

棕背鼯的实验室繁育

王元智¹, 马芹¹, 陆涛峰¹, 张圆圆¹, 杨春文², 陈洪岩^{1*}

(1. 中国农业科学院哈尔滨兽医研究所, 哈尔滨 150000; 2. 牡丹江师范学院, 黑龙江牡丹江 157000)

【摘要】 目的 建立棕背鼯的实验室繁育方法, 测定棕背鼯生长和繁殖数据, 为开展棕背鼯实验动物化研究提供基础。**方法** 将黑龙江省牡丹江市牡丹峰林地的野生棕背鼯引入实验室, 于大型硬壁式啮齿动物负压隔离器内进行人工饲养、繁殖, 测定棕背鼯生长和繁育数据, 评价棕背鼯实验室繁育效果。**结果** 棕背鼯在实验室条件下可以实现人工饲养、繁殖。妊娠率 54.55%, 平均妊娠期为 20.4 d (18 ~ 22 d); 一个繁殖期内平均繁殖 2.9 次, 最高繁殖次数为 7 次, 远远超过自然条件下所统计到的繁殖次数 (1 ~ 4 次); 平均窝产仔数 (4.3 ± 1.22) 只, 单窝最高产仔数为 8 只; 幼仔离乳率 94.8%, 生长发育状况良好。**结论** 实现了棕背鼯的实验室繁育, 测定了棕背鼯在实验室条件下的生长和繁育数据, 为棕背鼯实验动物化打下了基础。

【关键词】 棕背鼯; 繁育; 实验动物化

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2017) 02-0169-05

Doi: 10.3969/j.issn.1005-4847.2017.02.010

A standardized breeding study of gray red-backed voles (*Myodes rufocanus*) in the laboratory

WANG Yuan-zhi¹, MA Qin¹, LU Tao-feng¹, ZHANG Yuan-yuan¹, YANG Chun-wen², CHEN Hong-yan^{1*}

(1. State Key Laboratory of Veterinary Biotechnology, Harbin Veterinary Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150000, China; 2. College of Life Science and Technology, Mudanjiang Normal University, Mudanjiang 157000)

【Abstract】 Objective To establish a breeding method of *Myodes rufocanus* in the laboratory, collect their growth and reproduction data, and provide a basis for carrying out the experimental animalization. **Methods** Wild *Myodes rufocanus* caught in the Moranhong woodland were brought back to the laboratory. They were bred artificially in a large hard wall rodent negative pressure isolator. Their growth and reproduction data were recorded for evaluating the results of breeding. **Results** The *Myodes rufocanus* were successfully bred in the laboratory. The pregnancy rate was 54.55%. The average pregnancy length was 20.4 days (8 to 22 days). During one breeding period, they gave birth 2.9 times on average. The maximum number of births was 7 times, far more than the number tested under field conditions. The average litter size was 4.3 ± 1.22 . The highest litter number of a single nest was 8. The weaning rate of pups was 94.8%. The growth and development of pups were good. **Conclusions** The breeding method for *Myodes rufocanus* is established. The growth and reproduction data are tested too. The results of our study laid a foundation for the experimental animalization of *Myodes rufocanus*.

【Key words】 *Myodes rufocanus*; Breeding; Experimental animalization

Corresponding author: CHEN Hong-yan, E-mail: chenhongyan@caas.cn

【基金项目】 哈尔滨市实验动物质量检测平台 (编号: 2014QA3BN002); 国家科技支撑计划 (编号: 2015BAI07B02-02)。

【作者简介】 王元智 (1991 -), 男, 硕士研究生, 专业: 兽医学。E-mail: 282216566@qq.com

【通讯作者】 陈洪岩 (1963 -), 男, 研究员, 研究方向: 实验动物与比较医学。E-mail: chenhongyan@caas.cn

棕背鼯 (*Myodes rufocanus*) 属啮齿目 (*Rodentia*), 仓鼠科 (*Cricetidae*), 田鼠亚科 (*Microtinae*), 鼯属 (*Clethrionomys*), 分布于古北区北部, 由北欧斯堪的纳维亚半岛, 向东穿过整个西伯利亚, 至勘察加半岛, 向南至乌拉尔、阿尔泰山区, 主要栖息在针阔混交林中, 是典型的森林鼠类动物。

棕背鼯根据毛色差别分为 3 个亚种: 山西亚种分布于山西省西北部、河北省北部、北京及内蒙古南部; 西伯利亚亚种分布于大、小兴安岭和新疆阿尔泰山区; 长白山亚种分布于长白山^[1]。

