

กรณีศึกษา: ผลของการส่งเสริมคุณภาพชีวิต และความสัมพันธ์ของระดับฮอร์โมนความเครียดกับฮอร์โมนเพศในช้างเอเชียเพศผู้ที่ตกมันและไม่ตกมัน ในสภาพเพาะเลี้ยงของสวนสัตว์เปิดเขาเขียว

Case study: Effects of enrichment and the relationship of corticosterone and testosterone levels in Asian elephants (musth and non-musth) in captive of the Khao Kheow Open Zoo.

สุปราณี จันทร์เมืองไทย, ยลดา แต่งภูเขียว, อุไรวรรณ ราชยา และ ชัยณรงค์ ปั่นคง
Supranee Chanmueangthai, Yollada Taengphukhieo, Uraiwan Ratchaya
and Chainarong Punkong.

สวนสัตว์เปิดเขาเขียว ฝ่ายอนุรักษ์ วิจัย และสุขภาพสัตว์
235 หมู่ 7 ตำบล. บางพระ อำเภอบึงสามพัน จังหวัด. ชลบุรี 20110
E-mail.com. tukkata.0511@gmail.com

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของการส่งเสริมคุณภาพชีวิตในช้างด้วยการจัดการทางด้านอาหารและการใช้ประโยชน์ได้จากน้ำ และความสัมพันธ์ของระดับฮอร์โมนความเครียดกับฮอร์โมนเพศทั้งที่เป็นเชิงบวกหรือเชิงลบในช้างเอเชียเพศผู้ที่ตกมันและไม่ตกมัน ในสภาพการเพาะเลี้ยงของสวนสัตว์เปิดเขาเขียว มีวัตถุประสงค์เพื่อหาความสัมพันธ์และความแตกต่างของระดับฮอร์โมนคอร์ติโคสเตอโรนเมตะบอลิซึมและเทสโทสเตอโรนเมตะบอลิซึมที่สกัดจากมูล ระหว่างช้างที่ตกมันและไม่ตกมันร่วมกับการศึกษาเปรียบเทียบพฤติกรรม ปริมาณฮอร์โมนทั้งก่อนและระหว่างการส่งเสริมคุณภาพชีวิตให้กับช้าง โดยทำการศึกษาในกลุ่มประชากรช้างเอเชียเพศผู้ที่มีการตกมัน (ในระยะหย่า) และไม่ตกมัน จำนวน 1 และ 2 ตัว ตามลำดับของสวนสัตว์เปิดเขาเขียว ระหว่างวันที่ 22 มกราคม ถึง 24 มีนาคม 2560 ตรวจวิเคราะห์ปริมาณสเตียรอยด์ฮอร์โมนจากมูลด้วยวิธีการแบบแอนติบอดีสองตัว (Double antibody EIA) และศึกษาพฤติกรรมทั่วไปรวมถึงพฤติกรรมซ้ำๆ ที่เป็นสเตอริโอไทป์ (Stereotype) ด้วยวิธีการศึกษาพฤติกรรมแบบเป็นรายตัว (Focal scan) และวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติด้วยวิธีการแบบ T-test และ ANOVA ผลจากการศึกษาพบว่าค่าเฉลี่ยปริมาณฮอร์โมนคอร์ติโคสเตอโรนและเทสโทสเตอโรนระหว่างช้างที่ตกมัน (อยู่ในระยะหย่าๆ ของการตกมัน) กับช้างที่ไม่ตกมันแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) โดยช้าง “พลายเปี้ยก” (ตกมันในระยะหย่า) มีระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนสูงสุด ค่าเฉลี่ยปริมาณฮอร์โมนคอร์ติโคสเตอโรนและเทสโทสเตอโรนของช้างเพศผู้ตลอดระยะเวลาของการศึกษามีค่าเฉลี่ยเท่ากับ (Mean±SD) 0.69 ± 0.40 นาโนกรัมและ 603.18 ± 353.91 พิโคกรัมต่อกรัมของมูลแห้งตามลำดับ ทั้งนี้เมื่อทดสอบความสัมพันธ์ทางสถิติระหว่างฮอร์โมนคอร์ติโคสเตอโรนและเทสโทสเตอโรนตลอดระยะเวลาการศึกษาในช้างเพศผู้ทั้งหมด ด้วยวิธีการทางสถิติแบบ Correlation Pearson Two-tailed พบว่ามีความสัมพันธ์กันในเชิงบวก เมื่อเปรียบเทียบการแสดงออกทางพฤติกรรมระหว่างช่วงก่อนการส่งเสริมคุณภาพชีวิตกับช่วงที่มีการส่งเสริมคุณภาพชีวิตด้วยอาหารและการจัดการกรงเลี้ยงพบการลดลงของพฤติกรรมที่เป็นสเตอริโอไทป์ (Stereotype) ของช้างที่อยู่ในสภาพการเพาะเลี้ยง (จาก 48.96% เหลือ 27.08% ของพฤติกรรมทั้งหมดในรอบวัน) นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของระดับฮอร์โมนคอร์ติโคสเตอโรนในช่วงก่อนและระหว่างการส่งเสริมคุณภาพชีวิตพบว่าแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ซึ่งมีแนวโน้มถึงการไม่มีความสัมพันธ์เชิงบวกของระดับฮอร์โมนคอร์ติโคสเตอโรนกับการแสดงพฤติกรรมซ้ำๆ ที่เป็นสเตอริโอไทป์ อย่างไรก็ตามจากการศึกษานี้สามารถแสดงได้ว่าการส่งเสริมคุณภาพชีวิตสามารถลดการแสดงพฤติกรรมซ้ำๆ ที่เป็นสเตอริโอไทป์ (Stereotype) ของช้างเลี้ยงที่อยู่ในสภาพการเพาะเลี้ยงได้ ซึ่งสามารถนำการศึกษาในรูปแบบดังกล่าวนี้ไปประยุกต์ใช้ในการพัฒนาการจัดการกรงเลี้ยงให้ช้างมีสวัสดิภาพและคุณภาพชีวิตที่ดีต่อไปได้

คำสำคัญ: ช้าง คอร์ติโคสเตอโรน เทสโทสเตอโรน สเตอริโอไทป์ พฤติกรรม

Abstract

Study on the effect of enrichment in male elephant during musth period by use diets management and water utilization. And the relationship of stress hormone and sex hormone level, both positive or negative correlation in male elephants of the Khao Kheow Open Zoo. In this study aimed to investigate the relationship and differences of corticosterone metabolites and testosterone metabolites level between musth and non-musth elephants, with the comparative study of behaviors and hormonal level in before and after enrichments. The study was conducted in 3 male of Asian elephants (musth=1 and non-musth=2) of the Khao Kheow Open Zoo, during 22nd January 2017 to 25th March 2017. Data about enclosure management, nutritional, focal animal behavior sampling, and fecal hormonal metabolites concentration were recorded by use two antibody EIA techniques. Statistical analysis was done on T-Test, ANOVA and Correlation Pearson Two-tailed. The results of the study showed that the average concentration of fecal corticosterone and testosterone between the elephants during musth (near the end of musth periods) vs. non-musth were none significant differences ($P>0.05$), however an average in testosterone concentration during musth to be seem higher than non-musth of these elephants. Overall concentrations of fecal corticosterone and testosterone in this study averaged (Mean \pm SD) 0.69 ± 0.40 ng/g and 603.18 ± 353.91 pg/g of dry feces, respectively. From the study of correlation between fecal corticosterone and testosterone in three males found that, there was positive correlation between corticosterone and testosterone concentration. From the study about enrichment program found that the promoting of enrichment in this study can reduce the stereotypic behaviors of Asian elephant by decreased significantly from 48.96 % in frequency on beginning the enrichments program became to 27.08 % in after enrichment program. The comparison of corticosterone hormone in elephant showed no significant different ($P>0.05$) between before and after add enrichment program, from this showed that there was a tendency for no positive correlation between fecal corticosterone and stereotype behavior in this study. However, this study demonstrate that promoting of enrichment can reduce the stereotype behavior in captive of Asian elephants and this study can be applied to develop cage management to provide welfare to be appropriate in future.

