



玩具对小鼠生长发育及繁殖性能的影响

梁磊, 许龙祥, 刘家宽, 陈莉, 贾春梅, 尤金炜, 董敏, 胡文娟, 恽时锋

(南京军区南京总医院比较医学科, 全军实验动物科普与伦理教育基地, 全国科普教育基地, 南京 210002)

【摘要】 目的 探讨玩具对实验小鼠生长发育及繁殖性能的影响。方法 选取7~8周龄ICR小鼠, 在生产过程中加入玩具进行干预, 观测其对小鼠生长发育及繁殖性能方面指标的影响。结果 除产仔数外, 实验组各项繁殖性能指标均优于对照组, 且差异显著($P < 0.05$)。并且随干预时间延长, 差异的显著性有进一步增加的趋势。实验组小鼠的生长发育水平相比于对照组有明显变化, 且表现出有随干预时间延长而产生差异的趋势, 但目前尚无统计意义($P > 0.05$)。结论 玩具对ICR小鼠的生长发育及繁殖性能有一定程度的积极影响, 在小鼠的生产和饲养过程中值得借鉴。

【关键词】 动物福利; 玩具; 环境丰荣; 生长繁育

【中图分类号】 R332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2014) 09-0048-05

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2014.009.011

Effects of enrichment with toys on growing development and reproductive performance of mice

LIANG Lei, XU Long-xiang, LIU Jia-kuan, CHEN Li, JIA Chun-mei,
YOU Jin-wei, DONG Min, HU Wen-juan, YUN Shi-feng

(Department of Comparative Medicine, Nanjing General Hospital of Nanjing Military Command, Army Education Base of Science and Ethics of Experimental Animal, National Science Education Base, Nanjing 210002, China)

【Abstract】 Objective To study the effects of toys for laboratory animals on reproductive performance and growing development of experimental mice. **Methods** ICR mice were fed with toys, the informations of reproductive performance and growing development were recorded. **Results** All the data of reproductive performance of the test group were higher than the control group except the number of newborn mice, and showed significant difference ($P < 0.05$). The data of growing development of the test group were higher than the control group too, but showed no significant difference ($P > 0.05$). **Conclusion** Toys for laboratory animals have good effects on reproductive performance and growing development of mice, and suggested to be used into the process of experimental mice raising.

【Key words】 Animal welfare; Toy; Environmental enrichment; Growing and reproductive

随着实验动物科学的发展,对于动物福利的要求也越来越高。现代科学研究表明,实验和单调环境所产生的压力及其累积效应仍然是一个损害实验动物福利的重要因素^[1-3]。在解决这个问题的诸

多实践中,“环境丰荣(environmental enrichment, EE)”是受关注度比较高的一个^[4],实验动物玩具更是其中的一个研究热点。玩具对小鼠生长发育及繁殖性能方面的研究国外学者已有报导^[5],国内则非

[作者简介]梁磊(1982-),男,技师,理学学士,研究方向:人类疾病动物模型以及实验动物福利伦理。E-mail: STONEL29@163.com。

[通讯作者]恽时锋(1965-),男,博士,主任技师,教授,硕士生导师,研究方向:实验动物与比较医学。E-mail: yunshifeng1@163.com。

常罕见。本文以 ICR 小鼠为研究对象,观察其生长发育及繁殖性能在玩具的干预下产生的变化,探讨玩具对实验小鼠福利方面的影响。

1 材料和方法

1.1 实验动物

SPF 级 ICR 小鼠雄性 20 只,雌性 20 只,7~8 周龄,体重 22~25 g,由上海必凯实验动物有限公司提供【SCXK(沪)2008-0016】。实验在南京军区南京总医院比较医学中心进行【SYXK(军)2012-0047】。动物饲养使用无色非透明塑料笼盒(37.5 cm * 26 cm * 16 cm),光照为 12 h 明/暗交替,环境温度 20~24℃,相对湿度 40%~70%,Co⁶⁰ 灭菌全价饲料与高温高压灭菌饮用水,自由采食。

1.2 仪器与实验动物玩具

电子天平(Sartorius,CP224S 型)

