

การศึกษาวงรอบการสืบพันธุ์ และติดตามผลการตั้งท้องหลังการทดลองผสมเทียมช้างไทย
ในสวนสัตว์เปิดเขาเขียว

Reproductive Cycle Studies and Monitoring of Pregnancy after Artificial
Insemination of Asian Elephants in Khao Kheow Open Zoo, Thailand.

ชัยณรงค์ ปั่นคง¹, สกนธ์ น้อยมูล¹, เจษฎา แถวเนิน¹, อุมพร ใหม่แก้ว¹, อัมพิกา ทองภักดี²,
นิกร ทองทิพย์³ และ อุฬาริกา กองพรหม¹
Chainarong Punkong¹, Noimuul S.¹, Thaeonoen J.¹, Maikaew U.¹, Thongpakdee A.²,
Thongtip N.³ and Kongprom U.¹

¹ ฝ่ายอนุรักษ์ วิจัยและสุขภาพสัตว์ สวนสัตว์เปิดเขาเขียว 235 หมู่7 ต.บางพระ อ.ศรีราชา จ.ชลบุรี 20110.

² สำนักอนุรักษ์ และวิจัย องค์การสวนสัตว์ในพระบรมราชูปถัมภ์ แขวงดุสิต เขตดุสิต กรุงเทพมหานคร.

³ คณะสัตวแพทย์ คลินิกสัตว์ใหญ่ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม.

E-mail: agist_ca@hotmail.com โทร. 081-6851547

บทคัดย่อ

การตรวจสอบวงรอบการสืบพันธุ์และการทดลองผสมเทียมช้างไทย ณ สวนสัตว์เปิดเขาเขียวเพื่อเป็นต้นแบบสู่การขยายพันธุ์ช้างไทยเป็นการศึกษาที่มีการประยุกต์ใช้เทคนิคช่วยทางการสืบพันธุ์และการพัฒนาศักยภาพของนักวิจัยในการจัดการสัตว์ป่าในสภาพเพาะเลี้ยง การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาวงรอบการสืบพันธุ์ช้างสำหรับการประยุกต์ใช้ในการผสมเทียมและการตรวจติดตามปริมาณฮอร์โมนที่แสดงถึงการตั้งท้องภายหลังการผสมเทียม ดำเนินการศึกษาตั้งแต่ช่วงเดือนมีนาคม 2557 ถึง ปัจจุบัน (พฤษภาคม 2561) ทำการวิเคราะห์ค่าปริมาณฮอร์โมนด้วยวิธีการแบบใช้แอนติบอดีสองตัว (double antibody EIA) และแอนติบอดีเดียว (single antibody EIA) จากตัวอย่างซีรัมที่เก็บจากหลอดเลือดบริเวณใบหูของช้างเพศเมียจำนวน 6 เชือก (อายุระหว่าง 20-45 ปี) และเก็บน้ำเชื้อจากเพศผู้จำนวน 3 เชือก (อายุ 20-45 ปี) ผลการตรวจวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมน โปรเจสเตอโรน (progesterone) พบว่าช้างเพศเมียมีความยาวนานของวงรอบการสืบพันธุ์ 14-17 สัปดาห์ (n=43 วงรอบ) ค่าปริมาณฮอร์โมนมีค่าอยู่ในช่วง 0.05 ถึง 3.4 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัม (ng/ml) มีระยะหลังการตกไข่หรือลูเตียสเฟส (luteal phase) นานประมาณ 8 ถึง 11 สัปดาห์ ซึ่งจะมีระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนคงอยู่ในระดับสูง (0.6 - 3.4 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัม) มีระยะที่ไม่ใช่ลูเตียสเฟส (nonluteal phase) มีค่าปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนอยู่ในระดับต่ำ (ค่าระหว่าง 0.05-0.5 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัม) นาน 4 ถึง 6 สัปดาห์ และเมื่อพบระดับฮอร์โมนเริ่มเข้าสู่ระดับต่ำจะมีการตรวจวัดฮอร์โมนการตกไข่เพื่อกำหนดช่วงเวลาทำการผสมเทียม โดยการตรวจหาลูทีไนซิงฮอร์โมน (luteinizing hormone; LH) ทั้งที่เป็น “anovulatory surge” (anLH) และ “Ovulatory surge” (ovLH) ที่เป็นช่วงของการตกไข่ มีระยะห่างกัน 18-21 วัน มีค่าระหว่าง 0.2 ถึง 9.0 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัม ซึ่งมีแนวโน้มเป็นไปตามรายงานก่อนหน้านี้ หลังจากการทดลองผสมเทียมในช่วงที่มีการตกไข่ (วันที่ -1, 0 และ +1 ของการตกไข่) ด้วยน้ำเชื้อสดและแช่แข็งจำนวน 7 ครั้งในเพศเมียจำนวน 4 เชือก (เมษายน 2558 ถึง ธันวาคม 2559) พบการเปลี่ยนแปลงของปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่แสดงถึงการตั้งท้องในช้างเพศเมีย 1 เชือกที่ทำการผสมเทียมในช่วงเดือนธันวาคม 2559 โดยหลังการผสมเทียมพบการเพิ่มระดับขึ้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่มีแบบแผนคล้ายกับระยะลูเตียลมีระดับฮอร์โมนเพิ่มสูงถึง 0.84 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัม ก่อนลดระดับลงที่ระดับ 0.56 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัมภายในระยะเวลา 7 สัปดาห์ และเพิ่มระดับขึ้นสูงเหนือระดับค่าเฉลี่ยของระยะลูเตียลภายใน 10 สัปดาห์ และคงอยู่ในระดับสูงต่อเนื่อง ซึ่งระดับฮอร์โมนสูงได้ถึง 6.31 ng/ml ในช่วงสัปดาห์ที่ 26 ของการตั้งท้อง นอกจากนี้ยังพบการมีน้ำไหลที่ขมับ (temporal gland drainage) คล้ายการตกมันเกิดขึ้นเป็นครั้งคราวในช่วงสั้นๆ ตลอดระยะของการตั้งท้อง ซึ่งในช่วงเวลาดังกล่าวสามารถพบการลดระดับลงของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนขณะที่ฮอร์โมนคอร์ติซอลหรือฮอร์โมนความเครียดมีการเพิ่มระดับสูงขึ้น โดย ณ วันที่ 31 พฤษภาคม 2561 มีอายุครรภ์นานประมาณ 74 สัปดาห์ ผลการตั้งท้องยังคงต้องติดตามอย่างต่อเนื่องต่อไป

คำสำคัญ: วงรอบการสืบพันธุ์ ผสมเทียมช้าง ลูทีไนซิงฮอร์โมน โปรเจสเตอโรน คอร์ติซอล

Abstract

Study of the reproductive cycle and artificial insemination (AI) of Asian elephants at Khao Kheow Open Zoo has been initiated in order to increase the captive population by using newer controlled reproductive techniques and develop the potential of Thai researchers. From March 2014 to May 2018, blood samples (from an ear vein) were collected from four females and semen was collected from three males. The samples from females were collected once a week to trace the progesterone profile using double-antibody EIA. The results showed that the females had reproductive cyclicity and the length of the estrous cycle ranged from 14 to 17 weeks ($n = 43$). Progesterone varied from 0.05 to 3.4 ng/ml. During the nonluteal phase, with progesterone hormone continuing at low levels (0.05-0.5 ng/ml) for a further 4 to 6 weeks. The next luteal phase is about 8 to 11 weeks when progesterone hormone concentrations are high (0.6 - 3.4 ng/ml). When progesterone levels in blood serum began to decline to a low level, serum samples were collected daily to monitor luteinizing hormone (LH). The first LH surge, called the “anovulatory surge” (anLH) and the second surge referred to as the “ovulation surge” (ovLH). The first LH surge is necessary to stimulate the ovulation which is 18-21 days before the second LH surge. Knowing this sequence permits precise scheduling of Artificial Insemination. When LH hormone levels ranged from 0.2 to 9.0 ng/ml, 7 artificial inseminations were attempted with fresh semen in 4 females from April 2015 to December 2016. Subsequent testing showed the hormone levels of one female had trends to pregnant. After artificial insemination, found that progesterone increased to luteal phase concentrations at 0.84 ng/ml, before declining to low level at 0.56 ng/ml within 7 weeks and then progesterone concentrations increased again in higher than luteal phase levels by 10 weeks of the gestation periods and maintaining at high concentrations level. The progesterone concentrations peak to 6.31 ng/ml at 26 weeks. The study also found that the female’s pregnant had behaviors of temporal gland drainage (or maybe musth) in during gestation periods and then progesterone to declined in this periods while corticosterone were increased at high level. The study need to be continues monitoring.