Keywords: Elephants Corticosterone Testosterone Stereotype behaviors

1. บทนำ (Introduction)

ช้างเอเชีย (*Elephas maximus*) เป็นสัตว์บกเลี้ยงลูกด้วยนมที่มีขนาดใหญ่ที่สุดในโลก รองจากช้างแอฟริกา ในสมัยก่อนมนุษย์มักเลี้ยงไว้เพื่อใช้งานในประเภทต่างๆ เช่น ใช้เป็นพาหนะ ลากซุง รวมไปถึงการทำสงคราม และช้างยังเป็นราชาพาหนะของพระมหากษัตริย์อีกด้วย ช้างเอเชียจัดอยู่ในกลุ่มสัตว์ใกล้สูญพันธุ์ (endangered species) ในบัญชีหมายเลขหนึ่งของไซเตส (CITES) ตั้งแต่ปี ค.ศ. 1973 (Kajaysri *et al.*, 2013) ปัจจุบันจำนวนประชากรช้างเอเชียโดยทั่วไปยังมีแนวโน้มลดลงต่อเนื่องโดยมีสาเหตุมาจากการถูกล่าเพื่อเอางา งวง หาง อวัยวะเพศของช้างตัวผู้ การเกิดอุบัติเหตุต่างๆ การลักลอบล่าเพื่อเอาลูกช้าง และการทำลายป่าไม้เพื่อขยายพื้นที่เกษตรกรรม เป็นต้น สำหรับประชากรที่อยู่ในสถานะเป็นสัตว์เลี้ยงหรือได้รับการดูแลโดยมนุษย์เช่น ช้างที่อยู่ในสภาพการเพาะเลี้ยงตามสถานเพาะเลี้ยง สวนสัตว์ หรือปางช้างต่างๆ ก็มีแนวโน้มลดจำนวนลงเช่นกัน ปัจจุบันจึงพบว่าประชากรช้างในธรรมชาติอยู่บนขอบเหวของการมีแนวโน้มที่จะสูญพันธุ์ (Thitaram *et al.*, 2008) สวนสัตว์เปิดเขาเขียวซึ่งตระหนักถึงความสำคัญในการขยายเพาะพันธุ์ช้างเอเชีย จึงมีการพัฒนากระบวนการอนุรักษ์และการขยายพันธุ์ด้วยการใช้เทคนิคต่างๆ รวมถึงการผสมเทียมซึ่งมักพบว่ามีการวิจัยหลายอย่างที่ทำให้การเพาะขยายพันธุ์ประสบความสำเร็จได้ยาก ไม่ว่าจะเป็นภาวะความไม่สมบูรณ์พันธุ์ การไม่สามารถจับคู่ได้ การไม่สามารถเลี้ยงช้างเพศผู้รวมกันในพื้นที่เดียวในจำนวนมากๆ ได้ น้ำเชื้อที่รีดได้เพื่อการผสมเทียมมีคุณภาพที่ไม่เอื้อต่อการเก็บรักษา การแบ่งแยกกลุ่มประชากร และภาวะความเครียดจากสภาพแวดล้อมในพื้นที่เลี้ยงทำให้การเพาะขยายพันธุ์เป็นไปได้ยาก สวนสัตว์เปิดเขาเขียวเป็นส่วนงานหนึ่งที่มีการริเริ่มศึกษาปัจจัยที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับการขยายพันธุ์ช้าง เช่น การศึกษาวงรอบการสืบพันธุ์ การรีดน้ำเชื้อ การใช้เทคโนโลยีช่วยทางการสืบพันธุ์ และการตรวจวัดปริมาณฮอร์โมนต่างๆ ที่รวมถึงฮอร์โมนความเครียดโดยอาศัย

หลักการที่ว่าเมื่อช้าง (หรือสัตว์ป่า) เมื่อมีความเครียดคงอยู่ในระดับสูงจนเกิดเป็นความเครียดเรื้อรัง (Chronic stress) จะส่งผลถึงการทำงานของระดับฮอร์โมนเพศ และพฤติกรรมที่แสดงออกมาที่ไม่เป็นไปตามปกติ ทั้งนี้ในส่วนของช้างเพศผู้อาจจะมีผลต่อคุณภาพน้ำเชื้อที่ใช้ในการผสมเทียมและคุณภาพชีวิตที่ไม่เป็นตามหลักสวัสดิภาพได้เป็นต้น โดยเฉพาะในช้างที่อยู่ในช่วงของการตกมัน (Musth) ที่อาจพบว่าความถี่ของช้างมักต้องแยกเลี้ยงจากช้างตัวอื่นๆ เพื่อลดปัญหาการแย่งอาหาร การต่อสู้ระหว่างช้างเพศผู้ที่อาจเกิดขึ้นได้ ซึ่งการต้องถูกแยกออกจากช้างเชือกอื่นๆ การเข้าถึงแหล่งอาหาร พร้อมทั้งการจำกัดบริเวณ เพื่อประโยชน์ด้านต่างๆ ช้างต้น รวมถึงเพื่อให้การตกมันเป็นไปในช่วงเวลาที่สั้นลง หรือลดกระทบที่จะมีต่อช้างและบุคคลอื่นๆ เป็นต้น ซึ่งจากการรวบรวมรายงานต่างๆ พบว่าช้างเลี้ยงที่ได้รับอาหารที่น้อยกว่าปกติ การถูกแยกจากสมาชิกตัวอื่นๆ และอยู่ในพื้นที่จำกัดเป็นเวลานาน มักจะแสดงพฤติกรรมซ้ำๆ ที่เป็น สเตอริโอไทป์ (Stereotype) โดยเป็นผลมาจากข้อจำกัดของการจัดการกรงเลี้ยง ซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อคุณภาพชีวิต ความสมบูรณ์พันธุ์ และอื่นๆ การศึกษานี้จึงมีแนวคิดในการลดผลกระทบด้วยการส่งเสริมคุณภาพชีวิตสัตว์ เช่น การเพิ่มความหลากหลายของชนิดอาหาร การจัดการกรงเลี้ยงที่ทำให้ช้างสามารถเข้าถึงการใช้ประโยชน์จากแหล่งน้ำ หรือใช้น้ำในการลดผลกระทบจากสภาพอากาศร้อนได้ โดยทำการศึกษาความแตกต่างของระดับฮอร์โมนความเครียดและฮอร์โมนเพศระหว่างช้างที่ตกมันและไม่ตกมันร่วมกับการศึกษาพฤติกรรมทั้งก่อนและระหว่างการส่งเสริมพฤติกรรม