实验动物玩具选用 Shepherd Shack[®] 型实验动物福利纸窝,由未使用 A4 打印纸再生制成,经 Co⁶⁰ 辐照灭菌,长 15.3 cm,宽 8.7 cm,高 6.2 cm,由益新(中国)有限公司提供。玩具可被啃咬,但不会被进食,发现破损后及时更换。

1.3 繁育性能观测

动物随机挑选并分组如下(n=10):

对照组:雌鼠与雄鼠 1:1 交配繁育,正常饲养。

实验组:雌鼠与雄鼠 1:1 交配繁育,饲养环境中添加玩具。

每天观察动物生活情况,记录并统计各组第 1~3 胎的相关数据,比较组间的差异。

1.4 生长发育特性观测

1.3 繁育性能观测中生育的离乳仔鼠,按原分组继续饲养至 6 周(n=10):

每天观测仔鼠生长情况,测量并记录体重变化及饲料消耗,计算饲料效价(FER)。

饲料效价(FER) = 体重增长量/同时期饲料消耗量 * 100%

1.5 数据处理

实验数据统计使用 SPSS13.0 完成,结果均使用 $\bar{x} \pm S$ 表示,组间差异比较使用 *t* 检验,选取 $\alpha = 0.05$, $\alpha = 0.01$ 。

2 结果

2.1 繁育性能比较

如表 1 所示,前 2 胎时,实验组小鼠的胎间隔和怀孕率的数据都略优于对照组,但并无统计意义。第 3 胎时,实验组的胎间隔数据与对照组相比差异显著,同时怀孕率也要明显高于对照组。

如表 2 所示,实验组小鼠的产仔数与对照组相比无统计差异($P > 0.05$),离乳率和离乳仔鼠体重数据则有明显提高,且差异显著($P < 0.05$),同时显著性有随干预时间延长进一步增加的趋势(第 3 胎时 $P < 0.01$)。

表 1 各组小鼠 1-3 胎繁育性能 1

Tab. 1 Reproductive performance of the 1st to 3rd nests of different groups(part 1)

胎次 Nest	胎间隔 Days between two nests(days)		怀孕率 Pregnancy probability (%)	
	实验组	对照组	实验组	对照组
1	24.10 ± 2.77	26.80 ± 3.27	100	100
1-2	27.75 ± 1.25	29.00 ± 2.12	100	90
2-3	26.17 ± 2.54*	35.13 ± 3.12	90	60

注: * 表示与对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ (n=10)。

Note: Compare with control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ (n=10).

表 2 各组小鼠第 1-3 胎繁育性能 2

Tab. 2 Reproductive performance of the 1st to 3rd nests of different groups(part 2)

胎次 Nest	产仔数 Number of newborn mice		离乳率 Delivery probability (%)		离乳体重 Delivery body weight (g)	
	实验组	对照组	实验组	对照组	实验组	对照组
1	11.60 ± 1.67	10.00 ± 4.85	92.86 ± 6.19	89.67 ± 7.90	12.63 ± 3.54*	11.40 ± 2.32
2	12.80 ± 2.49	15.40 ± 2.51	98.57 ± 3.19*	84.62 ± 11.18	10.73 ± 2.72*	8.17 ± 3.36
3	13.80 ± 0.84	11.00 ± 2.91	97.33 ± 5.96**	69.83 ± 29.67	10.33 ± 2.96**	7.83 ± 3.67

注: * 表示与对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ (n=10)。

Note: Compare with control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ (n=10).

表 3 各组小鼠第 1-3 胎 4-6 周的生长性能
Tab. 3 Growing development from 4th to 6th weeks of the 1st to 3rd nests of different groups

胎次 Nest	体重增长 Increasing body weight (g)		饲料效价 FER(%)	
	实验组	对照组	实验组	对照组
1	17.54 ± 1.66	16.57 ± 2.52	17.40 ± 2.49	15.15 ± 3.49
2	17.82 ± 3.12	14.30 ± 4.67	16.41 ± 2.18	14.86 ± 5.92
3	16.97 ± 2.88	13.13 ± 3.47	16.27 ± 2.76	14.94 ± 3.58

注: * 表示与对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ (n = 10)。

Note: Compare with control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ (n = 10).

