

维生素 C 和酸应激对中华鳖幼鳖血清补体 C3 和 C4 含量的影响*

周显青 牛翠娟** 孙儒泳

(北京师范大学生命科学学院生物多样性与生态工程教育部重点实验室, 北京 100875)

(首都医科大学实验动物科学部, 北京 100054)

摘要 为研究维生素 C 对中华鳖 (*Pelodiscus sinensis*) 血清补体 C3 和 C4 的影响及其在酸应激条件下的变化, 我们设置了 6 个实验组, 饵料中维生素 C 的添加量依次为 0、250、500、2 500、5 000 和 10 000 mg/kg。喂食 4 周后取其血清, 用透射比浊法测定酸应激前后中华鳖血清补体 C3 和 C4 的含量。结果表明, 维生素 C 添加量为 250 mg/kg 时, 血清补体 C3 的含量与对照组间没有明显不同; 维生素 C 添加量为 500、2 500、5 000 和 10 000 mg/kg 的 4 组, 血清补体 C3 的含量明显高于对照组和维生素 C 添加量为 250 mg/kg 组; 维生素 C 添加量为 500 mg/kg 的一组, 血清补体 C4 含量明显高于其它 5 组; 维生素 C 添加量为 250 mg/kg 组明显高于 10 000 mg/kg 组。酸应激后, 补体 C3 的含量没有明显下降, 将维生素 C 添加量为 0、250 和 500 mg/kg 的三组并为一组处理, 则应激后有明显下降。维生素 C 添加量为 0、250 和 500 mg/kg 的 3 组, 血清补体 C4 的含量在酸应激后明显下降, 而维生素 C 添加量为 2 500、5 000 和 10 000 mg/kg 的 3 组, 应激后血清补体 C4 没有明显变化。维生素 C 和酸应激对中华鳖血清补体 C3 和 C4 含量的影响没有交互作用。这说明, 维生素 C 在一定剂量范围内, 能提高中华鳖血清补体 C3 和 C4 的水平, 酸应激能导致其含量降低, 而高剂量的维生素 C 对其下降有颀颀作用 [动物学报 49 (6): 769~774, 2003]。

关键词 中华鳖 维生素 C 酸应激 补体 C3 补体 C4

Effects of vitamin C and acid-stress on serum complement C3 and C4 level in juvenile soft-shelled turtles (*Pelodiscus sinensis*)*

ZHOU Xian-Qing NIU Cui-Juan** SUN Ru-Yong

(Ministry of Education Key Laboratory for Biodiversity Science and Ecological Engineering, Institute of Life Sciences, Beijing Normal University, Beijing 100875, China)

(Department of Laboratory Animal Sciences, Capital University of Medical Sciences, Beijing 100054, China)

Abstract This study was conducted to investigate the effects of dietary vitamin C on serum complement C3 and C4 in stressed and unstressed juvenile soft-shelled turtle. The turtles were fed with vitamin C supplementation at dosages of 0, 250, 500, 2 500, 5 000 and 10 000 mg/kg diets, respectively for 4 weeks. Blood was collected from turtles and levels of serum complement C3 and C4 analyzed by the transmission colorimetric method. Levels of serum complement C3 between the control group and the group supplemented vitamin C at 250 mg/kg diet showed no significant difference. The levels of serum complement C3 in the four groups supplemented with vitamin C at 500, 2 500, 5 000 and 10 000 mg/kg diet were significantly higher compared with the control group. The level of serum complement C4 in the group supplemented vitamin C at 500 mg/kg diet was distinctly higher than the other five groups, and in the group supplemented with vitamin C at 250 mg/kg diet was higher than 10 000 mg/kg group. After acid stress, the complement C3 levels had no significant difference compared with the ones of before stress, while there was a significant decrease after stress when the three

2003-06-12 收稿, 2003-09-02 修回

* 中国科学院水生生物研究所淡水生态和生物技术国家重点实验室开放课题资助 [This research was funded by a grant from Open Fund of State Key Laboratory of Freshwater Ecology and Biotechnology, Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences]

