การตรวจติดตามฮอร์โมนความเครียดและฮอร์โมนเพศของช้างเอเชียเพศผู้ (*Elephas maximus*) ในสวนสัตว์เปิดเขาเขียว

โศภิษฐา ดอนท่าโพธิ์[1] ชัยณรงค์ ปั้นคง[2] อุไรวรรณ ราชยา[2]
ยลดา แต่งภูเขียว[2] ก้องภพ ภรัณยากุล[2] และจันทิมา ปิยะพงษ์[1*]

[1]ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ชลบุรี 20131;
[2]สวนสัตว์เปิดเขาเขียว องค์การสวนสัตว์แห่งประเทศไทย ในพระบรมราชูปถัมภ์ ชลบุรี 20110
[*]E-mail: chantimap@buu.ac.th

รับบทความ: 25 พฤษภาคม 2567 แก้ไขบทความ: 22 กรกฎาคม 2567 ยอมรับตีพิมพ์: 25 กรกฎาคม 2567

บทคัดย่อ

ช้างเอเชีย *(Elephas maximus*) จัดเป็นสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมบนบกที่มีขนาดใหญ่ที่สุดในโลกรองจากช้างแอฟริกา ในปัจจุบันสวนสัตว์เปิดเขาเขียวตระหนักถึงสวัสดิภาพของช้างเอเชียในสภาพแวดล้อมแบบทั้งในส่วนแสดงและในคอกเลี้ยง นอกจากนี้ช้างเอเชียเป็นที่นิยมสำหรับนักท่องเที่ยวอย่างจึงถูกสิ่งเร้าจากนักท่องเที่ยวรบกวนซึ่งอาจส่งผลให้ระดับฮอร์โมนความเครียดของช้างเพิ่มสูงขึ้นและอาจส่งผลต่อการทำงานต่อระบบระดับฮอร์โมนเพศที่เหมาะสมต่อการสืบพันธุ์ของช้างเอเชีย วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้คือตรวจติดตามการเปลี่ยนแปลงของระดับความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ทิโคสเทอโรน (corticosterone) และฮอร์โมนเทสโทสเทอโรน (testosterone) และวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของฮอร์โมนทั้งสองชนิดนี้ ในช่วงเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2565 ถึงเดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2566 โดยการนำมูลของช้างเอเชียเพศผู้จำนวน 4 เชือก มาสกัดฮอร์โมนดังกล่าวและตรวจวิเคราะห์ระดับความเข้มข้นของฮอร์โมนด้วยวิธีการ enzyme immunoassay (EIA) ซึ่งเป็นวิธีการที่ไม่รบกวนตัวสัตว์ (non–invasive method) รวมทั้งใช้สถิติไม่อิงพารามิเตอร์ในการศึกษานี้ ผลการศึกษาพบว่าระดับความเข้มข้นฮอร์โมนคอร์ทิโคสเทอโรนของช้างเอเชียเพศผู้ทั้ง 4 เชือกมีแนวโน้มสูงขึ้นตลอดช่วงระยะการศึกษาโดยสีดอมงคลมีค่าเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 139.91±7.64 นาโนกรัมต่อหนึ่งกรัมของมูลแห้ง ในขณะที่ระดับความเข้มข้นฮอร์โมนเทสโทสเทอโรนของช้างเอเชียทั้ง 4 เชือกมีช่วงการเปลี่ยนแปลงที่ไม่แน่นอนตลอดช่วงการศึกษา โดยพลายเปี๊ยกมีค่าเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 254.46±48.22 นาโนกรัมต่อหนึ่งกรัมของมูลแห้ง อย่างไรก็ตามการศึกษาความสัมพันธ์ของฮอร์โมนคอร์ทิโคสเทอโรนและฮอร์โมนเทสโทสเทอโรนในช้างเอเชียเพศผู้แต่ละเชือกมีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญในเชิงบวก ($p < 0.01$) การศึกษานี้สามารถนำไปใช้เป็นแนวทางในการวางแผนปรับปรุงสภาพแวดล้อมในคอกเลี้ยงและส่วนแสดงของช้างเอเชียในสวนสัตว์เปิดเขาเขียวและสามารถนำเป็นแนวทางในการใช้ประโยชน์ในด้านการส่งเสริมพฤติกรรมของช้างเพื่อสนับสนุนการทำให้ช้างมีสุขภาพและสวัสดิภาพให้ดียิ่งขึ้นในอนาคต

คำสำคัญ: ช้างเอเชีย สวนสัตว์ ฮอร์โมนความเครียด ฮอร์โมนเพศ

Stress Hormone and Sex Hormone Monitoring in Male Asian Elephant (*Elephas maximus*) at Khao Kheow Open Zoo, Thailand

Sopittha Donthapho[1], Chainarong Punkong[2], Uraiwan Ratchaya[2], Yollada Taengphukhieo[2], Kongphob Parunyakul[2] and Chantima Piyapong[1*]

[1]Department of Biology, Faculty of Science, Burapha University, Chonburi 20131, Thailand;
[2]Khao Kheow Open Zoo, Zoological Park Organization of Thailand under the Royal Patronage of H.M. the King, Chonburi 20110, Thailand
[*]E-mail: chantimap@buu.ac.th

Received: 25 May 2024 Revised: 22 July 2024 Accepted: 25 July 2024

Abstract

The Asian elephant (*Elephas maximus*) is the second largest land mammals in the world after the African elephant. Currently, Khao Kheow Open Zoo has concerned the welfare of the Asian elephants in both their exhibition and captive environments. Also, they are very popular for tourists. Stimuli from tourists could increase the level of stress hormones and may affect the functioning of the sex hormone system, which is unsuitable for achievement of reproduction. The purpose of this study was to monitor changes in corticosterone and testosterone levels and analyze the relationship of these two hormones during August 2022 to July 2023. The fecal samples of four male Asian elephants were extracted by using the enzyme immunoassay (EIA) method, which is a non–invasive method. Nonparametric statistics were used in this study. The results revealed that the corticosterone levels of all male Asian elephants showed high trend throughout experimental period. Elephant named “Mongkol” had the highest level of corticosterone (139.91±7.64 ng/g of dry feces). Meanwhile, the testosterone levels of all male Asian elephants showed uncertain trend throughout experimental period. Elephant named “Piek” had a highest level of testosterone (254.46±48.22 ng/g of dry feces). However, the study of the relationship between the corticosterone and testosterone in each male Asian elephant significantly positively correlated ($p < 0.01$). This study can be used as a guideline for planning to improve the environment in the Asian elephant’s exhibition and captivity at Khao Kheow Open Zoo and can be used to enrichment for better health and welfare in the future.