2.2 生长性能比较

如表 3 所示,实验组小鼠的生长性能指标相对于对照组小鼠变化明显,但无统计意义。

3 讨论

3.1 玩具对生长繁殖性能的影响

实验中我们观察到哺乳期时相对于对照组母鼠和仔鼠(图 1),实验组的仔鼠在母鼠的哺育下生活在纸窝里(图 2)环境相对隐蔽、安静。断乳后对照组小鼠更多的表现出静卧、休息、睡眠等行为(图 3)以应对环境的单调与枯燥^[6],而实验组小鼠则十分活跃,追逐嬉戏频繁(图 4)。同时我们根据此次实验的数据结合同类及相关文献^[7-9],发现经添加玩具后小鼠的繁育和生长性能指标几乎都出现了比较明显的提升,并且大部分都表现出了统计学差异。实验结果表明玩具的添加丰富了实验组小鼠的生活环境,改善了生活条件,有效的提高了其交配行为,促进小鼠运动嬉戏,从而使实验组小鼠繁育和生长性能优于对照组。

3.2 常见玩具介绍及分析

本研究所使用的纸窝只是小动物玩具的一种,还有其他各类型的玩具。经过对各类相关的文献和综述的整理与总结,我们大致的将玩具分为以下几个类型:庇护所类、运动器械类、啃咬咀嚼类及其他物质环境丰富类。

庇护所类的玩具是最为常见、在实际应用中使用率最高的,基本上在空间构象上能起到遮蔽、隐藏效果的都算是庇护所类,最具代表性的就要属“巢盒”和“通道”了。“巢盒”通常为倒扣碗状,形状除半球体外还有长方体、椎体等,底部或顶部开有若干出入口供动物进出,本实验所使用的纸窝就属于“巢盒”的一种。巢穴是野生环境中小鼠抵御掠食者、对抗竞争对手及应对环境变化的重要工具,是小鼠野生生活不可或缺的重要组成。而到了实验室里,实验小鼠仍然会使用垫料建构简单的巢穴,充分说明了巢穴对小鼠的必要性,需要巢穴乃

是天性使然。显然“巢盒”很好的满足了这一需求,为小鼠提供了躲避、休息的场所,满足了小鼠的筑巢天性。但有文献报导表明^[10-11]，“巢盒”的加入有可能引发雄性群居动物的攻击行为,构成了伤害动物的潜在威胁,反而造成动物福利的损害,在使用时应引起注意。因此,添加“巢盒”对独居或少量动物群居效果更好。“通道”玩具具有许多类型,比如“通道”本身有圆形、方形等,构型上还有 I 型、L 型、Y 型、T 型等。同样“通道”也为小鼠提供了躲避、休息的场所,且本身结构类似于野生小鼠天然洞穴的管状构型,一定程度上满足了小鼠的探索天性,是一类小鼠十分喜爱的玩具。同时,一些构型较为复杂的如 Y 型、T 型“通道”还兼具迷宫的特点,可用于小鼠的行为学研究。总体来说小鼠等啮齿类动物作为天生的被捕食物种,胆小且易受到惊吓,在开放空间会觉得易受到攻击^[12],在受到突然刺激时实验小鼠往往四散奔逃或拼命钻入垫料。庇护所类的玩具为小鼠提供了隐蔽、躲藏的场所,满足了小鼠的天性,帮助小鼠应对外界变化,提升了安全感。

运动器械类的主要指一些可引发小鼠自主运动的物品或器械,如“跑台”、“跑架”和“平衡木”等。小鼠常用睡眠、蜷缩等行为来忍受环境的枯燥乏味^[6],长期如此会造成小鼠的运动量严重不足,引发免疫及内分泌障碍。运动器械的介入,引发了小鼠的自主运动,增加了运动量。小鼠接触、了解运动器械的过程很好的满足了其探索欲望,释放了天性,同时有助于促进神经系统的发展,提高认知水平^[13]。小鼠使用运动器械的过程又激发了身体机能,经常性的触发抓、握、跑、跳等动作,有利于肌肉的构建,并且锻炼了平衡及协调能力,有助于运动神经的发展。一些特殊的运动器械还可以作为某些实验的研究工具:如“跑台”用于运动力竭的实验研究,“平衡木”用于行为学研究。

