

การประเมินสภาวะการทำงานของต่อมฮอร์โมนเพศในกลุ่มแรดขาวเพศเมียของสวนสัตว์เปิดเขาเขียว โดยวิธีการศึกษาแบบไม่จับบังคับหรือรบกวนตัวสัตว์ ด้วยการตรวจวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมน

Assessment of Gonadal Activity in the White Rhinoceros in Khao Kheow Open Zoo
by Noninvasive Endocrine Monitoring .

ชัยณรงค์ ปั่นคง¹, สุทธิลักษณ์ มีวีระสม¹, นิตยา เพชรสุกร¹ และ บัญชา วราวุฒิ²
(พ.ศ.2553)

¹งานวิจัย ฝ่ายอนุรักษ์และวิจัย, งานบำรุงเลี้ยง ฝ่ายบำรุงสัตว์

สวนสัตว์เปิดเขาเขียว 235 หมู่ 7 ต.บางพระ อ.ศรีราชา จ.ชลบุรี 20110, โทรศัพท์/โทรสาร (038) 318444 ต่อ 600

บทคัดย่อ

จากการประเมินสภาวะการทำงานของต่อมฮอร์โมนเพศในกลุ่มแรดขาวของสวนสัตว์เปิดเขาเขียว โดยวิธีการศึกษาแบบไม่จับบังคับหรือรบกวนตัวสัตว์ ด้วยการตรวจวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนแบบ Enzyme-linked immunosorbent Assay (ELISA) ระหว่างช่วงเดือน มกราคม-ตุลาคม ปี 2552 และ เดือนกุมภาพันธ์ – เมษายน ปี 2553 พบว่าแรดขาวเพศเมียทั้ง 2 ตัว (ชื่อขนุน และสมศรี) มีค่าเฉลี่ย (Mean \pm SD) ของระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (Progesterone metabolites) ตลอดช่วงปี 2552 เท่ากับ $0.17 \pm 0.10 \mu\text{g/g}$ of dry feces ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกันไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$, $n = 201$ (ANOVA $F=1.216$, $P = 0.272$) อีกทั้งมีแนวโน้มที่เป็นไปในทิศทางเดียวกันคือมีปริมาณความเข้มข้นของฮอร์โมนต่ำ โดยค่าที่ตรวจวัดได้อยู่ในช่วง 0.03 ถึง $0.62 \mu\text{g/g}$ of dry feces อันแสดงถึงแนวโน้มที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงเป็นวงรอบ (non cyclic) หรือเป็นช่วงที่ไม่มีมีการเปลี่ยนแปลงของรังไข่ (ovarian inactivity) อีกทั้งไม่แสดงถึงภาวะที่เป็น luteal phase ในช่วงระยะเวลาดังกล่าว

และจากการศึกษาในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ถึงเมษายน 2553 พบว่าแรดขาวเพศเมียทั้งสองตัวมีความเข้มข้นของปริมาณฮอร์โมนสูงขึ้น (สูงกว่าในรอบปี 2552) โดยแรดขาวที่ชื่อ “ขนุน” มีปริมาณฮอร์โมนมากกว่าที่พบในแรดขาวที่ชื่อ “สมศรี” เล็กน้อย [แตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$, $n = 16$ (ANOVA $F=0.002$, $P = 0.962$)] โดยมีค่าที่ตรวจวัดได้อยู่ในช่วง 0.56 ถึง $6.00 \mu\text{g/g}$ (mean \pm SD = $2.51 \pm 1.53 \mu\text{g/g}$ of dry feces) โดยช่วงการเปลี่ยนแปลงระดับความเข้มข้นของโปรเจสเตอโรนในแรดขาวเพศเมียทั้งสองตัวตลอดช่วงสามเดือนนี้มีลักษณะคล้ายคลึงกันมาก ทั้งนี้ยังพบว่าระดับฮอร์โมนที่เพิ่มขึ้นแสดงถึงภาวะที่เป็น luteal phase โดยจะอยู่ในช่วง $1-6 \mu\text{g/g}$ of dry feces ซึ่งมีแนวโน้มว่าการเปลี่ยนแปลงที่เป็นวงรอบนี้จะไปในลักษณะที่ถือว่าเป็น long cycles สอดคล้องกันกับการพบพฤติกรรมกรจับคู่ผสมพันธุ์กับเพศผู้ในเพศเมียทั้งสองตัวอย่างต่อเนื่องในช่วงระยะเวลาดังกล่าว (ก.พ. - เม.ย. 53) ร่วมด้วย นอกจากนี้ยังพบปรากฏการณ์ถึงกรณีที่แรดขาวเพศเมียทั้งสองตัวของสวนสัตว์ฯ ที่อยู่ร่วมกันภายใต้สภาพแวดล้อมเดียวกันมีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของฮอร์โมนที่เป็นไปในรูปแบบเดียวกัน (cycle synchronously) ซึ่งในเบื้องต้นยังไม่สามารถสรุปได้ว่าแรดขาวเพศเมียทั้งสองตัวเกิดการตั้งท้องหรือไม่ เพียงแต่พบการเพิ่มขึ้นของปริมาณฮอร์โมนที่แสดงถึงภาวะที่เป็น luteal phase เป็นครั้งแรกในรอบเกือบ 2 ปีเท่านั้น.