Keywords: Reproductive cycle, Elephant insemination, Luteinizing Hormone (LH), progesterone, cortisol

1. บทนำ (Introduction)

จากข้อมูลของสหภาพสากลว่าด้วยการอนุรักษ์ (IUCN Red List, 2015) ระบุว่าสัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำ 41 ชนิด และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม 26 ชนิด กำลังตกอยู่ในภาวะเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์หนึ่งในจำนวนนี้คือ ช้างเอเชีย นอกจากนี้ช้างเอเชียยังเป็นชนิดพันธุ์ที่มีรายชื่ออยู่ในบัญชีสัตว์หมายเลขหนึ่งของอนุสัญญาการค้าสัตว์ป่าระหว่างประเทศ (CITES) อีกด้วย ในอดีตจนถึงปัจจุบันยังเกิดปัญหาการลักลอบตัดจับลูกช้างมาเป็นช้างเลี้ยงเพื่อประโยชน์ทางการท่องเที่ยวและทางเศรษฐกิจด้วยการนำออกมาหากินตามที่ต่างๆ บ่อยครั้งทำให้เกิดปัญหาการเจ็บปวดแสบจากการเกิดอุบัติเหตุทางถนนหรือการเจ็บป่วยจากโรคร้ายต่างๆ จนล้มตายไปเป็นจำนวนมาก ข้อมูลจากกรมปศุสัตว์และกระทรวงมหาดไทยรายงานว่าในช่วง 30 ปีที่ผ่านมาระหว่างปี 2512-2542 ช้างเลี้ยงในประเทศไทยได้ลดจำนวนลงจากจำนวนหนึ่งหมื่นกว่าเชือก เหลือเพียงประมาณ 2,500 เชือก (สิทธิเดช, 2542) ส่วนประชากรช้างเอเชียที่มีอยู่ตามธรรมชาติทุกสายพันธุ์รวมกันมีประชากรเหลือราวๆ 50,250 ตัว (Hermes *et al.*, 2007) ผู้ประชากรที่เป็นช้างเลี้ยงหรืออยู่ในสภาพการเพาะเลี้ยง ถือเป็นทรัพยากรที่มีอยู่เพื่อสนับสนุนการลดจำนวนลงของช้างในป่าธรรมชาติ แต่ด้วยภาวะของความไม่สมบูรณ์พันธุ์ และการขยายพันธุ์ยากของกลุ่มที่อยู่ในสภาพของการเพาะเลี้ยง ก็นำไปสู่การสูญเสียประชากรจำนวนมากในช่วงไม่กี่ทศวรรษที่ผ่านมา (Wiese, 2000; Hutchins and Keele, 2006) ช้างเพศเมียที่อยู่ในสภาพการเพาะเลี้ยงมักประสบปัญหาเรื่องของการสืบพันธุ์ (มีวงรอบการเป็นสัดที่ไม่แน่นอน) และมีความผิดปกติของระบบท่อทางเดินสืบพันธุ์ เหตุผลที่อยู่เบื้องหลังปัญหาทางการสืบพันธุ์เหล่านี้ยังเป็นปัญหาที่ทำความเข้าใจได้ยากแต่อาจมีความเกี่ยวข้องกับการทำงานของต่อมไร้ท่อ รวมถึงภาวะทางโภชนาการและปัญหาด้านความเครียดภายใต้การจัดการเลี้ยง (Brown *et al.*, 2004; Kimberley, 2009) ปัจจุบันมีแนวโน้มว่าอัตราการเกิดของช้างเลี้ยงน้อยกว่าอัตราการตาย ซึ่งหากเป็นเช่นนี้ต่อไปช้างจึงมีโอกาสที่จะสูญพันธุ์ (นิกร และคณะ 2544; Thongtip *et al.*, 2004; Thitarm *et al.*, 2008) การประยุกต์ใช้เทคโนโลยีช่วยทางการสืบพันธุ์ด้วยการผสมเทียมจึงถูกนำมาใช้กับกลุ่มประชากรในกรงเลี้ยงซึ่งในอดีตมีจุดเริ่มต้นเมื่อ ปี ค.ศ. 1998 มีการประสบความสำเร็จในการผสม

เทียมด้วยการใช้เทคนิคการตรวจติดตามค่าปริมาณฮอร์โมน วงรอบการสืบพันธุ์และช่วงของการตกไข่ รวมถึงการทำความเข้าใจในระบบสืบพันธุ์ (Brown *et al.*, 2004) เมื่อกว่า 1 ทศวรรษที่ผ่านมาประเทศไทยเคยประสบความสำเร็จในการผสมเทียมช้าง 1 ครั้ง โดยอาจารย์นิกร ทองทิพย์ จากมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์กำแพงแสนร่วมกับศูนย์อนุรักษ์ช้างไทย จ.ลำปาง อย่างไรก็ตาม กระบวนการผสมเทียมไม่สามารถเป็นไปได้เลยหากขาดซึ่งน้ำเชื้อคุณภาพดี และความสมบูรณ์พันธุ์ของเพศเมีย นอกจากนี้ยังมี กระบวนการติดตามการตั้งท้องและการดูแลการคลอดอีกด้วย (Kimberley, 2009)

การตรวจวัดระดับฮอร์โมนจากเลือดสามารถอธิบายถึงความเป็นไปของกระบวนการทำงานของระบบต่อมไร้ท่อและสถานภาพการสืบพันธุ์ (adenocortical activity and reproductive status) และพัฒนาการของอวัยวะสืบพันธุ์ได้ แต่วิธีนี้ต้องใช้ระยะเวลาในการเก็บข้อมูลหรือเก็บเลือดของช้างในระยะเวลาอันยาวนาน มาทำการตรวจวิเคราะห์สถานภาพการสืบพันธุ์หรือจัดลำดับช่วงการสืบพันธุ์และช่วงเวลาการตกไข่ที่จำเป็นยิ่งต่อการนำมาใช้บริหารจัดการกรงเลี้ยงและต่อยอดสู่กระบวนการผสมเทียมที่เป็นการประยุกต์ใช้เทคโนโลยีช่วยทางการสืบพันธุ์แบบหนึ่งที่สามารถยกระดับความหลากหลายทางพันธุกรรมและแก้ไขพฤติกรรมกรรมกรขยายพันธุ์ยาก และข้อจำกัดของจำนวนประชากรในกรงเลี้ยงได้ เพื่อการขยายพันธุ์ช้างเอเชียให้คงคุณลักษณะของช้างที่มีข้อจำกัดไม่สามารถขยายพันธุ์ได้ด้วยวิธีการตามธรรมชาติให้คงอยู่ต่อไป ส่งเสริมความหลากหลายทางพันธุกรรมของช้างเอเชียที่อยู่ในสภาพการเพาะเลี้ยงได้มากขึ้น นอกจากนี้ยังใช้ข้อมูลที่ได้ในการส่งเสริมพัฒนาคุณภาพชีวิตของช้างและแก้ไขปัญหาการขยายพันธุ์ของสัตว์ป่าในสภาพการเพาะเลี้ยงได้ต่อไป

1.1. วัตถุประสงค์

1.1.1 เพื่อประเมินรอบการสืบพันธุ์ของช้างไทยในองค์การสวนสัตว์ที่สามารถใช้เป็นฐานข้อมูลสำหรับการจัดการตัวสัตว์ และประเมินความสมบูรณ์พันธุ์ประชากร

1.1.2 เพื่อหาช่วงเวลาการตกไข่หรือช่วงเวลาที่เหมาะสมต่อการใช้เทคโนโลยีช่วยทางการสืบพันธุ์

1.1.3 เพื่อการเพาะขยายพันธุ์เพิ่มจำนวนลูกช้างเอเชียด้วยการผสมเทียม

2. วิธีการศึกษา (Materials and Methods)