棕背鼯在我国主要分布于新疆、内蒙古、东北、河北、山西的林区, 是内蒙古大兴安岭林区啮齿类的优势种群, 喜食松树皮和种子, 严重影响林区松树的更新。该动物也是多种人兽共患病病原体 (如流行性出血热病毒、森林脑炎病毒、普马拉病毒和伯氏疏螺旋体等) 的天然宿主^[2-5]。

目前, 国内关于棕背鼯的研究多在生态学、生理生化以及森林鼠害防治方面^[6,7]。而在欧洲, 棕背鼯已被作为动物模型进行人工选择实验, 应用于进化模拟等研究。例如, 为了提高棕背鼯在自主活动与捕食行为时的有氧代谢水平以及适应草食性饲料的能力, 在种群内经过了 3 代人工选择后, 棕背鼯游泳时的最大耗氧量比对照组提高了 15%, 饲喂低品质饲料时的体重比对照组高 0.7 g, 从而说明棕背鼯是一种可以用于验证复杂的生物性状与进化之间相互关系的独特的动物模型^[8-10]。日本学者早在 1986 年就尝试将北海道地区的 10 对野生棕背鼯引入实验室进行繁殖^[11]。本研究借鉴长爪沙鼠、东方田鼠、布氏田鼠以及树鼯等野生动物的实验室繁育方法^[12-15], 尝试将野生棕背鼯引入实验室进行人工驯化及饲养繁殖, 旨在探索其作为验证复杂生物性状与进化之间相互关系, 以及人兽共患病感染动物模型的可能性, 并丰富我国实验动物资源^[16]。

1 材料与方法

1.1 动物来源

2015 年 7~10 月份分 3 批引进共 116 只长白山亚种的野生棕背鼯, 由牡丹江师范学院于牡丹峰林地捕获。牡丹峰林地处于黑龙江省牡丹江市郊东南, 地处长白山脉和完达山脉相交的老爷岭山系, 东与太平岭相接, 西与张广才岭毗邻, 坐标为 129°52'42"E, 44°21'4"N。牡丹峰海拔 1008 m, 总面积约 400 km², 为针阔混交林型, 是天然次生林生态系统

自然保护区。

1.2 动物捕获及隔离检疫

通过捕鼠笼将野生棕背鼯捕获后, 目视宏观检查动物整体状况后, 将动物装入无菌运输笼盒中, 按照《动物检疫管理办法》进行隔离检疫, 喂食胡萝卜以补充水分和营养, 检疫合格后, 运回实验室。

动物通过 0.3% 溶敌百虫药浴 5 min, 驱除体表寄生虫 (药液灭菌处理), 再进行隔离观察并取样检测。每只动物取咽拭子及直肠拭子于无菌生理盐水管中, 设计引物进行汉坦 (流行性出血热) 病毒、森林脑炎病毒、普马拉病毒和淋巴细胞脉络丛脑膜炎病毒检测, 死亡动物取血及组织进行检测。

1.3 饲养器具

负压隔离环境实验动物使用设施专用饲养室一间【SYXK(黑)2011-022】, 内置 4 台大型硬壁式啮齿动物负压隔离器 (避免动物携带未知疫病病原体扩散至环境并致工作人员感染), 其中 3 台用于亲代饲养, 1 台用于离乳子代饲养。笼盒为标准大鼠繁殖笼, 木质垫料经高压灭菌, 巢材为灭菌棉絮。

1.4 食性分析

通过实地调查法, 分析棕背鼯栖息地各种食物资源的相对丰富度。

采用胃内容物和粪便显微分析法分析主要食物的类别。将分别于 4 月、7 月和 10 月捕获的棕背鼯麻醉后测量体尺并解剖, 取出胃内容物和直肠中的粪便, 浸于 70% 酒精中保存。将保存的样品取出后, 放入蒸馏水、甘油和乳酚为 1:1:1 的混合液中, 分开至肉眼可见的颗粒, 用醋酸洋红染色制成装片标本, 显微镜镜检胃内容物和粪便成分。在 100 倍下选取 10 个视野统计记录植物、动物组织残片, 用碘化钾染色判断种子成分, 计算各成分所占比例。

通过室内饲养选食法观察分析棕背鼯喜食食物的类型。选用红松种子、榛子、小鼠颗粒饲料、胡萝卜、小白菜、红松枝条和干枯苔草共 8 种食物对棕背鼯进行室内选食观察, 视频记录棕背鼯对各种食物的取食频次。