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

สืบเนื่องจากองค์การสวนสัตว์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ ได้ดำเนินการความพยายามที่จะเพาะขยายพันธุ์สัตว์ป่าหายากหลากหลายชนิด เพื่อเป็นการอนุรักษ์สัตว์ป่าในกรงเลี้ยง โดยมีความมุ่งหมายที่จะคงความหลากหลายทางชีวภาพ สัตว์ตระกูลแรดเป็นสัตว์อีกกลุ่มหนึ่งที่จัดว่ามีความสำคัญต่อองค์กร เนื่องด้วยเป็นสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมที่อาศัยอยู่บนบก ที่มีขนาดใหญ่สุดรองลงมาจากริง ปัจจุบันมีแรดเหลืออยู่ในโลกเพียง 5 ชนิด ทุกชนิดจัดอยู่ในวงศ์ไรโนเซอโรทิด (Family Rhinocerotidae) ที่รวบรวมสัตว์จำพวกแรดเข้าไว้ด้วยกัน ซึ่งเป็น 1 ใน 3 วงศ์ของกลุ่มสัตว์กีบคี่ (Odd-toed ungulates) ที่มีในโลก โดยแรดขาวที่มีอยู่ในความดูแลของสวนสัตว์เปิดเขาเขียว นั้น จัดเป็นแรดที่ใหญ่ที่สุดของสัตว์กลุ่มนี้ แรดขาวและแรดชนิดอื่นๆ เป็นสัตว์ที่มีจำนวนเหลืออยู่ในธรรมชาติไม่มากนักอีกทั้งอยู่ในสถานะใกล้สูญพันธุ์ เนื่องจากถูกล่าอย่างหนัก แรดในธรรมชาติจึงอยู่ในภาวะอันตรายถึงแม้ในปัจจุบันผลจากการดำเนินการต่างๆ เพื่อป้องกันการลักลอบล่าสัตว์จะส่งผลให้จำนวนประชากรแรดของภูมิภาคต่างๆ อยู่ในระดับที่คงที่ แต่การดำเนินการอนุรักษ์นอกถิ่นอาศัย (ex situ) เพื่อป้องกันการสูญพันธุ์ก็ยังคงมีความสำคัญและต้องดำเนินการต่อไป อีกทั้งยังเป็นประโยชน์ต่อการให้การศึกษาแก่สาธารณชนปลูกฝังถึงความสำคัญของชนิดพันธุ์และการป้องกันถิ่นอาศัย การอนุรักษ์เพื่อให้เกิดความยั่งยืนของประชากรสัตว์ได้ด้วยตนเองนั้นมีความจำเป็นต้องเพิ่มระดับของอัตราการขยายพันธุ์พร้อมกันนี้ต้องลดอัตราการตายลง แต่การเพาะเลี้ยงเพื่อให้ขยายพันธุ์ได้ในกรงเลี้ยงนั้นเป็นเรื่องที่ทำให้ประสบความสำเร็จได้ยากเนื่องจากขาดข้อมูลที่สำคัญหลายประการ ทั้งนี้เพื่อตอบสนองต่อพันธกิจดังกล่าวทางสวนสัตว์ฯ จึงได้ริเริ่มดำเนินการศึกษาปัญหาที่เกี่ยวข้องกับขยายพันธุ์ประกอบกับการศึกษาวิจัยก่อนหน้านี้โดยอุฟาริกา และคณะ (2552) ที่ได้ทำการพิสูจน์สมมุติฐานถึงความเป็นไปได้ในการตั้งท้องด้วยการตรวจวัดปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (Progesterone) ในอุจจาระของแรดขาวเพศเมียที่อยู่ในสภาพของการเพาะเลี้ยงของสวนสัตว์เปิดเขาเขียว จำนวน 2 ตัว (ชื่อสมศรี และขุน) ด้วยวิธีการตรวจวิเคราะห์แบบ ELISA ระหว่างช่วงเดือน ธันวาคม 2551 ถึงเดือนมีนาคม 2552 ซึ่งพบว่าปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน ที่ตรวจวัดได้อยู่ในช่วง 0.04 ถึง 1.05 µg/g of dry feces ซึ่งแสดงถึงแนวโน้มที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงเป็นวงรอบ (non cyclic) และมีปริมาณความเข้มข้นต่ำ อีกทั้งแสดงถึงภาวะที่ไม่ได้มีการตั้งท้องหรือเป็นสัด ในช่วงระยะเวลาดังกล่าว.

ปัจจุบันสวนสัตว์เปิดเขาเขียวมีการเพาะเลี้ยงแรดขาวเพศเมียและเพศผู้รวมทั้งสิ้น 4 ตัว ทั้งนี้ในช่วงปี 2552 สวนสัตว์เปิดเขาเขียวได้รับแรดขาวเพศผู้เข้ามาทดแทนเพศผู้ที่ตายลง การมีเพศผู้เข้ามารวมกลุ่มกับเพศเมียเดิมนั้นทำให้เกิดสมมุติฐานถึงความเป็นไปได้ในความสามารถที่จะเหนี่ยวนำให้แรดขาวเพศเมียมีระดับของฮอร์โมนต่างๆ สูงขึ้นจากเดิมและอาจทำให้เกิดภาวะของการเป็นสัดได้ในแรดขาวเพศเมีย นอกจากนี้ยังพบว่ามีพฤติกรรมการผสมพันธุ์กันในกลุ่มของแรดขาวที่อยู่ในสภาพของการเพาะเลี้ยงในช่วงต้นปี 2553 จึงมีสมมุติฐานเพิ่มเติมถึงการตั้งท้องของแรดขาวเพศเมียทั้งสองตัว งานวิจัย ฝ่ายอนุรักษ์และวิจัยซึ่งให้ความสำคัญของกรณีดังกล่าวจึงได้ดำเนินการเก็บตัวอย่างมูลของแรดขาวเพื่อนำมาตรวจวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนอีกครั้ง อันเป็นการทดสอบถึงสมมุติฐานทั้งหลายดังกล่าว เพื่อประโยชน์ในการปรับปรุงพัฒนาการจัดการกรงเลี้ยงให้มีประสิทธิภาพมากขึ้นต่อไป.

