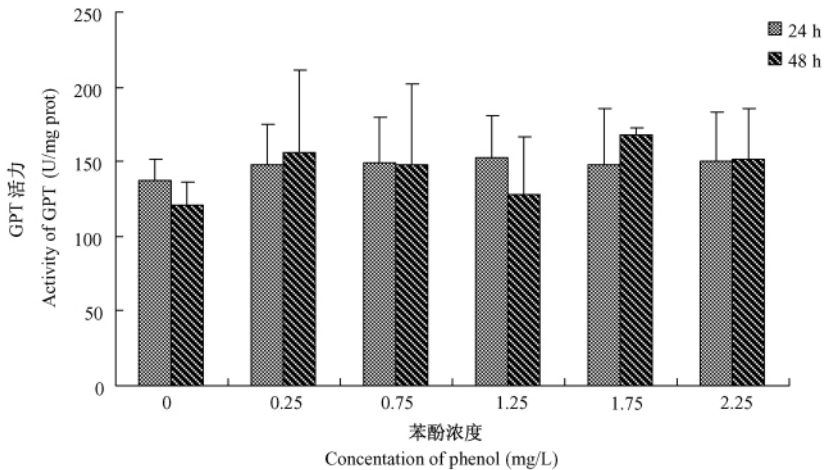


图5 苯酚对多刺裸腹蚤 GPT 活力的影响

Fig. 5 Effects of phenol on GPT activity of *Moina macrocopa* in acute toxicity test

但 LDH 活力的升高还不能表明体内的厌氧代谢处于主导地位,SDH 作为 TCA 循环中惟一与线粒体内膜结合的酶,其活力直接关系到 TCA 循环。本实验结果显示,SDH 活力在处理 48 h 后略有下降,TCA 循环受到抑制,机体处于缺氧状态。此外,苯酚暴露 30 d 后可抑制弓背鱼 (*Notopterus notopterus*) 肝中 SDH 活力<sup>[14]</sup>。

已有研究证明,大型蚤短期暴露在半致死浓度下可影响中间代谢产物,同时毒物短期胁迫后酶活性的变化与种群动力学有关<sup>[8]</sup>。这是由于机体胁迫后自我合成各种应急蛋白和解毒分子将增加能量的消耗,而这些能量主要是供给机体的生长发育和基本代谢,所以苯酚胁迫后将可能抑制裸腹蚤的生长。另外,对鱼类的早期研究也证明了不同污染物暴露后会造成本水化合物代谢发生改变<sup>[15]</sup>。PK 和能量代谢有关,通过酶活力短时间的变化,产生更多的 ATP 以应对环境的变化<sup>[16]</sup>。但苯酚胁迫头石脂鲤 (*Brycon cephalus*) 后其肝中 PK 活力无显著性变化,与本实验结果相似<sup>[3]</sup>。

### 3.2 苯酚对多刺裸腹蚤转氨酶活性的影响

GPT、GOT 是广泛存在于动物组织细胞线粒体内的主要氨基转移酶,在机体蛋白质代谢中起着重要的作用。脊椎动物在正常情况下,组织细胞内转氨酶活性较高,而血清中转氨酶活力较小,当组织病变而引起细胞膜通透性增加,组

织转氨酶则大量释放进入血浆<sup>[17-18]</sup>。许多研究表明,无脊椎动物 GPT 和 GOT 活力具有组织差异性,在心 and 排泄器官中含量较高<sup>[19-20]</sup>。但由于水蚤个体小等原因目前研究均采用整个个体来分析酶活力,这将可能掩盖组织差异性<sup>[5]</sup>。在 0.05 mg/L 和 0.1 mg/L  $Cu^{2+}$  暴露 48 h,大型蚤体内 GOT 活力极显著升高 ( $P < 0.01$ ),但 GPT 活力下降,无显著性差异 ( $P > 0.05$ )<sup>[21]</sup>。而本实验研究发现,GOT 活力在苯酚处理 24 h 后先升后降,处理 48 h 后活力降低;这与  $Cu^{2+}$  处理 48 h 后大型蚤体内 GOT、GPT 活力正好相反,这可能是由于  $Cu^{2+}$  和苯酚胁迫后机体产生的损伤机理不同。

由于转氨酶是组织将一种氨基酸的氨基转运到另一种氨基酸上的一类酶,其活性高低可以在一定程度反映机体氨基的转移活力<sup>[22]</sup>。GPT 活力的升高表明,其他的氨基酸可转化成丙酮酸,使丙酮酸含量升高。这与苯酚胁迫裸腹蚤后 LDH 活力升高而 PK 活力无显著变化,需其他途径来补充丙酮酸含量结果一致,进一步证明了丙酮酸来源于其他氨基酸的脱氨基。天冬氨酸、天冬酰胺经 GOT 生成草酰乙酸进入 TCA 循环。由于 SDH 在苯酚处理 24 h 后活力无显著性变化 ( $P > 0.05$ ),但在处理 48 h 后活力下降,所以 GOT 活力的升高增加能量的释放,随着体内氨基酸的消耗,GOT 活力降低。