Keywords: Asian elephant, Zoo, Stress hormone, Sex hormone

บทนำ

ช้างเอเชีย (*Elephas maximus)* จัดเป็นสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม อาศัยอยู่บนบก มีขนาดใหญ่ที่สุดในโลกรองจากช้างแอฟริกา ปัจจุบันช้างเอเชียจัดอยู่ในกลุ่มสัตว์ใกล้สูญพันธุ์ (endangered species) โดยจัดอยู่ในบัญชีขององค์การระหว่างประเทศเพื่อการอนุรักษ์ธรรมชาติและทรัพยากรธรรมชาติ (International Union for Conservation of Natural Resources Red List [IUCN Red List], 2019) และอยู่ในบัญชีของอนุสัญญาการค้าสัตว์ป่าระหว่างประเทศ (The Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora: CITES) หมายเลขหนึ่งตั้งแต่ปี ค.ศ. 1973 (Kajaysri *et al*., 2014) สำหรับประเทศไทยช้างเอเชียถูกจัดเป็นสัตว์ป่าคุ้มครองตามพระราชบัญญัติสงวนและคุ้มครองสัตว์ป่า พ.ศ. 2535

สวนสัตว์เปิดเขาเขียวตระหนักถึงความสำคัญของสวัสดิภาพของช้างเอเชียเพศผู้เนื่องจากสภาพแวดล้อมแบบทั้งในส่วนแสดงและในคอกเลี้ยงที่เป็นข้อจำกัดของขนาดพื้นที่ที่เลี้ยงช้าง รวมถึงสิ่งเร้าจากนักท่องเที่ยวภายในสวนสัตว์ที่ส่งผลให้ระดับฮอร์โมนความเครียดเพิ่มสูงขึ้นและเมื่อเกิดความเครียดเป็นระยะเวลานานอาจส่งผลต่อคุณภาพชีวิตของช้าง ภูมิคุ้มกันและระบบสืบพันธุ์ทำงานลดลง (Sapolsky *et al*., 2000) โดยการตอบสนองต่อความเครียดถูกควบคุมอยู่ภายใต้ hypothalamic–pituitary–adrenal (HPA) axis ซึ่งเป็นกลไกทำให้เกิดการหลั่งฮอร์โมนความเครียด (Leistner *et al*., 2020) โดยฮอร์โมนความเครียดยับยั้งการหลั่งฮอร์โมนเพศ ส่งผลให้มีการหลั่งฮอร์โมนเพศลดลงและอาจส่งผลเสียต่อระบบสืบพันธุ์ (Xiong *et al*., 2022) รวมถึงอาจทำให้เพาะขยายพันธุ์ได้ยาก ในการตรวจวัดความเครียดของสัตว์สามารถตรวจวัดได้จากระดับฮอร์โมนของสัตว์ (Brown *et al*., 2002) โดยตรวจวิเคราะห์ระดับฮอร์โมนคอร์ทิโคสเทอโรน (corticosterone) ซึ่งเป็นฮอร์โมนกลุ่มกลูโคคอร์ทิคอยด์ (glucocorticoid) หรือเรียกว่าฮอร์โมนความเครียด ฮอร์โมนดังกล่าวนี้สามารถศึกษาจากตัวอย่างสิ่งขับถ่าย นอกจากนี้การตรวจวิเคราะห์ระดับฮอร์โมนเทสโทสเทอโรน (testosterone) ซึ่งเป็นฮอร์โมนเพศผู้ที่ควบคุมลักษณะและพฤติกรรมทางเพศของเพศผู้และมีความเกี่ยวข้องกับการตกมันของช้างเอเชียเพศผู้ หากระดับฮอร์โมนความเครียดสูงขึ้นอาจส่งผลต่อการทำงานของระบบฮอร์โมนเพศที่เหมาะสมและมีผลทำให้การทำงานของระบบสืบพันธุ์ลดลง (Squires, 2010)

จากศึกษาตัวอย่างฮอร์โมนที่จากมูลสัตว์และตรวจวิเคราะห์ระดับปริมาณฮอร์โมนด้วยวิธีการแบบ enzyme immunoassay (EIA) ในมูลช้างเช่นเดียวกับการศึกษาของ Kajaysri *et al.* (2014) ที่ใช้การวิเคราะห์ฮอร์โมนโพรเจสเทอโรน (progesterone) และฮอร์โมนกลุ่มกลูโคคอร์ทิคอยด์ในมูลของช้างเอเชียเพศเมียเพื่อประเมินการตั้งครรภ์ และการศึกษาของ Fink *et al.* (2022) ที่ใช้ในการวิเคราะห์สารเมแทบอไลต์กลูโคคอร์ทิคอยด์ในมูล (fGM) ของลิงอุรังอุตัง ซึ่งเป็นวิธีการศึกษาแบบไม่รบกวนตัวสัตว์ (non–invasive method) ที่เหมาะสมกับสัตว์ที่อยู่ในคอกเลี้ยง (Palme, 2005) งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฮอร์โมนความเครียดและฮอร์โมนเพศโดยการตรวจติดตามและศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างฮอร์โมนทั้งสองชนิดเพื่อใช้เป็นแนวทางในการวางแผนปรับปรุงสภาพแวดล้อมในคอกเลี้ยงและส่วนแสดงของช้างเอเชียในสวนสัตว์เปิดเขาเขียวและสามารถ

