

北京地区实验树鼩的饲养管理方法

赵 琰^{1,3}, 吴婷婷^{1,3}, 李翼飞^{1,3}, 孙 晔^{1,3}, 孙 慧^{1,3},
胡丽娜^{1,3}, 屈会化^{2,3}, 王庆国^{1,3}

(1. 北京中医药大学基础医学院, 北京 100029; 2. 北京中医药大学科研实验中心, 北京 100029;
3. 北京中医药大学“经典方剂的应用基础研究”创新团队, 北京 100029)

【摘要】 树鼩作为低等灵长类动物, 在生物学研究中的价值日益引起研究者重视, 将其作为实验动物的实验需求越来越多。作为南方亚热带动物, 树鼩如何适应北方地区的生活是北方地区将其用作实验动物的前提。本实验室探索出适宜树鼩居住的饲养笼具, 确定了饲养环境温度、湿度、光照时间、噪声及通风等条件, 制定了规范化的卫生管理标准, 建立了北京地区长期人工培育树鼩的饲养管理方法, 为今后利用树鼩进行中医药病证结合动物模型的研究奠定了基础。

【关键词】 树鼩; 北京地区; 饲养管理方法

【中图分类号】 R33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2013)02-0064-05

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2013.002.016

Breeding management method of long-term artificial cultivation of tree shrew in beijing area

ZHAO Yan^{1,3}, WU Ting-ting^{1,3}, LI Yi-fei^{1,3}, SUN Ye^{1,3}, SUN Hui^{1,3}, HU Lina^{1,3}, QU Hui-hu^{2,3}, WANG Qing-guo^{1,3}

(1. School of Preclinical Medicine; 2. Scientific Research Center; 3. “The Basic Research of Classic Recipe Application” Innovation Research Team, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

【Abstract】 Tree shrew, a species of lower primates, its value in biomedical research has draw attention of researchers, and have been more and more demanded as a laboratory animal. However, tree shrew as a southern subtropical animal, how to adapt it to live in northern China becomes the premise that tree shrew can be used as a laboratory animal in northern China. Our laboratory has explored feeding cage, which is suitable for tree shrew living, determined feeding environmental conditions, such as temperature, humidity, illumination time, noise, ventilation, etc., formulated the health management standard and established breeding management method of long-term artificial cultivation of tree shrew in Beijing area. Therefore, we have laid the foundation for the application of tree shrew in research on traditional Chinese medicine syndrome combined with establishment of disease animal models in the future.

【Key words】 Tree shrew; Beijing area; Breeding management

树鼩 (*Tupaia belangeri*, tree shrew), 主要分布于 (云南、四川、贵州、广西等) 具有丰富的资源。自从亚洲东南部的热带和亚热带地区, 我国西南地区 1924 年 Le Gros Clark 发现了树鼩与灵长类在物种

【基金项目】 国家 973 项目资助(2011C13505101)。

【作者简介】 赵琰, (1973 -), 女, 研究员, 主要研究方向: 病证结合动物模型研究, zhaoyandr@gmail.com; 吴婷婷(1985 -), 女, 在读博士研究生, w369081083@126.com。

【通讯作者】 王庆国, (1952 -), 男, 教授, 主要研究方向: 证候、方剂与疾病相关性, wangqg8558@sina.com; 屈会化(1966 -), 男, 副研究员, 主要研究方向: 病证结合动物模型研究, guhuihua@gmail.com。

起源上的密切关系以来,树鼯开始引起各学科研究者的广泛兴趣,在动物分类学上,目前多将其定为灵长目-原猴亚目-树鼯科^[1]。与啮齿类动物相比,树鼯和人类具有更高的相似度,其研究成果能更有效地转化为临床应用;而与猕猴等大型灵长类动物相比,树鼯具有体形小、容易饲养、成本低等优点,因此更有利于被深入研究并广泛应用于生命科学领域。世界卫生组织早在 20 多年前就呼吁用树鼯替代灵长类动物^[2]。现在,世界许多国家已经开展了树鼯人工驯养和实验动物化的研究,并取得了丰硕成果^[3]。

