

ผลงานวิชาการ ประจำปีงบประมาณ 2566

ลำดับ	ชื่อผลงานวิชาการ
1	ศึกษาคุณภาพน้ำเชื้อของเลียงผา (<i>Capricornis milneedwardsii</i>) ในสภาพกรงเลี้ยงเชียงใหม่ไนท์ซาฟารี
2	การส่งเสริมพฤติกรรมค่างห้าสีในสภาพการเพาะเลี้ยง
3	การศึกษาลักษณะภายนอกของล่อแคระในเชียงใหม่ไนท์ซาฟารี
4	ผลของระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลในอุจจาระของเลียงผา (<i>Capricornis milneedwardsii</i>) ในสภาพกรงเลี้ยงที่แตกต่างกันของสำนักงานเชียงใหม่ไนท์ซาฟารี
5	การศึกษาระดับฮอร์โมนความเครียด (Cortisol) ที่สกัดจากมูลของเสือโคร่งขาวที่ถูกเลี้ยงในสภาพกรงเลี้ยงที่แตกต่างกันในเชียงใหม่ไนท์ซาฟารี



ศึกษาคุณภาพน้ำเชื้อของเลียงผา (*Capricornis milneedwardsii*)

ในสภาพกรงเลี้ยงเชียงใหม่ไนท์ซาฟารี

The study semen quality of serow (*Capricornis milneedwardsii*)

in captive Chiang Mai Night Safari

นักหนา โปชาคำ¹, พงษ์ธร สวรรณธาดา², สราวุธ ศรีงาม², ศักดิ์ศิริ สิริเสถียร², และสัจจา ธรรมวงษ์²

Nanthana Pothakam^{1*}, Pongthorn Suwannathada², Sarawut Srineam², Saksiri Sirisathein², and Sujira Thammawane³

¹ กลุ่มงานสัควแพทย์ อุบลราชธานีและวิจัย ฝ่ายบริหารจัดการสัตว์ สำนักงานเชียงใหม่ไนท์ซาฟารี² กลุ่มวิชา วิทยาการสืบพันธุ์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น³ ศูนย์วิจัยการเกษตรเพื่อชนบทและเทคโนโลยีชีวภาพพระปูลิ¹ Veterinary, Conservation and Research Section, Animal Management Division, Chiang Mai Night Safari

² Division of Veterinary Theriogenology, Faculty of Veterinary Medicine, Khon Kaen University

³ Saraburi Artificial Insemination and Biotechnology Research Center

Abstract

The serow (*Capricornis milneedwardsii*) is a pair of hoofed animals. It is in the same family as goats and sheep. Lives in mountains with steep cliffs covered with forests. It is wildlife conservation because serow is protected wildlife (Thailand), included in vulnerable (IUCN) and CITES Appendix I. In nature, serow is rapidly decreasing. Therefore, serow was brought to raise in a captive for breeding in Chiang Mai Night Safari. The objective of this study want to evaluate the serow semen quality in captives. Three male serows aged approximately 9-11 years old and body weighed between 56-63 kg, were employed in this study. Anesthetics (dexametomidine 0.02 mg/kg and ketamine 4 mg/kg) were used before semen collection. Stimulation patterns for electrical stimuli using 0.5-7 volts by autonomous program were applied into the rectum of serow using the rectal probe ($r=2.54$ cm.). Accordingly, semen volume and sperm motility were very variable. The average semen volume was 833.33 ± 360.03 μ l (range between 50-2000 μ l). The average pH was 6 ± 0.31 (range between 5-7). The average sperm motility was 80 ± 7.81 % (range between 50-90 %). The average sperm concentration was 1484 ± 165 million/ml (range between 65-315 million/ml). Abnormal sperm head was 28.33 ± 1.48 % (range between 24.05-32.47 %) and abnormal sperm tail was 12.44 ± 0.78 % (range between 9.25-13.42 %). The semen collection method developed here is a useful technique for frozen semen to conserve the threatened and endangered serow species in the future.

