

刘帅,宋佳阳,吕赛,等. 环境丰容对 SD 大鼠行为和肾上腺皮质激素的影响研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30(12): 92-97.

Liu S, Song JY, Lyu S, et al. Effect of environmental enrichment on behavior and cortin levels in SD rats [J]. Chin J Comp Med, 2020, 30(12): 92-97.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2020.12.014

环境丰容对 SD 大鼠行为和肾上腺皮质激素的影响研究

刘 帅,宋佳阳,吕 赛,李军延*

(中国疾病预防控制中心职业卫生与中毒控制所,北京 100050)

【摘要】 目的 研究评价不同的环境丰容方案对大鼠行为和肾上腺皮质激素的影响。**方法** 45 只 6 周龄雄性 SD 大鼠,随机分为 4 组,单笼组 9 只,单笼饲养。新奇组、丰容组和对照组各 12 只,3 只/笼饲养。新奇组提供由筑巢材料、遮蔽物、磨牙棒 3 种丰容材料组成的复合丰容方案,并每周更换不同的组合方案。丰容组只提供 1 种丰容材料,丰容材料在更换垫料时根据损耗情况及时更新。对照组和单笼组不提供丰容材料。连续丰容 9 周,采用瞬时扫描法记录大鼠行为时间分配,利用 ELISA 试剂盒检测血清和尿中促肾上腺皮质激素 (ACTH) 及皮质酮 (CORT) 浓度。**结果** 新奇组探究行为显著高于其他组,单笼组不活跃行为增加,单纯性活动行为极显著增加,丰容组和对照组无显著差异。血清中 ACTH 和 CORT 的浓度各组间无显著性差异。尿液中 ACTH 和 CORT 浓度呈现新奇组>单笼组>对照组>丰容组的趋势,但除新奇组 ACTH 极显著高于其他三组,其他差异不显著。**结论** 单笼饲养抑制 SD 大鼠行为表达,是对动物福利的损害,而复合新奇的丰容方案虽增加大鼠探究行为等积极行为,但同时肾上腺皮质激素也有影响,实际应用时应根据具体饲养条件选择简单实用的环境丰容材料和方案。

【关键词】 SD 大鼠;环境丰容;行为时间分配;促肾上腺皮质激素;皮质酮

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2020) 12-0092-06

Effect of environmental enrichment on behavior and cortin levels in SD rats

LIU Shuai, SONG Jiayang, LYU Sai, LI Junyan*

(National Institute of Occupational Health and Poison Control, China CDC, Beijing 100050, China)

【Abstract】 Objective This study focused on the effects of different enrichment designs on behavior and cortin levels in male SD rats. **Methods** Forty-five 6-week-old male specific pathogen free SD rats were randomly divided into four groups. The single cage group had nine rats and the other three groups each had 12 rats. The novelty group was housed in a composite environmental enrichment scheme composed of nesting material, shelter, grinding rods, and a new scheme was provided every week. The environmental enrichment group provided one kind of material every week. The control group and the single cage group did not receive enrichment. The experiment lasted 9 weeks. Behavior was sampled using instantaneous scanning sampling method. Serum and urine adrenocorticotrophic hormone (ACTH) and corticosterone (CORT) levels were measured. **Results** Novelty group rats exhibited more exploring behaviors than rats in the other groups. Rats of the single cage group increased their inactive behavior. No significant differences were found among groups in the serum levels of ACTH or CORT. However, in urine, the concentration of ACTH and CORT showed the following trend: novel group>single cage group>control group> environmental enrichment group. **Conclusions** Single cage housing inhibits the expression of

[基金项目] 职业卫生与中毒控制所青年科技基金项目 (DW201502)。

[作者简介] 刘帅 (1985—),男,助理研究员,硕士,主要从事实验动物学研究。E-mail: cauvet@126.com

[通信作者] 李军延 (1963—),女,研究员,本科,主要从事实验动物及管理研究。E-mail: lijy1@chinacdc.cn

behaviors in SD rats, which is detrimental to their welfare. However, the complex novel enrichment program increased positive behaviors, such as exploration behavior and also has an effect on adrenocortical hormones. In practice, simple and practical environmental enrichment materials and schemes should be selected according to specific housing conditions.