จุดมุ่งหมายในการศึกษา

1. เพื่อประเมินสภาพทางสรีรวิทยาของระบบสืบพันธุ์และเปรียบเทียบการเจริญพันธุ์ของประชากรแรดขาวเพศเมียในสวนสัตว์เปิดเขาเขียว
2. เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน โดยวิธีการสกัดจากอุจจาระ
3. เพื่อให้ทราบข้อมูลที่เป็นประโยชน์ต่อการเพาะขยายพันธุ์แรดในสวนสัตว์เปิดเขาเขียว

ความสำคัญประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

การศึกษาครั้งนี้เป็นข้อมูลพื้นฐานที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้ประโยชน์ได้หลากหลาย อาทิเพื่อพิสูจน์ทราบความสัมพันธ์ระหว่างฮอร์โมนกับพฤติกรรมของ ก้นกับการนำมาใช้แก้ไขตอบปัญหาเกี่ยวกับระบบสืบพันธุ์ (Reproduction), สวัสดิภาพสัตว์ (animals welfare), การอนุรักษ์ทรัพยากรทางชีวภาพ (Conservation) และการรักษาด้วยวิถีทางชีววิทยาที่จะนำมาใช้ตรวจวัดในเชิงปริมาณถึงความสำเร็จในการปรับปรุงการจัดการกรงเลี้ยง เพื่อให้สัตว์มีพฤติกรรมการขยายพันธุ์ตามธรรมชาติได้

นอกจากนี้ยังเป็นการพัฒนาศักยภาพนักวิจัยให้มีความชำนาญในการใช้เทคนิคต่างๆ ในการสกัดและวิเคราะห์ฮอร์โมนบางชนิดจากมูลสัตว์ อีกทั้งยังสามารถใช้หลักการเดียวกันนี้กับสัตว์ป่าต่างๆ ที่สำคัญและใกล้สูญพันธุ์ในอนาคตต่อไป.

กรอบแนวคิด ทฤษฎีที่ใช้ในการวิจัย

การศึกษาแบบไม่ทำการจับบังคับหรือรบกวนตัวสัตว์ (Noninvasive methods) โดยการตรวจวัดปริมาณของสเตียรอยด์ฮอร์โมนในตัวอย่างมูลสัตว์นั้นเป็นวิธีการหนึ่งที่มีความเหมาะสมสำหรับสัตว์ที่อยู่ในสภาพของการเพาะเลี้ยง (Rupert *et al.*, 2005) ทั้งนี้เพื่อหลีกเลี่ยงผลกระทบและอาการบาดเจ็บที่อาจเกิดขึ้นกับสัตว์ในภายหลังโดยอาศัยหลักการที่ว่า “ฮอร์โมน” ถูกสร้างจากระบบต่อมไร้ท่อต่างๆ และถูกส่งเข้าสู่กระแสเลือดเพื่อผ่านไปยังอวัยวะเป้าหมาย จากนั้นจะถูกหมุนเวียนผ่านเข้าไปภายในตับซึ่งจะถูก metabolized เปลี่ยนแปลงสภาพเป็นอนุพันธ์ต่างๆ จากนั้นจะถูกส่งต่อเข้าลำไส้ในรูปของน้ำดีซึ่งจะเข้าสู่กระบวนการเผาผลาญอาหารของร่างกาย (metabolites) และถูกขับถ่ายออกโดยปนมากับอุจจาระ ซึ่งจะมีการเรียกรวมๆ สเตียรอยด์ทั้งหมดที่อยู่ในอุจจาระว่า “Fecal steroids” (Erich *et al.*, 2005)

การตรวจสเตียรอยด์ในอุจจาระจึงสามารถดำเนินการเพื่อเป็นการประเมินสถานะสภาพของระบบต่อมไร้ท่อได้ ซึ่งแนวคิดนี้ถูกเริ่มขึ้นมาในช่วงปลายคริสต์ศักราช 1970 ที่ศึกษาในนก และช่วงต้นคริสต์ศักราช 1980 ศึกษาในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Rupert, 2005; Wolfgang *et al.*, 2005) ลำดับความสำคัญขั้นสูงของการที่จะทำความเข้าใจสถานภาพของการสืบพันธุ์ในสัตว์ที่อยู่ในสภาพของการเพาะเลี้ยงและปัจจัยต่างๆ ที่มีอิทธิพลต่อความสมบูรณ์พันธุ์นั้นคือการทำความเข้าใจถึงฮอร์โมน ฮอร์โมนคือปัจจัยในการขับเคลื่อนสู่กระบวนการสืบพันธุ์และรูปแบบของการหลังฮอร์โมนต่างๆ สามารถใช้เป็นดัชนีชี้วัดสถานะสภาพของการสืบพันธุ์ได้ (Janine *et al.*, 2002) ข้อสังเกตที่ถือเป็นความก้าวหน้าดังกล่าวได้ถูกดำเนินการขึ้นด้วยการศึกษาถึงรูปแบบการทำงานของรังไข่ (ovarian function) ซึ่งการศึกษาครั้งแรกๆ คือการวิเคราะห์ปริมาณ progesterone metabolites ที่ถูกขับถ่ายออกมาในแรดดำเพศเมียของแอฟริกา (Schwarzenberger *et al.*, 1998) รูปแบบหรือวิธีของการวิเคราะห์ (assay methodologies) ที่ถูกนำมาใช้ในการศึกษานั้นมีทั้ง enzyme immunoassays และ radioimmunoassay ที่ใช้หลักของการทำปฏิกิริยาแบบ cross react ของ broad-spectrum antisera กับอนุพันธ์ต่างๆ ของ pregnanes (Janine *et al.*, 2002) โดยขั้นแรกของการศึกษาที่ได้ดำเนินการนั้นเกี่ยวข้องกับการเปรียบเทียบปริมาณฮอร์โมนเพศที่ถูกขับถ่ายออกมา (gonadal steroid metabolites) ของสัตว์แต่ละตัวที่อยู่ในกลุ่มประชากรของสวนสัตว์เปิดเขาเขียว

วิธีดำเนินการวิจัย

อุปกรณ์ (Materials Essential Component of the EIA)

- Solid Phase : polystyrene microtiter plate (Nunc Immuno plate)
- Monoclonal Antibody : Progesterone CL-425

- Coating buffer : Carbonate/bicarbonate buffer pH 9.6
- Wash solution : NaCl and Tween 20 solution
- Enzyme conjugate (tracer) : Progesterone Horseradish peroxidase (HRP)
- Assay buffer : Phosphate or Tris buffers pH 7.0
- Standards or unlabeled antigen : Standards Progesterone (Sigma Diagnostics)
- Substrate: Chromagen (ABTS) and catalyst (Hydrogen peroxide) Substrate
- Reading : Spectrophotometer or Plate reader

ตัวอย่างสัตว์ (Animals sample)

- แรคขาวเพศเมีย จำนวน 2 ตัว

วิธีการ (Methods)