** 通讯作者 (Corresponding author). E-mail: cjniu@bnu.edu.cn

第一作者简介 周显青, 女, 博士。研究方向: 动物生理生态和营养生理。现工作单位: 北京 100054, 首都医科大学动物科学部。

E-mail: xianqingzhou@yahoo.com.cn

groups supplemented vitamin C at 0, 250 and 500 mg/kg diet were put together to analyze. The levels of serum complement C4 in the three groups supplemented with vitamin C at 0, 250 and 500 mg/kg diet decreased significantly, while the other groups at 2 500, 5 000 and 10 000 mg/kg diet had no significant difference after acid stress. No interaction effects of vitamin C and acid stress on the levels of serum complement C3 and C4 were observed. These results suggest that vitamin C seems to have an upper and lower threshold for improving levels of serum complement C3 and C4 in turtles, and acid stress decreases their levels, while the high dosage vitamin C can prevent this decline [Acta Zoologica Sinica 49 (6): 769 - 774, 2003].

Key words Soft-shelled turtle, Vitamin C, Acid stress, Complement C3, Complement C4

维生素是机体维持正常生理功能所必需的有机化合物,具有多方面的生理功能。饵料中添加维生素 C 能明显提高中国对虾 (*Penaeus chinensis*) 对副溶血弧菌感染的抵抗力,降低其死亡率(王伟庆等, 1996); 增强虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*) 巨噬细胞的吞噬活动、血清补体的活性以及特异性抗体的反应 (Verlhac *et al.*, 1996); 促进金头鲷 (*Sparus aurata*) 巨噬细胞的呼吸爆发 (Ortuno *et al.*, 2001) 以及中华鳖血细胞的吞噬作用、血清溶菌活力和杀菌活力 (Zhou *et al.*, 2002); 抑制小鼠肿瘤的生长,提高其对癌症的免疫力 (Sarna *et al.*, 1993)。日粮中添加维生素 C 不仅可以使热应激引起的鸡血浆中下降的维生素 C 和蛋白质及升高的血浆钠和皮质类固醇恢复到或接近正常水平,而且还能减轻热应激所致的甲状腺减小及功能降低,有利于维持鸡的正常生理功能,增强对高温的耐受性(文杰, 1997)。在对人的研究中发现,维生素 C 能预防防风感冒或减轻感冒病症 (Hemila, 1997), 促进淋巴细胞的增殖和转化 (Dela Fuente *et al.*, 1986)。而关于维生素 C 对两栖和爬行动物补体的研究迄今未见报道。

补体是存在于人和动物血清中的一组不耐热的具有酶活性的糖蛋白。补体系统是非特异性免疫中极为重要的组成部分之一,在正常情况下,以无活性的酶前体(酶原)形式存在,当受到激活后,补体各成分便按一定顺序呈现连锁酶促反应,参与机体的防御功能和机体的自稳状态。C4 参与补体经典途径的激活过程,而 C3 在补体激活的经典途径和替代途径中都起作用(李国平等, 2000)。补体在机体抵抗病原菌的感染和炎症反应方面起着重要作用 (Lambris, 1989), 但它很少被用来分析应激对免疫的影响。中华鳖 (*Pelodiscus sinensis*) 是我国重要的经济动物,在人工养殖过程中经常面临水质污染和疾病蔓延等问题,对中华鳖的生长和存活极为不利。如果能通过维生素 C 的添加,提高中华鳖体内补体的含量,增强其在应激条件下维持体内平衡的能力,进而提高其对新环境的适应能力和

对疾病的抵抗力,这不仅能提高经济效益,而且能为维生素 C 的营养生理研究提供基础数据,弥补中华鳖在这方面的研究空白。鉴于这种情况,我们决定在饵料中添加维生素 C,以水质 pH 为应激源,探讨维生素 C 对应激和非应激状态下中华鳖血清补体 C3 和 C4 的影响。

1 材料与方 法

1.1 实验动物和驯化

实验用中华鳖幼鳖购于北京顺义县天竺甲鱼养殖场,买回后饲养于实验室玻璃缸内。每天下午 6:00 投食 1 次,将饵料加少量水合成面团后投喂,投饵量以使动物达到饱足并有少量剩余为准。投饵 2 h 后,取出剩余饵料,并进行换水,所换水为预先加温至 30 ± 1 的水。水温控制在 30 ± 1 , 光照为实验室自然光照。在此条件下驯养 3 周,使其适应实验室环境条件后再开始实验。驯养期间所用饲料为北京佳伟生物技术有限公司生产的全价稚鳖饲料,其营养成分和能值见周显青等 (1998)。