1.5 饲料调配

根据 GB14924.1-2001 实验动物配合饲料通用质量标准、GB14924.3-2010 实验动物配合饲料营养成分, 以及棕背鼯食性分析结果, 配制临时饲喂饲料, 营养成分为: 水分 7.82%, 灰分 7.45%, 蛋白质 23.09%, 脂肪 5.85%, 磷 0.78%, 钙 1.80%, 粗纤维 4.02%。维持饲料为小鼠颗粒维持饲料, 每周

1 次胡萝卜块;生长饲料在维持饲料的基础上每周添加 1 次松籽;繁殖饲料为小鼠颗粒维持饲料,每日添加胡萝卜块、松籽、拌有鸡蛋的软料,每周补充维生素合剂。

1.6 环境控制与饲养管理

饲养室执行 GB14925 - 2010 实验动物环境及设施,全年温度控制在(22 ± 1)℃,湿度控制在 60% ~ 80%,光照周期 16L:8D,明期开始于每天 2:00, am。饲养管理同清洁级小鼠饲养管理,动物自由采食及饮水,每周更换 2 次垫料,换下的笼盒、饮水瓶、垫料高压灭菌后再清洗。工作人员着无菌防护服,防止未知传染源传染。

1.7 饲养繁殖方法

采用群内最大避免近交法进行繁殖,按照棕背䟽雌雄比为 1:1 或 2:1 进行分笼饲养,长期同居。每天给食时检查母鼠是否怀孕,当怀孕的母鼠出现体型肥胖,腹部明显膨大时,将其移至另一带有消毒灭菌棉絮的笼内单独饲养,每日观察,记录分娩时间。带仔哺乳 3 周后离乳,离乳后亲鼠合笼,仔鼠饲养至 6 周龄时鉴定性别,雌、雄分开饲养,等待与其他性成熟仔鼠合笼。

2 结果

2.1 检测

对捕获的棕背䟽进行实验室微生物学初步检测,汉坦(流行性出血热)病毒、森林脑炎病毒、普马拉病毒、淋巴细胞脉络丛脑膜炎病毒 PCR 检测结果阴性。对死亡动物取血及组织进行检测,PCR 检测结果也为阴性,初步说明捕获的棕背䟽未携带人兽共患病毒。

2.2 毛色观察

本研究用棕背䟽属长白山亚种,如图 1 所示,夏皮背毛红棕色,色区较宽,体侧稍淡,有红色的色泽,与背色接近,但是和背色没有明显的界限,腹毛与脚背均呈灰白色,尾背面灰褐色,腹面灰白色,二色明显。冬毛颜色稍淡,为棕色,体侧与背部颜色接近,腹色与夏皮稍有不同,呈土黄色。健康的棕背䟽被毛光滑亮泽,毛色特征明显,患病或营养不良的棕背䟽则被毛凌乱,暗淡无光。

2.3 行为观察

棕背䟽对环境的适应性较强,从野外捕获引入饲养室繁育 2 ~ 3 d,即可自行从饮水瓶饮水及啃食颗粒饲料。该鼠在人工饲养前期,性情凶猛,对外来

个体十分排斥,尤其是刚从野外捕获的雄性鼠更加好斗,合笼饲养后常出现斗咬死亡现象,造成了部分亲鼠的损失,但随着传代次数增加合笼死亡率明显下降。饲养前期的棕背䟽在更换垫料时,甚至会攻击工作人员,或者发生窜逃,经过一段时间的饲养驯化,该鼠性情也已趋于温顺,子代已基本不会出现斗咬、攻击和窜逃现象。

2.4 食性分析

通过室内饲养选食法观察分析棕背䟽喜食食物的类别,棕背䟽对 8 种食物的取食频次结果如图 2 所示。棕背䟽对小鼠全价颗粒料、胡萝卜、小白菜和红松种子均有较高的取食频次,其中小鼠全价颗粒料的取食频次最高。