นอกจากนี้การศึกษานี้จะเป็นการศึกษาความสัมพันธ์ของระดับฮอร์โมนความเครียดกลุ่ม Glucocorticoids (GCs) และระดับฮอร์โมนเพศ (sex hormone) ด้วยการตรวจวิเคราะห์และติดตามการเปลี่ยนแปลงของสเตียรอยด์ฮอร์โมนในตัวอย่างมูลสัตว์ที่ถูกเมตาบอไลต์ (Metabolites) และขับถ่ายออกมา ซึ่งจะเรียกฮอร์โมนแบบนี้โดยรวมว่า “สเตียรอยด์ เมตาบอไลต์” (Steroids metabolites) จากกระบวนการตรวจแบบ Two antibody EIA โดยจัดเป็นการศึกษาแบบไม่ทำการจับบังคับหรือรบกวนตัวสัตว์ (Non-invasive methods) ที่เหมาะสมกับสัตว์ป่าที่อยู่ในสภาพของการเพาะเลี้ยง ทั้งนี้การศึกษาในรูปแบบดังกล่าวยังไม่เป็นที่แพร่หลายมากนักในประเทศไทยและภูมิภาคนี้ โดยในประเทศไทยพบเพียงรายงานการศึกษาของ Camen (2011) ที่ทำการศึกษาเปรียบเทียบระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลและเทสโทสเทอโรนของช้างเพศผู้ตกมันโดยใช้ตัวอย่างเลือดและมูล อย่างไรก็ตามการศึกษาดังกล่าวยังไม่ได้ทำการศึกษาพฤติกรรมและการส่งเสริมคุณภาพชีวิตร่วมด้วย รวมถึงมีการศึกษาปริมาณฮอร์โมนในกลุ่มกลูโคคอร์ติคอยด์ คือคอร์ติซอลในมูลช้าง ซึ่งตามปกติคอร์ติซอลสามารถทำการตรวจวัดได้ดีในซีรัมเลือด มากกว่าในมูลที่มีคอร์ติโคสเตอโรนเป็นอนุพันธ์หลักในกลุ่มกลูโคคอร์ติคอยด์ และมีการเก็บตัวอย่างพร้อมทั้งการตรวจวิเคราะห์ที่แตกต่างจากการศึกษานี้

ทั้งนี้ข้อมูลพฤติกรรมต่างๆ ที่มีสภาพแวดล้อมและระดับฮอร์โมนเป็นตัวกำหนด รวมถึงการจัดการในคอกกักช้างเชือกอื่นๆ ด้วย โดยการศึกษานี้จะเป็นการศึกษาแรกที่ทำการศึกษาปริมาณฮอร์โมนร่วมกับการพัฒนาการจัดการกรงเลี้ยง เพื่อเพิ่มศักยภาพในการเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์ในเชิงวิชาการและใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการบริหารจัดการ อันจะเป็นประโยชน์ในการนำไปประยุกต์ใช้พัฒนาวางแผนในการจัดการกรงเลี้ยงได้อย่างเหมาะสมต่อการอนุรักษ์ช้างให้ได้มีคุณภาพชีวิตที่ดี สามารถเอื้อต่อการเพิ่มจำนวนประชากรในสภาพการเพาะขยายพันธุ์ได้ อันเป็นการส่งเสริมการอนุรักษ์ได้อย่างยั่งยืนต่อไป

2. วิธีการศึกษา (Research Methodology)

2.1 ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา

- ช้างเพศผู้ พลายเปี้ยก (Piak) อายุ 42 ปี
- ช้างเพศผู้ พลายบิลลี่ (Billy) อายุ 27 ปี
- ช้างเพศผู้ สีดอมงคล (Mongkol) อายุ 29 ปี



ภาพที่ 1. ช้างที่ใช้ในการศึกษา (ก) พลายเปี้ยก (ข) พลายบิลลี่ (ค) สีดอมงคล ตามลำดับ

2.2 วัสดุ อุปกรณ์สำหรับการศึกษา

1. อาหารสำหรับเลี้ยงและพัฒนาคุณภาพชีวิตด้านอาหารของช้างได้แก่ อ้อย สับประรด ข้าวโพด แครอท กกล้วย หญ้า หวาน เย็นผลไม้ และอื่นๆ
2. นาฬิกาจับเวลา
3. สมุดและอุปกรณ์เครื่องเขียนสำหรับจดบันทึก
4. สายยางฉีดน้ำ

2.3 วัสดุ อุปกรณ์ สารเคมีสำหรับการตรวจวัดปริมาณฮอร์โมน

1. Goat anti-Rabbit IgG, Fc protion (at 4 °c)
2. Coating Buffer, 20x (at RT)
3. Tween Blocking Buffer, 10x (at RT)
4. Clear High-Binding, 96 well Microtiter Plate
5. Assay reagent and Dilution Buffer
6. Anti-HRP, STD Cortcosterone and Anti-HRP, STD Testosterone
7. Wash solution
8. TMB substrate
9. Scintillation Vials, Pipette, repeater pipette and Tips
10. Other (Plate reader, Wash machine and Vortex)

2.4 วิธีการศึกษา (Methods)

2.4.1 การศึกษาปริมาณฮอร์โมน

เก็บตัวอย่างมูลช้าง (Fecal Collection) เก็บตัวอย่างมูลช้างเพศผู้ ก่อนและระหว่างการส่งเสริมโภชนาการ เลือกเก็บแต่ตัวอย่างมูลที่มีลักษณะสดใหม่ ไม่แห้ง มูลที่ได้จะนำไปตรวจวัดระดับฮอร์โมนเพศและคอร์ติโคสเตอโรนต่อไป (ดัดแปลงจาก Toni, 2005)

เก็บรักษาตัวอย่างหรือทำให้แห้ง (Preservation with Freezing or Drying) ทำการเก็บรักษาตัวอย่างไว้ในกล่องที่บดแสงที่มีฝาปิดเพื่อป้องกันไม่ให้ตัวอย่างสัมผัสกับความชื้นหรือแสง จากนั้นนำไปเก็บไว้ในตู้แช่อุณหภูมิลบ 20 องศาเซลเซียส เพื่อเก็บรักษาสภาพของมูลช้างจากแบคทีเรีย และเป็นการป้องกันไม่ให้สเตรอยด์มีการเปลี่ยนแปลงสภาพ

การสกัดสเตียรอยด์ฮอร์โมนจากมูลสัตว์ (Fecal Extraction) สกัดฮอร์โมนออกจากตัวอย่างมูลแห้งหนัก 0.1กรัม ด้วยวิธีการสกัดแบบ Boiling method with alcohol.