啃咬咀嚼类玩具通常以“咀嚼木块”或“咬棒”形式出现,它有一个显而易见的作用,那就是满足

了小鼠啃咬物品的天性。小鼠等啮齿类动物因自身门齿的生长特点需要定期啃咬硬物,所以大、小鼠的饲料往往都制作的质地比较坚硬,但这仍无法完全解决问题,我们常常观察到动物会通过啃咬笼具来满足需要。而且往往会有如高脂、高糖、高盐等特殊饮食需要的实验设计,使用的饲料过软或过脆,那么动物啃咬笼具的现象就会更为严重。很显然“咀嚼木块”或“咬棒”的添加完美的解决了这一问题。同时此类玩具还分为可食和不可食两类,不可食的仅满足啃咬需求,可食的如“营养咬棒”还可以用于对动物进行营养添加。有研究表明,应激刺激产生时机体经过一系列神经内分泌调节,消耗储备能量,增强糖原分解,提高血糖水平以应对外界情况。当刺激强度或持续时间超出机体调节范围时,储备能量逐渐耗竭,机体应对能力降低,对应激的反应由对抗转向衰竭,导致应激综合征^[14]。同时在此时期机体对某些特殊营养素尤其是一些氨基酸和维生素类的需求会提高,及时补充有利于机体代谢平衡并恢复体力,维持正常的精神状态,降低疾病易感性^[15-17]。因此“营养咬棒”更适合用于强烈或长期应激导致福利明显受损的动物,用以调节机体代谢,改善福利状况。“营养咬棒”使用时还有一些注意点:首先“营养咬棒”的构成要符合《实验动物小鼠大鼠配合饲料》国家标准;第二,“营养咬棒”的目的是补充缺乏营养素,因此配伍所用成分不应超出该种动物常规饲料成分,具体比例应根据动物的实际情况确定;最后,“营养咬棒”的添加还要顾及实验设计,不能对实验产生影响。这些情况在“营养咬棒”的使用过程中应加以注意。

除了以上几种玩具以外还有其他一些可以丰富物质环境的物品,如棉垫、棕垫、玩偶等,此类玩具的作用主要是在于丰富小鼠的物质生活环境。小鼠接触玩具的过程触发其探索行为,能锻炼其感受和认知能力,同时探索过程还伴随与同类的接触,激发社会交往,鼓励社会行为。我们建议,对此类玩具,即使未损坏也最好定期更换,尽量选择不同颜色、不同样式,保持小鼠对其的新鲜感,以增进探索和社会行为的发生。

另外从材料上看大部分玩具主要是木质和纸质两种,当然其他的也有,比如金属或塑料,但主要还是以木质和纸质两种最为常见。首先这两种材料价格相对低廉,同时也是野生环境中大、小鼠最容易获取的材料。再次,对于小鼠来说这两种材料

的保温性和舒适性也是远远超过金属盒塑料制品的。同时还有大量文献报导表明在诸多材质中大、小鼠对木质和纸质材料更为喜爱^[18-22]。纸质材料与木质材料相比大、小鼠各方面影响差异不大,但小鼠对纸质材料更为偏好。纸质材料相比于木质更为柔软、更容易撕咬,产生的碎片同时还可以作为筑巢材料被加以利用,同时纸质材料的细胞毒性要更低一些^[23],且可以显著增加哺乳期母鼠的泌乳量^[24]。此外,玩具添加的时机与干预持续时间的长短也会对动物产生不同的影响^[13, 25-26],其他实验者在实验时应对此加以注意。