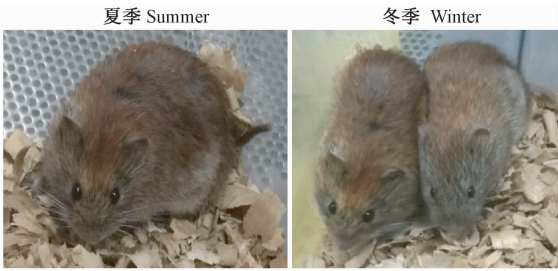


图 1 棕背䟽毛色观察
Fig.1 Observation of the *Myodes rufocanus* coat color

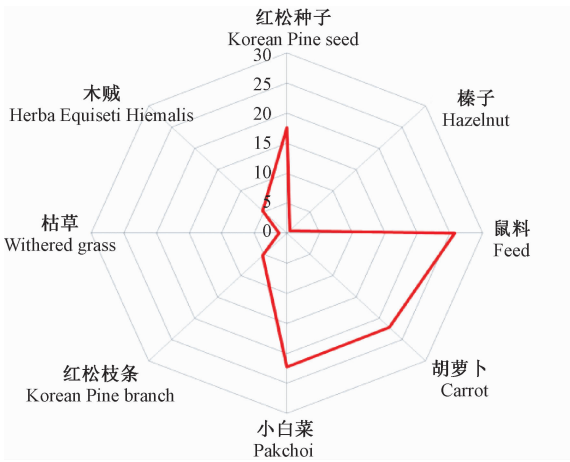


图 2 棕背䟽喜食食物的类别分析
Fig.2 Analysis of the diet type of *Myodes rufocanus*

胃内容物和粪便成分分析结果显示,棕背䟽在春季 4 月份利用单子叶植物的比例较大,胃内容物中占 48.51%。夏季 7 月份,单子叶植物成分比例下降为 10.67%,其他植物比例提高为 39.33%,动物性成分有增加,占 12.00%。秋季 10 月份,单子叶植物比例增加至 32.77%,其他植物的比例低于夏季,占 26.55%,种子成分的比例增加至 10.17%,

动物成分下降至 5.64%。

以上结果表明,棕背鼯在自然条件下食物种类多,以植物性食物为主,同时也取食种子、昆虫等动物性食物。

2.5 生长情况

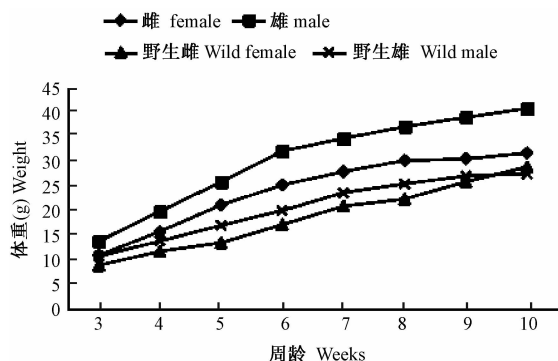
随机抽取 60 只成年棕背鼯(雌、雄各 30 只),乙醚麻醉后测量体重、体尺参数,分别取平均值后与野生棕背鼯进行对比,结果实验室条件下棕背鼯的平均体重、平均体长:雌性分别为 31.40 g、11.26 cm;雄性分别为 40.39 g、12.17 cm,均大于野生棕背鼯的平均体重和平均体长(雌性分别为 28.59 g、9.85 cm,雄性分别为 27.24 g、9.43 cm),其中以雄性棕背鼯的差异有显著性($P < 0.01$)。

在生物学研究中,经常使用体重与身体大小指数(长轴)建立评估生理、营养状况的指数,国内一般将这类指数称为肥满度。一般认为,同样身体大小(长轴)的个体中,体重越大的个体生理和营养状况越好,其肥满度值也就越高^[17]。肥满度的计算采用公式:

$$K = 100 W/L^3$$

式中: K 为肥满度; W 为体重(g); L 代表体长(cm),计算实验室条件下,雌性成年棕背鼯的肥满度为 2.20 g/cm^3 ,雄性成年棕背鼯的肥满度为 2.24 g/cm^3 ,略小于相同季节野生成年棕背鼯的平均肥满度(雌性 2.79 g/cm^3 ,雄性 2.83 g/cm^3)^[18]。

仔鼠 3 周龄离乳后,动态观察 3~10 周龄雌、雄棕背鼯各自的体重变化,绘制生长曲线,结果如图 3 所示,与自然条件下棕背鼯体重增长趋势基本吻合。



注:野生棕背鼯各年龄组体重引自参考文献[6]

图 3 棕背鼯生长曲线

Note. The body weight of wild *Myodes rufocanus* was cited from reference [6]