นำเป็นแนวทางในการใช้ประโยชน์ในด้านการส่งเสริมพฤติกรรมของช้างเพื่อส่งเสริมให้ช้างมีสุขภาพและสวัสดิภาพให้ดียิ่งขึ้น

วิธีดำเนินงานวิจัย

สัตว์ที่ใช้ในการทดลอง

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาจากช้างเอเชียเพศผู้ จำนวน 4 เชือก ได้แก่ สีดอมงคล อายุ 35 ปี พลายเปี๊ยก อายุ 48 ปี พลายเขาเขียว อายุ 21 ปี และพลายบิลลี่ อายุ 33 ปี ซึ่งเป็นช้างที่ถูกเลี้ยงภายในสวนสัตว์เปิดเขาเขียว ตำบลบางพระ อำเภอศรีราชา จังหวัดชลบุรี ซึ่งในช่วงเดือนสิงหาคมถึงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2565 จากการรายงานจากเจ้าหน้าที่ดูแลช้างเอเชียและฝ่ายอนุรักษ์ วิจัย และสุขภาพสัตว์ในสวนสัตว์เปิดเขาเขียวพบว่า สีดอมงคล พลายเปี๊ยก พลายบิลลี่ ตกมันและจำกัดบริเวณโดยการล่ามไว้ ส่วนพลายเขาเขียวไม่มีการตกมันแต่มีการแสดงกิจกรรมว่ายน้ำให้กับนักท่องเที่ยวในสวนสัตว์และในช่วงเดือนมิถุนายนและกรกฎาคม พ.ศ. 2566 ช้างทั้ง 4 เชือก มีกิจกรรมการเดินออกกำลังกายภายในสวนสัตว์

การเก็บตัวอย่างมูล การทำให้มูลแห้ง และการสกัดฮอร์โมนจากตัวอย่างมูล

เก็บตัวอย่างมูลช้างเพศผู้ภายในคอกเลี้ยง (ดำเนินการโดยเจ้าหน้าที่ดูแลช้างเอเชีย ณ สวนสัตว์เปิดเขาเขียว) โดยเก็บในช่วงเช้าเวลา 07.00–09.00 น. สัปดาห์ละ 3–4 วัน ในช่วงเดือนสิงหาคมถึงธันวาคม พ.ศ. 2565 และช่วงเดือนมิถุนายนถึงกรกฎาคม พ.ศ. 2566) ซึ่งเก็บในเวลาช่วงเช้าโดยเก็บใส่ถุงซิปล็อคพลาสติกพร้อมระบุชื่อและวันที่เก็บ จากนั้นรวบรวมตัวอย่างเก็บในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ –20°C โดยจำนวนตัวอย่างมูลของช้างทั้ง 4 เชือก รวมทั้งหมดเท่ากับ 336 ตัวอย่าง (ตาราง 1) ทำตัวอย่างให้แห้งโดยการนำตัวอย่างที่แช่แข็งอบด้วยตู้อบลมร้อน (hot air oven) ที่อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลาไม่น้อยกว่า 96 ชั่วโมงหรือจนกว่าตัวอย่างแห้ง

ตาราง 1 ชื่อของช้างเอเชียเพศผู้และจำนวนตัวอย่างมูล

ชื่อ	จำนวนตัวอย่างมูล (n)
สีดอมงคล	94
พลายเปี๊ยก	87
พลายเขาเขียว	93
พลายบิลลี่	62
รวม	336

การสกัดฮอร์โมนจากตัวอย่างมูล ทำตามขั้นตอนของวิธีมาตรฐานของ Brown *et al*. (2005) โดยชั่งมูลแห้ง 0.1000–0.1009 กรัม และเติมเอทานอล (ethanol) เข้มข้นร้อยละ 90 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เขย่าผสมให้เข้ากันและนำไปต้มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath) ที่อุณหภูมิ 95°C เป็นเวลา 20 นาที หลังจากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงในเครื่องเซนทริฟิวจ์ (centrifuge) ที่ความเร็วรอบ 3500 รอบ/นาที นาน 20 นาที จากนั้นดูดของเหลวเหนือตะกอน (supernatant) ลงในหลอดทดลองชุดใหม่ ส่วนหลอดชุดเดิมเติมเอทานอลร้อยละ 90 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร และนำไปปั่นเหวี่ยงในเครื่องเซนทริฟิวจ์ที่ความเร็วรอบ 3500 รอบ/นาที นาน 15 นาที จากนั้นดูดของเหลวเหนือตะกอนลงในหลอดทดลองชุดใหม่อีกครั้ง ส่วนของเหลวเหนือตะกอนถูกนำไปต้มจนหลอดแห้ง และเติมเมทานอลสัมบูรณ์ (absolute methanol) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ต้มจนหลอดแห้งสนิท และพักให้เย็น จากนั้นเติมบัฟเฟอร์สำหรับเจือจาง (dilution buffer) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าผสมให้กันแล้วเทใส่หลอดไมโครเซนทริฟิวจ์

(microcentrifuge) ขนาด 1.5 มิลลิลิตร เก็บตัวอย่างที่สกัดได้ในตู้แช่เย็นที่อุณหภูมิ –20°C

การตรวจวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมน

วิเคราะห์ฮอร์โมนคอร์ทิโคสเทอโรนและฮอร์โมนเทสโทสเทอโรนจากตัวอย่างมูลช้าง ทดลองซ้ำ 2 ครั้ง โดยใช้ปฏิกิริยาการใช้แอนติบอดีที่ติดฉลากด้วยเอนไซม์ (enzyme immunoassay: EIA) ตามวิธีมาตรฐานของ Brown *et al*. (2005) โดยใช้แอนติบอดี 2 ตัว (double antibody EIA) ทำปฏิกิริยาระหว่างแอนติเจนในสารเมแทบอไลต์ของมูลช้างและแอนติเจนที่ติดฉลากด้วยเอนไซม์และทำปฏิกิริยากับแอนติบอดีที่มีความจำเพาะ โดยฮอร์โมนคอร์ทิโคสเทอโรนและฮอร์โมนเทสโทสเทอโรนใช้สารละลายแอนติบอดี AB (1:1000, Coralie Munro, University of California Davis, USA) และใช้สารละลายเพอร์ออกไซด์จากฮอสแรดิช (horseradish peroxidase: HRP, 1:1000, Coralie Munro, University of California Davis, USA) เป็นแอนติเจนที่ติดฉลากด้วยเอนไซม์ (conjugate) ทำปฏิกิริยากับสารเมแทบอไลต์ในมูลช้างและตรวจสอบปฏิกิริยาด้วยสารละลายซับสเทรต 3,3′,5,5′–tetramethylbenzidine (TMB) เมื่อเกิดปฏิกิริยาความเข้มสีของสารละลายเปลี่ยนไปตามปริมาณของฮอร์โมนที่มีอยู่ในสารเมแทบอไลต์ของมูลช้าง จากนั้นหยุดปฏิกิริยาด้วยกรดไฮโดรคลอริก (HCl) และนำไปวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนด้วยเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนเครื่องอ่านไมโครเพลต (microplate reader) ที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร ร่วมกับโปรแกรม Magellan

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

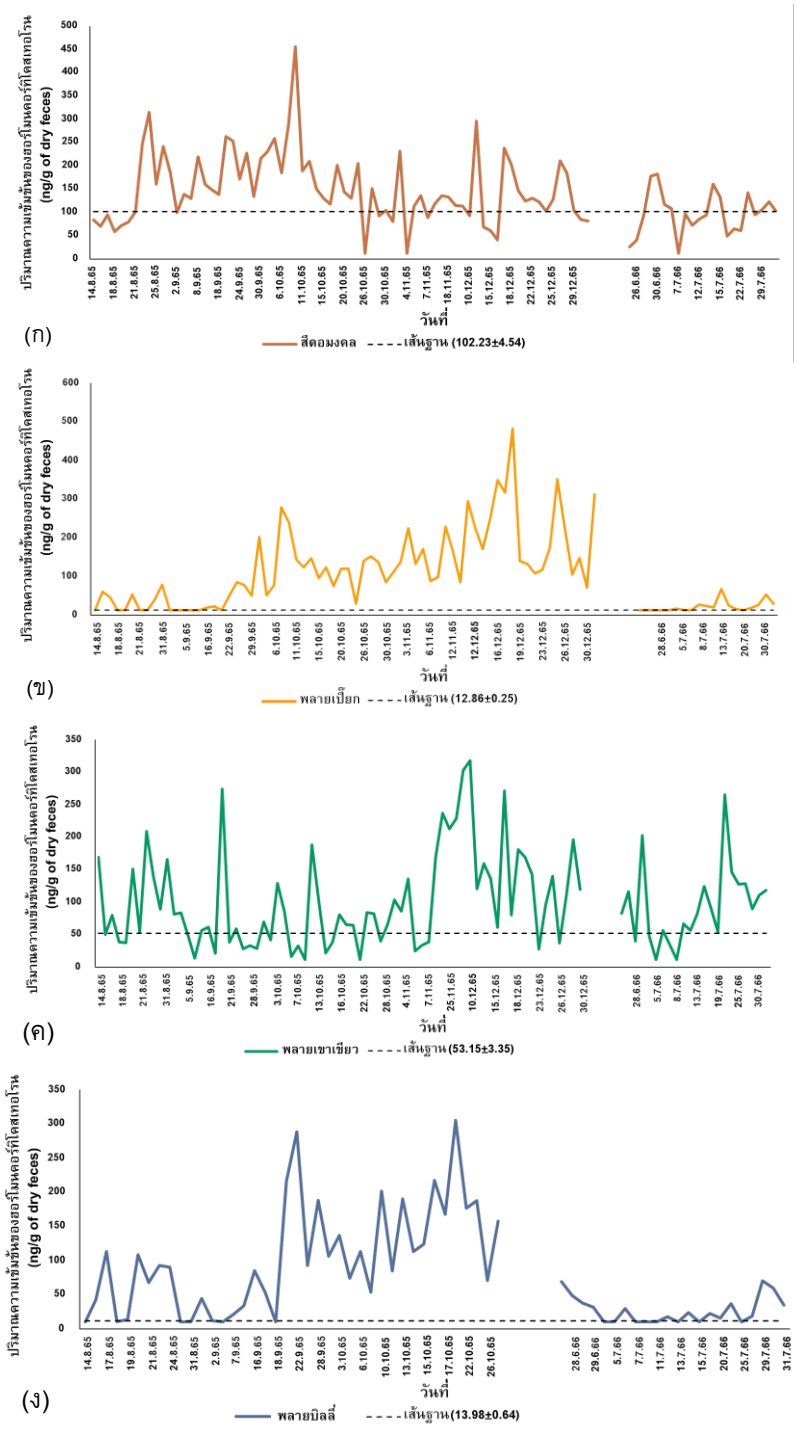
แสดงข้อมูลในผลการวิจัยด้วยค่า mean± SE วิเคราะห์ข้อมูลด้วยสถิติไม่อิงพารามิเตอร์ (nonparametric statistics) โดยหาความสัมพันธ์ระหว่างฮอร์โมนคอร์ทิโคสเทอโรนและฮอร์โมนเทสโทสเทอโรน และแสดงสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ลำดับที่ของสเปียร์แมน (Spearman rank correlation coefficient, r_s) โดยใช้โปรแกรมสถิติสำเร็จรูป Minitab 18 (Minitab Inc., State College, PA, USA)