云南省具有丰富的野生以及人工繁殖树鼯资源,中科院昆明动物所已具备规模提供实验用树鼯(云南树鼯 *Tupaia belangeri chinensis*) 的能力。本实验室自 2008 年开始关注将树鼯引入中医药病证结合动物模型研究中,但云南树鼯是亚热带物种,尚未有在北京长期饲养的先例。为满足长期实验观察的需要,我们必须在远离树鼯天然生存地的北京,营造适合树鼯生存、生长和繁殖的饲养环境,同时建立统一规范的培育管理方法。为此,我们通过观察比较,深入研究了树鼯的饲养管理方法,在借鉴云南昆明动物所建立的“实验树鼯”相关技术的云南省地方性标准,及德国灵长类中心已有经验的基础上,结合北京中医药大学的实际条件,在具体操作过程中,积累了大量关于树鼯生活习性的资料,并形成了具有本实验室特色的树鼯饲养管理方法,希望能为北方地区(北京)树鼯实验动物的饲养管理提供借鉴。

1 材料

1.1 动物

云南树鼯雌雄各半,体重(120 ± 10) g,由中国科学院昆明动物所提供,动物许可证:滇发驯繁(92-29)号。分 3 批引进,每批 20 头,共 60 头。

1.2 设备

笼舍(外笼 485 mm × 350 mm × 200 mm,巢笼 290 mm × 178 mm × 160 mm)自制;固定筒(白色 PVC 管,内径 50 mm,长 150 mm)自制;开口器(长 4 cm,直径 0.5 cm)自制。

2 方法

2.1 引进流程

树鼯名列《国家保护的有益的或者有重要经济、科学研究价值的陆生野生动物名录》,按国家二级重点保护野生动物进行管理。根据《中华人民共和国野生动物保护法》第十七条、第二十二条及《中华人民共和国陆生野生动物保护实施条例》第十九条、第二十五条等有关法律法规的规定,其引进程序需按规定进行:因科学研究、驯养繁殖等特殊情况需要出售收购利用国家二级保护野生动物或者其产品的,必须经省、自治区、直辖市政府野生动物行政主管部门或者其授权的单位批准。据此我们按以下程序(图 1)合法引进树鼯并珍惜合理地加以利用。

2.2 笼舍

对第 1 批树鼯分别采取 3 种方式居住,即单独大笼(485 mm × 350 mm × 200 mm),大笼带透明巢笼(大笼 485 mm × 350 mm × 200 mm,半透明巢笼 290 mm × 178 mm × 160 mm)和大笼带避光巢笼(大笼 485 mm × 350 mm × 200 mm,不透光巢笼 290 mm × 178 mm × 160 mm),每天定时观察树鼯状态并记录。

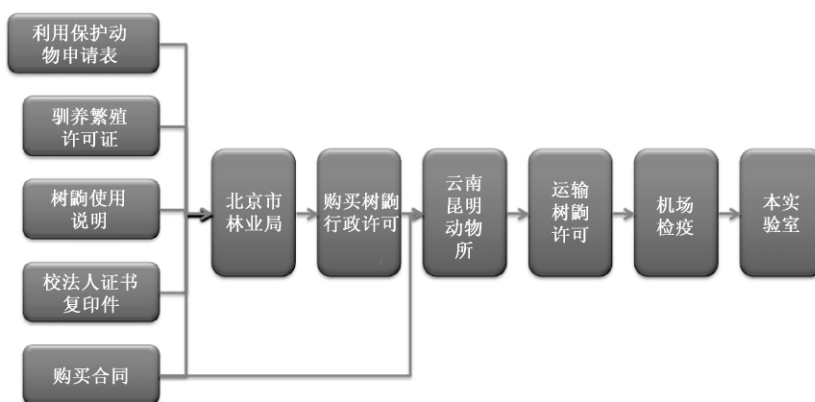


图 1 购买树鼯流程图。

Fig. 1 Purchase process of tree shrews.