บทนำ

เสียงมา (*Capricornis milneedwardsi*) จัดเป็นหนึ่งในสัตว์ป่าสงวนของไทย ตามพระราชบัญญัติสงวน และคุ้มครองสัตว์ป่า พ.ศ. 2562 อยู่ในบัญชีหมายเลข 1 ตามอนุสัญญาไซเตส (CITES) และมีภาพการอนุรักษ์ใกล้สูญพันธุ์ (IUCN, 2012) เลี้ยงมาเป็นสัตว์ที่คู่ (Artiodactyla) อยู่ในวงศ์ย่อยแพะและ (Caprinae) มีรูปร่างคล้ายแพะ มีอุปนิสัยป่า ล้วนสืบเชื้อสายจากอาศัยอยู่ในป่าที่มีน้ำท่วมขังอยู่ตามลุ่มน้ำซึ่งกินตามด้วยป่าที่นา สามารถปรับตัวเข้ากับบริเวณที่มีระดับความสูงตั้งแต่ 200 เมตรจากระดับน้ำ 3,000 เมตร (Peacock 1933)

การนำเสียงมาเสียงในสภาพการเสียงเป็นวิธีหนึ่งเพื่อเพิ่มจำนวนประชากร และการอนุรักษ์ ประกอบกับปัจจุบัน การนำเทคโนโลยีการสืบพันธุ์เข้ามาช่วยในเสียง ด้วยสัณฐานเชิงใหม่ในข้อหาว่าเป็นอีกหนึ่งแห่งที่ได้รับบรรเลงเสียง ในสภาพการเสียง และส่งเสริมความสำคัญ และความจำเป็นในการเพิ่มจำนวนประชากรเสียง และเก็บการพันธุกรรม ของเสียง เพื่อไม่สูญเสียพันธุ์ในอนาคต ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาคุณภาพการฟังของเสียง ในสภาพการเสียง

วิธีการศึกษา

สัตว์ทดลอง : เลียงผาเพศผู้ จำนวน 3 ตัว อายุประมาณ 9-11 ปี มีน้ำหนักตั้งแต่ 56-63 กิโลกรัม ถูกเลี้ยงในสำนักงานเลี้ยงปศุสัตว์

ขั้นตอนการศึกษา :

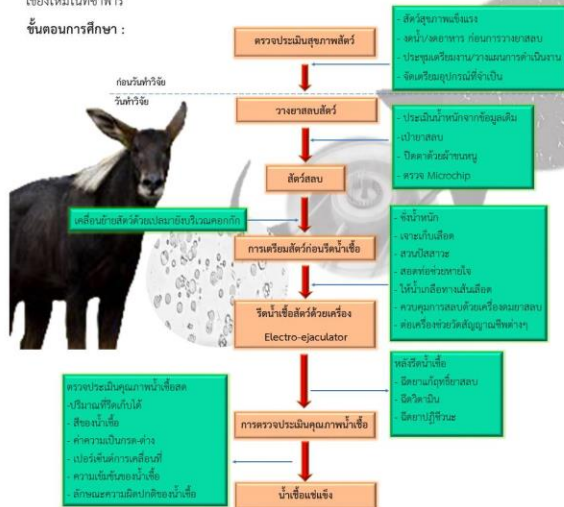


Figure 1 Presence of serow in captive (A) testis (B) penis (C) and electroejaculation (D)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ :

การวิเคราะห์ข้อมูลพื้นฐานเพื่อประเมินคุณภาพน้ำเชื้อของเสี้ยนผาเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (Mean $\pm$ SE.) โดยใช้โปรแกรมสถิติ SAS (Version 6.0, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)



SCAN

Full
Paper

ผลการศึกษา และวิจารณ์ผล

ในเชิงพาณิชย์ 3 ตัว ได้รับการรีดน้ำเชื้อทั้งหมด 12 ครั้ง (ตัวละ 4 ครั้ง โดยคิดห่างกันประมาณ 2 เดือน) สามารถรีดน้ำเชื้อได้จำนวน 11 ครั้ง คิดเป็นร้อยละความสำเร็จของการรีดน้ำเชื้อได้ร้อยละ 91.67