ผลการวิจัย

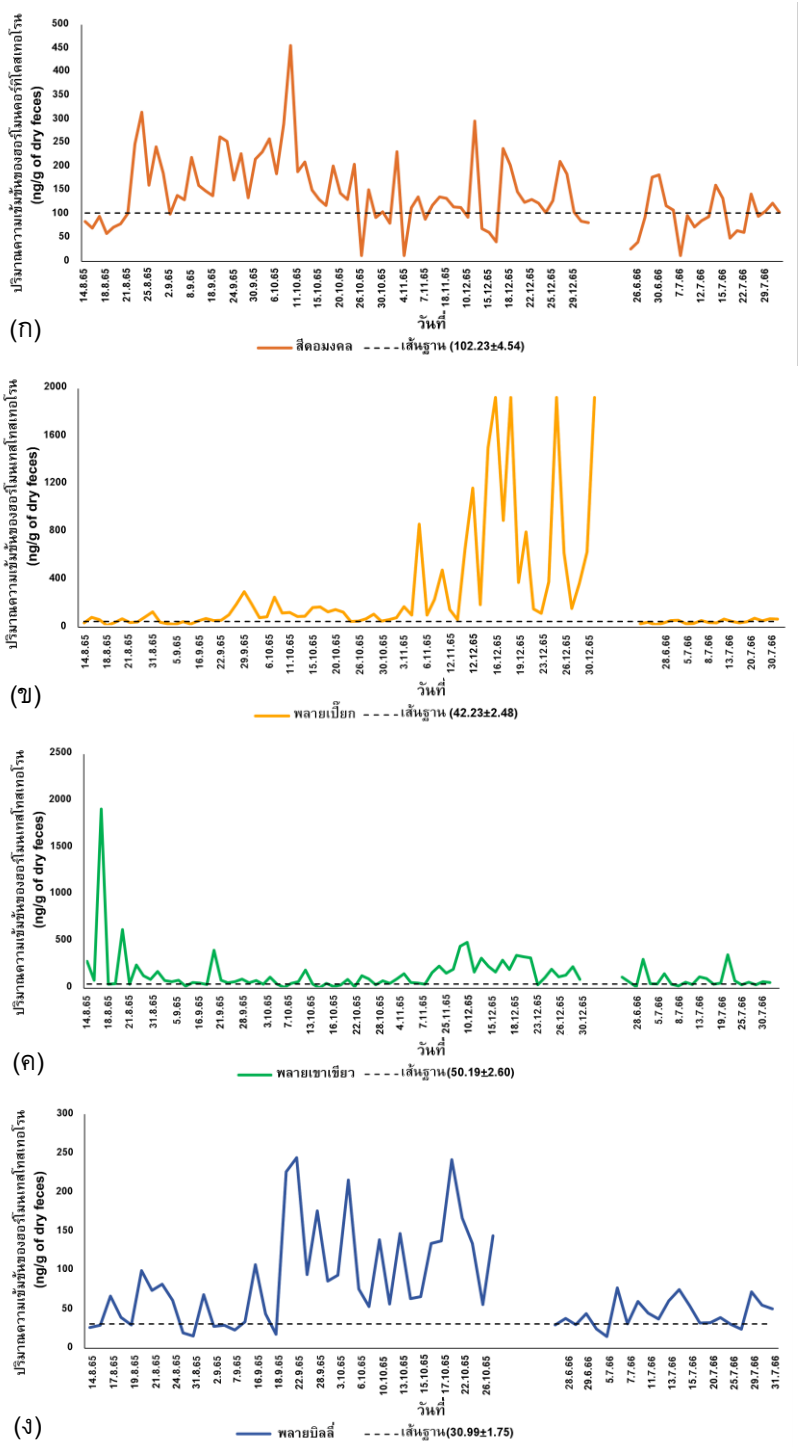
จากการตรวจติดตามฮอร์โมนคอร์ทิโคสเทอโรนของช้างเอเชียเพศผู้จำนวน 4 เชือก ในช่วงเดือนสิงหาคมถึงธันวาคม พ.ศ. 2565 และเดือนมิถุนายนถึงกรกฎาคม พ.ศ. 2566 พบว่าระดับความเข้มข้นฮอร์โมนคอร์ทิโคสเทอโรนของช้างเอเชียเพศผู้ทั้ง 4 เชือกมีแนวโน้มสูงกว่าระดับเส้นฐาน (baseline) ตลอดช่วงระยะการ ศึกษา (ภาพที่ 1) โดย “สีดอมงคล” มีค่าเฉลี่ยระดับฮอร์โมนคอร์ทิโคสเทอโรนสูงสุด รองลงมาคือ “พลายเปี๊ยก” “พลายเขาเขียว” และ “พลายบิลลี่” ตามลำดับ (ตาราง 2) และระดับความเข้มข้นฮอร์โมนเทสโทสเทอโรนของช้างเอเชียเพศผู้ทั้ง 4 เชือก มีช่วงการเปลี่ยนแปลงไม่แน่นอนตลอดช่วงระยะการศึกษา (ภาพที่ 2) โดย“พลายเปี๊ยก” มีค่าเฉลี่ยระดับฮอร์โมนเทสโทสเทอโรนสูงสุด รองลงมาคือ “สีดอมงคล” “พลายเขาเขียว” และ “พลายบิลลี่” ตามลำดับ (ตาราง 3)