[Keywords] SD rats; environmental enrichment; behavioral time budget; ACTH; CORT

环境丰容(environmental enrichment)又称为环境丰富,作为提高实验动物福利的有效手段,近年来在行业内逐渐受到重视,应用也逐渐广泛^[1]。国外对此进行了大量的研究,从动物行为和生理指标两方面对环境丰容的作用进行了评估。但不同的研究结论常常不一致^[2],给我们的参考应用带来困惑。统计发现约有 70% 的文献报道环境丰容提高了动物福利,10% 左右的文献报道环境丰容并未达到预期效果。差异的研究结果表明环境丰容的作用与采用的环境丰容的方式、作用时间,应用动物的品系、性别有关^[3]。而目前我国实验动物环境丰容的研究较少,行业内还没有关于环境丰富应用的行业指南或是标准,各单位都是根据自己需要进行丰富,丰富的方式和选择的材料都不统一,其实施过程多种多样,而我们对于这些应用对实验动物福利的提升及生物学指标的影响知之甚少。因此本研究选择了市售的 3 类功能 8 种材料组成了不同的环境丰容方案,从行为及生理角度评价不同环境丰容的效果及对 SD 大鼠的影响。

1 材料和方法

1.1 实验动物

45 只 SPF 级雄性 SD 大鼠,6 周龄,体重 180~200 g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司[SCXK(京)2016-0006]。饲养于中国疾病预防控制中心动物实验室屏障环境[SYXK(京)2019-

0050],饲喂⁶⁰Co 灭菌大小鼠维持饲料。饮水经反渗透紫外杀菌处理。本研究通过了中国疾病预防控制中心职业卫生与中毒控制所实验动物管理与福利伦理审查委员会审查(EAWE-2015-007)。

1.2 主要试剂与仪器

大鼠皮质酮(CORT)酶联免疫分析试剂盒、大鼠促肾上腺皮质激素(ACTH)酶联免疫分析试剂盒购自上海江莱生物科技有限公司;5417R 低温离心机购自 Eppendorf 公司;MultiskanMK3 型酶标仪购自 Thermo 公司。

1.3 实验方法

1.3.1 实验分组

大鼠随机分为 4 组,其中单笼组 9 只,单笼饲养于白色不透明笼盒内。新奇组、丰容组、对照组各 12 只,3 只/笼饲养于透明笼盒内。所有笼盒尺寸都为:47 cm×31.5 cm×20 cm。盒内添加杨木刨花和玉米芯颗粒为基础垫料。

1.3.2 环境丰容方案

丰容材料购自益新(中国)有限公司和北京美绿洲生物科技有限公司,包括 3 种功能的 8 种材料,详见表 1。

新奇组由表 1 中的 3 种功能的丰容材料各取一种构成 8 种丰容组合,每周提供一种组合,连续丰容 8 周,期间丰容材料有损坏会及时更换。新奇组具体丰容方案见表 2。

表 1 环境丰容材料
Table 1 Environmental enrichment items

功能 Function	品种 Items
筑巢材料 Nesting material	纸屑 Shredded paper、棉棒 Cotton
遮蔽物 Shelter	纸筒 Paper tube、纸屋 Rodent retreat、爬上球 Crawl ball、管道 Nylon tube
磨牙棒 Grinding rods	木棒 Woodenrods、尼龙棒 Nylonrods

