การศึกษาระดับฮอร์โมนความเครียดก่อนและหลังทำการส่งเสริมพฤติกรรมช้างเพศผู้ ในสวนสัตว์เปิดเขาเขียว

อาทิตยา พิมพิศาล[1], ชัยณรงค์ ปั้นคง[2], อุไรวรรณ ราชยา[2] และ จันทิมา ปิยะพงษ์[1*]

[1]ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
[2]ฝ่ายอนุรักษ์ วิจัยและสุขภาพสัตว์ สวนสัตว์เปิดเขาเขียว
*chantimap@buu.ac.th

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เปรียบเทียบระดับฮอร์โมนความเครียด (ฮอร์โมนคอร์ติโคสเตอโรน: Corticosterone) ก่อนทำ ระหว่างทำ และหลังทำการส่งเสริมพฤติกรรม (enrichment) ของช้างเพศผู้ (*Elephas maximus*) ในคอกเลี้ยงของสวนสัตว์เปิดเขาเขียว ระหว่างช่วงเดือนพฤษภาคมถึงเดือนสิงหาคม 2565 โดยใช้วิธีการตรวจวิเคราะห์ฮอร์โมน ด้วยวิธีการแบบ double antibody EIA จากมูลช้างจำนวน 4 เชือก จากการศึกษา พบว่า ก่อนทำ ระหว่างทำ และหลังทำการส่งเสริมพฤติกรรมมีค่าเฉลี่ย (Mean ± SEM) ระดับปริมาณฮอร์โมนคอร์ติโคสเตอโรนเท่ากับ 44.15 ± 1.18, 57.61 ± 1.20 และ 49.75±1.21 นาโนกรัมต่อหนึ่งกรัมของมูลแห้ง ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) และตลอดช่วงระยะเวลาการศึกษายังพบว่าระดับฮอร์โมนคอร์ติโคสเตอโรนระหว่างช้างเพศผู้ 4 เชือกไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลการศึกษาในครั้งนี้สามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการจัดการช้างในคอกเลี้ยงให้มีสวัสดิภาพสัตว์ดีขึ้นและสนับสนุนการจัดการคอกเลี้ยงได้อย่างเหมาะสม

คำสำคัญ: ฮอร์โมนความเครียด ช้างเอเชีย การส่งเสริมพฤติกรรม

A Study of Stress Hormone Levels Before and After Enrichment in Male Elephants at Khao Kheow Open Zoo

Arthittaya Phimphisan[1], Chainarong Punkong[2] Uraiwan Ratchaya[2] and Chantima Piyapong[1*]

[1]Department of Biology Faculty of Science Burapha University
[2]Department of Conservation, Research and Animals Health, Khao Kheow Open Zoo
*chantimap@buu.ac.th

Abstract

This study compared levels of stress hormone (Corticosterone) before, between and after the addition of diet enrichment of male elephants (*Elephas maximus*) in captivity at Khao Kheow Open Zoo. The study was conducted from May to August 2022. Fecal corticosterone in 4 males of Asian elephants was detected by using a double-antibody EIA technique. The results of the average comparison of corticosterone (Mean±SEM) before, between and after the addition of diet enrichment were 44.15 ± 1.18, 57.61 ± 1.20 and 49.75 ± 1.21 ng/g of dry feces, respectively. There was no significant difference ($p > 0.05$) and corticosterone levels among the 4 male elephants were not also significantly different throughout the study period. The study provides useful basic information about captivity management of the elephants for better animal welfare and support appropriate management in captivity.

Keywords: Stress hormone, Asian elephants, Enrichment

1. บทนำ

ช้างเอเชีย (*Elephas maximus*) ถูกจัดให้อยู่ในสถานภาพที่มีความเสี่ยงใกล้สูญพันธุ์ (Endangered species) เนื่องจากประชากรช้างเอเชียมีแนวโน้มลดลงอนุมานได้จากการสูญเสียพื้นที่อยู่อาศัย การกระจายตัว และการถูกล่าเพื่อเอางา โดยถูกจัดอยู่ในบัญชีของ IUCN Red List [1] และในประเทศไทยช้างถูกจัดเป็นสัตว์ป่าคุ้มครองตามพระราชบัญญัติสงวนและคุ้มครองสัตว์ป่า พ.ศ.2535 ในปัจจุบันประชากรช้างเลี้ยงมีแนวโน้มของอัตราการเกิดน้อยกว่าอัตราการตาย [2] เนื่องจากช้างเลี้ยงมีสภาพแวดล้อมและพื้นที่ที่จำกัด รวมถึงการที่ไม่สามารถจัดสรรพื้นที่ให้ช้างเพศผู้อยู่ร่วมกันได้ จึงมีความจำเป็นในการแยกเลี้ยงด้วยสาเหตุต่าง ๆ เช่น การปะทะของช้าง ทำให้ช้างมีปฏิสัมพันธ์ทางสังคมลดลงหรือหายไป ทำให้ช้างบางเชือกเกิดพฤติกรรมที่ผิดปกติหรือแสดงพฤติกรรมซ้ำ ๆ ที่เป็นสเตอริโอไทป์ (Stereotype) เช่น การโยกตัวไปมา อาจสะท้อนถึงภาวะความเครียดของตัวช้าง สวนสัตว์เปิดเขาเขียวจึงมีโครงการอนุรักษ์และขยายพันธุ์ช้าง