กระบวนการตรวจวิเคราะห์ฮอร์โมน(Hormonal Assays)

1. นำเพลทที่เคลือบผิวเพลท (Coating) ไว้ก่อนแล้วด้วย Goat anti-Rabbit ที่เก็บไว้ในตู้เย็นมาวางไว้ในตู้เย็นที่มีอุณหภูมิห้อง
2. เตรียมสารละลายมาตรฐาน
 - เตรียมสารละลายมาตรฐาน ที่ระดับความเข้มข้น 1000, 500, 250, 125, 62.5, 31.25, 15.6, 7.8 และ 3.9 พิโคกรัม/หลุม (pg/well) สำหรับ Corticosterone และ 600, 300, 150, 75, 37.5, 18.75, 9.37, 4.68, และ 2.34 พิโคกรัม/หลุม สำหรับ Testosterone* โดย 1 well มีค่าเท่ากับ 50 ไมโครลิตร
 - เจือจางสารละลายมาตรฐาน จากสารละลายมาตรฐาน Corticosterone และ Testosterone ที่มีความเข้มข้น 20 นาโนกรัม และ 12 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร (ng/ml) ตามลำดับ ที่เก็บไว้ในตู้แช่แข็ง -20 °C โดยการทำเจือจาง แบบ 2 เท่า (2-fold) ด้วยการผสม 200 ไมโครลิตรสารละลายมาตรฐาน กับ A2 เอสเซย์บัฟเฟอร์ (A2 Assay buffer) 200 ไมโครลิตรผสมให้เข้ากันดี
3. ตัวอย่างและสารละลายควบคุม (sample/controls)
 - เจือจางสารละลายตัวอย่างใน A2 เอสเซย์บัฟเฟอร์ (A2 Assay buffer) หรือสารละลายเจือจาง (dilution buffer) ตามอัตราส่วนการเจือจางที่เหมาะสม

- เตรียมสารละลายควบคุมความเข้มข้นสูงและต่ำ (High and Low control; C1 และ C2) ในแอสเซย์บัฟเฟอร์ (A2 Assay buffer)

4. เตรียมสารละลายฮอร์โมนคอนจูเกต (HRP)

- เตรียมสารละลาย HRP ในอัตราส่วนการเจือจางที่พร้อมใช้ (working dilution) วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง
 - Corticosterone ที่ความเข้มข้น 1:185,000
 - Testosterone ที่ความเข้มข้น 1:100,000
- คูตสารละลาย HRP ที่เตรียมไว้ (1:185,000) ปริมาตร 16.30 ไมโครลิตร และคูตสารละลาย HRP ที่เตรียมไว้ (1:100,000) ปริมาตร 30.30 ไมโครลิตร ลงในแอสเซย์บัฟเฟอร์ (A2 Assay buffer) ที่เตรียมไว้ 3 มิลลิลิตร

5. เตรียมสารละลายแอนติบอดี (Antibody)

- เจือจางแอนติบอดีที่เตรียมและเก็บไว้ในตู้แช่แข็ง (1:1,000) ในอัตราส่วนที่พร้อมใช้ (working dilution) ที่ความเข้มข้น 1: 85,000 และ 1:55,000 วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง
 - คูตสารละลาย Ab เตรียมเป็น 1: 85,000 ปริมาตร 34.71 ไมโครลิตร และคูตสารละลาย Ab เตรียม 1:55,000 ปริมาตร 55.56 ไมโครลิตร ลงในแอสเซย์บัฟเฟอร์ (A2 Assay buffer) ที่เตรียมไว้ 3 มิลลิลิตร

6. การหยดสารต่างๆ ลงในเพลท (Plate loading)

- ใช้ไปเปิดแบบ 1 ช่อง (single-channel pipet) หยดสารละลายมาตรฐาน (standards) สารละลายควบคุม (controls) และตัวอย่างที่ต้องการตรวจ (samples) ลงในหลุมแบบ 2 ซ้ำ ตามตำแหน่งในเพลทที่กำหนดไว้ หลุมละ 50 ไมโครลิตรด้วยความรวดเร็วและแม่นยำ
 - ใช้ repeater หยดสารละลาย HRP (hormone conjugate) ลงในแต่ละหลุมหลุมละ 25 ไมโครลิตร
 - หยดสารละลายแอนติบอดีตัวแรก (primary antibody) ลงไปในแต่ละหลุม (ยกเว้นหลุม NSB; A1 และ B1) หลุมละ 25ul

- เคาะเพลทเบาๆ ทางด้านข้างๆ ของเพลท เพื่อให้มั่นใจว่าสารละลายต่างๆ ได้เข้าไปรวมตัวอยู่ในหลุมทั้งหมด
- ปิดเพลทด้วยแผ่นปิด (plate sealer) และเขียนระบุช่วงเวลา จากนั้นนำเพลทไปวางบนเครื่องเขย่าเพลท ตั้งเวลาเขย่า 2 ชั่วโมง ที่ระดับอุณหภูมิห้อง ซึ่งหากไม่เขย่าจะทำให้การทำปฏิกิริยาเกิดขึ้นต่ำเพียง 45 เปอร์เซ็นต์

7. ล้างเพลท (Plate washing)

- เมื่อครบกำหนดการเขย่า นำเพลทไปเทหรือคูตสารละลายทิ้งแล้วล้างด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ล้างเพลท 5 รอบ ตบเพลทลงบนกระดาษซับให้สะอาด

8. หยดสารละลายซับสเตรท (TMB) และการหยุดปฏิกิริยา (Stop)

- ตีสารละลาย Moss TMB 100 ไมโครลิตรลงไปในแต่ละหลุม (ใช้ repeater pipet) ปิดเพลทด้วยแผ่นปิด วางพักไว้ที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 1 ชั่วโมง) หรือทดสอบเบื้องต้นเมื่อออกสีฟ้าด้วยการนำไปอ่านเป็นค่า raw data ให้หลุม NSB มีค่าประมาณ 0.07 แล้วนำไปดำเนินการในขั้นตอนต่อไป

- หยุดปฏิกิริยาด้วยการหยดสารละลายกรด Stop ลงในทุกหลุมหลุมละ 50 ไมโครลิตร (ใช้ repeater pipet) เปลี่ยนสีจากฟ้าเป็นเหลือง

9. อ่านเพลท (Plate reading)

- อ่านเพลท (อ่านค่าความเข้มสี) ที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร ด้วยเครื่องอ่านเพลทโดยทันที

10. คำนวณค่าความเข้มข้นของปริมาณฮอร์โมนที่อ่านได้จากค่าความเข้มสีต่างๆ

- ค่า Optical density (ค่า OD) ของหลุม 0 ควรอ่านค่าได้ใกล้เคียง 1 (อยู่ในช่วง 0.7 ถึง 1)

2.4.2 การศึกษาพฤติกรรมช้าง

ศึกษาพฤติกรรมช้าง ด้วยวิธีการแบบ Focal scan sampling ตั้งแต่ช่วงเวลา 09.00-17.00 น. ก่อนและระหว่างการส่งเสริมพฤติกรรมสัตว์ ช่วงละจำนวน 3 ชั่วโมง

2.4.3 การส่งเสริมคุณภาพชีวิตช้าง

ส่งเสริมคุณภาพชีวิตข้างด้วยการจัดการทางด้านโภชนาการ โดยเพิ่มปริมาณอาหารจาก 2 % ของน้ำหนักตัวไปเป็นสูงกว่า 5% ของน้ำหนักตัวในแต่ละวัน และเพิ่มความหลากหลายของชนิดอาหาร ติดต่อกันนาน 1 เดือน รวมถึงการจัดการกรงเลี้ยง เช่นการใช้ประโยชน์ได้จากน้ำ การอาบน้ำให้ในช่วงอากาศร้อน เป็นต้น

2.4.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ ด้วยวิธีการแบบ One-Way ANOVA และ T-test และหาความสัมพันธ์ทางสถิติ (Correlation) ด้วยวิธีการแบบ Pearson Two-tailed

3. ผลการศึกษาและอภิปรายผล (Results and Discussion)