表 2 新奇组丰容方案
Table 2 Enrichment program of novelty group

组合 1 NO.1	组合 2 NO.2	组合 3 NO.3	组合 4 NO.4	组合 5 NO.5	组合 6 NO.6	组合 7 NO.7	组合 8 NO.8
纸屑 Shredded paper	纸屑 Shredded paper	棉棒 Cotton	棉棒 Cotton	纸屑 Shredded paper	纸屑 Shredded paper	棉棒 Cotton	棉棒 Cotton
纸屋 Rodent retreat	纸筒 Paper tube	管道 Nylon tube	爬上球 Crawl ball	管道 Nylon tube	爬上球 Crawl ball	纸屋 Rodent retreat	纸筒 Paper tube
尼龙棒 Nylon rods	木棒 Wooden rods	尼龙棒 Nylon rods	木棒 Wooden rods	尼龙棒 Nylon rods	木棒 Wooden rods	尼龙棒 Nylon rods	木棒 Wooden rods

丰容组动物只提供 3 种功能丰容材料中的一类,同样是每周更换,期间有损坏会及时更换。对照组和单笼组不添加丰容材料。丰容组具体丰容方案见表 3。

1.3.3 检测指标

(1)大鼠行为观察

实验第 9 周,采用瞬时扫描法记录大鼠行为^[4]。行为观察记录由同一个观察者完成,观察者提前 10 min 进入动物饲养室,让动物熟悉一下后再进行观察记录。每日观察时间为上午 10~11 点,下午 4~5 点,连续观察 7 d,共 14 h。

采用瞬时扫描法顺序观察笼盒内的每一只动物,扫描间隔为 10 s(即每只动物观察 10 s),则 1 h

的观察时段内每只动物可记录 8 个行为频次,连续 7 d 的观察后,每只动物可以记录 112 个行为频次。

结合对大鼠行为的观察和文献描述制定大鼠行为谱^[4],详见表 4。

(2)大鼠促肾上腺皮质激素和皮质酮的测定

试验第 7 周时抓取大鼠按摩腹部促进排尿,每只取尿样 50 μL,-20℃ 冻存。9 周后解剖时取腹主动脉血,分离血清-20℃ 冻存。用购自上海江莱生物科技有限公司的 ELISA 检测试剂盒检测尿液和血清中促肾上腺皮质激素(ACTH)、皮质酮(CORT)浓度。

表 3 丰容组丰容方案
Table 3 Enrichment program of environmental enrichment group

大鼠编号 Number of rats	第 1 周 First week	第 2 周 Second week	第 3 周 Third week	第 4 周 Forth week	第 5 周 Fifth week	第 6 周 Sixth week	第 7 周 Seventh week	第 8 周 Eighth week
1~3	纸屑 Shredded paper	纸屑 Shredded paper	棉棒 Cotton	棉棒 Cotton	纸屑 Shredded paper	纸屑 Shredded paper	棉棒 Cotton	棉棒 Cotton
4~9	纸屋 Rodent retreat	纸筒 Paper tube	管道 Nylon tube	爬上球 Crawl ball	管道 Nylon tube	爬上球 Crawl ball	纸屋 Rodent retreat	纸筒 Paper tube
10~12	尼龙棒 Nylonrods	木棒 Woodenrods	尼龙棒 Nylonrods	木棒 Woodenrods	尼龙棒 Nylonrods	木棒 Woodenrods	尼龙棒 Nylonrods	木棒 Woodenrods