2.1 ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา

2.1.1 ช้างเอเชียเพศผู้ในสวนสัตว์เปิดเขาเขียว จำนวน 3 เชือก อายุระหว่าง 25-45 ปี ทั้งที่เป็นช้างงาและช้างสีดอ

2.1.2 ช้างเอเชียเพศเมียในสวนสัตว์เปิดเขาเขียว จำนวน 3 เชือก อายุระหว่าง 23-45 ปี

2.1.3 ช้างเอเชียเพศเมียในสวนสัตว์อื่นๆ ขององค์การสวนสัตว์ จำนวน 3 เชือก อายุระหว่าง 20-40 ปี



ภาพ (ก)



ภาพ (ข)



ภาพ (ค)

ภาพที่ 1. ช้างเพศผู้ที่ใช้ในการศึกษา (ก) พลายเปี้ยก (ข) พลายบิลลี่ (ค) มงคล



ภาพ (ก)



ภาพ (ข)



ภาพ (ค)

ภาพที่ 2. ช้างเพศเมีย (บางส่วน) ที่ใช้ในการศึกษา (ก) พังกรอบทอง (ข) พังจันทร์เพ็ญ (ค) พังจิม

2.2 วัสดุ อุปกรณ์ สารเคมีสำหรับการศึกษา

- 2.2.1 Goat anti-Rabbit IgG and Goat anti-Mouse IgG (at 4 °c)
- 2.2.2 Coating Buffer, 20x (at RT)
- 2.2.3 Tween Blocking Buffer, 10x (at RT)
- 2.2.4 Antibody, HRP and Standard Cortcosterone
- 2.2.5 Antibody, HRP and Standard Progesterone
- 2.2.6 Antibody, Biotin and Standard Luteinizing
- 2.2.7 Wash solution
- 2.2.8 TMB substrate
- 2.2.9 Dilution Buffer & Assay buffer
- 2.2.10 Pipette, repeater pipette, pipette tips and other (Plate reader, Wash machine and Vortex)

2.3 วิธีการศึกษา (Methods)

2.3.1 การเก็บซีรัมช้างเพื่อการตรวจวัดปริมาณฮอร์โมนวงรอบการสืบพันธุ์และการตกไข่

ใช้กลุ่มประชากรช้างไทยของสวนสัตว์เปิดเขาเขียว และกลุ่มประชากรอื่นจากสวนสัตว์ต่างๆ ในองค์การสวนสัตว์ที่สามารถเก็บข้อมูลได้ ในช่วงอายุ 15-45 ปี เก็บตัวอย่างเลือดโดยเจาะเลือดผ่านเส้นเลือดบริเวณใบหู (ear vein) ครั้งละประมาณ 1.0 – 2.0 มิลลิลิตร ทุกๆ สัปดาห์ ตั้งทิ้งไว้ให้เลือดแข็งตัว ณ อุณหภูมิห้อง 1-2 ชั่วโมง ทำการปั่นแยกและเก็บซีรัมในหลอดเก็บ (Aliquot) ขนาด 1.5 มิลลิลิตร ตัดฉลากระบุตัวสัตว์และช่วงวันเวลาเพื่อการจำแนกเก็บไว้ที่ตู้แช่แข็งอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส หรือต่ำกว่า จนกว่าจะมีการตรวจวิเคราะห์ นำซีรัมส่งตรวจวัดระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (และหรือฮอร์โมนเพศอื่นๆ) ที่สามารถนำมาใช้ในการแสดงถึงวงรอบการสืบพันธุ์ได้ ทุกสัปดาห์ด้วยวิธีการแบบ Enzyme immunoassay (EIA) แบบ Double antibody EIA หรือ Single antibody EIA

ทำการตรวจหาวงรอบการเป็นสัดและวันตกไข่ในช้างเพศเมียตามวิธีของ Brown และคณะ(2000; 2004) และ Arbarr Assay Inc.. (เอกสารไม่ถูกเผยแพร่) โดยเมื่อระดับความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในกระแสเลือดมีแนวโน้มลดลงจนถึงระดับค่าเฉลี่ยพื้นฐาน (baseline) ประมาณ 0.08-0.1 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร (ตามการอ้างอิงการศึกษาของ Brown *et al.*, 1999) ติดต่อกันเป็นเวลานานอย่างน้อย 5 วัน จากนั้นทำการเก็บเลือดทุกวัน ปั่นแยกซีรัมตามขั้นตอนข้างต้น นำส่งซีรัมตรวจหาระดับของลูทีไนซิงฮอร์โมน (LH) ด้วยวิธีการแบบ enzyme immunoassay หาช่วงคลื่นของลูทีไนซิง (LH peak) ทั้งสองช่วง ทั้งที่เป็น anLH (LH 1) และ ovLH (LH 2) ช่วงที่ใช้พิจารณาตัดสินระยะที่เกิด anLHและ ovLH ให้พิจารณาคำนวณเปรียบเทียบกับค่าที่ตรวจวัดได้ก่อนการพบช่วงคลื่นที่มีการเพิ่มของระดับฮอร์โมน LH 10 วันและต่อเนื่องหลังจากสิ้นสุดคลื่นนั้นแล้วไปอีก 5 วัน ของแต่ละช่วงคลื่น เมื่อพบ LH peak ที่ 1 ทำการกำหนดช่วงเวลาเพื่อทำการผสมเทียมให้ตรงกับช่วงที่จะเกิด LH peak ที่ 2 ซึ่งเป็นช่วงที่มีการตกไข่ ยืนยันผลการตกไข่ด้วยการตรวจโปรเจสเตอโรนและลูทีไนซิงฮอร์โมน หลังพบการตกไข่จึงทำการกลับมาเก็บเลือดสัปดาห์ละครั้งต่อเนื่องทุกสัปดาห์ กรณีไม่พบให้ใช้รูปแบบการเปลี่ยนแปลงของฮอร์โมน โปรเจสเตอโรนเป็นตัวพิจารณาต่อไป

2.3.2 การเก็บน้ำเชื้อจากช้างเอเชียเพศผู้

เก็บน้ำเชื้อจากช้างเอเชียเพศผู้ อายุระหว่าง 15-40 ปี ของสวนสัตว์เปิดเขาเขียว ด้วยวิธีการกระตุ้นการหลั่งน้ำเชื้อช้างด้วยวิธีการใช้มือวดกระตุ้นที่บริเวณ ampulla gland และ seminal vesicle แบบ manual stimulation ทุกๆ 3-4 เดือน

2.3.3 การผสมเทียมช้าง

ทำการผสมเทียมช้างด้วยน้ำเชื้อสด หรือน้ำเชื้อแช่แข็งและเย็น ในช้างเมื่อพบช่วงเวลาที่เหมาะสมต่อการผสมเทียมด้วยวิธีการใช้กล้องส่องตรวจภายในนำทางท่อผสมเทียม (endoscopic AI) ในแต่ละครั้งทำการผสมเทียมติดต่อกัน 3 วัน คือ ช่วง 1 วันก่อนการตกไข่ ช่วงวันที่ตกไข่ และ 1 วันหลังการตกไข่ ตามลำดับ

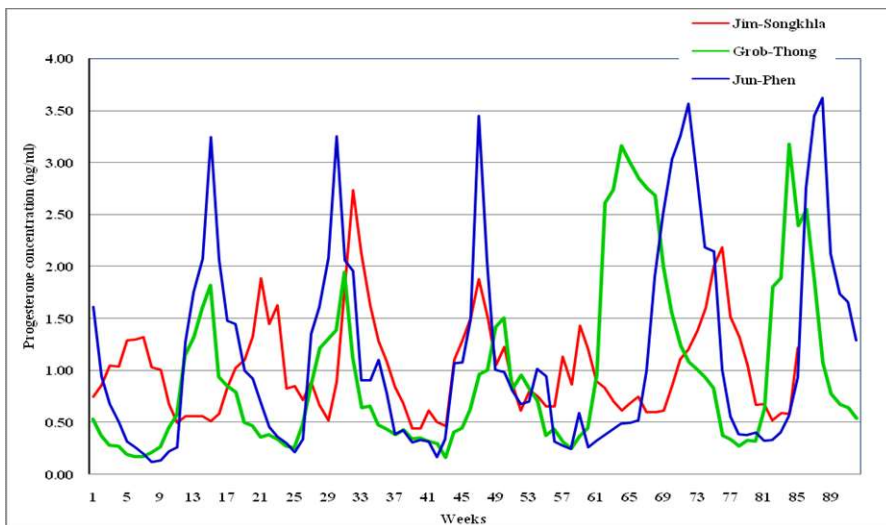
2.3.4 การตรวจการตั้งท้อง

ใช้การตรวจฮอร์โมนการตั้งท้องคือโปรเจสเตอโรนในกระแสเลือดติดต่อกันทุกสัปดาห์ สัปดาห์ละครั้งเป็นเวลาอย่างน้อย 18 สัปดาห์ หรือติดตามอย่างต่อเนื่องจะช่วยให้การประเมินหรือยืนยันสถานภาพการสืบพันธุ์นั้นๆ ได้