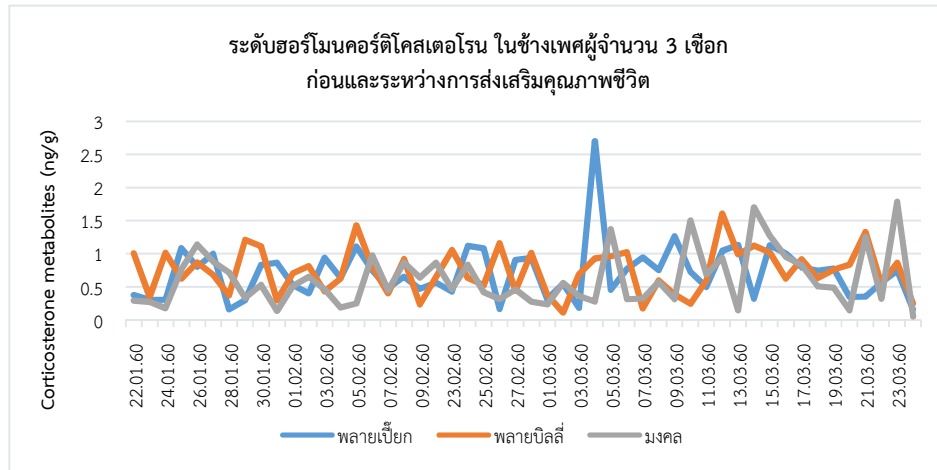
3.1 ผลการศึกษาปริมาณฮอร์โมนในช้างเอเชีย เพศผู้

จากการตรวจวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนคอร์ติโคสเตอโรนเมตะบอไลต์ (Corticosterone metabolite) และฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนเมตะบอไลต์ (Testosterone metabolite) ในมูลช้างเอเชียเพศผู้จำนวน 3 เชือกคือ ช้าง “พลายเปี้ยก” “พลายบิลลี่” และ “สีดอมงคล” ในจำนวนนี้เป็นช้างตกรัน จำนวน 1 เชือก คือ “พลายเปี้ยก” อีกจำนวน 2 เชือกยังไม่มีการตกรัน (ในช่วงที่ทำการศึกษา) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยปริมาณฮอร์โมนคอร์ติโคสเตอโรนหรือฮอร์โมนความเครียด และฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนที่เป็นฮอร์โมนเพศในช้างทั้งสองกลุ่ม รวมถึงก่อนและหลังการส่งเสริมคุณภาพชีวิตในช้างตกรันของสวนสัตว์เปิดเขาเขียว โดยวิธีการศึกษาแบบไม่จับบังคับหรือรบกวนตัวสัตว์ด้วยการตรวจวิเคราะห์ระดับความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติโคสเตอโรนและฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนในตัวอย่างมูล (feces) ระหว่างวันที่ 22 มกราคม 2560 ถึง 24 มีนาคม 2560 โดยเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยปริมาณฮอร์โมนคอร์ติโคสเตอโรนในช้างทั้ง 3 เชือก เปรียบเทียบระหว่างในช่วงก่อนการส่งเสริมพฤติกรรมในช้างที่มีการตกรัน (พลายเปี้ยก) กับช่วงที่มีการส่งเสริมพฤติกรรม พบว่าก่อนการส่งเสริมพฤติกรรมช้างมีฮอร์โมนคอร์ติโคสเตอโรนต่ำกว่าช่วงที่มีการส่งเสริมพฤติกรรมเล็กน้อย โดยมีค่าเฉลี่ยของฮอร์โมนคอร์ติโคสเตอโรน (Mean±SD) เท่ากับ 0.6283 และ 0.8297 นาโนกรัมต่อกรัมของมูลแห้ง (ng/g of dry feces) ตามลำดับ โดยช่วงก่อนและระหว่างการส่งเสริมคุณภาพชีวิตมีระดับฮอร์โมนคอร์ติโคสเตอโรนแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (P>0.05) แสดงดังตารางที่ 1.

ตารางที่ 1 แสดงผลการวิเคราะห์ทางสถิติเปรียบเทียบค่าปริมาณฮอร์โมนคอร์ติโคสเตอโรนก่อนและระหว่างการส่งเสริมพฤติกรรมในช้างที่มีการตกรัน

| Paired Sample Test | | | | | | | | |
|-----------------------|--------------------|----------------|-----------------|---|--------|--------|----|-----------------|
| | Paired Differences | | | | | t | df | Sig. (2-tailed) |
| | Mean | Std. Deviation | Std. Error Mean | 95% Confidence Interval of the Difference | | | | |
| | | | | Lower | Upper | | | |
| Pair 1 Before - After | -.20138 | .70366 | .15734 | -.53071 | .12794 | -1.280 | 19 | .216 |

ทั้งนี้เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของระดับฮอร์โมนคอร์ติโคสเตอโรนและเทสโทสเตอโรน ระหว่างช้างเพศผู้ที่ตกรันและไม่ตกรันตลอดระยะเวลาของการศึกษา ตั้งแต่วันที่ 2 มกราคม 2560 ถึง 24 มีนาคม 2560 พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ (P>0.05) โดยช้าง “พลายเปี้ยก” ที่มีอาการตกรันมีระดับความเข้มข้นของฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนเฉลี่ยทั้งหมด ((Mean±SD) เท่ากับ 656.12±391.10 นาโนกรัมต่อกรัมของมูลแห้ง (ng/g of dry feces) ซึ่งสูงที่สุด รองลงมาคือช้าง “สีดอมงคล” ที่มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 625.70±359.43 นาโนกรัมต่อกรัมของมูลแห้ง ส่วนช้าง “พลายบิลลี่” มีระดับความเข้มข้นของฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนเฉลี่ยทั้งหมดน้อยที่สุดเท่ากับ 527.72±299.21 นาโนกรัมต่อกรัมของมูลแห้ง ตามลำดับ ค่าเฉลี่ยของระดับความเข้มข้นฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนในช้างทั้ง 3 เชือกของสวนสัตว์เปิดเขาเขียว มีค่าเท่ากับ (Mean±SD) 603.18±353.91 นาโนกรัมต่อกรัมของมูลแห้ง มีค่าที่ตรวจวัดได้อยู่ระหว่าง 65.56-2,000.90 นาโนกรัมต่อกรัมของมูลแห้ง (ng/g of dry feces) (n = 150) แสดงดังภาพที่ 2-3 และตารางที่ 2-3



ภาพที่ 2 แสดงแบบแผนการเปลี่ยนแปลงของระดับฮอร์โมนคอร์ติโคสเตอโรน (Stress hormone: Corticosterone) ในขี้างเพศผู้จำนวน 3 เชือก ก่อนและระหว่างจากการส่งเสริมคุณภาพชีวิต

ตารางที่ 2 แสดงระดับฮอร์โมนคอร์ติโคสเตอโรน (Corticosterone) เฉลี่ยจากตัวอย่างมูลของขี้างเพศผู้ 3 เชือก ทั้งก่อนและระหว่างส่งเสริมคุณภาพชีวิตในขี้างตมมัน

| ชื่อสัตว์ (Name of individuals) | ค่าเฉลี่ยปริมาณคอร์ติโคสเตอโรน(ng/g of dry feces) | |
|------------------------------------|---|------------------------|
| | จำนวน (N) | Mean±SD |
| ขี้างพลายเปี้ยก | 50 | 0.71±0.42 ^a |
| ขี้างพลายบิลลี่ | 50 | 0.74±0.34 ^a |
| มงคล | 50 | 0.62±0.42 ^a |
| รวม/เฉลี่ย | 150 | 0.69±0.40 |