表 4 大鼠行为谱
Table 4 Ethogram for behavioural elements recorded

行为类别 Category	行为 Behavior	描述 Description
(A)一般行为 General activities	(1)采食 Feeding	从料盒内啃食饲料 Eating food from food hopper
	(2)饮水 Drinking	从水嘴处饮水 Drinking water from waterspouts
	(3)梳理哈欠 Non-intake maintenance	梳理自己的毛发,伸体哈欠 Self-grooming and pandiculation, stretching and yawning
(B)活跃行为 Movement activities	(1)活动 Movement activities	在笼盒内运动 Movement and/or climbing the cage lid
	(2)探究 Exploratory behaviour	嗅探笼盒壁、笼盒盖及嗅探笼盒外的空气 Sniffing cage wall, cage top and sniffing air outside the cage
	(3)控制垫料 Bedding-directed behaviour	嗅探垫料、吃垫料,挖掘操纵垫料 Sniffing bedding, eating bedding, bedding manipulation and burrowing
(C)不活跃行为 Static behavior	(1)清醒不动 Awake non-active	静止不动的躺、坐、站立,不伴有四肢或头部的活动 Alert, eyes opened but with no directed attention while sitting, standing or leaning against a cage side, mate, food pot or a cage structure
	(2)睡觉 Sleep	静止不动的躺着同时两眼闭合 Lying unalert with both eyes closed-apparently asleep
(D)社会行为 Social interaction	(1)非攻社交 Non-aggressive social interaction	互相梳理毛发,打闹嬉戏 Allogrooming given and Allogrooming received
	(2)攻击 Agonism	攻击、逃避、姑息、防御等敌对行为 Aggression/Defence

1.4 统计学方法

所有统计分析应用 SPSS 19.0 软件进行处理, 方差齐性的数据应用单因素方差分析比较差异, 方差不齐的数据应用非参检验比较差异, $P<0.05$ 为显著差异, $P<0.01$ 为极显著差异。

2 结果

2.1 雄性大鼠的行为时间分配规律

经对雄性大鼠行为频次的统计分析, 发现在上午 10:00–11:00 及下午 16:00–17:00 两个时间段内, 大鼠表现最多的是不活跃行为, 即睡觉(平均发生 32.5 次, 占 29%)和清醒不动(平均发生 28.2 次, 占 25.2%)。其次为活动性行为, 例如: 梳理哈欠(平均发生 13.5 次, 占 12%), 探究(平均发生 12.6 次, 占 11%), 运动活动(平均发生 8.3 次, 占 7%), 控制垫料(平均发生 7.1 次, 占 6%)。采食和饮水各平均发生 5.2 和 2 次, 占 5%和 2%。发生频率最少的是社交行为, 非攻击性社交平均发生 1.9

次, 占 2%, 而攻击行为发生 0.7 次, 占 1%。

如表 5 所示, 丰容组 and 对照组两组间除对照组采食行为增加外, 其他各行为都无显著差异。单笼组动物不活跃行为增加, 如清醒不动显著高于新奇组和对照组, 探究性行为减少, 控制垫料的行为显著低于对照组 ($P=0.02$), 单纯性活动行为极显著高于其他组 ($P<0.01$)。而新奇组探究性行为极显著高于其他三组 ($P<0.01$)。

2.2 雄性大鼠尿液和血液中 ACTH 和 CORT 的浓度

利用 ELISA 试剂盒检测大鼠尿液中和血清中的促肾上腺皮质激素 (ACTH) 和皮质酮 (CORT) 的浓度。检测结果显示, 血清中各组间 ACTH 和 CORT 的浓度无显著性差异。尿液中 ACTH 和 CORT 浓度呈现新奇组>单笼组>对照组>丰容组的趋势, 但除新奇组 ACTH 极显著高于其他三组, 其他差异不显著。另外, CORT 在尿液中浓度要高于血清中的。详见表 6。

表 5 雄性 SD 大鼠行为频次
Table 5 Behavioural performance of SD rats

行为 Behavior	新奇组 Novelty group	丰容组 EE group	对照组 Control group	单笼组 Single cage group
采食 Feeding	4.5±1.9	4.9±2.1	7.3±3.2*	3.8±1.8
饮水 Drinking	2.0±1.6	2.4±1.6	2.3±1.3	0.6±1.1
梳理哈欠 Non-intake maintenance	13.7±3.7	13.8±4.5	14.7±6.3	11.0±4.7
活动 Movement activities	6.6±2.0	7.9±4.4	7.1±2.4	13.3±2.7**
探究 Exploratory behaviour	19.6±6.7**	10.3±5.0	11.2±4.5	7.9±4.2
控制垫料 Bedding-directed behaviour	6.8±2.9	7.5±2.9	8.8±3.9	4.4±1.8*
睡觉 Sleep	31.6±7.5	32.8±7.8	30.9±6.4	36.1±7.6
非攻击社交 Non-aggressive social interaction	2.7±1.7	1.3±1.3	3.1±1.6	/
攻击 Agonism	0.0±0.0	0.7±0.9	1.8±1.5	/
清醒不动 Awake non-active	24.6±6.1	30.4±7.2	25.0±5.0	35.0±7.7*