Fig. 3 Growth curves of the *Myodes rufocanus*

以上结果证明,实验室条件下的棕背鼯体重和体长较野生棕背鼯均有不同幅度的增长,生长发育

状况良好,但由于高强度的繁殖和环境因素等的影响,总体的营养状况仍存在改善的空间。

2.6 繁殖情况

将棕背鼯按照比例分笼饲养后,统计其中 33 对自 2015 年 10 月~2016 年 10 月的繁殖情况:妊娠率 54.55%,离乳率 94.8%,平均妊娠期(20.4 ± 0.87)d,平均繁殖胎次(2.9 ± 1.73)次,平均胎仔数(4.3 ± 1.22)只。

记录各月产仔总量以分析实验室条件下棕背鼯的繁殖规律,结果如图 4 所示,棕背鼯在经过前期几个月的适应后于次年 3 月开始繁殖,4~5 月几乎全部开始繁殖活动,6 月达到繁殖高峰,8 月份之后产仔量明显下降,10 月份大多数个体已停止繁殖活动。

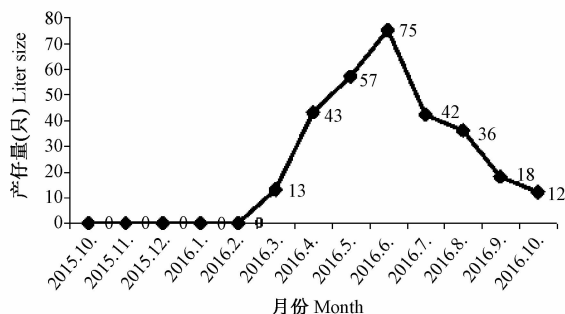


图 4 各月产仔总量

Fig. 4 The amount of birth in each month

另外,根据观察,实验室条件下饲养的棕背鼯窝产仔数最少 1 只,最多 8 只,多数在 4~5 只,平均窝产仔数(4.3 ± 1.22)只,与野外统计数据相符^[19]。平均繁殖次数 2.9 次,最高繁殖次数 7 次,远远超过自然条件下统计到的实际繁殖次数(1~4 次),达到了日本学者在饲养日本棕背鼯(*Clethrionomys rufocanus bedfordiae*)时观察到的最高纪录^[20]。

早期出生的棕背鼯繁殖前期的时间较短,在当年达到性成熟并参加繁殖,部分个体及晚期出生的个体性发育较迟缓,当年不参加繁殖活动。目前,本研究中的棕背鼯已繁殖到 F2 代,共繁殖 67 胎。

3 讨论

由于棕背鼯是多种人兽共患疫病病原体的天然宿主,为了维护公共卫生安全,避免未知病原形成的潜在危害,本研究将牡丹峰林地的野生棕背鼯引入实验室后,置于大型硬壁式负压隔离器内进行人工饲养、繁殖,研究其生长发育、繁殖习性等生物学状况。

统计结果显示,在实验室条件下,目前棕背鼯仍

保持原有的繁殖习性,在春夏季节繁殖,繁殖规律与黑龙江省东南部山区调查统计的结果基本一致^[21]。日本学者 1986 年将棕背鼯引入实验室繁育,统计两年的繁殖数据,其中妊娠率和离乳率分别为 35.4% 和 79.5%,平均胎仔数(5.1 ± 1.6)只,平均妊娠期(20.0 ± 0.7)d。本研究统计的妊娠率(54.55%)和离乳率(94.8%)均高于日本学者的记录,说明本研究的饲养方法及环境控制比较好,基本实现了棕背鼯的实验室繁育。

动物的育肥状况除了与食物条件有关外,与气候因素也有一定的关系。野外气温较低,动物需要增加脂肪、体重、减少热量散失,以适应寒冷的环境。本研究发现,经过人工饲养的棕背鼯在体重和体长的指标上均超过了野生状态下的棕背鼯,而在肥满度的指标上却略低于野生棕背鼯,表明人工饲养的棕背鼯在体型大小上较野生棕背鼯有明显增加,而在体脂的积累上并没有明显增加,这种现象跟所处的环境有直接的相关性。实验室条件下,充足的饮食和恒定的温度、湿度环境,使得棕背鼯不再需要自身储存过多能量抵御寒冷。同时,也说明人工饲养条件能够满足棕背鼯的生理需要,也能使棕背鼯发挥出最佳的生产性能。

野外捕获的棕背鼯在饲养前期合笼后常发生斗咬死亡现象,导致部分繁育笼内雌雄比例失调,这会严重影响到繁殖活动。发现这种情况需及时进行调整、补充,逐步淘汰掉好斗、体弱及不能繁育的亲代动物。野生棕背鼯性情凶猛,工作人员应做好个人防护,避免造成抓伤、咬伤。同时要定期检查笼具的完整性及各笼内棕背鼯的数量,防止窜逃现象的发生。经过一段时间的驯化、淘汰,目前棕背鼯的性情已趋于温和,各笼繁育情况相对稳定,子代棕背鼯发育良好,为实验动物化打下了很好的基础。