^a แสดงความเหมือนหรือความแตกต่างทางสถิติ ด้วยวิธีการแบบ LSD และ Duncan's ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ภาพที่ 3 แสดงแบบแผนการเปลี่ยนแปลงของระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน (Sex hormone : Testosterone) ในขี้างเพศผู้จำนวน 3 เชือก (ตมมันและไม่ตมมัน)

ตารางที่ 3 แสดงฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน (Testosterone) เฉลี่ย ในตัวอย่างมูลของช้างเพศผู้ 3 เชือก ทั้งก่อน และระหว่างส่งเสริมคุณภาพชีวิตในช้างตมมัน

| ชื่อสัตว์ (Name of individuals) | ค่าเฉลี่ยปริมาณเทสโทสเตอโรน(pg/g of dry feces) | |
|------------------------------------|--|----------------------------|
| | จำนวน (N) | Mean±SD |
| ช้างพลายเปี้ยก | 50 | 656.12±391.10 ^a |
| ช้างพลายบิลลี่ | 50 | 527.72±299.21 ^a |
| ช้างมงคล | 50 | 625.70±359.43 ^a |
| รวม/เฉลี่ย | 150 | 603.18±353.91 |

^a แสดงความเหมือนหรือความแตกต่างทางสถิติ ด้วยวิธีการแบบ LSD และ Duncan's ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

สำหรับค่าระดับความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติโคสเตอโรนในช้างเพศผู้ทั้ง 3 เชือกคือ ช้าง “พลายเปี้ยก” “พลายบิลลี่” และ “มงคล” เฉลี่ยเท่ากับ 0.71 ± 0.42 , 0.74 ± 0.34 และ 0.62 ± 0.42 นาโนกรัมต่อกรัมของมูลแห้ง (ng/g of dry feces) ตามลำดับซึ่งแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ระหว่างระดับฮอร์โมนคอร์ติโคสเตอโรนของช้างที่ตมมัน (พลายเปี้ยก) กับช้างที่ไม่ตมมัน (พลายบิลลี่ และมงคล) ค่าเฉลี่ยโดยรวมของคอร์ติโคสเตอโรน (Mean±SD) ในช้างเพศผู้ของสวนสัตว์เปิดเขาเขียวในช่วงที่มีการศึกษาเท่ากับ 0.69 ± 0.40 (n=150) นาโนกรัมต่อกรัมของมูลแห้ง (ng/g of dry feces) มีค่าที่ตรวจวัดได้อยู่ระหว่าง 0.14–2.70 นาโนกรัมต่อกรัมของมูลแห้ง (ng/g of dry feces)

ทั้งนี้เมื่อทดสอบความสัมพันธ์ทางสถิติระหว่างฮอร์โมนคอร์ติโคสเตอโรนและเทสโทสเตอโรนตลอดระยะเวลาการศึกษาในช้างเพศผู้ ด้วยวิธีการทางสถิติแบบ Correlation Pearson Two-tailed พบว่ามีความสัมพันธ์กันในเชิงบวก ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.00 (แสดงดังตารางที่ 4) สอดคล้องกับรายงานการศึกษาของ Brown และคณะ (2007) และรายงานการศึกษาของ Carmen (2011) นอกจากนี้จากการทดสอบความสัมพันธ์ระหว่างระดับฮอร์โมนความเครียดกับระดับของอุณหภูมิสูงสุดในช่วงเวลากลางวัน พบว่าไม่มีความสัมพันธ์กัน ค่า sig (2-tailed) มากกว่า 0.05

ตารางที่ 4 แสดงผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางสถิติระหว่างฮอร์โมนคอร์ติโคสเตอโรน กับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน ในช้างพลายเปี้ยก

| | | Corticosterone | Testosterone |
|----------------|---------------------|----------------|--------------|
| Corticosterone | Pearson Correlation | 1 | .428 ** |
| | Sig. (2-tailed) | | .002 |
| | N | 50 | 50 |
| Testosterone | Pearson Correlation | .428 ** | 1 |
| | Sig. (2-tailed) | .002 | |
| | N | 50 | 50 |

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

3.2 ผลการศึกษาพฤติกรรมช้างเอเชีย

จากการศึกษาการแสดงออกทางพฤติกรรมของช้างเอเชียในแต่ละช่วงวัน เพื่อเปรียบเทียบระดับฮอร์โมนและการแสดงออกทางพฤติกรรม พบว่าก่อนส่งเสริมพฤติกรรมในช้างเอเชียเพศผู้ที่ตมมัน (พลายเปี้ยก) มีค่าเฉลี่ยความถี่แสดงพฤติกรรมการกิน-ขับถ่าย

17.59 % พฤติกรรมการพักผ่อน 10.21 % พฤติกรรมการทำความสะอาดตัวเองและการทำให้สบายตัว 32.41% พฤติกรรมการเคลื่อนที่ 13.00 % พฤติกรรมการก้าวร้าว 1.79 % และพฤติกรรมซ้ำๆ ที่เป็นสเตอริโอไทป์ (Stereotype) 48.96 %

สำหรับในช่วงที่มีการส่งเสริมคุณภาพชีวิตนั้น พบค่าเฉลี่ยความถี่การแสดงพฤติกรรมตลอดทั้งช่วงวันที่เป็นการแสดงพฤติกรรมซ้ำๆ แบบสเตอริโอไทป์ (Stereotype) 27.08 % พฤติกรรมการพักผ่อน 14.73 % พฤติกรรมการเคลื่อนที่ 15.77 % พฤติกรรมการทำความสะอาดตัวเองและการทำให้สบายตัว 28.43 % พฤติกรรมการกิน-ขับถ่าย 21.43 % และพฤติกรรมการก้าวร้าว 2.03 % ตามลำดับ (ตามภาพที่ 4)

ภาพที่ 4 แผนภูมิค่าเฉลี่ยความถี่พฤติกรรมต่างๆ ระหว่างช่วงก่อน และระหว่างส่งเสริมคุณภาพชีวิต

4. สรุปผล (Conclusion)

จากการศึกษาปริมาณฮอร์โมนควบคู่กับการส่งเสริมพฤติกรรมของช้างเอเชียเพศผู้ คือช้าง “พลายเปี้ยก” “พลายบิลลี่” และช้าง “สีดอมงคล” ทั้ง 3 เชือก ก่อนและระหว่างที่มีการส่งเสริมคุณภาพชีวิตในสวนสัตว์เปิดเขาเขียว พบว่าก่อนการส่งเสริมคุณภาพชีวิตช้างมีพฤติกรรมซ้ำๆ ที่เป็นสเตอริโอไทป์ (Stereotype) มากถึง 48.96 % แต่จากการตรวจปริมาณฮอร์โมนคอร์ติโคสเตอโรน (Corticosterone) ในมูลของช้าง “พลายเปี้ยก” พบว่ามีค่าเฉลี่ยปริมาณฮอร์โมน Corticosterone เท่ากับ 0.73 ± 0.33 ng/g (ในช่วงเวลาเดียวกันนี้พบว่า “พลายบิลลี่” และ “สีดอมงคล” มีค่าปริมาณฮอร์โมนเท่ากับ 0.63 ± 0.28 และ 0.56 ± 0.3 ng/g ตามลำดับ ทั้งนี้หลังจากการส่งเสริมพฤติกรรมพบค่าความถี่ของพฤติกรรมที่เป็นสเตอริโอไทป์ (Stereotype) ลดลงมาอยู่ที่ค่าเฉลี่ย 27.08 % และจากผลตรวจวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมน Corticosterone พบค่าเฉลี่ยปริมาณฮอร์โมนอยู่ที่ 0.76 ± 0.49 ng/g ซึ่งค่าปริมาณฮอร์โมน Corticosterone ก่อนและระหว่างส่งเสริมพฤติกรรมแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ส่วนในช้างพลายบิลลี่ และมงคล อยู่ที่ 0.75 ± 0.36 ng/g และ 0.66 ± 0.78 ng/g ตามลำดับ)