1.2 实验设计和方法

选 72 只健康的中华鳖幼鳖,其体重范围在 103.4~214.0 g。由于幼鳖外观上难以区分雌雄,因此本研究不分性别。将 72 只中华鳖随机分成 6 组,每组 12 只分设 2 个平行,每个平行 6 只置于 60 cm × 30 cm × 40 cm 的玻璃缸中。6 组动物所喂的饵料除了维生素 C 的含量不同外,其它营养成分与驯化时相同。6 组饵料中添加的维生素 C 的纯含量依次为 0、250、500、2 500、5 000 和 10 000 mg/kg。所用维生素 C 为日本武田公司生产的包被维生素 C (维生素 C 含量为 90%)。实验期间饵料存放在 -20 的冰箱中,每天喂食前 4 h 从冰箱内取出放在室温下平衡至室温后再投喂。其它实验条件与驯化时相同。实验持续 4 周后,每缸取一半幼鳖断头处死,收集血液,在 4 条件下离心制备血清。之后用盐酸将缸中水从 pH 7.9 调至 pH 5.0, 24 h 后将另一半中华鳖处死作同样的处理。

1.3 补体 C3 和 C4 含量的测定和分析

采用伊利康生物技术有限公司生产的试剂盒, 分别按要求加入各试剂及血清后, 在 37 °C 水浴 10 min, 用透射比浊法在 722 型紫外分光光度计 340 nm 波长处读取测定管和标准管的光密度值 (A), 以计算补体 C3、C4 的含量。

实验所得数据采用 Statistica 统计软件包进行统计分析, $P < 0.05$ 为差异显著, 结果表示为平均值 \pm 标准差。

2 结果

2.1 血清补体 C3 含量的变化

双因素方差分析表明, 维生素 C 对中华鳖幼鳖血清补体 C3 的含量有明显影响 ($F_{5,64} = 17.641$, $P < 0.01$)。LSD 多重比较表明, 维生素 C 添加量为 250 mg/kg 时, 血清补体 C3 的含量与对照组间没有明显不同 ($P > 0.05$); 维生素 C 添加量为 500、2 500、5 000 和 10 000 mg/kg 的 4 组, 血清补体 C3 的含量明显高于对照组和维生素 C 添加量为 250 mg/kg 组 ($P < 0.05$); 维生素 C 添加量为 2 500 mg/kg 时, 血清补体 C3 含量最高, 之后随维生素 C 添加量的增加出现降低的趋势 (图 1)。

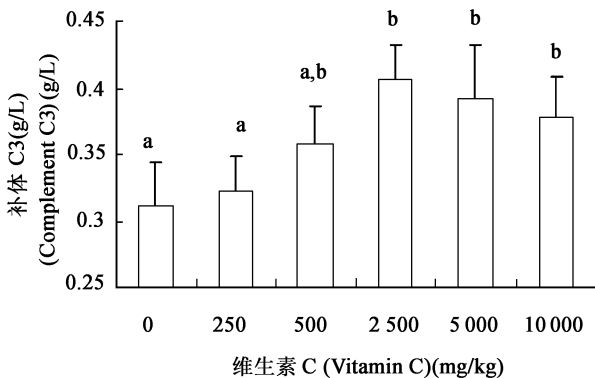


图 1 维生素 C 对中华鳖幼鳖血清补体 C3 含量的影响 (平均值 \pm 标准差)

Fig.1 Effects of vitamin C on content of serum complement C3 in juvenile soft-shelled turtles (Mean \pm SD)

LSD 多重比较, 柱上方的不同字母表示不同剂量组间差异显著 [LSD multiple range test, different letters above the bars indicate significant difference among different dose groups ($P < 0.05$)]

双因素方差分析表明, 酸应激对中华鳖幼鳖血清补体 C3 的含量有明显影响 ($F_{1,64} = 6.875$, $P < 0.05$)。t 检验表明, 血清补体 C3 的含量在酸应