ตาราง 2 ค่าเฉลี่ยระดับฮอร์โมนคอร์ทิโคสเทอโรนของช้างเอเชียเพศผู้จำนวน 4 เชือก

ชื่อ	ค่าเฉลี่ย±SE ของระดับฮอร์โมนคอร์ทิโคสเทอโรน (ng/g of dry feces)
สีดอมงคล	139.91±7.64
พลายเปี๊ยก	102.38±10.54
พลายเขาเขียว	100.28±7.41
พลายบิลลี่	78.22±9.36



ภาพที่ 1 รูปแบบการเปลี่ยนแปลงของระดับฮอร์โมนคอร์ทิโคสเทอโรนของช้างเอเชียเพศผู้จำนวน 4 เชือก (ก) สีดอมงคล (ข) พลายเปี๊ยก (ค) พลายเขาเขียว และ (ง) พลายบิลลี่



ภาพที่ 2 รูปแบบการเปลี่ยนแปลงของระดับฮอร์โมนเทสโทสเทอโรนของช้างเอเชียเพศผู้จำนวน 4 เชือก (ก) สีดอมงคล (ข) พลายเปี๊ยก (ค) พลายเขาเขียว และ (ง) พลายบิลลี่

จากการศึกษาความสัมพันธ์ของระดับฮอร์โมนคอร์ทิโคสเทอโรนและฮอร์โมนเทสโทสเทอโรนในช้างเอเชียเพศผู้จำนวน 4 เชือก ในช่วงเดือนสิงหาคมถึงธันวาคม พ.ศ. 2565 และเดือนมิถุนายนถึงกรกฎาคม พ.ศ. 2566 โดยวิเคราะห์ด้วยสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ลำดับที่ของสเปียร์แมน (r_s) ระหว่างฮอร์โมนคอร์ทิโคสเทอโรนและฮอร์โมนเทสโทสเทอโรนของช้างเอเชียเพศผู้ในสวนสัตว์แต่ละเชือก พบว่า มีความสัมพันธ์ในเชิงบวก ($p < 0.01$) โดยเมื่อระดับฮอร์โมนคอร์ทิโคสเทอโรนสูงขึ้นระดับฮอร์โมนเทสโทสเทอโรนสูงขึ้นตามด้วยตลอดช่วงการศึกษา(ตาราง 4)

ตาราง 3 ค่าเฉลี่ยระดับฮอร์โมนเทสโทสเทอโรนของช้างเอเชียเพศผู้จำนวน 4 เชือก

ชื่อ	ค่าเฉลี่ย±SE ของระดับฮอร์โมนเทสโทสเทอโรน (ng/g of dry feces)
สีดอมงคล	254.46±48.22
พลายเปี๊ยก	195.58±22.15
พลายเขาเขียว	151.02±22.78
พลายบิลลี่	74.12±7.31

ตาราง 4 ผลการทดสอบความสัมพันธ์ของระดับฮอร์โมนคอร์ทิโคสเทอโรนและฮอร์โมนเทสโทสเทอโรนด้วยสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ลำดับที่ของสเปียร์แมน (r_s) ของช้างเอเชียเพศผู้แต่ละเชือก

ชื่อ	r_s
สีดอมงคล	0.704**
พลายเปี๊ยก	0.871**
พลายเขาเขียว	0.734**
พลายบิลลี่	0.831**

**หมายถึง มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.01

อภิปรายผลการวิจัย

จากการตรวจติดตามฮอร์โมนความเครียด (คอร์ทิโคสเทอโรน) ในช้างเอเชียเพศผู้จำนวน 4 เชือก ได้แก่ สีดอมงคล พลายเปี๊ยก พลายเขาเขียว และพลายบิลลี่ ในช่วงเดือนสิงหาคมถึงธันวาคม พ.ศ. 2565 พบว่า สีดอมงคล พลายเปี๊ยก และพลายบิลลี่ มีระดับปริมาณความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ทิโคสเทอโรนสูงซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากการตกมันจึงจำกัดบริเวณในคอกเลี้ยงด้วยการล่ามเพื่อลดระยะเวลาในการตกมัน (Carmen, 2012) สอดคล้องกับการศึกษาของ Brown *et al*. (2007) และ Yon *et al*. (2008) ที่รายงานว่าช้างเอเชียและช้างแอฟริกาในคอกเลี้ยงมีการตกมัน จึงส่งผลให้ระดับปริมาณความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ทิโคสเทอโรนสูงขึ้น อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาของ Ghosal *et al*. (2013) พบว่าช้างเอเชียเพศผู้เลี้ยงตามธรรมชาติที่ตกมัน ไม่ได้บ่งชี้ถึงภาวะเครียด ความแตกต่างนี้เกิดจากปัจจัยด้านสภาพแวดล้อมที่ต่างกัน โดยสภาพแวดล้อมแบบคอกเลี้ยงอาจทำให้มีระดับความเครียดสูงกว่าสภาพแวดล้อมแบบธรรมชาติ รวมถึงการล่ามอาจเป็นปัจจัยที่ส่งผลให้มีระดับความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ทิโคสเทอโรนสูง เนื่องจากการล่ามส่งผลให้เกิดพฤติกรรมการทำซ้ำ (stereotypic behavior) (Greco *et al*., 2017) อาจส่งผลเสียต่อสุขภาพของช้างและอาจเกิดภาวะเครียดเรื้อรัง (chronic stress) (Bansiddhi *et al*., 2018) ส่วนพลายเขาเขียวไม่ตกมันจึงไม่ได้ถูกจำกัดบริเวณในคอกเลี้ยง แต่พลายเขาเขียวมีกิจกรรมการแสดงว่ายน้ำในส่วนแสดงให้นักท่องเที่ยวได้รับชม ทำให้มีระดับปริมาณความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ทิโคสเทอโรนสูง ระดับปริมาณความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ทิโค-