ทำการศึกษาในแรคขาวเพศเมีย จำนวน 2 ตัวที่อยู่ในความรับผิดชอบของสวนสัตว์เปิดเขาเขียว โดยมีการเก็บตัวอย่างอุจจาระอย่างต่อเนื่อง ระหว่างช่วงเดือนมกราคม 2552 – เมษายน 2553 ใส่นกกล่องเก็บตัวอย่างและนำไปเก็บรักษา เพื่อรอการตรวจวิเคราะห์ฮอร์โมนเพศเมียและการตั้งท้องคือ ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนจากทางห้องปฏิบัติการ และจะไม่ทำการรบกวนสัตว์ไม่ว่ากรณีใดๆ ตลอดระยะเวลาที่ทำการวิจัย โดยมีขั้นตอนคร่าวๆ ดังนี้คือ

เก็บตัวอย่างอุจจาระแรคขาว (Collection feces):

สุ่มเก็บตัวอย่างอุจจาระของแรคขาวแต่ละตัว (20-50 กรัม) สัปดาห์ละ 1-5 ตัวอย่าง (ยกเว้นช่วงเดือนกุมภาพันธ์-เมษายน 2553 ที่เก็บตัวอย่างได้น้อย) เลือกเก็บแต่ตัวอย่างอุจจาระที่มีลักษณะเป็นเนื้อเดียวกันเพื่อให้ได้สเตียรอยด์ฮอร์โมนที่มีการกระจายตัวกันอย่างสม่ำเสมอในตัวอย่าง โดยเลือกเก็บเฉพาะอุจจาระที่มีลักษณะสดใหม่ไม่แห้ง นอกจากนี้ตัวอย่างอุจจาระที่สัตว์ขับถ่ายออกมาในบางครั้งหากพบว่าอาหารยังถูกย่อยไม่ดีโดยยังคงรูปของชิ้นอาหารหรือสีของอาหารที่กินเข้าไปอยู่ก็จะต้องคัดแยกออกไม่ทำการเก็บ โดยหลักแล้วต้องเลือกเก็บเฉพาะตัวอย่างที่มีลักษณะเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่างอุจจาระ และไม่มีเศษวัสดุอื่นปนอยู่ในตัวอย่าง

การเก็บรักษาตัวอย่างหรือทำให้แห้ง (Preservation with Freezing or Drying immediately):

กรณีที่ยังไม่สามารถทำตัวอย่างให้แห้งได้ทัน สามารถทำการเก็บรักษาตัวอย่างไว้ในกล่องทึบแสงที่มีฝาปิดเพื่อป้องกันไม่ให้ตัวอย่างสัมผัสกับความชื้นหรือแสง จากนั้นนำไปเก็บไว้ในตู้แช่แข็งอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อเก็บรักษาสภาพของอุจจาระจากแบคทีเรีย และเป็นการป้องกันไม่ให้สเตียรอยด์มีการเปลี่ยนแปลงสภาพไป

นำตัวอย่างที่แช่แข็งเก็บรักษาสภาพมาทำให้แห้งด้วยการไล่ความชื้นออกจากตัวอย่างด้วยการนำเข้าสู่ตู้อบ (hot air oven) เป็นระยะเวลาไม่น้อยกว่า 96 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักไม่เปลี่ยนแปลงอีก จากนั้นเก็บรักษาตัวอย่างด้วยการใส่หีบห่อทึบแสง ใส่สารดูดความชื้นลงไปเพื่อป้องกันความชื้น seal ปิดฝาให้สนิทนำไปเก็บไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ ที่เย็นและมีด ป้องกันการเปลี่ยนแปลงของสเตียรอยด์ (Erich *et al.*, 2005; Tony *et al.*, 2005) เพื่อรอนำไปสกัดฮอร์โมนต่อไป

การสกัดสเตียรอยด์ฮอร์โมนจากอุจจาระ (Fecal Extraction):

ทำการสกัดด้วยวิธีการต้ม(Dry and Wet Weight Fecal Extraction-Boiling Method) ใช้ตัวอย่างอุจจาระแรคขาว 0.1 g สกัดด้วย Ethyl alcohol 90 % แล้วเก็บสารละลายที่ได้ไว้ใน dilution buffer แช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อรอการวิเคราะห์ต่อไป

การวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมน (Assay Protocols):

ทำการวิเคราะห์ด้วยวิธี Enzyme immunoassay แบบ Competitive ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) ตามกระบวนการของ Janine *et al.*(2004)

ผลการศึกษาวิจัย

จากการประเมินสภาวะการทำงานของต่อมฮอร์โมนเพศในกลุ่มแรดขาว(เพศเมีย)ของสวนสัตว์เปิดเขาเขียว โดยวิธีการศึกษาแบบไม่จับบังคับหรือรบกวนตัวสัตว์ ด้วยการตรวจวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมน โปรเจสเตอโรน (Progesterone metabolites) ในตัวอย่างอุจจาระ (feces) ของแรดขาวที่อยู่ในสภาพของการเพาะเลี้ยงและจัดแสดง ตั้งแต่เดือนมกราคม-ตุลาคม 2552 ถึงเดือนกุมภาพันธ์ – เมษายน 2553 ได้ผลจำแนกตามแต่ละตัวดังต่อไปนี้

1. แรดขาว เพศเมียตัวที่ 1 ชื่อ ขนุน อายุ 17 ปี
2. แรดขาว เพศเมียตัวที่ 2 ชื่อ สมศรี อายุ 18 ปี

การศึกษาในช่วงเดือนมกราคม ถึง ตุลาคม 2552

- แรดขาวเพศเมียชื่อ ขนุน

จากการตรวจวัดระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (Progesterone metabolites) ในตัวอย่างอุจจาระ ตั้งแต่ช่วงเดือนมกราคม 2552 ถึง ตุลาคม 2552 พบว่า แรดขาวชื่อ “ ขนุน ” มีปริมาณฮอร์โมนเฉลี่ย (Mean± SD) เท่ากับ $0.16 \pm 0.11 \mu\text{g/g}$ of dry feces