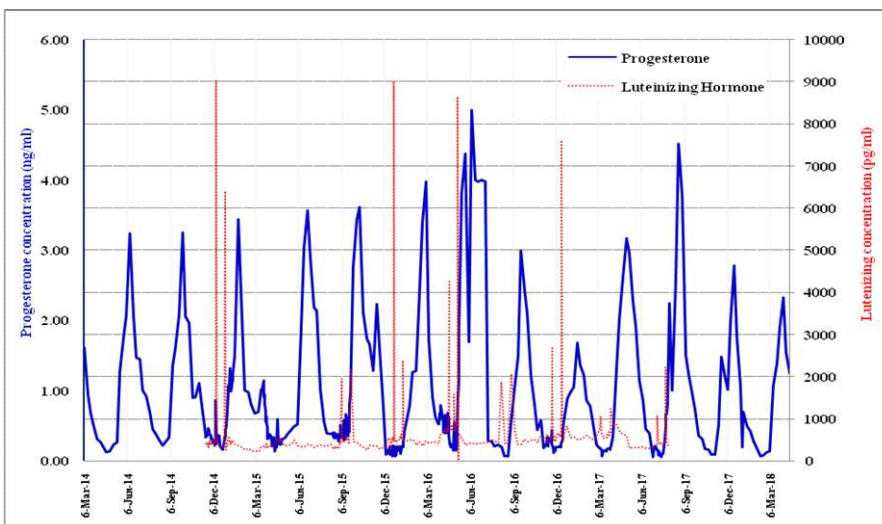
3. ผลการศึกษาและอภิปรายผล (Results and Discussion)

3.1 การศึกษาวงรอบการสืบพันธุ์และช่วงเวลาการตกไข่ของช้างเอเชีย

จากการตรวจวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (Progesterone; P4) เพื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณฮอร์โมนที่แสดงถึงวงรอบการสืบพันธุ์และการตรวจวัดลูทีไนซิงฮอร์โมน (Luteinizing hormone) ที่แสดงถึงช่วงเวลาการตกไข่ในซีรัมช้างเพศเมียที่มีช่วงอายุระหว่าง 20-45 ปี จำนวนทั้งสิ้น 6 เชือก โดยแบ่งเป็นช้างเพศเมีย 3 เชือก จากสวนสัตว์เปิดเขาเขียว อีก 3 เชือกจากสวนสัตว์ดุสิต สวนสัตว์สงขลาและสวนสัตว์เชียงใหม่ตามลำดับ ผลการวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนพบว่าช้างเพศเมียทั้ง 6 เชือกแสดงถึงการเกิดวงรอบการสืบพันธุ์ โดยมีแบบแผนการเกิดวงรอบการสืบพันธุ์คือ พบการเพิ่มระดับขึ้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนและค่อยๆ ลดลงก่อนเพิ่มระดับขึ้นอีกครั้งต่อเนื่องกันซ้ำๆ แบบเป็นช่วงคลื่น ถึงแม้แบบแผนการเปลี่ยนแปลงของปริมาณฮอร์โมนที่แสดงถึงวงรอบและความยาวนานของวงรอบการสืบพันธุ์โดยเฉลี่ยตลอดทั้งช่วงปีมีทั้งความคล้ายคลึงและแตกต่างกันไปในช้างแต่ละเชือกก็ตาม(ภาพที่ 3-4)

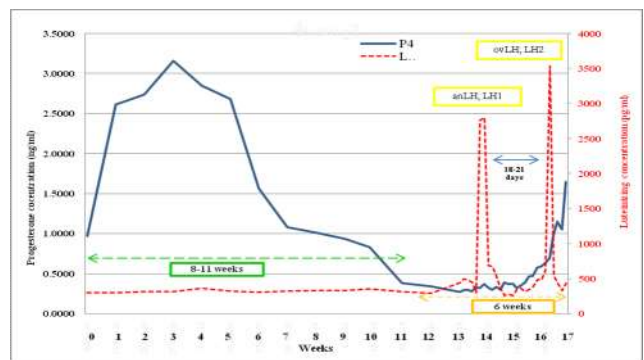
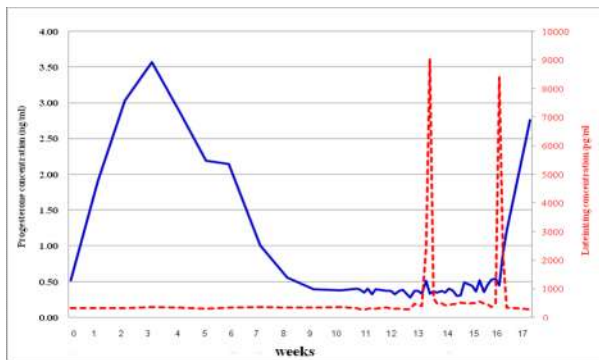


ภาพที่ 3. แสดงแบบแผนการเปลี่ยนแปลงปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน ที่แสดงวงรอบการสืบพันธุ์ของช้างเอเชียเพศเมีย จำนวน 3 เชือก ตลอดระยะเวลา 91 สัปดาห์



ภาพที่ 4. แสดงแบบแผนการเปลี่ยนแปลงปริมาณฮอร์โมนเพศทั้งโปรเจสเตอโรน (—) และลูทีไนซิงฮอร์โมน (- - -) ที่แสดงวงรอบการสืบพันธุ์ และช่วงเวลาการตกไข่ ของช้างเอเชียเพศเมีย จำนวน 1 เชือก “ฟ้างจันทร์เพ็ญ” (ตลอดระยะเวลา 4 ปี)