2.3 饲养方式

分单只饲养和雌雄配对两种方式饲养,每天定时观察树鼩状态并记录。

2.4 饲料配方

文献报道树鼩的饲料配方多较为复杂,为探索既能保证树鼩生活质量又方便制作的饲料配方,我们对第 1 批树鼩分别进行了 3 种不同配方的饲养:以大鼠标准饲料为底料,分别加以蒸馏水调糊;大鼠饲料加蒸馏水煮熟;以及大鼠饲料加蒸馏水煮熟加蔗糖并佐以辅食进行喂养。每天观察树鼩进食情况并记录。

2.5 管理

2.5.1 环境管理:通过对树鼩行为及状态的观察,记录影响树鼩的温度、湿度、噪声、光线等环境因素,对树鼩居住环境进行调整,以保持正常稳定的生活状态。

2.5.2 卫生管理:根据实际情况,确定保持树鼩笼舍卫生的措施,如定期打扫、消毒等,控制微生物数量,保持洁净。

2.5.3 人员管理:由 4 名研究生长期负责,方便规范操作并及时总结管理经验。

3 结果

3.1 笼舍

根据文献记载及亲身饲养的经验,我们发现与大鼠、豚鼠、兔等常用实验动物不同,树鼩运动能力极强,动作极敏捷,活动范围很大。其基本动作包

括跑、跳、窜、跃、攀爬甚至后空翻等,这决定了其笼舍不能太小。虽然树鼩行为敏捷,但同时它们还具有易惊,怕噪音等特点,需要可供躲避的巢穴。基于以上树鼩习性,结合本实验室的实际条件以及 3 种不同笼舍的饲养效果,我们发现大笼带避光巢笼的方式有利于维持树鼩安定的状态。

本室自制树鼩笼舍(图 2),大笼(利用大鼠饲养笼具改制)规格为 485 mm × 350 mm × 200 mm,PP 聚丙烯塑料,上面为钢丝笼盖,可开启,钢丝笼盖上附加遮光盖;巢笼(利用小鼠饲养笼具改制)为 290 mm × 178 mm × 160 mm,PP 聚丙烯塑料,黑色避光,笼底为网状利于对树鼩进行观察和排泄物落出,于侧壁开口 70 mm × 70 mm 作为出入口。

3.2 饲养方式

文献记载雄性树鼩如果群养会竞争出不同的等级,表现为雄性同笼经常打架,决出主从之后劣势树鼩有抑郁绝食倾向。而我们发现树鼩雌雄配对饲养较单笼饲养者情绪更稳定,因此后期均采用雌雄同笼饲养。其中第 3 批实验树鼩因运输过程中 1 只雄性树鼩死亡,故 1 号笼为单只饲养,与其余 2 ~ 10 号笼雌雄配对饲养者比较,单只树鼩出现敏感多动,不爱进入巢笼等不同表现,且在进食量上存在较大波动(图 3)。

3.3 饲料配方

比较几种饲料配方,我们发现树鼩喜食香甜柔软多汁的食物,不爱吃生硬干涩的食物。树鼩为杂食动物,摄食广泛,需要经常摄入蛋白质,如果长



图 2 北京中医药大学树鼩饲养笼。

Fig. 2 The appearance of the self-constructed hutch of tree shrews in BUCM.