- แรดขาวเพศเมียชื่อ สมศรี

จากการตรวจวัดระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (Progesterone metabolites) ในตัวอย่างอุจจาระ ตั้งแต่ช่วงเดือนมกราคม 2552 ถึง ตุลาคม 2552 พบว่า แรดขาวชื่อ “ สมศรี ” มีปริมาณฮอร์โมนเฉลี่ย (Mean± SD) เท่ากับ $0.18 \pm 0.10 \mu\text{g/g}$ of dry feces

จากการศึกษาในแรดขาวเพศเมียทั้งสองตัว พบว่าปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่ตรวจวัดได้มีค่าใกล้เคียงกัน ทั้งนี้ในแรดขาวเพศเมียที่ชื่อ “ สมศรี” มีปริมาณฮอร์โมนมากกว่าที่พบในแรดขาวที่ชื่อ “ ขนุน” เล็กน้อย [แตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$, $n = 201$ (ANOVA $F=1.216$, $P = 0.272$)] โดยมีค่าที่ตรวจพบได้อยู่ในช่วง 0.03 ถึง $0.62 \mu\text{g/g}$ (mean ± SD = $0.17 \pm 0.10 \mu\text{g/g}$ of dry feces) ซึ่งมีปริมาณความเข้มข้นต่ำไม่แสดงถึงการเปลี่ยนแปลงเป็นวงรอบ (ภาพที่ 1-2) และไม่แสดงถึงภาวะการหลังฮอร์โมนที่เป็น luteal activity นอกจากนี้ยังแสดงถึงการไม่มีนัยสำคัญของปริมาณฮอร์โมนระหว่างช่วงอายุที่แตกต่างกันอีกด้วย รายละเอียดผลการวิเคราะห์แสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงปริมาณโปรเจสเตอโรนเฉลี่ยในตัวอย่างอุจจาระของแรดขาวเพศเมีย (Means for Progesterone metabolites quantity of the females evaluated.)

ชื่อสัตว์ (name of individuals)	ช่วงเดือน (Month)	ปริมาณ Progesterone metabolites	
		จำนวน (N)	Mean ± SD ($\mu\text{g/g}$ of feces)
แรดขาว เพศเมีย (ขนุน)	ม.ค. – ต.ค. (ปี 52)	109	0.16 ± 0.11
แรดขาว เพศเมีย (สมศรี)	ม.ค. – ต.ค. (ปี 52)	92	0.18 ± 0.10
Total / mean		201	0.17 ± 0.10

การศึกษาในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ ถึง เมษายน 2553

● แรคขาวเพศเมียชื่อ ขนุน

จากการตรวจวัดระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (Progesterone metabolites) ในตัวอย่างอุจจาระ ตั้งแต่ช่วงเดือนกุมภาพันธ์ ถึง เมษายน 2553 พบว่า แรคขาวชื่อ “ ขนุน ” มีปริมาณฮอร์โมนเฉลี่ย (Mean± SD) เท่ากับ $2.53 \pm 1.93 \mu\text{g/g}$ of dry feces

● แรคขาวเพศเมียชื่อ สมศรี

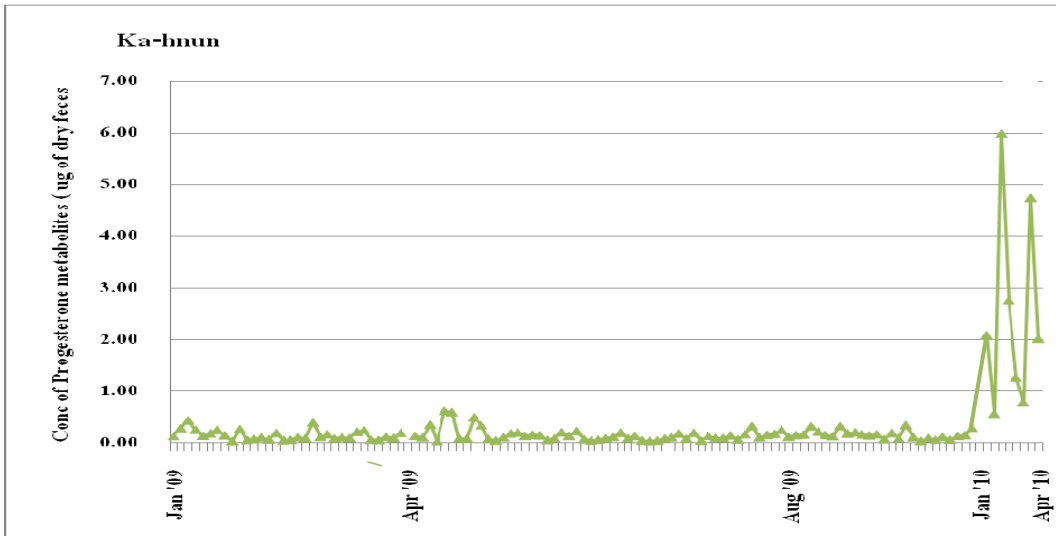
จากการตรวจวัดระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (Progesterone metabolites) ในตัวอย่างอุจจาระ ตั้งแต่ช่วงเดือนกุมภาพันธ์ ถึง เมษายน 2553 พบว่า แรคขาวชื่อ “ สมศรี ” มีปริมาณฮอร์โมนเฉลี่ย (Mean± SD) เท่ากับ $2.49 \pm 1.13 \mu\text{g/g}$ of dry feces

ซึ่งจากการศึกษาในแรคขาวเพศเมียทั้งสองตัว พบว่าปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่ตรวจวัดได้ในช่วงดังกล่าวนี้มีค่าใกล้เคียงกัน ทั้งนี้ในแรคขาวเพศเมียที่ชื่อ “ ขนุน ” มีปริมาณฮอร์โมนมากกว่าที่พบในแรคขาวที่ชื่อ “ สมศรี ” เล็กน้อย [แตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$, $n = 16$ (ANOVA $F=0.002$, $P = 0.962$)] โดยมีค่าที่ตรวจวัดได้อยู่ในช่วง 0.56 ถึง 6.00 $\mu\text{g/g}$ (mean \pm SD = $2.51 \pm 1.53 \mu\text{g/g}$ of dry feces) รายละเอียดผลการวิเคราะห์ แสดงดังตารางที่ 2