เมื่อพิจารณาคำนวณเป็นจำนวนวันหรือสัปดาห์จากการพบการเพิ่มขึ้นครั้งแรกของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนไปจนถึงการเพิ่มขึ้นของฮอร์โมนอีกช่วงหนึ่งที่อยู่ต่อเนื่องกัน ตั้งแต่ช่วงเดือนมีนาคม 2557 ถึง ปัจจุบัน (พฤษภาคม 2561) พบว่า ช้างเอเชียเพศเมียมีความยาวนานของวงรอบการสืบพันธุ์อยู่ในช่วง 14-17 สัปดาห์ (n=43 วงรอบ) แสดงดังภาพที่ 4-5 ซึ่งในหนึ่งวงรอบสามารถจำแนกออกเป็นระยะลูเตียลหรือระยะหลังการตกไข่ (luteal phase) ที่ระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนคงอยู่ในระดับสูง (0.6 - 3.4 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร) และระยะที่ไม่ใช่ลูเตียลเฟส (nonluteal phase) ที่ระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนลดลงมาอยู่ในระดับต่ำ (น้อยกว่า 0.5 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร) ซึ่งในขณะที่อยู่ในระยะที่ไม่ใช่ลูเตียลเฟสนั้นจะมีการเพิ่มความถี่ในการเจาะเลือดข้างเพื่อแยกเอาซีรัมมาทำการตรวจวิเคราะห์หาช่วงเวลาการตกไข่ โดยสามารถทำการตรวจพบลูทีไนซิงฮอร์โมน (LH) ที่จะมีการเพิ่มระดับขึ้นสูงเพียง 1-2 วัน และลดระดับสู่ค่าพื้นฐาน (0.2-0.5 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร) จำนวน 2 ช่วงคลื่น (surge) ของในแต่ละวงรอบ แต่ละช่วงคลื่นที่ขึ้นสูงแบ่งออกได้เป็นการเพิ่มระดับขึ้นครั้งที่หนึ่งซึ่งถูกเรียกว่าเป็น “anovulatory surge” (anLH; LH1) ตามรายงานของ Kapustin และคณะ (1996) คือพบการเพิ่มระดับขึ้นของลูทีไนซิงฮอร์โมนแต่ไม่ใช่วะระยะการตกไข่ จากนั้นจะลดระดับลงสู่ค่าต่ำที่เป็นพื้นฐานในช่วงระยะหนึ่งและเพิ่มระดับขึ้นอีกเป็นครั้งที่สอง ภายใน 3 สัปดาห์ต่อมา โดยเรียกว่าเป็น “Ovulatory surge” (ovLH; LH2) ที่พบการเพิ่มขึ้นของลูทีไนซิงฮอร์โมนที่ถูกกำหนดให้เป็นช่วงของการตกไข่ตามรายงานของ Kapustin และคณะ (1996) (ดังภาพที่ 4-6) ระดับของลูทีไนซิงฮอร์โมนมีค่าการตรวจวัดได้อยู่ระหว่าง 0.2 ถึง 9.0 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร (ภาพที่ 5-6) ทั้งนี้ระยะหลังการตกไข่หรือลูเตียลเฟส (luteal phase) จะนานประมาณ 8-11 สัปดาห์ ส่วนระยะที่ไม่ใช่ลูเตียลเฟส (nonluteal phase) จะนาน 4-6 สัปดาห์ (ภาพที่ 5-6)

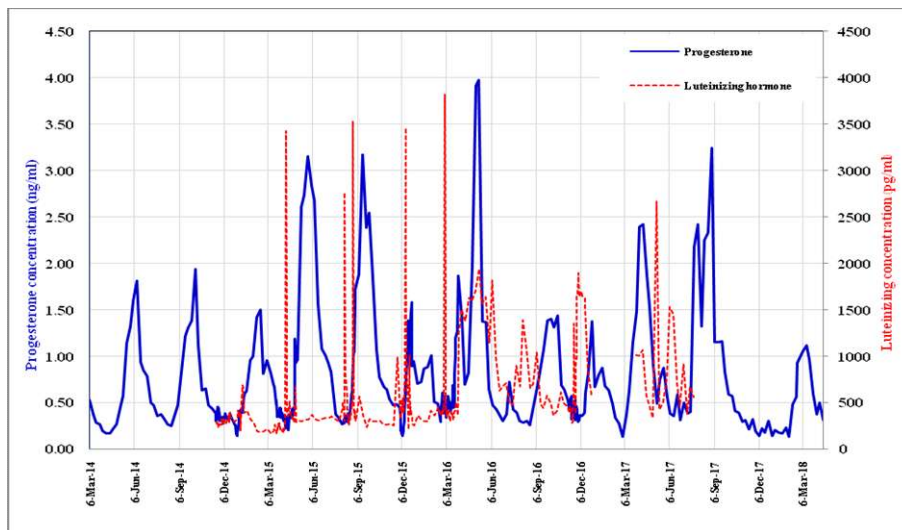


ภาพที่ 5-6. แสดงลักษณะของวงรอบการสืบพันธุ์จำนวน 1 วงรอบของช้างเอเชียเพศเมีย จากการตรวจวัดปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (----) และลูทีไนซิงฮอร์โมน (- - -) ที่มีความยาวนานของวงรอบประมาณ 16-17 สัปดาห์

ทั้งนี้ช่วงระยะความห่างของการเกิด “anLH” และ “ovLH” อาจมีความแตกต่างกันในช้างแต่ละเชือกหรือแต่ละวงรอบที่ทำการศึกษาโดยมีช่วงอยู่ระหว่าง 18-21 วัน สอดคล้องกับกับรายงานของ Kapustin และคณะ(1996) ที่ระบุ 19-22 วัน และ 18-23 วัน ตามรายงานของ Brown และคณะ (1999) นอกจากนี้ในรายงานของ Brown และคณะ (1999) ที่ทำการศึกษต่อเนื่องเป็นเวลา 3 ปี ในช้างเพศเมีย 9 เชือก ได้วงรอบที่สมบูรณ์ 10 วงรอบพบวงรอบการสืบพันธุ์ (Estrous cycle) ของช้างนานประมาณ 16 สัปดาห์ มีระยะที่เป็นลูเตียลเฟส (luteal phase) นานประมาณ 11 สัปดาห์ ค่าเฉลี่ยของการพบ “anLH” หลังจากพบการลดระดับลงของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนเข้าสู่ระยะที่เป็น “nonluteal” คือ 19.9 ± 1.2 วัน (ช่วงระหว่าง 16-23 วัน) และจะพบ ovLH หลังจากนั้น ภายใน 20.8 ± 0.9 วัน (ช่วงระหว่าง 18-23 วัน)

จากการศึกษาวงรอบการสืบพันธุ์ของช้างเอเชีย จำนวน 6 เชือกของสวนสัตว์เปิดเขาเขียว และสวนสัตว์อื่นๆ ในองค์การสวนสัตว์ พบช้างเพศเมียที่มีแนวโน้มของการหลั่งลูทีไนซิงฮอร์โมนแบบไม่มีช่วงคลื่นที่ชัดเจนในบางช่วงเวลา เช่น ในช้าง “ฟังก์กรอบทอง” มีวงรอบการสืบพันธุ์แบบปกติในช่วง 1.5 ปีแรกของการศึกษา จากนั้นพบการเปลี่ยนแปลงของการมีลูทีไนซิงฮอร์โมน (LH) ที่คงระดับสูงต่อเนื่องไม่สามารถจำแนกช่วงคลื่นที่ชัดเจนได้ (ภาพที่ 7) ซึ่งโดยตามปกติในช้างที่มีความเหมาะสมในการทำผสมเทียมการเปลี่ยนแปลงแบบเป็นวงรอบในแต่ละรอบนั้นจะมีการเพิ่มขึ้นและลงแบบฉับพลันของฮอร์โมนลูทีไนซิง จำนวน 2 ครั้ง หรือ 2 ช่วงคลื่น (surge) ต่อ 1 วงรอบ โดยช่วงที่พบการเพิ่มขึ้นในแต่ละครั้งจะสามารถตรวจพบลูทีไนซิงฮอร์โมนที่ระดับความเข้มข้นสูงได้เพียง 1-2 วัน แต่ในกรณีของช้างฟังก์กรอบทอง (อายุ 43 ปี) พบว่ามีการเพิ่มขึ้นของลูทีไนซิงและคงความเข้มข้นสูงต่อเนื่องติดต่อกันเป็นเวลานานหลายวัน หรือ เกิดการเพิ่มระดับขึ้น (LH peak) มากกว่า 2 ครั้งต่อ 1 วงรอบ ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากการมีอายุค่อนข้างมากหรือมีความผิดปกติบางประการในระบบสืบพันธุ์ โดยอาจสามารถพบได้ในช้างที่มีอายุมากประมาณ 40-50 ปี ที่มักจะมีคอร์ปัสลูเทียมหลายอันในรังไข่และอาจมีความเกี่ยวข้องกันกับการพบการเพิ่มขึ้นของลูทีไนซิงฮอร์โมนที่ไม่เป็นไปตามปกติดังกล่าว ทั้งนี้กว่า 70 เปอร์เซ็นต์ของการพบการเพิ่มระดับของลูทีไนซิงฮอร์โมนจะพบการคงระดับฮอร์โมนอยู่เหนือ