ผลจากการตรวจคุณภาพน้ำเชื้อของเสียหามาทั้งหมด พบว่า ปริมาตรของน้ำเชื้อ และการเคลื่อนไหวของอสุจิมีความผันแปรมาก ปริมาตรน้ำเชื้อเฉลี่ย 833.33±360.03 ไมโครลิตร มีความแปรปรวนต่ำเฉลี่ย 56±30 มีการเคลื่อนไหวของอสุจิเฉลี่ย 80±7.8 เปอร์เซ็นต์ มีการการเคลื่อนที่ไปข้างหน้าของตัวอสุจิเฉลี่ย 67.43 เปอร์เซ็นต์ ความเร็วเคลื่อนที่อสุจิเฉลี่ย 148±41.65 ล้านตัวต่อมิลลิลิตร และพบความผิดปกติของอสุจิส่วนหัวเฉลี่ย 28.33±4.8 เปอร์เซ็นต์ และส่วนหางเฉลี่ย 12.44±0.78 เปอร์เซ็นต์ (Table 1) ซึ่งมีน้อยกว่าผลการศึกษาของ Suwanpuddee et al. (2009) ที่ทำการศึกษากฎหมายน้ำเชื้อของเสียหามา (*Capricornis sumatraensis*) พบว่า ปริมาตรน้ำเชื้อเฉลี่ย 2300 ไมโครลิตร (อยู่ในช่วง 1100-3300 ไมโครลิตร) มีความแปรปรวนต่ำเฉลี่ย 7.8 ความเร็วเคลื่อนที่อสุจิเฉลี่ย 515.8 ล้านตัวต่อมิลลิลิตร แต่ทั้งสองข้างก็แตกต่างกัน นอกจากนี้อาจเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับรายงานของ Kashiwazaki et al. (2001) พบว่าการเคลื่อนไหวอสุจิของเสียหามา (*Capricornis crispus*) เฉลี่ย 45.4±5.6 ในการศึกษากฎหมายน้ำเชื้อของเสียหามาซึ่งมีความผันแปรเป็นอย่างมาก อาจเนื่องมาจากคุณภาพน้ำเชื้อขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น สุขภาพสัตว์ อายุ พันธุกรรม และระดับความเครียด เป็นต้น

Table 1 Semen characteristics collected by electroejaculation in serows (*Capricornis milneedwardsii*)

Parameter	Mean±SE	Range
Seminal fluid	Milky-white to yellowish	
Volume (ul)	833.33±360.03	50-2000
pH	6±0.31	5-6
Motility (%)	80±7.81	50-90
Progressive motility (%)	56±7.30	30-70
Concentration (x 10 ⁶ /ml)	148±41.65	65-315
Morphologically normal sperm (%)	53.16±7.73	32.23-79.45
Morphologically abnormal sperm (%)		
Head defects	28.33±1.48	24.05-32.47
Tail defects	12.44±0.78	9.25-13.42

ลักษณะน้ำเชื้อเลี้ยงผาที่ได้ จะมีสีขาวขุ่นจนถึงสีเหลืองอ่อน (Figure 2A) เมื่อส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ลักษณะน้ำเชื้อจะมีเม็ดไขมันกระจายทั่วน้ำเชื้อ ซึ่งขยาคต่อกรด และการนับตัวสจิ (Figure 2B)



Figure 2 Presence of volume semen (A) Semen characteristics under the microscope x400 (B)