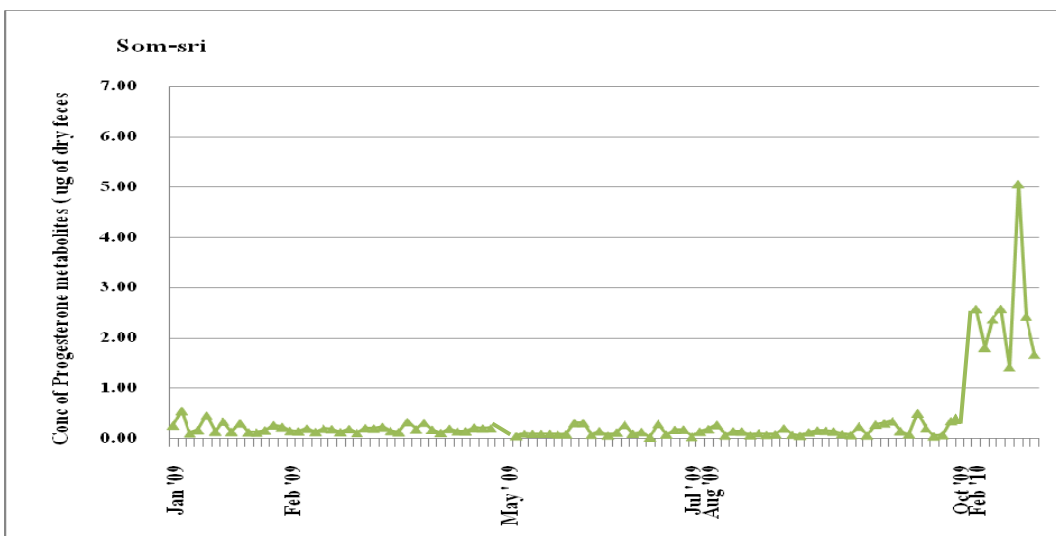
ตารางที่ 2 แสดงปริมาณ โปรเจสเตอโรนเฉลี่ยในตัวอย่างอุจจาระของแรคขาวเพศเมีย (Means for Progesterone metabolites quantity of the females evaluated.)

ชื่อสัตว์ (name of individuals)	ช่วงเดือน (Month)	ปริมาณ Progesterone metabolites	
		จำนวน (N)	Mean \pm SD ($\mu\text{g/g}$ of feces)
แรคขาว เพศเมีย (ขนุน)	ก.พ. ปี 53	4	2.82
	มี.ค. ปี 53	3	2.27
	เม.ย. ปี 53	1	2.02
		8	2.53 ± 1.93
แรคขาว เพศเมีย (สมศรี)	ก.พ. ปี 53	3	2.25
	มี.ค. ปี 53	4	2.87
	เม.ย. ปี 53	1	1.67
		8	2.49 ± 1.13
Total / mean		16	2.51 ± 1.53

ทั้งนี้เมื่อพิจารณาจากภาพที่ 1-2 พบว่าตลอดช่วงระยะ/2-3 เดือนนี้ ค่าปริมาณฮอร์โมนก่อนข้างที่จะมีการแปรผัน (variable)อย่างต่อเนื่องและมี base line ก่อนข้างสูง แสดงถึงภาวะที่มีการเคลื่อนไหวของฮอร์โมนเป็น luteal phase อย่างชัดเจน โดยช่วงการเปลี่ยนแปลงระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนของแรคขาวเพศเมียทั้งสองตัวมีลักษณะคล้ายคลึงกันมาก นอกจากนี้ยังพบว่าระดับฮอร์โมนที่แสดงถึงภาวะที่เป็น luteal phase จะอยู่ในช่วง 1- 6 $\mu\text{g/g}$ ซึ่งมีแนวโน้มว่าการเปลี่ยนแปลงที่เป็นวงรอบนี้จะนำไปในลักษณะที่ถือว่าเป็น long cycles ประกอบกับในช่วงระยะเวลาดังกล่าวนี้ (ก.พ. - เม.ย. 53) พบพฤติกรรมกรจับคู่ผสมพันธุ์กับเพศผู้ในเพศเมียทั้งสองตัวอย่างต่อเนื่องร่วมด้วย



ภาพที่ 1 กราฟแสดงความเคลื่อนไหวของระดับฮอร์โมน โปรเจสเตอโรน (Progesterone metabolites) ในแรดขาวที่ชื่อ “ขนุน” ตั้งแต่ ช่วงเดือนมกราคม 2552 ถึง เมษายน 2553

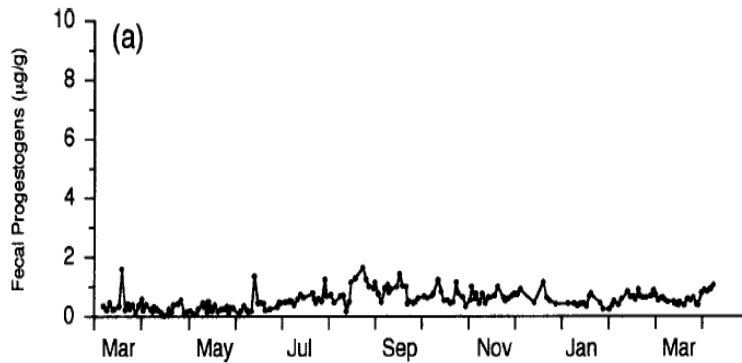


ภาพที่ 2 กราฟแสดงความเคลื่อนไหวของระดับฮอร์โมน โปรเจสเตอโรน (Progesterone metabolites) ในแรดขาวที่ชื่อ “สมศรี” ตั้งแต่ ช่วงเดือนมกราคม 2552 ถึง เมษายน 2553