3.3 小结

动物福利被普遍认可为五大自由,即免受饥渴的自由、生活舒适的自由、免受痛苦地自由、生活无恐惧感和悲伤感的自由及表达天性的自由^[27]。通常的实验动物饲养环境较为单调,只给予了实验动物极其有限的表达天性的机会,同时动物本身还要经受一系列的实验操作。实验动物长期生活在这种环境中,压力累积会导致动物产生机械重复、刻板或焦虑、烦躁等异常行为^[1],对动物福利产生不可忽视的损害和影响^[2-3, 28]。玩具的加入,丰富了实验小鼠的笼盒环境,变相增加活动空间,改善了生活条件,满足了其探索、躲避、筑巢、啃咬及嬉戏的要求,有助于实验小鼠的天性表达。生活在添加有玩具环境中的实验小鼠精神放松、心情愉悦、行动活跃,追逐、打闹、攀爬等嬉戏频繁,探索、躲避、抓挠等天性表达行为明显增加,这些充分表明了玩具对实验小鼠的积极影响。但同时我们应注意到像“巢盒”用以筑巢、隐蔽,“咬棒”用以啃咬磨牙等,任何一类玩具只从某一或某几方面、一定程度的满足了动物的需求,离完全满足,达到“康乐”动物^[29]的标准还相去甚远。因此,在使用动物玩具时最为重要的就是各类玩具之间要相互补充,相互配合,争取最全面、最大程度的满足动物的天性需求,努力营造最接近野生自然生活条件的饲养环境,使玩具真正成为维护实验动物福利的有力保障。当然“配合、补充”使用玩具也需要经过调查与设计分析,不能为求“全面”而盲目滥用或以量取胜,以免造成不必要的浪费。

综合以上,实验动物玩具可以帮助实验小鼠改善生活,表达天性,一定程度上提高了实验小鼠的产量且成本低廉,可以广泛的应用于实验小鼠的饲养,在今后国内提高实验动物福利和实验动物生产

工作中具有很高的应用前景。本文从玩具对小鼠生长繁育性能的影响入手,进而介绍了常见的小动物玩具并加入了我们的看法与分析,尚有不足,需待以后对资料和实验结果进一步的查阅、分析和整理。谨希望本文能为其他实验工作者提供一定的借鉴与参考。

参考文献:

- [1] Wurbel H, Stauffacher M. Standard-haltung für labormäuse-probleme und lösungsansätze [J]. Tierlaboratorium. 1994, 17: 109 - 118.
- [2] Van Loo PL, Van der Meer E, Kruitwagen CL, et al. Longterm effects of husbandry procedures on stressed related parameters in male mice of two strains [J]. Laboratory Animals, 2004, 38: 169 - 177.
- [3] 恽时锋, 田小芸, 董敏, 等. 医学实验动物福利伦理问题分析 [J]. 医学研究生学报 2010, 23(4): 397 - 400.
- [4] Jodie A, Kulpa-Eddy Sylvia Taylor, et al. USDA Perspective on Environmental Enrichment for Animals [J]. ILAR J, 2005, 46(2): 83 - 94.
- [5] Tsai PP, Stelzer HD, Hedrich HJ, et al. Are the effects of different enrichment designs on the physiology and behaviour of DBA/2 mice consistent [J]. Lab Anim, 2003, 37(4): 314 - 327.
- [6] Olsson I, Dahlborn K. Improving housing conditions for laboratory mice: review of 'environmental enrichment' [J]. Lab Anim. 2002, 36: 243 - 270.
- [7] 顾卫忠, 王晓东, 鲍世民, 等. 玩具对小鼠生长繁育性能影响初探 [J]. 实验动物与比较医学 2008, 28(2): 131 - 132.
- [8] 田小芸, 恽时锋, 郭联庆, 等. Nrf2 基因敲除小鼠的繁育及生长发育的生物学特性 [J]. 中国比较医学杂志 2009, 19(2): 50 - 52.
- [9] 孟琼, 杨锡平, 胡一江, 等. 3 个不同品种小鼠繁殖性能及生长发育的比较观察 [J]. 湖南中医学院学报 2000, 20(3): 9 - 10.
- [10] Wurbel H, Garner J. Refinement of rodent research through environmental enrichment and systematic randomization [J]. NC3Rs. 2007: 1 - 9.
- [11] Sluyter F, Korte S, Bohus B, et al. Behavioral stress response of genetically selected aggressive and nonaggressive wild house mice in the shock-probe / defensive burying test [J]. Pha Biochem Beh. 1996, 54: 113 - 116.
- [12] Sachser N, Kunzer C, Kaiser S. The welfare of laboratory guinea pigs. Ch.9 in : The welfare of Laboratory Animals(E Kaliste ed.) [M]. Dordrecht, The Netherlands Kluwer. 2004: 181 - 209.
- [13] Zeng J, L. R Z, Nordborg C, et al. Are neuronal markers and neocortical raft-host interface influenced by housing conditions in rats with cortical infarct cavity [J]. Brain Research Bulletin, 1999, 48(2): 165.
- [14] Garcla A, Mass O, Vallha A, et al. Recovery of the hypothalamic-pituitary-adrenal response to stress. Effect of stress intensity, stress duration and previous stress exposure [J]. Neuroendocrinology, 2000, 72(2): 114 - 125.
- [15] 吴德峰, 胡美华, 黄建晖, 等. 抗热应激中草药添加剂对奶牛血液生化指标和小鼠热应激模型 ACTH 指标的影响 [J]. 福建农林大学学报(自然科学版), 2005, 34(2): 255 - 259.
- [16] Cook R. The relationship between diet and psychological health [J]. Person Individ Diff, 1993, 14(3): 397 - 403.
- [17] 张世华, 郑小波, 陈春林. 复合抗应激制剂对动物机体免疫功能的影响 [J]. 贵州畜牧兽医, 2001, 25(4): 7 - 8.
- [18] Manser C, Broom D, Overend P, et al. Operant studies to determine the strength of preference in laboratory rats for nest boxes and nesting materials [J]. Lab Anim. 1998, 32: 36 - 41.
- [19] Van de Weerd H, Van Loo P, Van Zutphen L, et al. Preferences for nesting material as environmental enrichment for laboratory mice [J]. Lab Anim. 1997, 31: 133 - 143.
- [20] Blom H, Vorstenbosch C, Baumans V, et al. Description and validation of a preference test system to evaluate housing conditions for laboratory mice [J]. App Anim Beh Sci. 1992, 35: 67 - 82.
- [21] Blom H, Van Tintelen G, Van Vorstenbosch C, et al. Preferences of mice and rats for types of bedding materials [J]. Lab Anim. 1996, 30: 234 - 244.
- [22] Clough G. The animal house: design, equipment and environmental control [J]. Long Sci & Tec. 1987: 108 - 144.
- [23] Eskola S, Kaliste-Korhonen E. Nesting material and number of females per cage: effects on mouse productivity in BALB / c, C57BL / 6J, DBA / 2 and NIH / S mice [J]. Lab Anim. 1999, 33: 122 - 118.
- [24] Nolen G, Alexander J. Effects of diet and type of nesting material on the reproduction and lactation of the rat [J]. Lab Anim Care. 1996, 16: 327 - 336.
- [25] Xia Wei-ping, Liu Tie-qiao, Hao Wei. Effect of environmental enrichment on the brain [J]. Chinese Journal of Drug Dependence, 2010, 19(6): 457 - 461.
- [26] Kempermann G, Gast D, Gage FH. Neuroplasticity in old age: Sustained fivefold induction of hippocampal neurogenesis by long-term environmental enrichment [J]. Ann N eurol, 2002, 52(1): 135.
- [27] Kuehn BM. Setting the standard an animal welfare [J]. J Am Vet Med Assoc 2004, 224(12): 1897 - 1898.
- [28] 李华, 史小平, 王捷, 等. 笼具及饲养密度对实验动物福利的影响 [J]. 中国比较医学杂志 2004, 14(6): 68.
- [29] Krohn TC, Srensen DB, Ottesen JL, et al. Is individual housing affecting rats and mice: a review [J]. Anim Welfare 2006, 15: 343 - 352.

(修回日期) 2014-07-21