ค่าเฉลี่ยพื้นฐานเพียง 1 วัน เมื่อมีการพบการคงระดับสูงติดต่อกัน 2 วัน จะมีอันโดอันหนึ่งอยู่ต่ำกว่าระดับสูงสุด ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมชนิดอื่นๆ ระยะเวลาการปรากฏของของฮอร์โมนลูทีไนซิง (LH) จะน้อยกว่า 30 ชั่วโมง เช่นกระต่าย 4 ชั่วโมง (Brown et al., 1999 อ้างถึง Dufy, Franchimont and Faure., 1973) สัตว์ตระกูลแมว 8 ชั่วโมง (Brown et al., 1999 อ้างถึง Tsutsui and Stabenfeldt., 1993) วัว 12 ชั่วโมง (Brown et al., 1999 อ้างถึง Stabenfeldt., 1993) แต่ไม่มีชนิดที่สามารถพบการเพิ่มขึ้นของฮอร์โมนลูทีไนซิงได้หลายวัน เช่นม้าและสุนัข (Brown et al., 1999 อ้างถึงรายงานการศึกษาของ Cole , 1977 และ Concannon, 1993 ตามลำดับ) สำหรับช้างแอฟริกา สามารถพบการเพิ่มขึ้นของฮอร์โมนลูทีไนซิง (LH) ได้นาน 28 ชั่วโมง อย่างไรก็ตามในรายงานการศึกษานี้สามารถพบการเพิ่มขึ้นของฮอร์โมนลูทีไนซิงในช่วงเอเชียเพศเมียขององค์การสวนสัตว์ ได้นาน 1-2 วัน โดยจากรายงานของ Brown และคณะ (2004) ได้ให้ข้อมูลถึงตามปกติแล้วการเกิด “ovLH” กว่า 19.2 เปอร์เซ็นต์ จะพบในช่วงเวลา 1-4 วัน ก่อนพบการเพิ่มขึ้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน เทียบกับกว่า 80.8 เปอร์เซ็นต์ จะเกิดขึ้นหลังจากมีการเพิ่มขึ้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนแล้ว สำหรับการศึกษาของสวนสัตว์เปิดเขาเขียวพบแนวโน้มที่สอดคล้องกันกับรายงานก่อนหน้านี้ของ Brown และคณะ (2004) นอกจากนี้เป็นที่ชัดเจนว่าการพบ “LH ที่สอง” คือช่วงที่มีการตกไข่ เช่นเดียวกับกับรายงานของ Kapustin และคณะ(1996) ที่ระบุว่าทั้งในช้างเอเชียและช้างแอฟริกันทั้งสองสายพันธุ์นี้มีการเพิ่มระดับของลูทีไนซิงฮอร์โมนทั้ง 2 ครั้งหรือ 2 ลูกคลื่น มีปริมาณและคุณภาพที่แยกความแตกต่างกันไม่ออกแต่มีเพียงผลของคลื่นที่ 2 เท่านั้นที่มีผลในการเพิ่มระดับความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในตัวอย่างซีรัมเลือดที่แสดงถึงการตกไข่



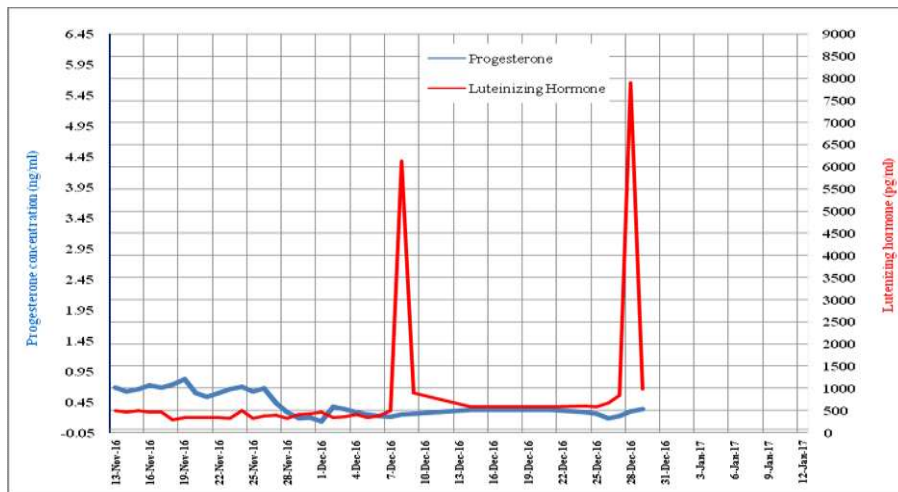
ภาพที่ 7. แสดงแบบแผนการเปลี่ยนแปลงปริมาณฮอร์โมนเพศทั้งโปรเจสเตอโรน (—) และลูทีไนซิงฮอร์โมน (---) ที่แสดงวงรอบการสืบพันธุ์ และช่วงเวลการตกไข่ ของช้างเอเชียเพศเมีย จำนวน 1 เชือก “ฟังกอบทอง” (ตลอดระยะเวลา 4 ปี)

สำหรับพฤติกรรมของการเกิด “anLH” นั้นยังคงไม่เป็นที่เข้าใจมากนัก จากรายงานเกือบทั้งหมดที่มีบ่งชี้ว่าการผสมพันธุ์ด้วยวิธีการตามธรรมชาติที่เกิดในกรงเลี้ยงเริ่มต้นขึ้นในช่วงระยะท้ายๆ ของระยะที่ฟอลลิคูลาร์ (follicular phase) หรือ ช่วงเริ่มต้นของระยะลูทีเอล (Olsen et al., 1994; Brown & Lehnhardt., 1997; Carden et al., 1998) อย่างไรก็ตามสิ่งนี้อาจเป็นสัญญาณให้เกิดการแสดงพฤติกรรมที่เรียกว่า “ระยะเป็นสัดเทียม” หรือ “false estrus” ที่รวมถึงการทำให้เกิดความสนใจจากเพศผู้เป็นเวลานาน 3 สัปดาห์ ก่อนที่จะถึง “ระยะเป็นสัดจริง หรือ true estrus” ทั้งในกลุ่มที่อยู่ในกรงเลี้ยงและในธรรมชาติ (Brown et al., 2004) ซึ่งสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการจัดให้เพศผู้และเพศเมียอยู่ด้วยกันในช่วงนี้ได้ด้วยเพื่อให้มีการผสมพันธุ์ตามธรรมชาติ

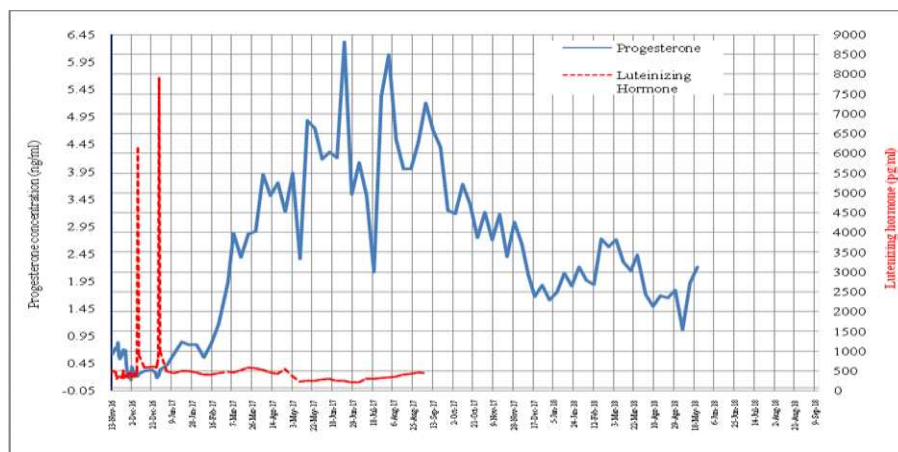
อย่างไรก็ตามการเพิ่มระดับของลูทีไนซิงฮอร์โมน (LH) ทั้งสองเหตุการณ์นี้ยังไม่มีการอธิบายถึงการที่ทำไมจึงเกิดขึ้นได้ โดย Brown และคณะ (1999) ได้ศึกษาการหลั่งของลูทีไนซิงฮอร์โมนร่วมกับการศึกษาฮอร์โมนเอฟเอสเอช (FSH) เอสตราไดโอด (Estradiol) และโพรแลคติน (Prolactin) ควบคู่ไปพร้อมกับการศึกษาวงรอบการสืบพันธุ์ของช้าง ซึ่งแม้ผลการศึกษาจะไม่สามารถอธิบายกลไกดังกล่าวได้อย่างชัดเจน แต่จากการศึกษาดังกล่าวได้ถูกนำมาใช้เป็นเครื่องมือที่ทรงคุณค่าสำหรับการกำหนดช่วงระยะเวลาการเพาะขยายพันธุ์ด้วยวิธีการผสมเทียมโดยอาศัยการตรวจพบระดับที่เพิ่มขึ้นของลูทีไนซิงฮอร์โมนที่เป็นคลื่นแรก และสามารถทำการผสมได้หลังจากนั้นราว 3 สัปดาห์ (Brown et al., 2004)