ปกติในช้างเลี้ยงเพศผู้ที่มีการตกมันนั้น มักถูกแยกออกจากช้างเชือกอื่นๆ และไม่มีการใช้งานหรือใช้ในการจับคู่ขยายพันธุ์ เนื่องจากอาจเกิดอันตรายจากสาเหตุต่างๆ ได้ บางส่วนถูกควบคุมอาหารพร้อมทั้งการกำจัดบริเวณด้วยการล่าม เพื่อให้การตกมันเป็นไปในเวลาสั้นๆ (Carmen, 2011) ทั้งนี้ในช้าง “พลายเปี้ยก” ข้อมูลจากผู้ดูแลคาดว่ามีการตกมันต่อเนื่องมานานหลายเดือน อย่างไรก็ตามคาดว่าในช่วงท้ายๆ ของการตกมันแล้ว ซึ่งด้วยการควบคุมอาหารที่น้อยกว่าปกติมากและอยู่ในพื้นที่จำกัดมาเป็นเวลานาน จึงพบว่าพลายเปี้ยกแสดงพฤติกรรมซ้ำๆ ที่เป็น สเตอริโอไทป์ (Stereotype) ในสัดส่วนที่มากทั้งความถี่และระยะเวลา การศึกษาจึงมีการส่งเสริมคุณภาพชีวิตและการจัดการทรงเลี้ยงโดยใช้อาหารและเพิ่มการใช้ประโยชน์ได้จากน้ำ ถึงแม้ตามปกติในช้างตกมันมักเป็นช่วงที่เข้าใจว่าช้างจะมีความต้องการอาหารน้อย แต่จริงๆ แล้วอาจมีสาเหตุมาจากการต้องใช้เวลามากในการแสดงพฤติกรรมทางเพศ เช่น การตามหาเพศเมียเพื่อการผสมพันธุ์รวมถึงการแข่งขัน ต่อสู้กับเพศผู้อื่นๆ ทำให้มีเวลาในการหาอาหารลดลงจนเป็นสาเหตุของการมีน้ำหนักตัวที่ลดลง (Rasmussen and Perrin 1999; Yon *et al.*, 2007) อย่างไรก็ตามพบว่าโดยทั่วไปแล้ว ช้างเอเชียสามารถกินอาหารได้ถึงประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัวต่อวัน การได้รับอาหารที่น้อยกว่าปกติมากๆ สามารถส่งผลต่อตัวสัตว์และพฤติกรรมที่แสดงออกมาได้ จากการเก็บข้อมูลเบื้องต้นในการศึกษานี้พบว่าช้างที่ตกมัน (พลายเปี้ยก) ได้รับอาหารเพียง 2 % ของน้ำหนักตัว ตลอดช่วงเวลานานหลายเดือน ซึ่งมีแนวโน้มที่ไม่น่าจะเพียงพอต่อความต้องการ จึงมีการส่งเสริมคุณภาพชีวิตด้วย

อาหารและการจัดการกรงเลี้ยงบางส่วนทำให้ปริมาณการได้รับอาหารเพิ่มมากขึ้นเป็นกว่า 5% ของน้ำหนักตัว เป็นผลให้พบว่ามีพฤติกรรมกินอาหารในช่วงที่มีการส่งเสริมพฤติกรรมสูงกว่าก่อนการส่งเสริมพฤติกรรม ขณะเดียวกันสามารถลดการแสดงพฤติกรรมซ้ำๆ ที่เป็น สเตอริโอไทป์ (stereotype) ได้

ในการศึกษาปริมาณฮอร์โมนคอร์ติโคสเตอโรนและเทสโทสเตอโรน จากมูลช้างนั้นสามารถทำการตรวจวัดได้โดยอาศัยหลักการที่สเตียรอยด์ฮอร์โมนในมูลหรือและปัสสาวะ จะถูกขับออกจากร่างกายในรูปของปัสสาวะหลังจากเวลาผ่านไป 2-6 ชั่วโมง และประมาณ 1.5 วันในอุจจาระ (Ganswindt *et al.*, 2003) ในรายของพลายเปี้ยก ที่มีการตกมัน (ตามรายงานของผู้ดูแล) มีระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนสูงกว่าเพศผู้ตัวอื่นๆ นั้น อาจแนวโน้มที่เช่นรายงานการศึกษาของ Jainudeen และคณะ (1972) และรายงานของ Ganswindt และคณะ (2002) ที่ทำการศึกษาในช้างแอฟริกา โดยรายงานเกี่ยวกับการเกิดอาการตกมันของช้างซึ่งเกี่ยวข้องกับเพิ่มระดับขึ้นของฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนในร่างกาย และระดับฮอร์โมนดังกล่าวสามารถสูงกว่าระดับที่ไม่มีอาการตกมันถึง 5-20 เท่าและสามารถพบได้มากในปัสสาวะและอุจจาระ อย่างไรก็ตามพฤติกรรมตกมันสามารถแบ่งออกได้เป็น 5 ระยะ (Rajaram, 2006) คือระยะก่อนการตกมัน (pre musth) ตกมันระยะเริ่มต้น (early-musth) ระยะกลางของการตกมัน (mid-musth) ระยะหลังการตกมัน (post-musth) และระยะที่ไม่มีอาการตกมัน (non-musth) ที่แต่ละระยะอาจมีการหลังฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนในระดับที่เหมือน (Carmen, 2011) หรือแตกต่างกันออกไปขึ้นอยู่กับความสมบูรณ์ของตัวสัตว์ จำนวนและสภาพที่มีอยู่ในฝูง อายุ และอื่นๆ (Poole *et al.*, 2007) รวมถึงการเปลี่ยนแปลงของระดับฮอร์โมนในช้างแต่ละเชือกอาจมีความแตกต่างกัน ตามสภาพของสัตว์ด้วย