注: 各组间比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$; EE: 环境丰容。
Note. Compared among 4 groups, * $P<0.05$, ** $P<0.01$. EE, Environmental enrichment.

表 6 雄性 SD 大鼠 ACTH 和 CORT 的浓度
Table 6 Concentration of ACTH and CORT

组别 Groups	ACTH (ng/L)		CORT (ng/L)	
	尿液 Urine	血清 Serum	尿液 Urine	血清 Serum
新奇组 Novelty group	47.7±11.4**	36.4±4.0	277.2±84.9	193.6±25.0
丰容组 EE group	35.7±11.3	37.8±6.2	229.7±67.6	193.5±30.4
对照组 Control group	37.2±7.6	39.9±4.5	239.6±92.1	183.7±30.5
单笼组 Single cage group	40.3±7.7	37.8±7.4	248.2±64.6	192.4±35.5

注: 各组间比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$; 环境丰容。
Note. Compared among 4 groups, * $P<0.05$, ** $P<0.01$. EE, Environmental enrichment.

3 讨论

环境丰容的实施目的是让动物表达天性行为,改善动物福利^[5]。丰容材料的选取应考虑动物的行为需求,确保动物能够使用这些材料,对这些材料感兴趣^[6]。在给予动物丰容材料时可进行动物对材料的偏爱性观察,如直接观察动物对丰容材料的反应,也可间接通过痕迹来判定动物是否对丰容材料有反应,还可以与预期目标进行对比来初步判定丰容效果^[7]。在本实验中根据文献^[8]及啮齿类动物的天性,选取了 3 种功能的丰容材料:筑巢材料、遮蔽物、磨牙棒。实验过程中发现雄性大鼠对于筑巢材料未达到预期效果,纸屑筑巢材料基本平铺在笼盒中,未有筑巢行为发生,棉棒被大鼠撕咬打开,但同样未有明显的筑巢行为发生。这可能是由于本实验的大鼠都为雄性,筑巢行为不是其特殊需求^[9]。对于两种材质(纸质和尼龙)的 4 种遮蔽物,都有观察到大鼠对其反应,使用情况良好,尼龙材质比较耐用,实验期间未有损坏,而纸质遮蔽物一般一周就需更换。观察到与大鼠互动最多的丰容材料为磨牙棒,但在实验中也发现不同动物对不同的丰容材料有明显的偏爱。两种材质的磨牙棒:木质和尼龙材质。有的大鼠偏爱木质磨牙棒,对尼龙磨牙棒不理睬,而有的大鼠刚好相反。因此在制定与实施丰容方案前应根据大鼠对丰容材料的偏爱对其进行筛选。

量化分析动物行为的改变是评价环境丰容效果的有效方法。其中扫描法获得动物行为时间分配是比较容易操作的一种。本实验中在进行大鼠行为时间分布观察前,先进行了大鼠 12 h(动物照明时间)行为观察,选取大鼠行为最丰富或者最活跃的时间段(上下午各 1 h)进行后续观察。即使是在此时间段内,大鼠最主要的行为也是清醒不动或睡觉(占比超过 50%)。实验动物因为标准化圈养的关系,食物饮水提供充足,觅食行为减少,笼盒大小无法充分满足它们的活动需要,限制了它们的活动量,导致其行为发生适应性变化^[10],动态和积极行为减少,而动态和积极行为是动物的自然行为,是表现生命活力的行为^[11]。因此有必要根据实验动物的需求设置一定的环境丰容材料,以改善实验动物的行为。