激后没有明显变化 (从对照组到最高剂量组, 其 t 值依次为: $t_{1,9} = 2.165$ 、 $t_{1,8} = 2.007$ 、 $t_{1,9} = 1.554$)、 $t_{1,9} = 0.281$ 、 $t_{1,9} = 0.239$ 、 $t_{1,8} = 0.751$, 所有的 $P > 0.05$)。由于维生素 C 添加量为 0、250 和 500 mg/kg 的三组间没有显著差异, 将它们并为一组处理, 则应激后有明显下降 ($P < 0.01$)。

维生素 C 添加量在 0 ~ 5 000 mg/kg 时, 随着维生素 C 剂量的增加, 在应激前后血清补体 C3 之差有逐渐减少的趋势, 并在维生素 C 添加量为 5 000 mg/kg 时最小, 在 10 000 mg/kg 一组这个差值又有增大的趋势。维生素 C 和酸应激对中华鳖血清补体 C3 含量的影响没有交互作用 ($F_{5,64} = 0.398$, $P < 0.848$)。

2.2 中华鳖幼鳖血清补体 C4 含量的变化

维生素 C 对中华鳖幼鳖血清补体 C4 含量有明显影响 ($F_{5,66} = 8.079$, $P < 0.01$)。LSD 多重比较表明, 维生素 C 添加量为 500 mg/kg 的一组, 血清补体 C4 含量明显高于其它 5 组 ($P < 0.05$); 维生素 C 添加量为 250 mg/kg 一组明显高于 10 000 mg/kg 组 ($P < 0.05$)。由图 2 可以看出, 高剂量的维生素 C 对血清补体 C4 的合成有抑制倾向。

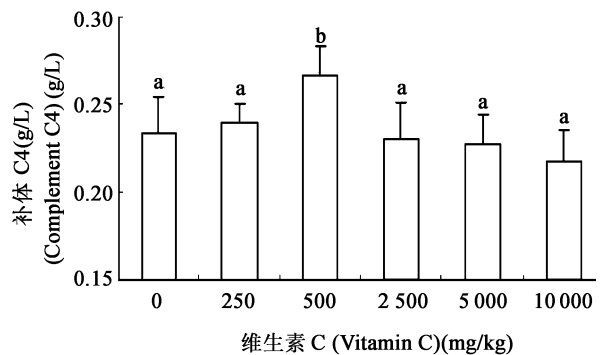


图 2 维生素 C 对中华鳖幼鳖血清补体 C4 含量的影响 (平均值 \pm 标准差)

Fig.2 Effects of vitamin C on content of serum complement C4 in juvenile soft-shelled turtles (Mean \pm SD)

LSD 多重比较, 柱上方的不同字母表示不同剂量组间差异显著 [LSD multiple range test, different letters above the bars indicate significant difference among different dose groups ($P < 0.05$)]

酸应激对中华鳖幼鳖血清补体 C4 含量有明显影响 ($F_{1,66} = 29.137$, $P < 0.01$)。t 检验表明, 酸应激后, 维生素 C 添加量为 0、250 和 500 mg/kg 的三组, 血清补体 C4 的含量明显下降 ($t_{1,9} =$

3.09、 $t_{1,10} = 2.787$ 、 $t_{1,9} = 2.305$ ，三组的 $P < 0.05$ ），维生素 C 添加量为 2 500、5 000 和 10 000 mg/kg 的三组在应激后没有明显变化 ($t_{1,10} = 1.393$ 、 $t_{1,9} = 1.839$ 、 $t_{1,8} = 1.888$ ，三组的 $P > 0.05$) (图 3)。这表明，高剂量的维生素 C 对酸应激所致的不利影响有颉颃作用。