สรุปผลการศึกษาและอภิปรายผล

จากการตรวจติดตามการเปลี่ยนแปลงของปริมาณฮอร์โมน โปรเจสเตอโรน ที่แสดงถึงสภาวะการทำงานของต่อมฮอร์โมนเพศ (Gonadal activity) โดยวิธีการศึกษาแบบไม่ต้องจับบังคับตัวสัตว์ พบว่าตลอดช่วงปี 2552 (ม.ค. – ต.ค. 2552) แรดขาวเพศเมียทั้งสองตัวของสวนสัตว์เปิดเขาเขียว มีปริมาณความเข้มข้นของฮอร์โมน โปรเจสเตอโรนอยู่ในระดับที่ใกล้เคียงกัน ซึ่งไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$, $n = 201$ (ANOVA $F=1.216$, $P = 0.272$) อีกทั้งมีแนวโน้มที่เป็นไปในทิศทางเดียวกันคือมีปริมาณความเข้มข้นของฮอร์โมนต่ำ มีค่าเฉลี่ยของปริมาณฮอร์โมนตลอดช่วงปีดังกล่าวเท่ากับ $0.17 \pm 0.10 \mu\text{g/g}$ of dry feces โดยค่าที่ตรวจวัดได้อยู่ในช่วง 0.03 ถึง $0.62 \mu\text{g/g}$ of dry feces อันแสดงถึง

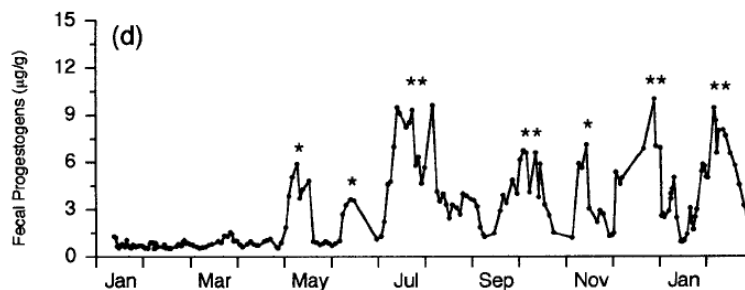
แนวโน้มที่ไม่มีมีการเปลี่ยนแปลงเป็นวงรอบ (non cyclic) หรือเป็นช่วงที่ไม่มีมีการเปลี่ยนแปลงของรังไข่ (ovarian inactivity) อีกทั้งแสดงถึงภาวะที่ไม่ได้มีการตั้งท้องหรือเป็นสัดในช่วงระยะเวลาดังกล่าว เช่นเดียวกันกับการศึกษาก่อนหน้านี้โดยอุฟาริกา และคณะ (2552) สอดคล้องกับรายงานของ Janine *et al.* (2002) ที่รายงานถึงการศึกษาในแรดขาวจำนวน 13 ตัวของอเมริกาเหนือ แล้วพบว่าแรดขาวจำนวนกว่าครึ่งหนึ่ง (6 จาก 13 ตัว) แสดงถึงสภาวะที่ไม่มีมีการเปลี่ยนแปลงของรังไข่ (ovarian activity) ดังภาพที่ 3



ภาพที่ 3 กราฟแสดงความเคลื่อนไหวของปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในแรดขาวเพศเมีย

เฉลี่ย 6 ตัว ระยะเวลาการตรวจวัดนาน 13-14 เดือน (จากรายงานของ Janine *et al.*,2002)

ทั้งนี้จากรายงานของ Janine และคณะ (2002) พบว่าแรดขาวที่อยู่ในส่วนแสดงอีก 7 ตัวนั้นแสดงถึงภาวะที่เป็น luteal activity ดังภาพที่ 4



ภาพที่ 4 กราฟแสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่แสดงถึงภาวะที่เป็น

luteal activity (จากรายงานของ Janine *et al.*,2002)

เมื่อทำการพิจารณาผลการศึกษาในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ ถึง เมษายน 2553 พบว่าแรดขาวเพศเมียทั้งสองตัวของสวนสัตว์เปิดเขาเขียวมีค่าเฉลี่ย base line ของปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนสูงขึ้น โดยมีค่าเฉลี่ย (Mean \pm SD) เท่ากับ 2.51 ± 1.53 $\mu\text{g/g}$ ค่าที่ตรวจวัดได้อยู่ในช่วง 0.56 ถึง 6.00 $\mu\text{g/g}$ ซึ่งปริมาณความเข้มข้นของฮอร์โมนระหว่างแรดขาวทั้งสองตัวนี้มีลักษณะที่เป็นไปในทิศทางเดียวกันคือมีการแสดงภาวะที่เป็น luteal phase โดยมีแนวโน้มว่าการเปลี่ยนแปลงที่เป็นวงรอบนี้จะไปในลักษณะที่ถือว่าเป็น long cycles แต่วงรอบที่พบค่อนข้างที่จะแปรผันกันคือมีช่วงของวงรอบนาน 4 ถึง 10 สัปดาห์ (สอดคล้องกับรายงานของ Schwarzenberger *et al.* (1998)) ซึ่งไม่สามารถระบุช่วงความยาวนานที่แน่นอนของวงรอบได้เนื่องจากความถี่ของจำนวนตัวอย่างไม่เพียงพอทั้งนี้เมื่อพิจารณาถึงความเข้มข้นของโปรเจสเตอ

โรนของแรดขาวทั้งสองตัวของสวนสัตว์เปิดเขาเขียวที่อยู่ในภาวะที่เป็น luteal phase เบื้องต้นพบว่ามีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 1-6 $\mu\text{g/g}$ ซึ่งแตกต่างจากรายงานของ Janine *et al.* (2002) ที่ระบุว่าอยู่ในช่วง 3-24 $\mu\text{g/g}$ โดยวงรอบการเปลี่ยนแปลงของฮอร์โมนจะแบ่งเป็นแบบ “shot cycle” และ “long cycle” ที่กินเวลานาน 32.8 ± 1.2 วัน และ 70.1 ± 1.6 วัน ตามลำดับเช่นเดียวกันกับรายงานของ Patton *et al.* (1999) ที่พบว่าแรดขาวเพศเมียที่อยู่ในส่วนแสดงมีการเปลี่ยนแปลงของวงรอบทั้งสองแบบคือ “shot” และ “long” นอกจากนี้ยังพบปรากฏการณ์ถึงกรณีที่แรดขาวเพศเมียทั้งสองตัวของสวนสัตว์ฯ ที่อยู่ร่วมกันภายใต้สภาพแวดล้อมเดียวกันมีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของวงรอบที่เป็นไปในรูปแบบเดียวกัน (cycle synchronously) สอดคล้องกับรายงานของ Janine *et al.* (2002) ที่รายงานถึงการพบว่าแรดขาวเพศเมียสองตัวที่อยู่อาศัยในกรงเพาะเลี้ยงเดียวกันสามารถที่จะมีวงรอบการเปลี่ยนแปลงของฮอร์โมนคล้ายคลึงกันได้