ความเครียดในสัตว์สามารถวัดได้จากการศึกษาพฤติกรรมซ้ำ ๆ ที่สัตว์แสดงออกมาหรือตรวจวัดได้จากระดับฮอร์โมนของสัตว์ [3] โดยเฉพาะฮอร์โมนกลุ่มกลูโคคอร์ติคอยด์ (Glucocorticoid) [4] ที่มักพบในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ฮอร์โมนกลุ่มนี้มักจะถูกนำมาใช้ในการศึกษาตัวอย่างที่ได้มาจากพลาสมาหรือสิ่งขับถ่าย ฮอร์โมนกลุ่ม Glucocorticoid ประกอบด้วยฮอร์โมนคอร์ติซอล (Cortisol) และคอร์ติโคสเตอโรน (Corticosterone) ซึ่งโดยปกติการหลั่งฮอร์โมนกลุ่มนี้จะมีฤทธิ์กว้างและส่วนใหญ่จะเกี่ยวข้องกับการรักษาสมดุลของร่างกายภายหลังที่เกิดความเครียด การหลั่งฮอร์โมนกลุ่มนี้เป็นเวลานานและมีระดับสูงจะทำให้เกิดเป็นภาวะเครียดเรื้อรัง (Chronic stress) [5] ซึ่งส่งผลเสียต่อร่างกาย ในปัจจุบันการตรวจวัดปริมาณ

ฮอร์โมนวิธีการแบบ Enzyme Immunoassay (EIA) เป็นที่นิยมและมีการพัฒนาให้มีความไวในการตรวจได้เทียบเท่าหรือดีกว่าการตรวจทาง RIA ที่มีการใช้กัมมันตภาพรังสี [6] ซึ่งสามารถนำมาตรวจวัดระดับฮอร์โมนต่าง ๆ ในพลาสมาหรือฮอร์โมนที่ถูกเมตาบอไลต์ (Metabolite) ออกมาในมูลสัตว์ได้ [5] จึงเป็นเครื่องมือสำคัญที่สามารถนำมาใช้ในการตรวจติดตามประเมินการผลิตการหลั่งฮอร์โมนกลุ่ม Glucocorticoid ของสัตว์หลากหลายชนิดทั้งในสัตว์เลี้ยง สัตว์ป่า และสัตว์ทดลองต่าง ๆ [7] โดยจัดเป็นวิธีการศึกษาแบบไม่รบกวนตัวสัตว์ (non-invasive methods) ที่เหมาะสมสำหรับสัตว์ที่อยู่ในสภาพคอกเลี้ยง โดยห้องปฏิบัติการฮอร์โมนของสวนสัตว์เปิดเขาเขียวใช้วิธีการตรวจวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนแบบ Enzyme Immunoassay (EIA) ในการตรวจวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนบางชนิด สำหรับการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจติดตามระดับปริมาณฮอร์โมนความเครียดร่วมกับการส่งเสริมพฤติกรรม (Enrichment) และเปรียบเทียบความแตกต่างระดับฮอร์โมนความเครียดระหว่างก่อนและหลังทำการส่งเสริมพฤติกรรมทางด้านอาหาร ทั้งนี้ผู้วิจัยได้ทำการศึกษาเรื่องดังกล่าวเพื่อนำไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการจัดการดูแลช้างที่อยู่ในคอกเลี้ยงให้มีสวัสดิภาพสัตว์ที่ดีตามหลักสากลและเพื่อเพิ่มศักยภาพในการจัดการคอกเลี้ยงได้อย่างเหมาะสม