综上所述,PK、LDH、SDH、GOT 和 GPT 5 个指标可反映苯酚胁迫后引起的裸腹蚤能量代谢改变。苯酚胁迫后,为了满足机体高水平的能量需求和维持葡萄糖水平的稳定,可动员累积的蛋白质作为能量物质来源,以保证机体获得足够的游离氨基酸供能。所以,GPT 活力的升高可能是为了满足 LDH 对底物丙酮酸的增加要求,表明能量代谢方式发生转移。而且 Hori 等也认为,转氨酶活性的增加指示着能量代谢从碳水化合物向蛋白质代谢的转移<sup>[3]</sup>。故苯酚胁迫导致裸腹蚤处于缺氧状态,诱导能量代谢由碳水化合物代谢向蛋白质代谢转变。

### 参 考 文 献

- [1] Gupta S, Dalela R C, Saxena P K. Effect of phenolic compounds on *in vivo* activity of transaminases in certain tissues of the fish, *Notopterus notopterus*. Environmental Research, 1983, 32(1): 8-13.
- [2] 张伟丽,赵惠君. 山西省黄河流域水环境现状调查. 西北水利发电, 2005, 21(2): 39-42.
- [3] Hori T S F, Avilez I M, Inoue L K, et al. Metabolical changes induced by chronic phenol exposure in matrinxã *Brycon cephalus* (teleostei: characidae) juveniles. Comparative Biochemistry and Physiology: Part C, 2006, 143(1): 67-72.
- [4] Ansaldo M, Nahabedian D E, Holmes-Brown E, et al. Potential use of glycogen level as biomarker of chemical stress in *Biomphalaria glabrata*. Toxicology, 2006, 224(1/2): 119-127.
- [5] Sancho E, Villarreal M J, Andreu E, et al. Disturbances in energy metabolism of *Daphnia magna* after exposure to tebuconazole. Chemosphere, 2009, 74(9): 1171-1178.
- [6] Roche H, Bogé G. *In vivo* effects of phenolic compounds on blood parameters of a marine fish (*Dicentrarchus labrax*). Comparative Biochemistry and Physiology: Part C 2000, 125(3): 345-353.
- [7] 刘国光,徐海娟,王莉霞,等. 环境有机污染物对蚤的毒性研究. 环境与健康杂志, 2003, 20(6): 369-371.
- [8] De Coen W M, Janssen C R, Segner H. The use of biomarkers in *Daphnia magna* toxicity testing V. *in vivo* alterations in the carbohydrate metabolism of *Daphnia magna* exposed to sublethal concentrations of mercury and lindane. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2001, 48: 223-234.
- [9] 张辰佳,王兰,王茜. 3 种酚类化合物对多刺裸腹蚤 GST 和 AChE 活力的影响. 生态毒理学报, 2009, 4(2): 258-264.
- [10] 国家环境保护总局. GB/T13266-91. 水质、物质对蚤类(大型蚤)急性毒性测定方法. 北京: 国家环境保护局, 1991.
- [11] 张龙翔,张庭芳,李令媛. 生化实验方法和技术. 北京: 高等教育出版社, 1981, 164-169.
- [12] Tiwari S, Singh A. Alterations in carbohydrates and the protein metabolism of the harmful freshwater vector snail *Lymnaea acuminata* induced by the *Euphorbia tirucalli* latex extract. Environmental Research, 2005, 99(3): 378-386.
- [13] Guilhermino L, Lopes M C, Donato A M, et al. Comparative study between the toxicity of 3, 4-dichloroaniline and sodium bromide with 21-days chronic test and using lactate dehydrogenase activity of *Daphnia magna* Straus. Chemosphere, 1994, 28(11): 2021-2027.
- [14] Dalela R C, Rani S, Verma S R. Physiological stress induced by sublethal concentrations of phenol and pentachlorophenol in *Notopterus notopterus* hepatic acid and alkaline phosphatases and succinic dehydrogenase. Environmental Pollution Series A: Ecological and Biological, 1980, 21(1): 3-8.
- [15] Verma S R, Rani S, Tonk I P, et al. Pesticide-induced dysfunction in carbohydrate metabolism in three freshwater fish. Environmental Research, 1983, 32(1): 127-133.
- [16] 郭彪,王芳,侯纯强,等. 温度突变对凡纳滨对虾己糖激酶和丙酮酸激酶活力以及热休克蛋白表达的影响. 中国水产科学, 2008, 15(5): 885-889.
- [17] Levesque H M, Moon T W, Campbell P G C, et al. Seasonal variation in carbohydrate and lipid metabolism of yellow perch (*Perca flavescens*) chronically exposed to metals in the field. Aquatic Toxicology, 2002, 60(3/4): 257-267.
- [18] Verma S R, Rani S, Dalela R C. Effect of phenol on *in vivo* activity of tissue transaminases in the fish *Notopterus notopterus*. Ecotoxicology and Environmental Safety, 1982, 6(2): 171-176.
- [19] 汤鸿,李少菁,王桂忠,等. 铜、锌、镉对锯缘青蟹仔蟹代谢酶活力影响的实验研究. 厦门大学学报: 自然科学版, 2000, 39(4): 521-525.
- [20] 赵维信,魏华,贾江,等. 镉对罗氏沼虾组织转氨酶活性及组织结构的影响. 水产学报, 1995, 19(1): 21-27.
- [21] Khangarot B S, Rathore R S. Effects of copper on respiration, reproduction, and some biochemical