สรุปผลการทดลอง

คุณภาพน้ำเชื้อที่ได้มีความแตกต่างกันในแต่ละตัว โดยไม่สามารถคาดการณ์ล่วงหน้าได้ ถึงแม้ว่าในการศึกษาจะเก็บน้ำเชื้อโดยวิธีการกระตุ้นด้วยกระแสไฟฟ้าก็ตาม ผลการศึกษาในครั้งนี้สามารถใช้เป็นแนวทางในการเก็บน้ำเชื้อแช่แข็ง เพื่อการเพาะขยายพันธุ์ และการอนุรักษ์จำนวนประชากรลิงผาต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณผู้อำนวยการสำนักงานพัฒนาพิงคนคร (องค์การมหาชน) ผู้อำนวยการสำนักงานเชียงใหม่เพื่อพาหุวิ ผู้ดำเนินการฝ่ายบริหารจัดการสัตว์ กลุ่มงานสัตว์แพทย์ อุบลราช และวิจัย และขอขอบคุณ คุณคมกฤษ ปิยะญา คุณณัฏฐ์ มะตะ คุณพัชชัย ปิยะเจื้อย คุณทองคำ มาเจริญ และคุณเสกสิทธิ์ จิตตาดู เจ้าหน้าที่ผู้ดูแลเลี้ยงและ และเจ้าหน้าที่ทุกท่านที่อำนวยความสะดวกในทางศึกษาครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

Kashiwazaki N., E. Nakatsukawa, A. Katsumi, C. Tachi, M. Shino—2001. Freezing epididymal spermatozoa of the Japanese serow

Watanabe, F. H. (1933). A game book for Burma and adjoining territories. Witherby, London.

Theodore, HS. (1970). This man-made animal is nearing extinction under the impact of mechanization. Its biology goes considerably beyond the mere fact that it is the result of a cross between a donkey and a horse. THE MULE. Scientific American, Vol. 223(6), 102-109.

การศึกษาาระดับฮอร์โมนความเครียด (Cortisol) ที่สกัดจากมูลของเสือโคร่งขาว
ที่ถูกเลี้ยงในสภาพกรงเลี้ยงที่แตกต่างกันในเชียงใหม่ไนท์ซาฟารี

The study stress hormone (Cortisol) extracted from fecal of white tigers
in different captives at Chiang Mai Night Safari

ภาวรัตน์ ใจดี¹, ตุลยวรรธ สุธิตแพทย์¹, สิริพร อ่ำสุข¹ และนันทนา โพธาคำ^{1*}

Pawarat Jaidee¹, Tulyawat Sutthipatt¹, Siriporn Umsook¹ and Nanthana Pothakam^{1*}

¹กลุ่มงานสัตวแพทย์ อนุรักษ์และวิจัย ฝ่ายบริหารจัดการสัตว์ สำนักงานเชียงใหม่ไนท์ซาฟารี

¹Veterinary, Conservation and Research Section, Animal Management Division, Chiang Mai Night Safari

ABSTRACT

The white tiger included on vulnerable (IUCN) is important for conservation. Raising white tigers in captive different from natural environment may be cause white tigers to exhibit different behaviors and affect stress. Stress hormones (Cortisol) is steroid group, which is secreted when animals are in stressful conditions and affected to decrease immune system function. The 4 white tigers (male 2, female 2) are divided into two different captives which are captive to perform show (Captive 1) and individual captive (Captive 2). Fecal was collected period of three months (February - April). The excrement was dried and hormones were extracted with 90 percent ethanol. The solution was analyzed for level of stress hormone (Cortisol) by Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The results of the study found that cortisol level in captive 1 was lower than captive 2 ($P < 0.001$). Therefore, the results of this study were used guideline baseline data captive condition design and reduce stress by behavior enrichment and display design for the white tiger.

Keywords: stress hormones (cortisol); white tiger; captive; Chiang Mai Night Safari