2. วิธีดำเนินการวิจัย

2.1 ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา

2.1.1 ช้างเพศผู้ ชื่อ พลายเปี๊ยก อายุ 47 ปี
2.1.2 ช้างเพศผู้ ชื่อ พลายบิลลี่ อายุ 43 ปี
2.1.3 ช้างเพศผู้ ชื่อ สีดอมงคล อายุ 35 ปี
2.1.4 ช้างเพศผู้ ชื่อ พลายเขาเขียว อายุ 20 ปี

2.2 การส่งเสริมพฤติกรรม

เพิ่มปริมาณและความหลากหลายของอาหารในแต่ละวันทำการส่งเสริมพฤติกรรมเพื่อลดระดับฮอร์โมนความเครียดของช้างเพศผู้ในสวนสัตว์

2.3 การเก็บตัวอย่างมูลช้าง

เก็บตัวอย่างมูลของช้างเพศผู้ภายในคอกเลี้ยงช่วงเวลา 09.00-10:00 น. โดยเก็บตัวอย่างสัปดาห์ละ 3 ถึง 4 วันในช้างแต่ละเชือก ในช่วงเดือนพฤษภาคมถึงเดือนสิงหาคม 2565 หลังจากเก็บใส่ถุงซิปล็อคพลาสติกพร้อมระบุชื่อของช้างและวันที่เก็บตัวอย่าง โดยตัวอย่างมูลที่เก็บต้องมีความสดใหม่ ไม่แห้ง จากนั้นนำเก็บไว้ในที่มืดและเย็น และรวบรวมตัวอย่างไปเก็บในตู้แช่แข็ง อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส (ในกรณีวันที่ไม่ได้นำตัวอย่างเข้าตู้อบร้อนทันที) และในช่วงก่อน ระหว่าง และหลังการส่งเสริมพฤติกรรมเก็บตัวอย่างมูลอย่างละ 5 วัน

2.4 การเก็บรักษาตัวอย่างมูลหรือทำให้แห้ง

เก็บตัวอย่างในถุงซิปล็อคพลาสติกและปิดให้สนิทเพื่อป้องกันไม่ให้ตัวอย่างสัมผัสกับความชื้น จากนั้นเก็บในตู้แช่แข็งอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อรักษาสภาพมูลช้างจากแบคทีเรียและป้องกันไม่ให้มีการเปลี่ยนแปลงหรือเสื่อมสภาพ หลังจากนั้นนำตัวอย่างมาไล่ความชื้นโดยนำตัวอย่างเข้าตู้อบลมร้อน (Hot air oven) ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลาไม่น้อยกว่า 96 ชั่วโมง

2.5 การสกัดฮอร์โมนจากตัวอย่างมูล

สกัดฮอร์โมนออกจากตัวอย่างมูลแห้งหนัก 0.1 กรัม ด้วยตัวทำละลายเอทานอลโดยวิธีการต้ม

2.6 การตรวจวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนคอร์ติโคสเตอโรน

ทำการตรวจวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนคอร์ติโคสเตอโรนด้วยวิธีการแบบ Enzyme Immunoassay โดยใช้แอนติบอดีสองตัว (Double antibody EIA) มีขั้นตอนดังนี้

2.6.1 นำเพลทที่ผ่านการเคลือบผิวเพลทด้วย Goat anti-Rabbit ที่เก็บไว้ในตู้เย็นมาวางในอุณหภูมิห้อง
2.6.2 เตรียมสารละลายฮอร์โมนคอนจูเกต (HRP)
2.6.2.1 เตรียมสารละลาย Corticosterone HRP ในอัตราส่วนการเจือจางที่พร้อมใช้ (Working dilution) ที่ความเข้มข้น 1:185,000 วางไว้ในอุณหภูมิห้อง

2.6.2.2 ดูดสารละลาย Corticosterone-HRP ที่เตรียมไว้ปริมาตร 38 ไมโครลิตร เติมลงในสารละลาย A2 Assay buffer ที่เตรียมไว้ 3 มิลลิลิตร และผสม (Mix) ให้เข้ากันด้วยปิเปต

2.6.3 เตรียมสารละลายแอนติบอดีคอร์ติโคสเตอโรน (Corticosterone)

2.6.3.1 เตรียมสารละลาย Corticosterone-AB ในอัตราส่วนการเจือจางที่พร้อมใช้ (Working dilution) ที่ความเข้มข้น 1:85,000 วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง

2.6.3.2 ดูดสารละลาย Corticosterone-AB ที่เตรียมไว้ปริมาตร 23.1 25.21 ไมโครลิตร (ตามความเหมาะสมแต่ละตัวอย่าง) เติมลงในสารละลาย A2 Assay buffer ที่เตรียมไว้ 3 มิลลิลิตร และผสม (Mix) ให้เข้ากันด้วยปิเปต

2.6.4 เตรียมสารละลายมาตรฐาน (Corticosterone Standard: STD)

2.6.4.1 เตรียมสารละลาย Corticosterone STD ที่ระดับความเข้มข้น 1,000, 500, 250, 125, 62.5, 31.25, 15.62, 7.81 และ 3.91 พิโคกรัมต่อหลุม (1 หลุมมีค่าเท่ากับ 50 ไมโครลิตร) โดยทำการเจือจางแบบสองเท่า (two-fold dilution) จากสารละลายมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 20 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร

2.6.5 ใช้ไมโครปิเปต (Micropipette) หยดสารละลายมาตรฐาน (Standards) สารละลายควบคุม (Controls: C1, C2) และตัวอย่างที่ต้องการตรวจลงในแต่ละหลุมของเพลท หลุมละ 50 ไมโครลิตร ทำ 2 ซ้ำ ตาม plate map ที่กำหนดไว้

2.6.6 ใช้ปิเปตแบบซ้ำปริมาตรเดิม (Repeater pipette) หยดสารละลายฮอร์โมนคอนจูเกต (Corticosterone-HRP) ลงในแต่ละหลุมของเพลท หลุมละ 25 ไมโครลิตร

2.6.7 ใช้ปิเปตแบบซ้ำปริมาตรเดิม (Repeater pipette) หยดสารละลายแอนติบอดีคอร์ติโคสเตอโรน (Corticosterone-AB) ลงในแต่ละหลุมของเพลท หลุมละ 25 ไมโครลิตร ยกเว้นหลุม NSB (A1,B1)

2.6.8 เคาะเบา ๆ ที่ด้านข้างของเพลทเพื่อให้สารละลายต่าง ๆ ลงไปอยู่ในหลุมทั้งหมด จากนั้นปิดเพลทด้วยแผ่นพลาสติกปิดเพลท (Plate sealer) พร้อมเขียนระบุเวลาที่หยดสารละลายต่าง ๆ จากนั้นนำเพลทไปวางบนเครื่องเขย่าสารเคมี (Digital orbital shaker) เป็นเวลา 2 ชั่วโมงด้วยอัตรา 135 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง ซึ่งหากไม่เขย่าจะทำให้เกิดปฏิกิริยาขึ้นต่ำเพียง 45%

2.6.9 เมื่อครบกำหนดการเขย่า นำเพลทไปเทหรือดูดสารละลายที่อยู่ในเพลททิ้งแล้วล้างด้วยสารชะล้าง (Washing buffer) 5 รอบ โดยใช้เครื่องล้างเพลทและปล่อยสารอัตโนมัติ (Automatic microplate washer) จากนั้นคว่ำและตบเพลทลงกระดาษทิชชูซับให้เพลทแห้ง

2.6.10 ใช้ปิเปตแบบซ้ำปริมาตรเดิม (Repeater pipette) หยดสารละลายซับสเตรท (TMB) ลงในแต่ละหลุมของเพลท หลุมละ 100 ไมโครลิตร จากนั้นปิดเพลทด้วยแผ่นพลาสติกปิดเพลท และวางทิ้งไว้ (Incubate) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลาประมาณ 30 นาที สารละลายจะเกิดปฏิกิริยาเป็นสีฟ้า

2.6.11 เมื่อครบกำหนดเวลาหรือสารละลายเกิดปฏิกิริยาอย่างเหมาะสมแล้ว ใช้ปิเปตแบบซ้ำปริมาตรเดิม (Repeater pipette) หยดสารกรดไฮโดรคลอริก (HCl) ความเข้มข้น 1 นอร์มาล ลงในแต่ละหลุมของเพลท หลุมละ 50 ไมโครลิตร เพื่อหยุดปฏิกิริยา ซึ่งสารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง

2.6.12 นำเพลทไปอ่านค่าความเข้มสีที่เกิดขึ้นหรือค่าปริมาณฮอร์โมนคอร์ติโคสเตอโรน (Corticosterone) ที่ได้ด้วยเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเวลเพลท (Microplate reader) ที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร

2.7 การคำนวณปริมาณฮอร์โมน

$$X = \frac{A \times B}{C}$$

X หมายถึง ปริมาณฮอร์โมนคอร์ติโคสเตอโรน, A หมายถึง ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นฮอร์โมนที่ได้จากกราฟมาตรฐาน (ng/ml), B หมายถึง Dilution, C หมายถึง น้ำหนักมูลแห้ง (g)