สเทอโรนที่สูงขึ้น อาจไม่ได้บ่งบอกถึงความเครียดเพียงอย่างเดียว แต่สามารถบ่งบอกถึงการใช้พลังงานในกิจกรรมต่าง ๆ ด้วย (Cote *et al*., 2006) สอดคล้องกับการศึกษาของ Kumar *et al*. (2019) ที่พบว่าการเดินขบวนของช้างในเทศกาลดุซเซห์รา (Dussehra festival) ส่งผลให้ความเข้มข้นของกลูโคคอร์ทิคอยด์เมแทบอไลต์ (fGCM) เพิ่มขึ้น นอกจากนี้อาจรวมถึงสิ่งเร้าจากนักท่องเที่ยวที่ชมการแสดงว่ายน้ำของพลายเขาเขียว และสอดคล้องกับการศึกษาของ Millspaugh *et al*. (2007) ที่รายงานว่าการมีปฏิสัมพันธ์กับมนุษย์และเสียงรบกวนต่าง ๆ เป็นปัจจัยที่ส่งผลให้ช้างแอฟริกามีระดับปริมาณความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ทิโคสเทอโรนสูงขึ้น ส่วนช่วงเดือนมิถุนายนและกรกฎาคม พ.ศ. 2566 ช้างทั้ง 4 เชือกไม่ตกมัน จึงมีระดับฮอร์โมนเทสโทสเทอโรนต่ำ อย่างไรก็ตามช้างการศึกษาครั้งนี้มีกิจกรรมการเดินออกกำลังกายอาจส่งผลให้ระดับฮอร์โมนคอร์ทิโคสเทอโรนของพลายเขาเขียวสูงรวมทั้งอาจเกิดจากการใช้พลังงานในกิจกรรมการเดินออกกำลังกายมากกว่าเชือกอื่น (Kumar *et al*., 2019)

สำหรับการตรวจติดตามฮอร์โมนเพศ (เทสโทสเทอโรน) พบว่า ช่วงเดือนสิงหาคมถึงธันวาคม พ.ศ. 2565 สีดอมงคล พลายเปี๊ยก และพลายบิลลี่ มีการตกมันส่งผลให้มีระดับปริมาณความเข้มข้นของฮอร์โมนเทสโทสเทอโรนสูง สอดคล้องกับการศึกษาของ Jainudeen *et al*. (1972) และ Glaeser *et al*. (2022) ที่รายงานว่าฮอร์โมนเทสโทสเทอโรนหลั่งออกมาจำนวนมากเมื่อเกิดการตกมัน ส่วนพลายเขาเขียวไม่มีการตกมันจึงมีระดับปริมาณความเข้มข้นของฮอร์โมนเทสโทสเทอโรนต่ำ และในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างฮอร์โมนคอร์ทิโคสเทอโรนและฮอร์โมนเทสโทสเทอโรนของช้างเอเชียเพศผู้ในสวนสัตว์แต่ละเชือกพบว่าความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญในเชิงบวก ($p < 0.01$) โดยเมื่อระดับฮอร์โมนคอร์ทิโคสเทอโรนสูงขึ้น ระดับฮอร์โมนเทสโทสเทอโรนสูงขึ้นตามตลอดช่วงการศึกษา สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Brown *et al*. (2007) ที่รายงานว่าความสัมพันธ์ทางสถิติระหว่างฮอร์โมนคอร์ทิโคสเทอโรนและฮอร์โมนเทสโทสเทอโรนของช้างเอเชียและช้างแอฟริกาในคอกเลี้ยงมีความสัมพันธ์กันในเชิงบวก โดยปัจจัยที่ส่งผลให้ฮอร์โมนทั้งสองชนิดนี้มีความสัมพันธ์กันในเชิงบวกอาจเกิดจากสภาพแวดล้อมแบบคอกเลี้ยงที่ส่งผลให้ช้างมีระดับฮอร์โมนความเครียดเพิ่มขึ้นแตกต่างกับช้างที่อยู่ตามธรรมชาติ ซึ่งอาจส่งผลให้ช้างมีพฤติกรรมก้าวร้าวจากปัจจัยดังกล่าวจนช้างสามารถเกิดการตกมันร่วมด้วย และเมื่อตกมันช้างถูกแยกจากช้างเชือกอื่นและถูกล่ามไว้ในบริเวณหนึ่งทำให้ช้างไม่สามารถเคลื่อนที่ไปบริเวณอื่นได้ ซึ่งอาจส่งผลให้แสดงพฤติกรรมการทำซ้ำออกมาจนส่งผลให้มีระดับฮอร์โมนความเครียดสูงขึ้น

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาครั้งนี้สามารถตรวจวัดระดับฮอร์โมนคอร์ทิโคสเทอโรนและฮอร์โมนเทสโทสเทอโรนจากตัวอย่างมูล เป็นวิธีที่เหมาะสมกับช้างในสวนสัตว์และในคอกเลี้ยง เพื่อนำมาใช้ในการประเมินสภาวะความเครียดที่เกิดขึ้นที่อาจส่งผลต่อการสืบพันธุ์ รวมถึงทำให้เพาะขยายพันธุ์ได้ยากสำหรับช้างที่อยู่ในสภาพแวดล้อมดังกล่าว นอกจากนี้การศึกษาครั้งนี้สามารถนำไปใช้เป็นแนวทางในการวางแผนปรับปรุงสภาพแวดล้อมในคอกเลี้ยงและส่วนแสดงของช้างเอเชียใน

สวนสัตว์เปิดเขาเขียว รวมทั้งสามารถใช้ประโยชน์เพื่อเป็นแนวทางในการส่งเสริมพฤติกรรมของช้างเพื่อสนับสนุนให้ช้างมีสุขภาพและสวัสดิภาพให้ดีขึ้นต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณฝ่ายอนุรักษ์ วิจัย และสุขภาพสัตว์ ณ สวนสัตว์เปิดเขาเขียว และภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่อำนวยความสะดวกในระหว่างการศึกษาและสนับสนุนการทำวิจัย และงานวิจัยนี้ได้ผ่านการพิจารณาจากคณะกรรมการกำกับดูแลการดำเนินการต่อสัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา รหัสโครงการ IACUC 007/2567

เอกสารอ้างอิง

Bansiddhi, P., Brown, J. L., Thitaram, C., Punyapornwithaya, V., Somgrid, C., Edwards, K. L., and Nganvongpanit, K. (2018). Changing trends in elephant camp management in northern Thailand and implications for welfare. **PeerJ** 6: e5996.