บทนำ

เสือโคร่งขาว เป็นเสือโคร่งที่มีลักษณะคล้ายเสือโคร่งแบงกอลเพียงแต่มีขนเป็นสีขาว และลายสีน้ำตาลเข้ม ม่านตาสีฟ้า จมูกสีชมพู และสีขาวครีม ซึ่งเกิดจากความผิดปกติของยีนทำให้บริเวณผิวหนังที่มีจำนวนเมลานินน้อยกว่า "ภาวะด่าง" (leucism) เสือโคร่งขาวจัดให้อยู่ในกลุ่มสัตว์ที่ใกล้การสูญพันธุ์ (endangered; EN) ตามบัญชีแดงของสหภาพสากลว่าด้วยการอนุรักษ์ (IUCN, 2008) จึงมีความสำคัญต่อการอนุรักษ์ การนำเสือโคร่งขาวมาเลี้ยงในสภาพกรงเลี้ยงที่มีสภาพแวดล้อมแตกต่างจากสภาพแวดล้อมในธรรมชาติอาจส่งผลให้เสือโคร่งขาวแสดงพฤติกรรมที่ต่างจากเดิม และอาจทำให้เสือโคร่งขาวเกิดความเครียดได้ ฮอร์โมนความเครียด (Cortisol) ซึ่งฮอร์โมนนี้จะหลั่งออกมาเมื่อสัตว์อยู่ในสภาวะเครียด การหลั่งฮอร์โมนนี้เป็นเวลานานจะส่งผลให้ระบบภูมิคุ้มกันลดลง การตอบสนองต่อการอักเสบลดลงทำให้เกิดการติดเชื้อได้ง่ายขึ้น (เพทย์, 2538) การศึกษาระดับฮอร์โมนความเครียด (Cortisol) สามารถทำการหาได้หลากหลายวิธี เช่น การสกัดฮอร์โมนความเครียด (Cortisol) จากเลือด (Parrott et al., 1994) จากมูล (Naidenko et al., 2011) จากน้ำลาย และปัสสาวะ (Bearda et al., 1996) โดยการศึกษาในครั้งนี้ได้ทำการศึกษาระดับฮอร์โมนความเครียด (Cortisol) ที่สกัดจากมูลเนื่องจากเป็นวิธีการเก็บตัวอย่างที่ง่ายที่สุด ซึ่งในแต่ละประเทศได้มีการศึกษาระดับฮอร์โมนความเครียด (Cortisol) จากมูลของเสือโคร่งหลากหลายสายพันธุ์ (Parnell et al., 2014) อย่างไรก็ตามการศึกษาระดับฮอร์โมนความเครียด (Cortisol) ของเสือโคร่งขาวยังมีจำกัด ดังนั้นการศึกษาระดับฮอร์โมนความเครียด (Cortisol) ของเสือโคร่งขาวจึงมีความสำคัญในการศึกษาเกี่ยวกับเสือโคร่งขาวในเชียงใหม่ไนท์ซาฟารี

วิธีการศึกษา

- สัตว์ทดลอง

ทำการศึกษาในเสือโคร่งขาวจำนวน 4 ตัว แบ่งเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่

- กลุ่มที่ 1 คือ กรงเลี้ยงที่ใช้เพื่อทำการแสดงโชว์ (เพศผู้ 1 เพศเมีย 1)
- กลุ่มที่ 2 คือ กรงเลี้ยงแบบคอกกัก (เพศผู้ 1 เพศเมีย 1)

โดยวางแผนการทดลองที่มีแบบแผนแบบสุ่มบล็อกสมบูรณ์ (RCBD)

Figure 1 Captive to perform show (A) and individual captive (B)

- ขั้นตอนการทดลอง

ทำการเก็บมูลเสือโคร่งขาวในแต่ละสภาพกรงเลี้ยงอาทิตย์ละ 2 ครั้ง เป็นระยะเวลา 3 เดือน (กุมภาพันธ์ - เมษายน) นำไปเก็บในตู้ -20 °C ก่อนนำไปสกัดฮอร์โมน

ขั้นตอนการสกัดฮอร์โมนจากอุจจาระ ตามวิธีของ Brown et al. (2004)

นำสารละลายที่ได้ไปทำการวิเคราะห์หา ระดับของฮอร์โมนความเครียด (Cortisol) โดยวิธี ELISA ตามวิธีของ Brown et al. (2004)

ค่าเฉลี่ยของฮอร์โมนความเครียด (Cortisol) ในแต่ละกรงเลี้ยง

Mean $\pm$ SD (หน่วย ng/g)

วิเคราะห์ด้วยวิธี GLM แบบ Univariate โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS (Steel and Torrie, 1980)