2.8 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

เก็บข้อมูลค่าปริมาณฮอร์โมนคอร์ติโคสเตอโรนที่ตรวจวัดได้ เพื่อเปรียบเทียบข้อมูลระหว่างช้างเพศผู้แต่ละตัวในช่วงก่อนและหลังทำการส่งเสริมพฤติกรรม จากนั้นนำมาวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธีทางสถิติแบบ One-Way ANOVA โดยเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มด้วยวิธีการแบบ Duncan's Multiple Range Test (DUNCAN)

3. ผลการวิจัยและอภิปรายผล

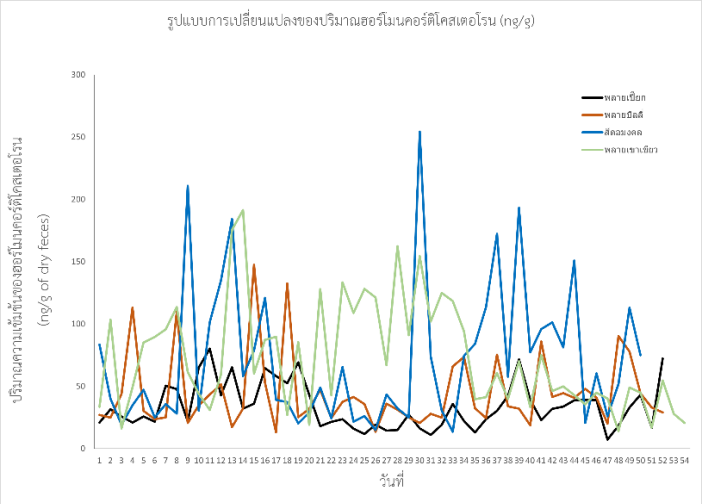
จากการตรวจวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนคอร์ติโคสเตอโรน (Corticosterone) จากมูลช้างเพศผู้ในสภาพคอกเลี้ยง จำนวน 4 เชือก คือ พลายเปี๊ยก พลายบิลลี่ สีดอมงคล และพลายเขาเขียว ด้วยวิธีการแบบ Enzyme Immunoassay โดยใช้แอนติบอดีสองตัว (Double antibody EIA) ด้วยวิธีที่ไม่รบกวนตัวสัตว์ (Non-Invasive method) เพื่อติดตามระดับฮอร์โมนความเครียดและเปรียบเทียบระดับฮอร์โมนความเครียดก่อน ระหว่างทำ และหลังทำการส่งเสริมพฤติกรรมของช้างเพศผู้ ในสวนสัตว์เปิดเขาเขียว ได้ผลดังนี้

3.1 ผลการติดตามระดับฮอร์โมนความเครียดของช้างเพศผู้

ผลจากการตรวจติดตามระดับฮอร์โมนคอร์ติโคสเตอโรนของช้างเพศผู้จำนวน 4 เชือก ตั้งแต่ช่วงเดือนพฤษภาคม ถึงเดือนสิงหาคม 2565 พบว่าช้างเพศผู้จำนวน 4 เชือกมีค่าเฉลี่ยระดับปริมาณฮอร์โมน (Mean ± SEM) ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) โดย มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 55.82 ± 42.73 นาโนกรัมต่อหนึ่งกรัมของมูลแห้ง (ng/g of dry feces) โดยช้างที่มีค่าเฉลี่ยระดับปริมาณฮอร์โมนคอร์ติโคสเตอโรนสูงที่สุด ในช่วงระยะการศึกษา คือ พลายเขาเขียว มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 73.02 ± 5.94 นาโนกรัมต่อหนึ่งกรัมของมูลแห้ง (ng/g of dry feces) รองลงมา คือ สีดอมงคล พลายบิลลี่ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 71.67 ± 7.94, 44.63 ± 4.13 นาโนกรัมต่อหนึ่งกรัมของมูลแห้ง (ng/g of dry feces) ตามลำดับ และช้างที่มีค่าเฉลี่ยปริมาณฮอร์โมนคอร์ติโคสเตอโรนต่ำที่สุดคือ พลายเปี๊ยก มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 33.93 ± 2.55 นาโนกรัมต่อหนึ่งกรัมของมูลแห้ง (ng/g of dry feces) (ตารางที่ 1 และภาพที่ 1)