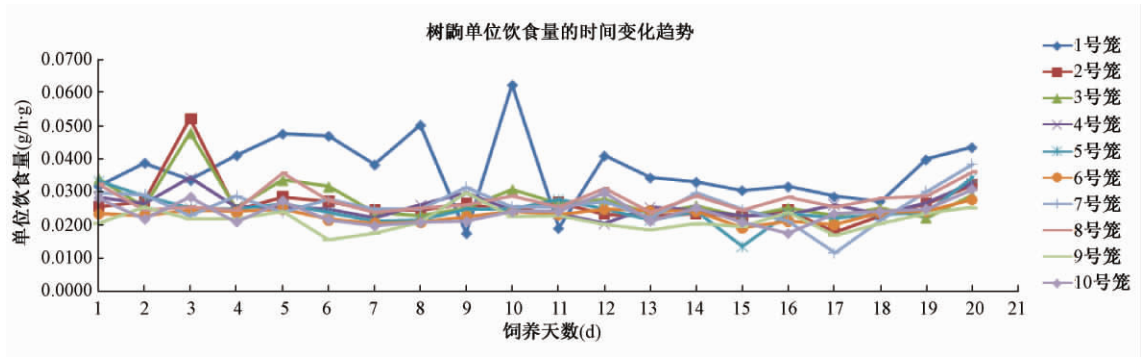


图 3 单只饲养(1 号笼)与雌雄同养(2~10 号笼)树鼩单位饮食量的波动。

Fig. 3 The variation of food intake units of the tree shrew bred singularly in the hutch No. 1 and male-female mixed breed in the hutches No. 2 – 10.

期缺乏蛋白质摄入则会导致体质下降而生病。因此我们结合实际条件,以保证营养又方便制作为前提,确定了每日定量定时喂养的饲料配方:以煮熟大鼠标准饲料粉加白砂糖为主食,水果为辅食,每周一次肉类补充蛋白质(表 1)。

表 1 北京中医药大学实验树鼩饲料配方。

成分 Ingredients	含量 Contents
清洁级大、小鼠维持饲料	10 g/只 d
蒸馏水	0.25 L/只 d
白砂糖	40 g/只 d
香蕉或苹果	100 g/只 d
鸡蛋或火腿	25 g/只周

3.4 管理

3.4.1 环境管理: 树鼩饲养于独立动物饲养间,普通饲养环境,执行的环境管理标准如表 2 所示:

表 2 北京中医药大学实验树鼩饲养环境指标。
Tab. 2 Environmental standards of tree shrew breeding in BUCM.

项目 Items	指标 Norms
温度℃	16 ~ 26
相对湿度%	40 ~ 70
噪声 dB	≤50
换气次数,次/h	8 ~ 10
气流速度, cm/s	10 ~ 20
工作照度, lx	150 ~ 300
昼夜明暗交替时间, h	12/12

3.4.2 卫生管理: 树鼩饲养执行的卫生管理标准见表 3。

3.4.3 人员管理: 由 4 名研究生专门负责,统一操作。每天接触树鼩前穿洁净隔离服、佩戴帽子、口罩、手套,并注意动作轻柔,保持安静。在每天准备

饮食,清洁餐具过程中,注意观察树鼩饮食量、排泄物、行为和情绪状态等情况,并作好详细记录。在开关笼子的过程中应特别仔细小心,防止树鼩逃逸。

表 3 北京中医药大学实验树鼩卫生管理。
Tab. 3 Cleaning management of tree shrews bred in BUCM.

物品 Items	处理 Treatment	周期 Cycle
饲养室	紫外光照射	1 次/d
笼舍	清洗并换垫料	2 次/周
食具	清洗	1 次/d
半成品食物	-4℃ 冷藏	<2 d
成品食物和饮用水	清洁	新鲜制备

3.5 树鼩证候属性评价基准指标(拟定)

在长期的饲养管理过程中,我们发现树鼩具有明显的生物节律和情绪变化,以及敏感的应激性和很强的记忆力等特性。据此我们拟定了可用于树鼩证候属性判别的基准指标,为建立树鼩病证结合动物模型奠定基础。如表 4 所示,评价指标分为 3 大类共 20 项,其中认知能力的测试最为复杂,我们对其进行了专门的研究,将另文介绍。

4 讨论

4.1 实验动物饲养管理规范化的重要性

在生物学实验研究的四个基本条件 Animal, Equipment, Information, Reagent(简称 AEIR 四要素)中,实验动物的质量往往是影响整个实验质量和水平的制约性要素,使用标准的实验动物并在标准的环境条件下进行实验是实验结果准确、规律、可重复的前提,是保证医学生物学研究结果应用价值的重要条件。实验动物的饲养管理是标准化的基础内容之一,规范化的饲养管理是各项研究工作开展的前提。

表 4 树鼩证候属性评价基准指标(拟定)。
Tab. 4 Evaluation indicators of tree shrew syndrome.