ผลการศึกษาและวิจารณ์ผล

จากการศึกษาพบว่าภายในเดือนมกราคมถึงกรกฎาคมปี 2563 มีค่าระดับฮอร์โมนความเครียด (Cortisol) น้อยกว่ากรงเลี้ยงแบบคอกกัก อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.001$) มีค่าเท่ากับ 11.36 ± 4.78 ng/g และ 32.46 ± 3.94 ng/g ตามลำดับ ภายในเดือนมีนาคม และเดือนเมษายน การเลี้ยงเสือโคร่งขาวในสภาพกรงเลี้ยงที่ใช้เพื่อทำการแสดงโชว์ และกรงเลี้ยงแบบคอกกัก ไม่แตกต่างกัน ($P > 0.05$) มีค่าเท่ากับ 16.56 ± 4.63 ng/g เทียบกับ 17.86 ± 5.27 ng/g ตามลำดับ และ 17.76 ± 8.87 ng/g เทียบกับ 17.81 ± 8.75 ng/g ตามลำดับ ค่าเฉลี่ยรวมทั้ง 3 เดือน กรงเลี้ยงที่ใช้เพื่อทำการแสดงโชว์ มีค่าน้อยกว่ากรงเลี้ยงแบบคอกกัก อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.001$) มีค่าเท่ากับ 15.22 ± 5.82 ng/g และ 22.71 ± 8.80 ng/g ตามลำดับ (Table 1) ซึ่งผลของระดับฮอร์โมนความเครียด (Cortisol) มีค่าใกล้เคียงกับการรายงานของ Parnell et al. (2014) ได้ทำการทดลองการศึกษาระดับฮอร์โมนความเครียด (Cortisol) ที่สกัดจากมูลของเสือโคร่งสุมาตรา 5 ตัว ในสวนสัตว์ออสเตรเลีย ใช้ระยะเวลาในการศึกษา 60 วัน พบค่าเฉลี่ยมีค่าเท่ากับ 48.43 ± 7.26 ng/g

สรุปผล

เสือโคร่งขาวที่ถูกเลี้ยงในสภาพคอกกักมีระดับฮอร์โมนความเครียด (Cortisol) มากกว่าเสือโคร่งขาวที่ถูกเลี้ยงในกรงเลี้ยงที่ใช้เพื่อทำการแสดงโชว์ และระดับฮอร์โมนความเครียด (Cortisol) ระหว่างเสือโคร่งขาวเพศผู้ และเพศเมีย ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ ผลการศึกษาในครั้งนี้มีประโยชน์พื้นฐานในการออกแบบสภาพกรงเลี้ยง อีกทั้งยังเป็นแนวทางในการลดความเครียดโดยการเสริมสร้างพฤติกรรม และการออกแบบสิ่งแวดล้อมที่เหมาะสมต่อเสือโคร่งขาว เพื่อนำไปสู่การอนุรักษ์ และสวัสดิภาพเสือโคร่งขาวต่อไปในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณผู้อำนวยการสำนักงานพัฒนาพิงคนคร (องค์การมหาชน) ผู้อำนวยการเชียงใหม่ไนท์ซาฟารี ผู้อำนวยการฝ่ายบริหารจัดการสัตว์ กลุ่มงานสัตวแพทย์ อนุรักษ์ และวิจัย ฝ่ายบริหารจัดการสัตว์ และเจ้าหน้าที่ทุกท่านที่อำนวยความสะดวกในการศึกษาครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

เพทย์ พงษ์สิงห์. 2538. สัตว์หายากเสี่ยง. กรุงเทพฯ:สวทสร. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. เชียงใหม่.

Bearda, M. B. H. Schilder, N. S. C. R. M. Jansen, and J. A. Mo. 1996. The Use of Saliva Cortisol, Urinary Cortisol, and Catecholamine Measurements for a Noninvasive Assessment of Stress Responses in Dogs. *Hormones and Behavior*. 30: 272-279.

Brown, J. L., Walker and K. Steinman. 2004. *Endocrine manual for the reproductive assessment of domestic and nondomestic species*. 2nd edition. Smithsonian Institution, USA/IUCN. 2008.