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยปริมาณฮอร์โมนคอร์ติโคสเตอโรน (Mean ± SEM) ของช้างเพศผู้จำนวน 4 เชือก ในช่วงการศึกษา เดือนพฤษภาคมถึงเดือนสิงหาคม 2565

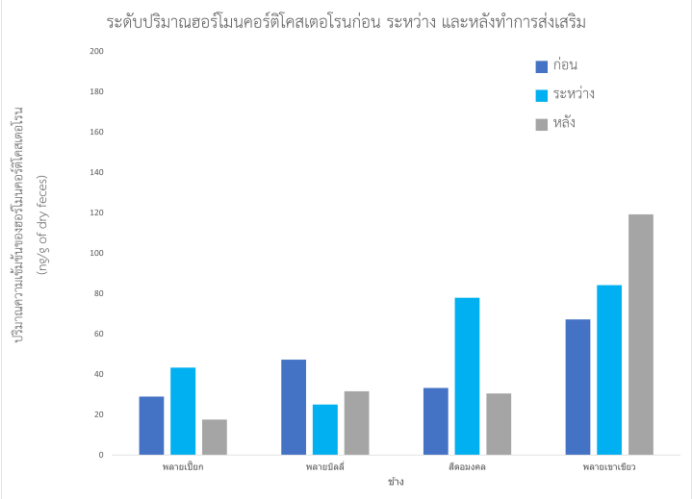
ค่าเฉลี่ยปริมาณฮอร์โมนคอร์ติโคสเตอโรน (Mean±SEM) (ng/g of dry feces)				
ช้าง	พลายเปี๊ยก	พลายบิลลี่	สีดอมงคล	พลายเขาเขียว
รวม	33.93 ± 1.06	44.63 ± 1.07	71.67 ± 1.08	73.02 ± 1.07



ภาพที่ 1 การเปลี่ยนแปลงของระดับฮอร์โมนคอร์ติโคสเตอโรน (Corticosterone) ของช้างเพศผู้ ในช่วงการศึกษา เดือนพฤษภาคมถึงเดือนสิงหาคม 2565

3.2 ผลการศึกษาปริมาณฮอร์โมนความเครียดก่อน ระหว่าง และหลังทำการส่งเสริมพฤติกรรมของช้างเพศผู้

ผลจากการศึกษาปริมาณฮอร์โมนคอร์ติโคสเตอโรนก่อนทำ ระหว่างทำ และหลังทำการส่งเสริมพฤติกรรมช้างเพศผู้ พบว่า ระดับปริมาณฮอร์โมนไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) แต่พบว่าช้างบางเชือกมีแนวโน้มระดับฮอร์โมนคอร์ติโคสเตอโรนลดลงหลังทำการส่งเสริมพฤติกรรม (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 แผนภูมิเปรียบเทียบระดับปริมาณฮอร์โมนคอร์ติโคสเตอโรนก่อนระหว่างและหลังทำการส่งเสริมพฤติกรรมช้างเพศผู้