3.2 การศึกษาทดลองการผสมเทียมในช้างเอเชีย

ทำการทดลองผสมเทียมในช้างเพศเมีย จำนวนทั้งสิ้น 4 เชือก ได้แก่ช้าง “จันท์เพ็ญ” “กรอบทอง” “จิมสงขลา” และ “จิมเขาเขียว” รวมจำนวนทั้งสิ้น 7 ครั้ง ตั้งแต่ เดือนเมษายน 2558 ถึง ธันวาคม 2559 โดยในส่วนของช้าง “จิมเขาเขียว” พบการเปลี่ยนแปลงของระดับฮอร์โมนแบบเป็นวงรอบ สามารถกำหนดช่วงวันที่จะทำการผสมเทียมได้ในช่วงวันที่ 26-29 ธันวาคม 2559 จากการตรวจพบการเพิ่มขึ้นของลูทีไนซิงฮอร์โมน ที่เป็น “anLH” ในวันที่ 7 ธันวาคม 2559 ใช้น้ำเชื้อของช้าง “มงคล” ในช่วงวันแรกของการผสมเทียม (วันที่ 26 ธันวาคม 2559) และของช้างพลาย “บิลลี่” ในช่วงวันที่ 2-3 ของการผสมเทียม (วันที่ 27-28 ธันวาคม 2559) คุณภาพน้ำเชื้อโดยรวมมีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวเสปิร์มมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ รวมทำการผสมเทียมได้ระหว่างวันที่ 26-28 ธันวาคม 2559 ยืนยันการตกไข่ด้วยการตรวจพบการเพิ่มขึ้นของลูทีไนซิงฮอร์โมน ที่เป็น “ovLH” ในวันที่ 28 ธันวาคม 2559 รวมความห่างของการเกิด “anLH” และ “ovLH” เท่ากับ 21 วัน สอดคล้องกับกับรายงานของ Kapustin และคณะ (1996) ที่ระบุ 19-22 วัน และ 18-23 วัน ตามรายงานของ Brown และคณะ (1999) จึงยกเลิกการผสมเทียม ในวันที่ 29 ธันวาคม 2559 (ภาพที่ 8.)



ภาพที่ 8. แสดงการตรวจวัดปริมาณฮอร์โมนโปรเจสโตโรน (----) และลูทีไนซิงฮอร์โมน (---) เพื่อหาวงรอบการสืบพันธุ์และการกำหนดช่วงเวลาการผสมเทียมให้ตรงกับกับช่วงที่มีการตกไข่



ภาพที่ 9. แสดงแบบแผนการเปลี่ยนแปลงของโปรเจสโตโรนในช้างเพศเมียที่ทำการผสมเทียมและมีการตั้งท้องของสวนสัตว์เปิดเขาเขียว (ข้อมูล ณ เดือนพฤษภาคม 2561)

จากการตรวจวัดปริมาณฮอร์โมนโปรเจสโตโรนภายหลังการผสมเทียมพบการค่อยๆ เพิ่มระดับขึ้นและคงระดับอยู่ระหว่าง 0.5 – 0.84 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ตลอดช่วงระยะเวลา 6 สัปดาห์ จากนั้นลดระดับลงที่ 0.56 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตรในสัปดาห์ที่ 7 ก่อนที่จะเพิ่มระดับสูงขึ้นอีกครั้งในสัปดาห์ที่ 8 และเพิ่มระดับขึ้นสูงเหนือระดับค่าเฉลี่ยของระยะลูเตียลภายใน 10 สัปดาห์ และคงอยู่ในระดับสูงต่อเนื่องไปจนถึงตลอดช่วงเดือนมีนาคม 2560 (สัปดาห์ที่ 14) ซึ่งมีระดับความเข้มข้นสูงถึง 2.8 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตรที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงแบบเป็นวงรอบ โดยระดับฮอร์โมนสูงได้ถึง 6.31 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร (ng/ml) ในช่วง

สัปดาห์ที่ 26 ของการตั้งท้อง (ภาพที่ 9.) จากการเปลี่ยนแปลงของระดับฮอร์โมนดังกล่าวสามารถแสดงแบบแผนเบื้องต้นได้ เช่นเดียวกับกับ รายงานการศึกษาของ Brown และคณะ (2004) ที่ประสบความสำเร็จในผสมเทียมช้างเอเชีย ณ สถาบัน SCBI สหรัฐอเมริกา อย่างไรก็ตามในการศึกษานี้พบเหตุการณ์การมีน้ำไหลที่ขมับ (temporal gland drainage) คล้ายการตกมัน และเกิดขึ้นเป็นครั้งคราวในช่วงสั้นๆ ตั้งแต่ 2-11 วันตลอดระยะเวลาของการตั้งท้อง ซึ่งในช่วงเวลาดังกล่าวสามารถตรวจพบการลดระดับลงของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่รักษาระดับการตั้งท้อง ขณะที่ผลจากการตรวจวัดระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลหรือฮอร์โมนความเครียด พบว่ามีระดับความเข้มข้นสูง 3.2 – 11.7 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัม ในช่วงที่มีพฤติกรรมดังกล่าว (เทียบกับระดับปกติพื้นฐานที่ตรวจวัดได้อยู่ในช่วง 0.2-2 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัมซีรัม) ทั้งนี้จากการหาความสัมพันธ์ทางสถิติ (Correlation) เบื้องต้น ในช่วงที่มีการตั้งท้องและพบพฤติกรรมการมีน้ำไหลจากขมับด้วยวิธีการแบบ Pearson Two-tailed พบว่ามีความสัมพันธ์เชิงลบระหว่างระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนและคอร์ติซอล (ค่า $r = -0.505$, $P\text{-value} = 0.032$) จากการศึกษาวิจัยที่เกี่ยวข้องถึงการพบพฤติกรรมที่มีของเหลวไหลออกตามขมับที่เป็นต่อม “temporal gland” พบว่าอาจเกิดขึ้นในช่วงเวลาราวๆ บวกลบ 2 วัน ในช่วงที่มีการพบการเพิ่มขึ้นของฮอร์โมนลูทีไนซิง (LH) ซึ่งกลไกการเกิดของเหลวออกมาตามต่อมเหล่านี้มีความเกี่ยวข้องกับภาวะความเครียดและอาการตื่นเต้น ตามที่พบได้ในช้างเพศผู้ที่ตกมัน แต่มักไม่ค่อยพบในช้างเพศเมียโดยเฉพาะในช้างเอเชียจึงมักไม่ค่อยได้รับความสนใจมากนัก (Brown *et al.*, 1999) อย่างไรก็ตามมีความจำเป็นอย่างยิ่งในการติดตามถึงผลกระทบดังกล่าวเนื่องจากข้อมูลที่ทำกรวิเคราะห์ยังมีไม่เพียงพอ นอกจากนี้ฮอร์โมนคอร์ติซอลที่อยู่ในกลุ่มกลูโคคอร์ติคอยด์ (Glucocorticoids) อาจสามารถส่งผลกระทบต่อการสืบพันธุ์ได้ตามรายงานการศึกษาของ Kimura และคณะ (2005) และ Metrione & Harder (2011) รวมถึงปัจจัยทางสภาพแวดล้อมและภาวะความเครียดสามารถส่งผลกระทบต่อการสืบพันธุ์ของสัตว์มีกระดูกสันหลังได้ (Wingfield and Saposky, 2003)

4. สรุปผล (Conclusion)