IUCN Red List of Threatened Species. Retrieved from: www.iucnredlist.org

Naidenko, S., E. Naidenko, V. Lukarevskiy, J. Hernandez-Blanco, P. Sorokin, M. Litvinov, A. Kotlyar, and V. Rozhnov. 2011. Activity of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis in the Siberian tiger (*Panthera tigris altaica*) in captivity and in the wild, and its dynamics throughout the year. *Biol. Bull.* 38: 301-305.

Narayan, E., T. Parnell, G. Clark, P. Martin-Veque, A. Mucci, and J. M. Hero. 2013. Fecal cortisol metabolite levels in Bengal (*Panthera tigris tigris*) and Sumatran tigers (*Panthera tigris sumatrae*). *Gen Comp Endocrinol.* 194: 318-325.

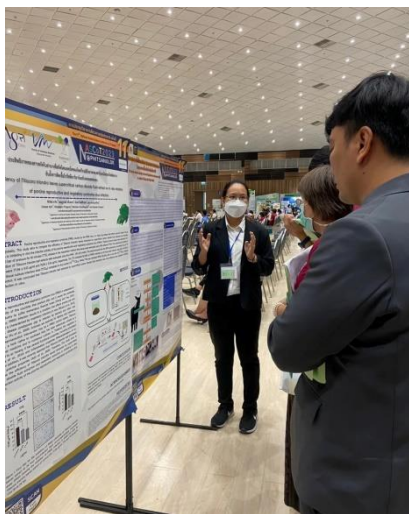
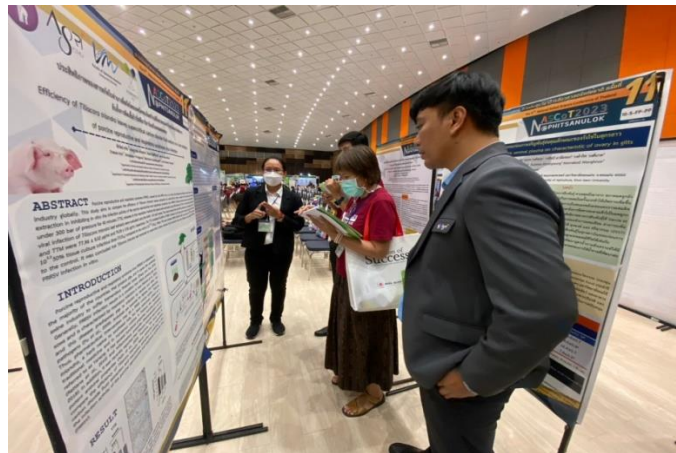
Parnell, T., J. N. Edward, J. L. Michael, R. Sheila, C. Gies, N. vere, M. V. Patrick, M. Al, and M. H. Jean. 2014. Evaluating physiological stress in Sumatran tigers (*Panthera tigris* ssp. *sumatrae*) managed in Australian zoos. *Soc. Exper. Bio.* 2: 1093.

Parrott, R. F., Misson, B. H. and De La Piva, C. F. 1994. Differential stressor effects on the concentrations of cortisol, prolactin and catecholamines in the blood of sheep. *Research in Vet. Sci.* 56: 234-239.

Steel, R. G., and J. H. Torrie. 1980. *Analysis of covariance: Principles and procedures of statistics: A Biometrical Approach*. 401-437.

ผลงานวิชาการที่ได้รับรางวัล

นำเสนอผลงานวิชาการ เรื่อง ศึกษาคุณภาพน้ำเชื้อของเลียงผา (*Capricornis milneedwardsii*) ในสภาพกรงเลี้ยงเชียงใหม่ไนท์ซาฟารี โดย นางสาวนันทนา โพธาคำ ได้รับ รางวัลนำเสนอผลงานวิชาการรูปแบบโปสเตอร์ “ระดับดี” ในด้านสรีรวิทยา ระบบสืบพันธุ์ และสุขภาพสัตว์ ในงานประชุมวิชาการสัตวศาสตร์แห่งชาติ ครั้งที่ 11