โดยรวมแล้วจากปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนของแรดขาวที่เพิ่มขึ้นมากในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ถึงเมษายน 2553 พบความสอดคล้องและเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับการสังเกตพบพฤติกรรมกรรมการจับคู่ผสมพันธุ์กันอย่างต่อเนื่อง ซึ่งในเบื้องต้นยังไม่สามารถสรุปได้ว่าแรดขาวเพศเมียทั้งสองตัวเกิดการตั้งท้องหรือไม่ เพียงแต่พบการเพิ่มขึ้นของปริมาณฮอร์โมนที่แสดงถึงภาวะที่เป็น luteal phase เป็นครั้งแรกในรอบเกือบ 2 ปีเท่านั้น ทั้งนี้จากรายงานการศึกษาในแรดดำ (Black Rhinoceros) ที่ใกล้เคียงกับแรดขาวมากที่สุดพบว่าหลังจากที่มีการผสมพันธุ์ปริมาณความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนจะเพิ่มระดับสูงขึ้นอย่างต่อเนื่องและคงอยู่ในระดับสูง (มากกว่า 20 $\mu\text{g/g}$) จนถึงช่วงก่อนคลอด ทั้งนี้ข้อมูลที่ได้ในการศึกษานี้ยังเป็นเพียงส่วนหนึ่งของแผนการศึกษาเท่านั้น ฉะนั้นจึงจำเป็นต้องดำเนินการเก็บข้อมูลและทำการศึกษาที่รวมถึงการศึกษาปริมาณฮอร์โมนในเพศผู้ (Testosterone) และพฤติกรรมสัตว์เพิ่มเติมอย่างต่อเนื่องต่อไป.

ข้อเสนอแนะ

สำหรับแรดขาวหรือสัตว์อื่นๆ โดยทั่วไปที่อยู่ในสภาพของการเพาะเลี้ยงในสถานที่กักขัง ปัญหาที่มักจะเกิดขึ้นคือประสิทธิภาพของการขยายพันธุ์ต่ำ โรคภัยหรือความเจ็บป่วยและอัตราการตายสูง ซึ่งปัญหาเหล่านี้เป็นเรื่องที่สามารถรับรู้กันได้ทั่วไป ปัญหาส่วนหนึ่งเกี่ยวข้องกับตัวสัตว์เองในเรื่องของการขาดความสามารถในการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมและสภาพทางสังคมสัตว์ และสิ่งนี้เองเป็นอีกเหตุผลหนึ่งที่ควรมีการประเมินถึงภาวะความเครียด (Stress) ซึ่งถือว่ามีความสำคัญมากกับแรดขาวและสัตว์อื่นที่อยู่ในสภาพของการเพาะเลี้ยง (Janine *et al.*, 2002 อ้างถึง Foote and Reece, 1997) ฉะนั้นการศึกษาในโอกาสต่อไปจึงควรจะต้องดำเนินการตรวจวัดปริมาณฮอร์โมนที่เป็น fecal corticoid เช่น cortisol และควรที่จะมีการศึกษาถึงปัจจัยอื่นๆ ที่มีผลกระทบต่อสุขภาพและการสืบพันธุ์สัตว์ประกอบด้วย เป็นต้น.

เอกสารอ้างอิง

อุพริกา กองพรหม, ชัยณรงค์ ปั่นคง, สุทธิลักษณ์ มีวีระสม, ปิ่นอนงค์ ทองนพคุณ และนิตยา เพชรสุกร. 2552. การตรวจวัดระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน จากตัวอย่างอุจจาระ ของแรดขาว ด้วยวิธีเอ็นไซม์อิมมูโนเอสเซ เพื่อนำไปใช้ในการประเมินสภาวะการทำงานของรังไข่. รายงานกรณีศึกษา. งานวิจัย ฝ่ายอนุรักษ์และวิจัย สวนสัตว์เปิดเขาเขียว จ.ชลบุรี.

Erich Mostl, Sophi Rettenbacher and Rupert Palme. 2005. Measurement of Corticosterone Metabolites in Birds' Droppings: An Analytical Approach. Ann. N.Y. Acad. Sci. 1046: 17-34.

- Janine L. Brown, Astrid C. Bellem, Michael Fouraker, David E. Wildt and Terri L. Roth. 2001. Comparative Analysis of Gonadal and Adrenal Activity in the Black And White Rhinoceros in North America by Noninvasive Endocrine Monitoring. *Zoo Biology*. 20:483-486.
- Janine L. Brown, Steinman, K. 2004. Endocrine manual for the reproductive assessment of domestic and non-domestic species, 2nd edition, USA : Smithsonian institution.
- R. Plame, S. Rettenbacher, C. Touma, S. M.El-Bahr and E. Mostl. 2005. Stress Hormones in mammals and birds Comparative Aspects Regarding Metabolism , Excretion, and Noninvasive Measurement in Fecal Samples. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1040: 162–171.
- Rupert Palme. 2005. Measuring Fecal Steroids Guidelines for Practical. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1046: 75–80
- Rupert Palme. 2005. Measuring Fecal Steroids Guidelines for Practical Application, Academy of science, New York.
- Schwarzenberger F, Walzer C, Tomasova K, Vahala J, Meister J, Goodrowe KL, Zima J, Strauß G and Lynch M. 1998. Fecal progesterone metabolite analysis for non-invasive monitoring of reproductive function in the white rhinoceros (*Ceratotherium simum*). *Anim Reprod Sci* 53:173-90.
- Toni E. Ziegler, and Daniel J. Wittwer. 2005. Fecal Steroid Research in the Field and Laboratory Improved Methods for Storage, Transport, Processing, and Analysis. University of Wisconsin. *American Journal of Primatology* , 67 : 159-174.