จากการศึกษาวงรอบการสืบพันธุ์ของช้างเอเชียเพศเมียของสวนสัตว์เปิดเขาเขียว และสวนสัตว์อื่นๆ สังกัดองค์การสวนสัตว์ จำนวน 6 เชือก ช่วงอายุระหว่าง 20-45 ปี ด้วยการตรวจวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (P4) และลูทีไนซิงฮอร์โมน (LH) ในตัวอย่างซีรัม ระหว่างเดือนมีนาคม 2557 ถึง พฤษภาคม 2561 พบว่า ช้างเอเชียเพศเมียทุกเชือกมีวงรอบการสืบพันธุ์ที่แสดงถึงมีการทำงานของรังไข่ มีความยาวนานของวงรอบการสืบพันธุ์นาน 14-17 สัปดาห์ ($n=43$ วงรอบ) ค่าปริมาณของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่ตรวจวัดได้อยู่ในช่วง 0.05 ถึง 3.4 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัม (ng/ml) ค่าปริมาณของลูทีไนซิงฮอร์โมนในช่วง 0.2 ถึง 9.0 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัม สามารถกำหนดช่วงของการตกไข่ได้ด้วยการหาช่วงคลื่นการเปลี่ยนแปลงของลูทีไนซิงฮอร์โมนที่เพิ่มระดับสูงขึ้นเป็นเวลา 1-2 วัน ทั้งที่เป็น “anLH” และ “ovLH” ซึ่งเกิดขึ้นห่างกัน 18-21 วัน ข้อมูลที่ได้จากการตรวจติดตามค่าปริมาณฮอร์โมนที่แสดงถึงวงรอบการสืบพันธุ์และช่วงของการตกไข่ สามารถนำไปประยุกต์ใช้กับเทคโนโลยีช่วยทางการสืบพันธุ์ด้วยการผสมเทียมในช้างเพศเมีย จำนวน 4 เชือก ทำการผสมเทียมระหว่างช่วงเดือนเมษายน 2558 ถึง ธันวาคม 2559 รวมจำนวน ทั้งสิ้น 7 ครั้ง พบการตั้งท้องในช้างเอเชียเพศเมียจำนวน 1 เชือก โดย ณ วันที่ 31 พฤษภาคม 2561 มีอายุครรภ์ประมาณ 74 สัปดาห์ ผลการตั้งท้องยังคงต้องติดตามอย่างต่อเนื่องต่อไป

5. กิตติกรรมประกาศ (Acknowledgements)

ขอขอบคุณ Dr. Janine L. Brown จากสถาบันสมิธโซเนียน (SCBI) สหรัฐอเมริกา และอาจารย์ฉัตรโชติ ทิตาราม มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ให้คำแนะนำปรึกษาตลอดการศึกษา ขอขอบคุณสถาบันคชบาลแห่งชาติ (ศูนย์อนุรักษ์ช้างไทย) จ. ลำปาง และพนักงานเจ้าหน้าที่ทุกท่านที่สนับสนุนการดำเนินงานผสมเทียมและเอื้อเฟื้ออุปกรณ์กล้องเอนโดสโคปที่ใช้ในการผสมเทียม ขอขอบคุณโครงการคชอาณาจักร จ. สุรินทร์ ที่สนับสนุนการริเริ่มโครงการ และขอขอบคุณมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน ในการช่วยดำเนินการผสมเทียม

6. เอกสารอ้างอิง (References)

นิกร ทองทิพย์, ศรีณย์ จันทรสิทธิ์เวช, ทวีโชค อังควาณิช, สิทธิเดช มหาสวังกุล, ปิยวรรณ สุธรรมาภินันท์, วุฒิมงคล อีระพันธ์, มังกร คำยัง, พรชัย สัจจิติเสรี, อนุชัย ภิญญภูมิมินทร์. 2544. การศึกษาเบื้องต้นถึงลักษณะน้ำเชื้อของช้างเลี้ยงในประเทศไทย, น. 312-315. ใน รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 39 สาขาสัตวแพทยศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สิทธิเดช, 2542 . เอกสารเผยแพร่ “สถานการณ์ของช้างในประเทศไทย” ศูนย์อนุรักษ์ช้างไทย องค์การอุตสาหกรรมป่าไม้
ลำปาง

- Brown J.L., Schmitt D.L., Bellem A., Graham L.H. and Lehnhardt J. 1999. Hormone Secretion in the Asian Elephant (*Elephas maximus*): Characterization of Ovulatory and Anovulatory Luteinizing Hormone Surges. *Biology of Reproduction* 61, 1294–1299.
- Brown, J. L, Goritz, F., Pratt-Hawkes, N., Hermes, R., Galloway, M., Graham, L. H, Gray, C., Walker, S. L, Gomez, A., Moreland, S., Murray, S., Schmitt, D. L, Howard, J., Lehnhardt, J., Beck, B., Bellem, A., Montali, R. and Hildebrandt, T. B. 2004. Successful artificial insemination of an Asian elephant at the National Zoological Park. *Zoo Biology*. 23 [1]. 45-63.
- Carden M, Schmitt D, Tomasi T, Bradford J, Moll D, Brown J. 1998. Utility of serum progesterone and prolactin analysis for assessing reproductive status in the Asian elephant (*Elephas maximus*). *Anim Reprod Sci*; 53:133–142.
- Cole HH, Cupps PT. *Reproduction In Domestic Animals*, Volume 3. New York: Academic Press; 1977.
- Concannon PW. Biology of gonadotrophin secretion in adult and prepubertal female dogs. *J Reprod Fertil Suppl* 1993; 47:3–27.
- Duffy - Barbe L, Franchimont P, Faure JMA. 1973. Time-courses of LH and FSH release after mating in the female rabbit. *Endocrinology*; 92:1318–1321.
- Hermes, R, Goritz, F, Streich, WJ and Hildebrandt, T.B. 2007. Assisted Reproduction in Female Rhinoceros and Elephants – Current Status and Future Perspective. *Reproduction in Domestic Animals*, 42, 33-44.
- Hutchins, M and Keele, M. 2006. Elephant Importation From Range Countries: Ethical and Practical Considerations for Accredited Zoos. *Zoo Biology*, 25, 219-223.
- Kapustin N, Critser JK, Olson D, Malven PV. 1996. Nonluteal estrous cycles of 3-week duration are initiated by anovulatory luteinizing hormone peaks in African elephants. *Biol Reprod*; 55:1147–1154.
- Kimberley N. 2009. *Captive Elephant Infertility: Consequences for Conservation*. The University Nottingham ; School of Biosciences.
- Kimura, K., Spate, L. D., Green, M. P. and Roberts, R. M. 2005. Effects of D-glucose concentration, D-fructose, and inhibitors of enzymes of the pentose phosphate pathway on the development and sex ratio of bovine blastocysts. *Molecular Reproduction and Development*, 72(2), 201-207.
- Metrione, L. C. and Harder, J. D. 2011. Fecal corticosterone concentrations and reproductive success in captive female southern white rhinoceros. *General and Comparative Endocrinology*, 171(3), 283-292.
- Olsen JH, Chen CL, Boules MM, Morris LS, Coville BR. 1994. Determination of reproductive cyclicity and pregnancy in Asian elephants (*Elephas maximus*) by rapid radioimmunoassay of serum progesterone. *J Zoo Wildl Med*; 25:349–354.
- Thitaram, C., J. L. Brown, et al. 2008. Seasonal effects on the endocrine pattern of semi-captive female Asian elephants (*Elephas maximus*): timing of the anovulatory luteinizing hormone surge determines the length of the estrous cycle. *Theriogenology*. 69 (2): 237-44.
- Thongtip N, Saikhun J, Damyang M, Mahasawangkul S, Suthunmapinata P, Yindee M, Kongsila A, Angkawanish T, Jansittiwate S, Wongkalasin W, Wajjwalkul W, Kitiyanant Y, Pavasuthipaisit K, Pinyopummin A. 2004. Evaluation of post-thaw Asian elephant (*Elephas maximus*) spermatozoa using flow cytometry: the effects of extender and cryoprotectant. *Theriogenology*. 62 (3-4): 748-60.
- Unknow. 2015. The IUCN Red List of Threatned Species.; www.lucnredlist.org. Available on: 5 September 2015.
- Wingfield, J.C. and Sapolsky, R.W. 2003. Reproduction and Resistant to stress: When and how. *Journal of Neuroendocrinology* vol 15, 711-724.
- Wiese, R.J. 2000. Asian Elephants Are Not SelfSustaining In North America. *Zoo Biology*, 19, 299-309