parameters of water flea *Daphnia magna* Straus. Environmental Contamination and Toxicology, 2003, 70 (1): 112 - 117.

[22] 李二超, 陈立侨, 曾嵘, 等. 盐度对凡纳滨对虾体组织蛋白质积累、氨基酸组成和转氨酶活性的影响. 水生生物学报, 2009, 33 (3): 532 - 538.

## 《动物学杂志》投稿注意事项

### 1 稿件的投寄

稿件通过本刊的电子信箱投寄 (E-mail: journal@ioz.ac.cn; Word 文件作附件), 同时邮寄打印稿一份。打印稿小四号字 1.5 倍行距单面打印。作者在投稿的同时务必出具公函或作出承诺, 稿件不能一稿多投和侵权。

### 2 论文的格式要求

**题目** 应言简意赅。中文题目字数一般不超过 20 个字; 英文题目不超过 10 个实词, 实词首字母大写。

**作者** 署名人应是对论文的全部或部分内容做出主要贡献, 并能对文章内容负责的人。

**单位** 应写作者单位的标准全称及所在地和邮编。

**摘要** 中文摘要放在文首。内容包括: 研究目的、方法、结果 (主要数据) 和结论。用第三人称叙述。英文摘要放在中文摘要下面, 其内容应与中文摘要相对应或略详于中文摘要。

**关键词** 一般为 3 ~ 5 个, 中英文对应, 分别列在中英文摘要下面。

**前言** 结合文摘阐述国内外相关研究领域的发展状况及本研究的目的和意义。

**正文** 材料与方法对材料的来源及方法的出处应详细陈述; 结果的数据要完整, 微观形态的稿件应有实验照片作为依据; 文字叙述要简洁明了, 与图表内容相互呼应; 讨论应依据前言的内容、结果的数据、现象展开讨论, 以达到解决问题或得出结论的目的。

**全文书写规格** 文中请使用国家颁布的法定计量单位和符号及规范化的名词、术语。文中首次出现的英文缩写词, 应先写出中文名称后, 再在括号内写出英文全称和缩写词。物种名称在文中第一次出现时应附拉丁学名 (种属名用斜体, 属名首字母大写)。名词术语的用法文中应前后一致。

① **小标题**: 应简短准确、层次清楚。各级标题一律采用阿拉伯数字连续编码, 左顶格编排, 如“1” (一级标)、“1.1” (二级标)、“1.1.1” (三级标)。

② **图表**: 力求精选, 反应同一数据的图与表不能重复。其序号一律采用阿拉伯数字编码, 在文中引用处注明。线条图应用计算机绘制; 照片图要求反差适中、层次清晰。显微及电镜照片, 应注明长度标尺和放大倍数。

**参考文献** 应列出与本文直接有关的中外文主要文献。本刊文献的著录格式采用顺序编码制, 即以文献在文中出现的先后顺序连续编码, 加方括号标注在文中引用处, 文后文献表的文献要与文中一致, 并按文中的顺序排列, 多名作者在列出前三名作者后加“等”。具体格式要求为:

① **期刊**: 作者. 题名. 刊名. 出版年. 卷 (期) 号: 起止页码. 示例:

[1] 郑光美. 黄腹角雉. 动物学杂志, 1987, 22 (5): 40 - 43.

[2] Wu P, Zhou K Y. General condition of systematics study on Tesudines. Chinese Journal of Zoology, 1998, 33 (6): 38 - 45.

② **专著**: 作者. 书名. 版本 (第一版不标注). 出版地: 出版者, 出版年: 起止页码. 示例:

[3] 孙儒泳. 动物生态学原理. 2 版. 北京: 北京师范大学出版社, 1992: 329 - 330.

[4] Jiang Z G. Conservation Biology. Hangzhou: Zhejiang Science and Technology Press, 1997: 160 - 164.

③ **论文集**: 作者. 题名 // 编者. 论文集名. 出版地: 出版者, 出版年: 起止页码. 示例:

[5] 陈大元. 动物显微受精与克隆研究 // 中国动物学会. 中国动物科学研究. 北京: 中国林业出版社, 1999: 59 - 64.

[6] Yang T. On the leeches from Wuling Mountains area in south China // Song D X. Invertebrates of Wuling Mountains Area, Southwestern China. Beijing: Science Press, 1997: 395 - 399.