另外,在实际操作中,本研究参与人员也开展了尾静脉血液采集、被毛采集、腹腔注射、眼球采血等实验操作,在浅度麻醉与适度保定条件下,相关操作均能正常开展,说明野生棕背鼯经实验室驯化后可以作为实验动物开展相关研究工作。

参 考 文 献

- [1] 罗泽珣. 中国动物志: 兽纲, 第六卷[M]. 北京: 科学出版社, 2000.
- [2] 魏仰华, 王凤臣, 何亦祥, 等. 大林姬鼠棕背鼯引起流行性出血热爆发流行调查报告[J]. 人民军医, 1983, 11: 26-19.
- [3] 姚李四. 中朝长白山毗邻口岸区域鼠类和体表寄生虫及其携带病原初步研究[D]. 长春: 中国人民解放军军事医学科学院, 2012.
- [4] 耿英芝, 姚文清, 刘芸, 等. 辽宁省普马拉病毒检测及基因特征分析[J]. 中国病原生物学杂志, 2012, 7(6): 426-428.
- [5] 华满堂, 金兆清, 何成, 等. 新疆哈巴河铁热克提林牧区棕背鼯携带伯氏疏螺旋体的研究[J]. 中国人兽共患病杂志, 2000, 16(3): 110.
- [6] 杨春文, 金建丽. 棕背鼯研究[M]. 北京: 科学出版社, 2003.
- [7] Chen Y, Dong Y, Xiang X, et al. Sex determination of *Microtus mandarinus mandarinus* is independent of *Sry* gene[J]. Mamm Genome. 2008, 19: 61-68.
- [8] Sadowska ET, Baliga-Klimezyk K, Chrzascik KM, et al. Laboratory model of adaptive radiation: a selection experiment in the bank vole[J]. Physiol Biochem Zool, 2008, 81: 627-640.
- [9] Chrzascik KM, Sadowska ET, Rudolf A, et al. Learning ability in bank voles selected for high aerobic metabolism, predatory behaviour and herbivorous capability[J]. Physiol Behav, 2014, 135: 143-151.
- [10] Sadowska ET, Stawski C, Rudolf A, et al. Evolution of basal metabolic rate in bank voles from a multidirectional selection experiment[J]. Proc Biol Sci, 2015, 282(1806): 20150025. doi: 10.1098/rspb.2015.0025.
- [11] Matsuzaki T, Wakana S, Ebukuro S, et al. Laboratory breeding of the red-backed vole (*Clethrionomys rufocanus bedfordiae*) [J]. Jikken Dobutsu, 1992, 41(2).
- [12] 戴丽军, 韦永芳, 梁成结, 等. 普通级长爪沙鼠封闭群的建立[J]. 广州医学院学报, 2001, 29(4): 25-27.
- [13] 柏熊, 邢正弘, 沈志敏, 等. 东方田鼠人工繁育观察[J]. 实验动物与比较医学, 2006, 26(4): 242-244.
- [14] 梁虹, 潘思丹, 施海霞, 等. 布氏田鼠封闭群建立及繁殖特性研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2009, 19(12): 2767-2769.
- [15] 李贵, 严晔, 常云艳, 等. 树鼯实验室繁殖的新方法[J]. 现代畜牧兽医, 2009, (3): 18-21.
- [16] 郑强, 林永红. 野生动物实验动物化的研究概况[N]. 地方病通报, 1996, 11(增刊): 83-88.
- [17] 戴强, 戴建洪, 李成, 等. 关于肥满度指数的讨论[J]. 应用与环境生物学报, 2006, 12(5): 715-718.
- [18] 杨春文. 棕背鼯种群年龄结构的研究[J]. 牡丹江师范学院学报, 1992, 2: 17-19.
- [19] 孙儒泳, 张玉书, 方喜叶. 啮齿类繁殖生态研究中雄性繁殖强度的意义[J]. 动物学报, 1977, 23(2): 187-200.
- [20] 桑灿勤. 日本棕背鼯的饲养实验[J]. 北方林业, 1968, 20: 113-117.
- [21] 杨可兴. 黑龙江省兽类志[M]. 哈尔滨: 黑龙江科学技术出版社, 1986: 305-316.

[收稿日期] 2016-12-21