类别	指标
一般习性	口渴与饮水
	食欲与食量、摄食比
	毛发
	声音
	二便
	望舌
	寒热
	睡眠
	月经
	昼夜活动和睡眠节律变化观察
对外界的反应	提尾挣扎程度实验
	攀爬能力测定
	易激惹程度实验
	旷场实验
	动情指数
	糖水偏爱度实验
认知能力	逃逸欲
	暗箱选择
	颜色识别能力
	迷宫认知能力的观察比较

4.2 树鼩的饲养管理现状

Gonaway1965 年首次报道树鼩进行实验室饲养实验,我国从上世纪 70 ~ 80 年代开展树鼩人工驯养繁殖及相关研究^[4]。但目前国内对树鼩的饲养繁殖主要集中在云南、广西、武汉、上海等南方省市,在我国北方仅有甘肃多年前曾报道过对树鼩饲养繁殖的小规模探索。虽然昆明动物所已拥有全国最大的树鼩饲养繁殖基地,并建立了“实验树鼩云南省地方标准”,但要形成一个遗传背景清晰可控、微生物等级监管及饲养管理标准化的树鼩品系(昆明树鼩品系) 耗时很长。另外,树鼩作为越来越受瞩目的“实验动物明星”,在全国各地的广泛应用势在必行,如何使作为亚热带物种的树鼩适合本地气候条件是其成为标准化实验动物的必经之路。

4.3 本实验室建立的树鼩饲养管理方法

本实验室探索了树鼩在北京地区实际条件下,如何能够保持良好生存状态所需的饲养、管理方法。在饲养笼舍方面,本实验自制笼舍规格参考了昆明医学院的树鼩笼舍规格,大小相似,树鼩适应

良好。但本室的笼舍改自大小鼠笼,制作简便,货源充足,能够短时间内满足大规模饲养的需要。而且本自制笼舍使用方便,功能灵活多样,为树鼩实验研究的开展提供了极大的辅助和便利。

在饲养方式方面,雌雄 1:1 配对的方式对大多数树鼩来说非常合适,雌雄树鼩之间相处融洽而且交流互动明显,配对饲养的树鼩身体和精神状态均较单只饲养树鼩稳定。雌雄 1:1 配对有利于对树鼩性行为相关指标的检测以及开展繁殖工作。

本实验室的饲料配方源自大鼠基础饲料,营养全面均衡,并且针对树鼩对食物的特殊生理需求,增加了水果和蛋白质类以保证营养。事实证明本饲料配方深受树鼩喜爱,树鼩体重上升明显,精神状态良好,被毛润泽,而且每次喂食前后都发出欢快的叫声并迅速进食。

在管理方面,保证温度适宜是树鼩适应北京气候的首要条件,我们发现规范统一、有规律的接触对树鼩刺激最小,而且有助于对树鼩异常表现的发现。

我们在饲养和实验中发现,树鼩对外界的刺激十分敏感,并且其生活具有明星节律性,光照、喂食时间、实验时间都很影响其生活及繁育,这些现象提示树鼩存在明显的生物节律、敏感的应激性和精准的记忆力。

参考文献:

[1] Hubrecht R, Kirkwood J. The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory and Other Research Animals [M]. 8th ed. New York: Wiley-Blackwell. 2010. 20:262.
[2] 彭燕章, 叶智章, 邹如金, 等. 树鼩生物学 [M]. 昆明: 云南科技出版社, 1991.
[3] 沈培清, 郑红, 刘汝文, 等. 中国树鼩实验动物化研究进展和展望 [J]. 动物学研究, 2011, 32(1): 109 - 114.
[4] 沈培清, 刘美芳, 刘汝文, 等. 树鼩的应用和标准化产业化研究 [J]. 实验动物科学, 2008, 25(1): 49 - 52.

(修回日期)2012-12-05