维生素 C 和酸应激对中华鳖血清补体 C4 含量的影响没有交互作用 ($F_{5,66} = 0.418$ ， $P < 0.834$)。

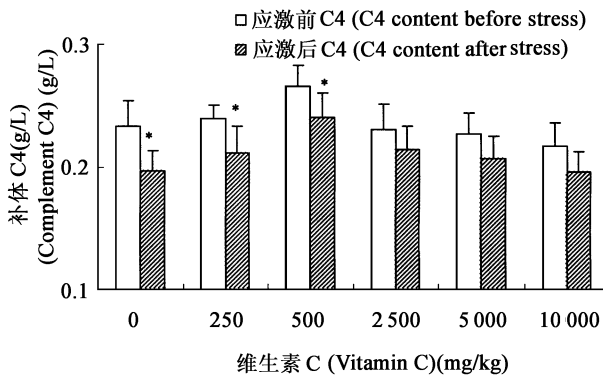


图 3 酸应激对中华鳖幼鳖血清补体 C4 含量的影响 (平均值 \pm 标准差)

Fig. 3 Effects of acid-stresse on content of serum complement C4 in juvenile soft-shelled turtles (Mean \pm SD)

t 检验，柱上方的星号 (*) 表示酸应激前后同一剂量组间差异显著 [t -test, the asterisks (*) above the bars indicate significant difference per dose groups before and after acid-stress ($P < 0.05$)]

3 讨论

3.1 维生素 C 对中华鳖幼鳖血清补体 C3 和 C4 的影响

许多研究证明，维生素 C 能促进补体的活性和补体的合成。维生素 C 添加量为 1 000 mg/kg 和 4 000 mg/kg 时，能明显提高虹鳟替代途径的补体活性，但对经典途径的补体活性没有影响 (Verlhac *et al.*, 1996)，即使用维生素 C 添加量为 1 000 mg/kg 的饲料喂两个月，也没有提高虹鳟和大西洋鲑经典途径的补体活性 (Verlhac *et al.*, 1994)。而维生素 C 添加量为 3 000 mg/kg 时，却能明显提高斑鲟经典途径的补体活性 (Li *et al.*, 1985)，这与 Hardie *et al.* (1991) 对大西洋鲑的研究结果相似。在豚鼠的研究中发现，在饮水中添加维生素 C 50 mg/100 g 体重时，能明显提高其血清 C1q 的含量，低于此值，对 C1q 的合成没有影

响 (Johnston *et al.*, 1987)。C1q 是经典补体激活途径的第一个成分，是机体血液中对抵抗病原菌感染起关键作用的一组蛋白质 (Porter *et al.*, 1978)。本实验发现，维生素 C 添加量在 2 500 ~ 10 000 mg/kg 时，能促进中华鳖血清补体 C3 的合成，在此范围之下，对补体 C3 的产生没有影响；而维生素 C 的添加量为 500 mg/kg 时，能明显提高补体 C4 的含量，高于此剂量反而有抑制的倾向。上述这些结果表明，维生素 C 只有在一定剂量范围内才能促进补体的活性和补体的合成，这个剂量在不同的动物可能不同；促进补体 C4 合成的维生素 C 需要量低于促进补体 C3 合成的需要量。

3.2 维生素 C 对酸应激中华鳖血清补体 C3 和 C4 含量的影响

从极少数的研究报导来看，应激对补体的活性和含量起抑制作用。Sunyer *et al.* (1995) 发现，每天给金头鲷 (*Sparus aurata*) 8 min 的网捕刺激，连续处理 16 天后，经典和替代补体途径的溶血活性和补体 C3 的含量在应激后都有明显下降。赤鲟 (*Pagrus pagrus*) 在应激胁迫条件下 2 天，替代补体途径的溶血活性明显下降 (Rotllant *et al.*, 1997)。本实验表明，低剂量的三组即 0、250 和 500 mg/kg 合为一组处理，酸应激后血清补体 C3 的含量有明显下降；补体 C4 在这三组分别都有明显下降。而高剂量的三组 (2 500、5 000 和 10 000 mg/kg)，补体 C3 和 C4 在酸应激前后都没有明显变化。这说明，酸应激对中华鳖有免疫抑制影响，同时说明，酸应激能激活经典途径和替代途径，消耗补体，使血中补体 C3 和 C4 水平下降；而高剂量的维生素 C 对酸应激引起的补体 C3 和 C4 含量的下降有颉颃作用，能缓解应激造成的不利影响。维生素 C 的抗酸应激作用可能与下列因素有关：(1) 维生素 C 的抗氧化作用。在应激状态下体内自由基产生的增多和抗氧化剂的减少，在体内能导致氧化应激 (Umegaki *et al.*, 1997)，对细胞膜造成氧化损伤，影响细胞功能的正常发挥 (Nunes *et al.*, 1997)。维生素 C 具有抗氧化作用，可能防止了酸应激过程中合成补体的细胞 (如肝细胞和巨噬细胞等) 的过氧化损伤，维持了其细胞膜结构完整和功能的正常发挥。同时，由于维生素 C 的抗氧化作用，抑制了补体的活化。补体的活化常与氧自由基相伴而生，协同作用，增强炎症反应，而硒和其它抗氧化物等能抑制补体的活化，清除氧自由基，进而抑制炎症的应答反应 (候健存等，