หมายเหตุ นำตัวอย่างมาวิเคราะห์ช่วงละ 5 วัน

ช่วงเวลาก่อนการส่งเสริมพฤติกรรม คือ เดือนพฤษภาคม 2565

ช่วงเวลาระหว่างทำการส่งเสริมพฤติกรรม คือ เดือนมิถุนายน 2565

ช่วงเวลาหลังทำการส่งเสริมพฤติกรรม คือ เดือนกรกฎาคม 2565

จากการตรวจติดตามระดับฮอร์โมนความเครียดของช้างเพศผู้จำนวน 4 เชือก พบว่า ช้างพลายเปี๊ยก พลายบิลลี่ สีดอมงคล และพลายเขาเขียว มีระดับความเข้มข้นปริมาณฮอร์โมนคอร์ติโคสเตอโรนเท่ากับ 33.93 ± 1.06, 44.63 ± 1.07, 71.67±1.08 และ 73.02±1.07 นาโนกรัมต่อหนึ่งกรัมของมูลแห้ง (ng/g of dry feces) ตามลำดับ และมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 55.82±1.02 นาโนกรัมต่อหนึ่งกรัมของมูลแห้ง (ng/g of dry feces) จะเห็นได้ว่าช้างพลายเขาเขียวมีค่าเฉลี่ยระดับฮอร์โมนคอร์ติโคสเตอโรนสูงที่สุด เนื่องจากช้างพลายเขาเขียวเป็นช้างเชือกเดียวที่มีกิจกรรมทางกายภาพ คือ โชว์แสดงช้างว่ายน้ำ อยู่ในส่วนแสดงโชว์ใกล้ชิดกับนักท่องเที่ยว ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ [8] รายงานว่า สภาวะการทำงานมีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของกลูโคคอร์ติคอยด์เมตาบอไลต์ในมูล (fGCM) โดยช้าง Dussehra festival มีสภาวะการทำงานที่มากกว่าปกติและอยู่ท่ามกลางฝูงชนจำนวนมาก และสอดคล้องกับการศึกษาของ [9] รายงานว่า ช้างแอฟริกาที่มีปฏิสัมพันธ์กับมนุษย์และมีเสียงดังรบกวน ส่งผลให้ระดับฮอร์โมนคอร์ติโคสเตอโรนมีความเข้มข้นเพิ่มขึ้น โดยพลายเขาเขียวมีค่าปริมาณฮอร์โมนเพิ่มขึ้นสูงที่สุด (peak) ถึง 162.40 นาโนกรัมต่อหนึ่งกรัมของมูลแห้ง ซึ่งตรงในวันอาทิตย์ที่ 3 กรกฎาคม 2565 ที่เป็นวันหยุดอาจมีนักท่องเที่ยวจำนวนมาก และช้างพลายเปี๊ยกมีค่าเฉลี่ยระดับฮอร์โมนคอร์ติโคสเตอโรนต่ำที่สุด เนื่องจากช้างพลายเปี๊ยกอยู่ในคอกที่ถูกแยกไว้เพียงลำพังและมีกิจกรรมทางกายภาพน้อย ส่งผลให้มีระดับฮอร์โมนคอร์ติโคสเตอโรนต่ำในช่วงเวลาที่ศึกษา ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ [10] ที่รายงานว่า ช้างในสวนสัตว์ Mysore ที่ถูกจัดให้อยู่ในส่วนแสดงมีกิจกรรมทางกายภาพน้อยส่งผลให้ฮอร์โมนกลูโคติคอยด์เมตาบอไลต์ในมูลมีระดับความเข้มข้นต่ำ อย่างไรก็ตาม ระดับฮอร์โมนคอร์ติโคสเตอโรนของช้างทั้ง 4 เชือกตลอดช่วงการศึกษามีระดับมากหรือน้อยแตกต่างกันขึ้นอยู่กับสภาพทางร่างกาย สภาวะการทำงาน และอายุของช้างทำให้มีระดับปริมาณฮอร์โมนที่ต่างกัน [8,11] จากผลการศึกษาจะเห็นได้ว่าช้างเพศผู้ที่มีอายุมากจะมีระดับปริมาณฮอร์โมนน้อยกว่าช้างเพศผู้ที่มีอายุน้อย อาจเป็นเพราะช้างที่มีอายุมากคุ้นเคยกับสภาพแวดล้อมความเป็นอยู่จึงปรับตัวไปกับสภาพแวดล้อม ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ [12] รายงานว่า สัตว์ที่ไม่ค่อยใกล้ชิดกับฝูงชน และคุ้นเคยกับการจัดการรวมถึงคุ้นเคยกับสภาพแวดล้อมมีระดับความเครียดน้อย

จากการศึกษาปริมาณฮอร์โมนความเครียดก่อน ระหว่าง และหลังทำการส่งเสริมพฤติกรรมของช้างเพศผู้จำนวน 4 เชือก พบว่าค่าเฉลี่ยระดับปริมาณฮอร์โมนคอร์ติโคสเตอโรนของช้างเพศผู้ 4เชือกหลังทำการส่งเสริมพฤติกรรม ไม่แตกต่างกัน

อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยพบว่าช้างพลายเปี๊ยกและช้างสีดอมงคลมีแนวโน้มของระดับปริมาณฮอร์โมนคอร์ติโคสเตอโรนลดลงหลังจากทำการส่งเสริมพฤติกรรม แต่ช้างพลายเขาเขียวและช้างพลายบิลลี่มีระดับปริมาณฮอร์โมนคอร์ติโคสเตอโรนเพิ่มขึ้นหรือไม่ลดลงหลังจากทำการส่งเสริมพฤติกรรม อาจเกิดจากช้างได้รับปริมาณอาหารที่ไม่เพียงพอต่อน้ำหนักตัว ในแง่ปริมาณอาหารของช้างในตัวเต็มวัยควรได้รับ 150-200 กิโลกรัมต่อวัน หรือร้อยละ 10 ของน้ำหนักตัว [13] ซึ่งจากการศึกษาพบว่าปริมาณอาหารของช้างแต่ละเชือกในช่วงที่ทำการส่งเสริมพฤติกรรมได้รับอาหารประมาณ 125 กิโลกรัมต่อวัน ในความเป็นจริงแล้วเป็นปริมาณอาหารที่ไม่เพียงพอต่อน้ำหนักตัว อาจเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้ช้างเกิดความเครียด ส่วนหนึ่งของปัญหาในด้านอาหารที่ไม่เพียงพออาจเกิดจากงบประมาณของสวนสัตว์ที่มีอยู่อย่างจำกัด อย่างไรก็ตามผลการศึกษาครั้งนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาเรื่องฮอร์โมน เนื่องจากมีข้อจำกัดเรื่องเวลาอาจทำให้ผลยังไม่ชัดเจน ทั้งนี้ควรเพิ่มระยะเวลาในการศึกษาและศึกษาปัจจัยอื่น ๆ ที่อาจมีผลต่อฮอร์โมนของช้างทั้งด้านทางกายภาพ เคมีและชีวภาพร่วมด้วย

4. สรุปผลวิจัย

จากการตรวจติดตามปริมาณฮอร์โมนความเครียดและเปรียบเทียบระดับฮอร์โมนความเครียดก่อน ระหว่าง และหลังทำการส่งเสริมพฤติกรรมจากมูลของช้างเพศผู้ในสวนสัตว์เปิดเขาเขียวจำนวน 4 เชือก พบว่า ระดับปริมาณฮอร์โมนคอร์ติโคสเตอโรนไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณฝ่ายอนุรักษ์ วิจัย และสุขภาพสัตว์ สวนสัตว์เปิดเขาเขียว และภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพาที่สนับสนุนการทำงานวิจัย

6. เอกสารอ้างอิง

[1] IUCN Red List. (2015). *Asian Elephants.* IUCN. https://www.iucnredlist.org.

[2] Tongtip, N., Sunyathitiseree, P., Damyang, M., Theeraphan, W., Suthunmapinunta, P., Mahasawangkul, S., Angkavanich, T., Jansitiwate, S., & Pinyopummin, A. (2001). Preliminary study of semen evaluation from Thai captive elephants In *the 39th Kasetsart University Annual Conference,* (pp. 312-315). Kasetsart University. (In Thai)

[3] Brown, J.L., Bellem, A.C., Michael, F., Wildt, D.E. & Roth, T.L. (2002). Comparative analysis of gonadal and adrenal activity in the black and white rhinoceros in North America by non-invasive endocrine monitoring. *Zoo Biology, 20*(6), 483-486.

[4] Fazio, J.M., Freeman, E.W., Bauer, E., Rockwood, L., Brown, J.L., Hope, K., Siegal-Willott, J. & Parsons, E. C. M. (2020). Longitudinal fecal hormone monitoring of adrenocortical function in zoo housed fishing cats (*Prionailurus viverrinus*) during institutional transfers and breeding introductions. *Plos one, 15*(3), e0230239.

[5] Punkong, C.. (2555). *Method development for quantity measurement of corticosterone to evaluate stress avians and small mammals.* https://khaokheow.zoothailand.org. (In Thai)

[6] Czekala, N.M., Gallusser, S., Meier, M.E. & Lasley, B.L. (1986). The development and application of an enzyme immunoassay for urinary estrone conjugates. *Zoo Biology, 5,* 1-16.

[7] Palme, R. (2005). Measuring fecal steroids guidelines for practical application. *Annals of the New York Academy of Science, 1046*, 75-80.

[8] Kumar, V., Pradheeps, M., Kokkiligadda, A., Niyogi, R. & Umapathy, G. (2019). Non-invasive assessment of physiological stress in captive Asian elephants. *Animal, 9,* 553.

[9] Millapaugh, J.J., Burke, T., Van Dyk, G., Slotow, R., Washburn, B.E. & Woods, R.J. (2007). Stress response of working African elephants to transportation and safari adventures. *The Journal of Wildlife Management, 71*(4), 1257-1260.

[10] Redbo, I. (1998). Relations between oral stereotypies, open-field behavior, and pituitary-adrenal system in growing dairy cattle. *Physiology & behavior, 64*(3), 273-278.

[12] Binstead, M. (1977). Handling cattle and avoiding bruising [beef cattle]. *Tropical Grasslands*, 11(2), 199-201.

[13] Akajuk, J. & Puangsai, W. (2015). Feeding behavior of herd and solitary elephant in Phuluang Wildlife Sanctuary, Loei. *In Wildlife Yearbook* (401-447). (In Thai)