Brown, J. L., Bellem, A. C., Fouraker, M., Wildt, D. E. and 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): 463–486.

Brown, J. L., Somerville, M., Riddle, H. S., Keele, M., Duer, C. K. and Freeman, E. W. (2007). Comparative endocrinology of testicular, adrenal, and thyroid function in captive Asian and African elephant bulls. **General and Comparative Endocrinology** 151(2): 153–162.

Brown, J. L., Walker, S., and Steinman, K. (2005). **Endocrine Manual for the Reproductive Assessment of Domestic and Non–Domestic Species**. Endocrine Laboratory. Conversation and Research Center Smithsonian's National Zoological Park, Virginia. Retrieved from https://www.researchgate.net/profile/Danielle-Dillon-2/post/Does-anyone-know-where-I-can-get-an-RIA-kit-to-test-for-progesterone-in-fecal-samples-from-female-elk/attachment/59d6461c79197b80779a127d/AS%3A456343212564480%401485812108365/download/endo_manual_smithsonian_NZP.pdf, July 17, 2024.

Carmen, B. C. (2012). **Serum and Fecal Cortisol Concentrations during the Annual Musth Cycle of Asian Elephant (*Elephas maximus*) Bulls.** Doctoral thesis, Utrecht University.

Cote, J., Clobert, J., Meylan, S., and Fitze, P. S. (2006). Experimental enhancement of corticosterone levels positively affects subsequent male survival. **Hormones and Behavior** 49(3): 320–327.

Fink, L. B., Mukobi, A., Gruber, L., Reed, C., DeLibero, J., Jackson, S., Neill, S., Walz, J., Sines, C., VanBeek, B., Scalata, C. D., and Wielebnowski, N. (2022). Longitudinal analysis of variability in fecal glucocorticoid metabolite concentrations in three

orangutans (*Pongo pygmaeus pygmaeus* and *Pongo pygmaeus abelii*) before, during, and after transition from a regular habitat environment to temporary housing in indoor holding facilities. **Animals** 12(23): 3303.

Ghosal, R., Ganswindt, A., Seshagiri, P. B., and Sukumar, R. (2013). Endocrine correlates of musth in free–ranging asian elephants (*Elephas maximus*) determined by non–invasive faecal steroid hormone metabolite measurements. **PLOS ONE** 8(12): e84787.

Glaeser, S. S., Edwards, K. L., Paris, S., Scalata, C., Lee, B., Wielebnowski, N., Finnell, S., Somgrid, C., and Brown, J. L. (2022). Characterization of longitudinal testosterone, cortisol, and musth in male Asian elephants (*Elephas maximus*), effects of aging, and adrenal responses to social changes and health events. **Animals** 12(10): 1332.

Greco, B. J., Meehan, C. L., Heinsius, J. l., and Mench, J. A. (2017). Why pace? The influence of social, housing, management, life history, and demographic characteristics on locomotor stereotypy in zoo elephants. **Applied Animal Behaviour Science** 194: 104–111.

IUCN Red List. (2019). **Asian Elephants**. Retrieved from https://www.iucnredlist.org/species/7140/45818198, September 10, 2023.

Jainudeen, M. R., Katongole, C. B., and Short, R. V. (1972). Plasma testosterone levels in relation to musth and sexual activity in the male Asiatic elephant, *Elephas maximus*. **Journal of Reproduction and Fertility** 29(1): 99–103.

Kajaysri, J., and Nokkaew, W. (2014). Assessment of pregnancy status of Asian elephants (*Elephas maximus*) by measurement of progestagen and glucocorticoid and their metabolite concentrations in serum and feces, using enzyme immunoassay (EIA). **The Journal of Veterinary Medical Science** 76(3): 363–368.

Kumar, V., Pradheeps, M., Kokkiligadda, A., Niyogi, R., and Umapathy, G. (2019). Non–invasive assessment of physiological stress in captive Asian elephants. **Animal** 9: 553.

Leistner, C., and Menke, A. (2020). Hypothalamic–pituitary–adrenal axis and stress. **Handbook of Clinical Neurology** 175: 55–64.

Millspaugh, J. J., Burke, T., van Dyk, G., Slotow, R., Washburn, B. E., and Woods, R. J. (2007). Stress response of working Africa elephants to transportation and Safari adventures. **The Journal of Wildlife Management** 71(4): 1257–1260.

Palme, R. (2005). Measuring fecal steroids guidelines for practical application. **Annals of the New York Academy of Sciences** 1046: 75–80.

Sapolsky, R. M., Romeo, L. M., and Munck, A. U. (2000). How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. **Endocrine Reviews** 21(1): 55–89.

Squires, J. (2010). **Applied Animal Endocrinology**. 2nd ed. Massachusetts: CABI North American Office. pp. 247–258.

Xiong, X., Wu, Q., Zhang, L., Gao, S., Li, R., Han, L., Fan, M., Wang, M., Liu, L., Wang, X., Zhang, C., Xin, Y., Li, Z., Huang, C., and Yang, J. (2022). Chronic stress inhibits testosterone synthesis in Leydig cells through mitochondrial damage via Atp5a. **Journal of Cellular and Molecular Medicine** 26(2): 354–363.

Yon, L., Chen, J., Moran, P., and Lasly, B. (2008). An analysis of the androgens of musth in the Asian bull (*Elephas maximus*). **General and Comparative Endocrinology** 155(1): 109–115.