本实验中,单笼组大鼠的不活跃行为(睡觉和清醒不动)增加,探究性活动减少,而单纯性活动极

显著增加。笼养大鼠典型的刻板行为之一即为在笼盒内不停转圈,此种行为可由单纯性活动增加逐渐演变而来^[12]。本实验中单笼组大鼠虽还未观察到明显的刻板行为,但是已经有显著的单纯性活动增加。大鼠作为群居动物,单笼饲养阻碍了大鼠间的相互交流,是对动物福利的损害^[13]。环境丰容后,新奇组探究行为极显著高于其他三组,由此可见环境丰容能够明显改善 SD 大鼠的行为,使其不活跃行为减少,促进并展示出了更多的积极行为。放置环境丰容材料后,大鼠有了新的乐趣,而且躲藏在遮蔽物中以及磨牙与其生活习性相适应。前人的研究也表明,环境丰容能够增加动物的活动性行为^[14],减少异常行为及不活跃行为,说明环境丰容对动物行为具有积极影响^[15]。

肾上腺皮质激素是动物应激反应的重要标志物,文献中也常用皮质激素来反映动物的福利水平^[16-17]。在大鼠中主要的皮质激素为皮质酮(CORT)。血清中为蛋白结合的皮质酮,尿液中为游离皮质酮,即有活性的皮质酮^[18]。同时因为尿液采集对动物无损伤,所以逐渐被人们所提倡。本实验的检测结果显示,尿液中皮质酮的浓度是显著高于血清中的,说明尿液完全可以取代血清,而且可能比血清更为灵敏。

本实验中,新奇组尿液中 ACTH 与 COAT 都是最高的,且 ACTH 极显著高于其他三组,说明新奇组的丰容方案可能给动物带来了一定程度的应激。一种可能是新奇组给动物提供 3 种丰容材料,且每周更换不同的组合,这对动物来说是一种明显的刺激,导致应激的产生。此外,丰容材料越多,相应的动物需要的饲养空间也越多,但是笼盒面积是固定的。增加的丰容材料侵占了大鼠的饲养空间,对其造成了压力,引起了应激^[19]。由此可知,实验动物环境丰容并不是丰容材料越多越好,丰容方案越新奇越好,要根据饲养条件选择合适的丰容材料和方案^[20]。

尿液中 ACTH 与 COAT 浓度呈现出单笼组、对照组、丰容组递减的趋势,但差异不显著。提示本试验采取的单一材料环境丰容方案确实可能提高了动物的福利水平,降低了 SD 大鼠的皮质激素的水平。但由于一是本实验中即使是对照和单笼饲养也都给予了杨木刨花和玉米芯颗粒的垫料,二是实验持续时间还不够久,带来的激素改变还没达到统计学显著水平^[21]。

综上所述,作为群居动物,单笼饲养 SD 大鼠会减少其探究行为,增加其不活跃行为及单纯性活动行为,极易导致产生刻板行为,是对大鼠福利的损害。而环境丰容有助于改善 SD 大鼠的行为,提高动物福利,但过于复杂新奇的环境丰容也可能对动物带来压力,产生应激。因此应在基于动物需求的基础上,根据动物实际饲养条件,选择简单实用的环境丰容材料和方案,既确保丰容措施能够改善动物福利水平,又能确定环境丰容措施的使用不给动物带来新的刺激和压力。

参考文献:

[1] 梁磊, 恽时锋. 丰富环境在啮齿类实验动物中的应用及研究现状 [J]. 中国比较医学杂志, 2015, 25(2): 71-78.

[2] Toth LA, Kregel K, Leon L, et al. Environmental enrichment of laboratory rodents: the answer depends on the question [J]. Comp Med, 2011, 61(4): 314-321.