2000)。随着维生素 C 剂量的增加, 酸应激后中华鳖肝脏中维生素 C 的下降有逐渐增大的趋势, 这些消耗掉的维生素 C 可能被用来缓解了应激造成的免疫机能的下降 (Zhou *et al.*, 2003)。(2) 应激后皮质醇的变化。我们的工作表明, 维生素 C 对酸应激所致的皮质醇含量的升高有抑制作用, 但补体含量的变化与皮质醇的变化并不完全相符, 血清皮质醇只有对照组在酸应激后有明显升高, 其它 5 组在应激前后都没有明显变化 (Zhou *et al.*, 2003)。补体的合成受多种因素调节, 包括多种激素等 (杨汉春, 1996)。

综上所述, 维生素 C 对中华鳖补体 C3 和 C4 的合成有促进作用; 酸应激能导致其下降, 这意味着中华鳖在应激状态下将增加对疾病感染的敏感性; 高剂量的维生素 C 对酸应激所致的血清补体 C3 和 C4 含量的下降有颀顽作用。这表明, 高剂量的维生素 C 对酸应激所致的中华鳖生理功能的紊乱有调整作用, 能提高其维持体内平衡的能力, 增强其对新环境的适应能力, 降低对应激的敏感性。

参考文献 (References)

- Delafuente, J. C., J. M. Prendergast and A. Modigh 1986 Immunologic modulation by vitamin C in the elderly. *Int. J. Immunopharmacol.* **8** (2): 205 ~ 211.
- Hardie, L. J., T. C. Fletcher and C. J. Secombes 1991 The effect of dietary vitamin C on the immune response of the Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture* **95**: 201 ~ 214.
- Hemila, H. 1997 Vitamin C supplementation and the common cold was linus pauling right or wrong? *Internat. J. Nutr. Res.* **67**: 329 ~ 335.
- Hou, J. C., Y. D. Wu and Y. L. Ling 2000 Modulation of the inflammatory response through complement-neutrophil activation feedback mechanism with selenium and vitamin E. *Acta Acad. Medic. Sini.* **22** (6): 580 ~ 584. [侯健存, 吴元德, 凌允礼 2000 硒及维生素 E 抑制补体 - 中性粒细胞活化反馈机制参与炎症应答的调控. 中国医学科学院学报 **22** (6): 580 ~ 584.]
- Johnston, C. S., W. P. Kolb and B. E. Haskell 1987 The effect of vitamin C nutriture on complement component C1q concentrations in guinea pig plasma. *J. Nutr.* **117** (4): 764 ~ 768.
- Lambris, J. D. 1989 The third component of the complement system. Chemistry and biology. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* **153**: 45 ~ 73.
- Li, Y. and R. T. Loveell 1985 Elevated levels of dietary ascorbic acid increase immune responses in channel catfish. *J. Nutr.* **115**: 123 ~ 131.
- Li, G. P., S. Y. Tao and B. Guo 2000 Changes in serum immunoglobulins, complements and C-reactive protein in trauma patients. *Chinese Critical Care Medicine* **12** (2): 99 ~ 100. [李国平, 陶少宇, 郭斌 2000 创伤患者血清免疫球蛋白、补体和 C-反应蛋白的变化. 中国危重病急救医学 **12** (2): 99 ~ 100.]
- Nunes, G. L., K. Robinson, A. Kalynych, S. B. King, D. S. Sgoutas and B. C. Berk 1997 Vitamin C and E inhibit O² production in the pig coronary artery. *Circulation* **96** (10): 3 593 ~ 3 601.
- Ortuno, J., A. Cuesta, M. Angeles-Esteban and J. Meseguer 2001 Effect of oral administration of high vitamin C and E dosages on the gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) innate immune system. *Vet. Immunol. Immunopathol.* **79** (3/4): 167 ~ 180.
- Porter, R. R. and K. B. M. Reid 1978 The biochemistry of complement. *Nature* **275**: 699 ~ 704.
- Rotllant, J., M. Pavlidis, M. Kentouri, M. E. Abad and L. Tort 1997 Non-specific immune responses in the red porgy *Pagrus pagrus* after crowding stress. *Aquaculture* **156**: 279 ~ 290.