ในการศึกษานี้พบว่าระดับฮอร์โมนคอร์ติโคสเตอโรนของช้างที่ตกมัน (พลายเปี้ยก) ไม่แตกต่างกันในทางสถิติ ($P > 0.05$) กับช้างเชือกอื่นๆ สอดคล้องกับรายงานการศึกษาของ Ganswindt และคณะ (2003) ที่ไม่พบความเกี่ยวพันระหว่างการตกมันกับการหลังฮอร์โมนในกลุ่มกลูโคคอร์ติคอยด์ (Glucocorticoids) ที่ประกอบด้วยคอร์ติซอลกับคอร์ติโคสเตอโรน เช่นเดียวกับกับรายงานของ Ganswindt และคณะ (2003) ที่รายงานเกี่ยวกับการลดระดับของฮอร์โมนในกลุ่มกลูโคคอร์ติคอยด์ ของช้างแอฟริกาที่ตกมันขณะอยู่ในสภาพการเพาะเลี้ยง แต่พบว่าแตกต่างกับรายงานของ Ganswindt และคณะ (2010) ที่อ้างอิงการศึกษาของ Wingate และ Lasley (2002) ที่พบการเพิ่มระดับขึ้นของฮอร์โมนคอร์ติซอลในกระแสเลือด ระหว่างช่วงที่มีการตกมันทั้งช้างเอเชียและช้างแอฟริกา อย่างไรก็ตามสาเหตุที่มีการเพิ่มขึ้นของฮอร์โมนความเครียดระหว่างช่วงที่มีการตกมันในช้างที่อาศัยอยู่ธรรมชาติอาจเกิดจากกลไกของต่อมอะดรีนอล (Place *et al.*, 1999) ปฏิกริยาย้อนกลับให้มีการหลังฮอร์โมนในกลุ่มกลูโคคอร์ติคอยด์ (Viau and Meaney, 2004) หรือปัจจัยทางสภาพแวดล้อมทั้ง อุณหภูมิปริมาณฝนตก ปริมาณอาหารที่หาได้เป็นต้น (Papageorge *et al.*, 2001)

นอกจากนี้เมื่อทำการศึกษากการแสดงพฤติกรรมของช้าง (ที่ถูกระบุว่าตกมัน) ในรอบวัน ตั้งแต่เวลา 09.00น. ถึง 16.00 น. ด้วยวิธีการแบบศึกษาเป็นรายตัว (Focal scan sampling) เทียบกับค่าปริมาณฮอร์โมนคอร์ติโคสเตอโรน ในช่วงก่อนการส่งเสริมคุณภาพชีวิต พบการแสดงพฤติกรรมซ้ำๆ ที่เป็น สเตอริโอไทป์ (stereotype) ในสัดส่วนที่มากทั้งความถี่และเวลาเมื่อเทียบกับพฤติกรรมอื่นๆ แต่พบว่ามีระดับฮอร์โมนคอร์ติโคสเตอโรนอยู่ในระดับต่ำ และเมื่อมีการส่งเสริมคุณภาพชีวิตพบว่าการแสดงพฤติกรรม สเตอริโอไทป์ (stereotype) ลดลง แต่มีระดับของฮอร์โมนคอร์ติโคสเตอโรนเพิ่มขึ้นเล็กน้อย (ไม่มีนัยสำคัญ ($P > 0.05$)) สอดคล้องกับรายงานการศึกษาของ Wilson, Bloomsmith และ Maple (2004) ที่รายงานถึงช้างแอฟริกาในสภาพการเพาะเลี้ยงที่มีพฤติกรรมสเตอริโอไทป์ (มีการเคลื่อนไหวร่างกายเช่น การแกว่งศีรษะและช่วงไหล่ ไปทางด้านข้างกลับไปกลับมา และการยกหัวและงวงขึ้นลงไปด้านหน้าด้านหลัง โดยไม่ได้ขยับเท้า) มากๆ จะมีค่าของฮอร์โมนคอร์ติโคสเตอโรนในกระแสเลือดน้อยกว่า ซึ่งจากการศึกษานี้สามารถกล่าวได้ว่าการส่งเสริมคุณภาพชีวิตให้ช้างที่อยู่ในสภาพการเพาะเลี้ยงด้วยการจัดการกรงเลี้ยงบางประการทั้งอาหารและอื่นๆ สามารถลดการแสดงพฤติกรรมซ้ำๆ ที่มีพบในช้างที่ต้องอยู่ในบริเวณพื้นที่จำกัด มีการจำกัดปริมาณอาหาร และไม่สามารถเข้าถึงสภาพแวดล้อมที่เอื้อต่อการแสดงพฤติกรรมตามธรรมชาติได้ โดยสามารถนำหลักการเดียวกันนี้ไปใช้พัฒนาให้ช้างมีคุณภาพที่ดีมากขึ้นได้ต่อไป.

5. เอกสารอ้างอิง (References)

- Brown, J. L., M. Somerville, H. S. Riddle, M. Keele., C. K. Duer and E. W. Freeman. 2007. "Comparative endocrinology of testicular, adrenal and thyroid function in captive Asian and African elephant bulls." *General and comparative endocrinology* **151**(2): 153-162.
- Carmen Barba Claassens. 2011. "Serum and fecal cortisol concentrations during the annual musth cycle of Asian elephant (*Elephas maximus*) bulls" Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand

- Ganswindt, A., M. Heistermann, S. Borraan and J. K. Hodges. (2002). "Assessment of Testicular Endocrine Function in Captive African Elephants by Measurement of Urinary and Fecal Androgens." *Zoo Biology* 21: 27-36.
- Ganswindt, A., R. Palme., M. Heisterman., S. Borraan. and J. K. Hodges. (2003). "Non-invasive assessment of adrenocortical function in the male African elephant (*Loxodonta africana*) and its relation to musth." *General and comparative endocrinology* 134(2): 156-166.
- Ganswindt, A., Muenscher. S., Henley. M., Henley. S., Heistermann. M., Palme. R., Thompson. C. And Bertschinger. H. 2010. Endocrine correlates of musth and the impact of ecological and social factors in free-ranging African elephants (*Loxodonta africana*). *Hormones and Behavior* 57: 506–514
- Jainudeen, M. R., C. B. Katongole and R. V. Short.. (1972). "Plasma testosterone level in relation to musth and sexual activity in the male asiatic elephant, *Elephas Maximus*." *J. Reprod. Fert.* 29: 99-103.
- Papageorge *et al.*, 2001. "Noninvasive Stress and Reproductive Measures of Social and Ecological Pressures in Free-Ranging African Elephants" [Online] Available :<https://www.researchgate.net/>. Search : Retrieved on 29 April 2017
- Rasmussen, L. E., I. O. Buss., D. L. Hess., and M. J. Schmidt. (1984). "Testosterone and Dihydrotestosterone Concentrations in Elephant Serum and Temporal Gland Secretions." *Biology of Reproduction* 30: 352-362.
- Rasmussen, L. E. L. and T. E. Perrin. 1999. "Physiological Correlates of Musth: Lipid Metabolites and Chemical Composition of Exudates." *Physiology & Behavior* 67(4): 539-549.
- Viau, V. and M. J. Meaney. 2004. "Testosterone-dependent variations in plasma and intrapituitary corticosteroid binding globulin and stress hypothalamic–pituitary–adrenal activity in the male rat." *Journal of Endocrinology* 181: 223-231.
- Wilson. ML., MA. Bloomsmith and TL. Maple. 2004. Stereotypic swaying and serum cortisol concentration in three captive African elephant (*Loxodonta Africana*). *Animal Welfare.* 13: 39-43.
- Wingate, L., Lasley, B., 2002. Is musth a reproductive event: an examination of arguments for and against this view. In: Schwammer, H.M., Foose, T.J., Fouraker, M., Olson, D. (Eds.), *International Elephant and Rhino Research Symposium*. Schöling Verlag, Münster, pp. 150–156.
- Yon, L., and Other. (2007). "A longitudinal study of LH, gonadal and adrenal steroids in four intact Asian bull elephants (*Elephas maximus*) and one castrate African bull (*Loxodonta africana*) during musth and non-musth periods." *General and comparative endocrinology* **151**