[3] Spangenberg EM, Augustsson H, Dahlborn K, et al. Housing-related activity in rats: effects on body weight, urinary corticosterone levels, muscle properties and performance [J]. Lab Anim, 2005, 39(1): 45-57.

[4] Abou-Ismaïl UA, Burman OH, Nicol CJ, et al. The effects of enhancing cage complexity on the behaviour and welfare of laboratory rats [J]. Behav Processes, 2010, 85(2): 172-180.

[5] 李军延, 刘帅. 实验动物环境丰富化 [J]. 中国实验动物学报, 2015, 23(3): 327-330.

[6] Hutchinson E, Avery A, Vandewoude S. Environmental enrichment for laboratory rodents [J]. ILAR J, 2005, 46(2): 148-161.

[7] 田秀华, 张丽烟, 王晨. 动物园环境丰容技术及其效果评估方法 [J]. 野生动物杂志, 2007, 28(3): 64-68.

[8] 郎雪楠, 陈雪婷, 李兆阳, 等. 磨牙石在大、小鼠饲养中的应用 [J]. 实验动物与比较医学, 2015, 35(4): 308-310.

[9] 张孟蕾, 牛屹东. 筑巢材料在实验大、小鼠环境丰容中的应用 [J]. 中国实验动物学报, 2012, 20(2): 93-98.

[10] Mkwanzu MV, Ncobela CN, Kanengoni AT, et al. Effects of environmental enrichment on behaviour, physiology and performance of pigs - A review [J]. Asian-Australas J Anim Sci, 2019, 32(1): 1-13.

[11] 渠畅, 赵丽娜, 程鲲, 等. 圈养环境下黑帽悬猴行为时间分配和活动节律 [J]. 野生动物学报, 2019, 40(2): 279-284.

[12] 刘群秀, 涂荣秀, 马珺, 等. 应用环境丰容消除圈养动物的刻板行为 [J]. 野生动物学报, 2014, 35(2): 220-223.

[13] Cloutier S, Baker C, Wahl K, et al. Playful handling as social enrichment for individually- and group-housed laboratory rats [J]. Appl Anim Behav Sci, 2013, 143(2-4): 85-95.

[14] Tomiga Y, Ito A, Sudo M, et al. Effects of environmental enrichment in aged mice on anxiety-like behaviors and neuronal nitric oxide synthase expression in the brain [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2016, 476(4): 635-640.

[15] 田立立, 魏晓峰, 高诚. 实验动物行为与环境质量研究进展 [J]. 实验动物与比较医学, 2016, 36(3): 237-242.

[16] 胡新波, 何鑫, 黄淑芳, 等. 食物丰容对笼养黑猩猩行为和粪便皮质醇的影响研究 [J]. 野生动物学报, 2014, 35(3): 282-288.

[17] Casal N, Manteca X, Escribano D, et al. Effect of environmental enrichment and herbal compound supplementation on physiological stress indicators (chromogranin A, cortisol and tumour necrosis factor- α) in growing pigs [J]. Animal, 2017, 11(7): 1228-1236.

[18] 梁磊, 董敏, 尤金炜, 等. 心理应激大鼠部分福利相关指标测评 [J]. 实验动物与比较医学, 2018, 38(3): 207-211.

[19] Garrido P, De Blas M, Ronzoni G, et al. Differential effects of environmental enrichment and isolation housing on the hormonal and neurochemical responses to stress in the prefrontal cortex of the adult rat: Relationship to working and emotional memories [J]. J Neural Transm (Vienna), 2013, 120(5): 829-843.

[20] André V, Gau C, Scheideler A, et al. Laboratory mouse housing conditions can be improved using common environmental enrichment without compromising data [J]. PLoS Biol, 2018, 16(4): e2005019.

[21] Scarola SJ, Perdomo Trejo JR, Granger ME, et al. Immunomodulatory effects of stress and environmental enrichment in long-evans rats (rattus norvegicus) [J]. Comp Med, 2019, 69(1): 35-47.

[收稿日期] 2020-06-03