- Sarna, S. and R. K. Bhola 1993 Chemo-immunotherapeutical studies on Dalton's lymphoma in mice using cisplatin and ascorbic acid: synergistic antitumor effect *in vivo* and *in vitro*. *Arch Immunol. Ther. Exp (Warsz)*. **41** (5/6): 327 ~ 333.
- Sunyer, J. O., E. Gomez, V. Navarro, J. Quesada and L. Tort 1995 Physiological responses and depression of humoral components of the immune system in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) following daily acute stress. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **52** (11): 2 339 ~ 2 346.
- Umegaki, K., H. Uramoto and T. Esashi 1997 Lack of influence of a long-term high or low vitamin E diet on the oxidative DNA damage in the bone marrow of mice. *Internat. J. Vit. Nutr. Res.* **67**: 149 ~ 154.
- Verlhac, V. and J. Gabaudan 1994 Influence of vitamin C on the immune system of salmonids. *Aquat. Fish. Manag.* **25**: 21 ~ 36.
- Verlhac, V., J. Gabaudan, A. Obach, W. Schuep and R. Hole 1996 Influence of dietary glucan and vitamin C on non-specific and specific immune responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* **143**: 123 ~ 133.
- Wen, J. 1997 The study progress of vitamin nutrition in Animals. In: The Animal Nutrient Brabch of China Poultry Veterinary Association ed. The Study Progress of Animal Nutrition. Beijing: China Agriculture University Press, 1 ~ 27. [文杰 1997 动物维生素营养研究进展. 见: 中国畜牧兽医学动物营养学会分会编. 动物营养研究进展. 北京: 中国农业大学出版社, 1 ~ 27.]
- Wang, W. Q. and A. J. Li 1996 Influences of LAPP on the growth, resistance to low oxygen content and immunoresistance of *Penaeus chinensis*. *Transact. Oceanol. Limnol.* **1**: 42 ~ 49. [王伟庆, 李爱杰 1996 LAPP 对中国对虾 (*Penaeus chinensis*) 生长、缺氧耐受性及免疫抵抗力的影响. 海洋湖沼通报. **1**: 42 ~ 49.]
- Yang, H. C. 1996 Animal Immunology. Beijing: China Agriculture University Press, 68 ~ 78. [杨汉春 1996 动物免疫学.

- 北京: 中国农业大学出版社, 68~78.]
- Zhou, X. Q., C. J. Niu and Q. F. Li 1998 The effects of light intensity on daily food consumption and specific growth rate of the juvenile soft-shelled turtles, *Trionyx sinensis*. *Acta Zool. Sin.* **44** (2): 157~161. [周显青, 牛翠娟, 李庆芬. 1998 光照强度对中华鳖稚鳖摄食和生长的影响. *动物学报* **44** (2): 157~161.]
- Zhou, X. Q., C. J. Niu, R. Y. Sun and Q. F. Li 2002 The effect of Vitamin C on non-specific immune responses of the juvenile soft-shelled turtle (*Trionyx sinensis*). *Comp. Biochem. Physiol. Part A*, **131** (4): 917~922.
- Zhou, X. Q., M. X. Xie, C. J. Niu and R. Y. Sun 2003 The effects of dietary vitamin C on growth, liver vitamin C and serum cortisol levels in stressed and unstressed juvenile soft-shelled turtles (*Pelodiscus sinensis*). *Compar. Biochem. Physiol. Part A*, **135** (2): 263~270.