ผลงานวิชาการ ประจำปีงบประมาณ 2567

ลำดับ	ชื่อผลงานวิชาการ
1	ศึกษาคุณลักษณะน้ำเชื้อของสัตว์ตระกูลเสือในสภาพเพาะเลี้ยงเชิงอนุรักษ์ (Ejaculate characteristics of captive Felidae in conservation programs)
2	การใช้เครื่องหมายทางพันธุกรรมตรวจหาเชื้อ <i>Toxoplasma gondii</i> ในเสือ และสิงโต (Using genetic markers to detect <i>Toxoplasma gondii</i> in tigers and lions)
3	แผนการจัดการเพาะขยายพันธุ์สัตว์ป่าสวนสัตว์ สำนักงานเชียงใหม่ไนท์ซาฟารี (Breeding management plan in Wildlife of Chiang Mai Night Safari)
4	ผลของการเสริมสร้างพฤติกรรมต่อฮอร์โมนคอร์ติโคสเตอรอนในอุจจาระและพฤติกรรมทำซ้ำในหมีสลอธ (<i>Melursus ursinus</i>) ของสำนักงานเชียงใหม่ไนท์ซาฟารี (Effect of enrichment on faecal corticosterone and stereotypic behaviour of sloth bear (<i>Melursus ursinus</i>) in captive at Chiang Mai Night Safari)
5	การศึกษาความหลากหลายของชนิดพรรณพืชในพื้นที่เชียงใหม่ไนท์ซาฟารี เพื่อใช้เป็นอาหารค่างห่าสี (The study of plant diversity in the Chiang Mai Night Safari area and use as feed for the red-shanked douc langur (<i>Pygathrix nemaeus</i>))
6	ผลของการเสริมสร้างพฤติกรรมต่อฮอร์โมนคอร์ติโคสเตอรอนในอุจจาระและพฤติกรรมทำซ้ำในหมีสลอธ (<i>Melursus ursinus</i>) ของสำนักงานเชียงใหม่ไนท์ซาฟารี (Effect of enrichment on faecal corticosterone and stereotypic behaviour of sloth bear (<i>Melursus ursinus</i>) in captive at Chiang Mai Night Safari)
7	การศึกษาความหลากหลายของชนิดพรรณพืชในพื้นที่เชียงใหม่ไนท์ซาฟารี เพื่อใช้เป็นอาหารค่างห่าสี (The study of plant diversity in the Chiang Mai Night Safari area and use as feed for the red-shanked douc langur (<i>Pygathrix nemaeus</i>))
8	ศึกษาการนำใบไม้แห้งมาใช้เป็นภาชนะใส่อาหารสัตว์ (Study the use of dry leaves as containers for animal feed)
9	การสำรวจพื้นที่ก่อโรคเฉพาะถิ่น (Endemic area) ของเชื้อ <i>Clostridium perfringens</i> และชนิดของสารพิษ Clostridial toxin จากตัวอย่างดินในพื้นที่ส่วนแสดงและคอกกักสัตว์ในเชียงใหม่ไนท์ซาฟารี (A survey from endemic area of <i>Clostridium perfringens</i> and Clostridial toxin in the soil from the exhibition area and animal enclosure at Chiang Mai Night Safari)
10	การวางรางให้อาหาร เพื่อลดความเสี่ยงถึงตายของวัววาตูชี จากการตรึงอาหาร (Arrangement of Feeding Container to Avoid Mortal Risk in Watusi Cattle)
11	หนึ่งวันการเรียนรู้ CSR เชียงใหม่ไนท์ซาฟารี (One Day Learning CSR Chiang Mai Night Safari)

ผลงานวิชาการที่ได้รับรางวัล

นำเสนอผลงานวิชาการ เรื่อง การศึกษาความหลากหลายของชนิดพรรณพืชในพื้นที่เชียงใหม่ไนท์ซาฟารี เพื่อใช้เป็นอาหารค่างห่าสี (The study of plant diversity in the Chiang Mai Night Safari area and use as feed for the red-shanked douc langur (*Pygathrix nemaeus*)) โดย นางสาวสิริพร อ่ำสุข ได้รับ รางวัลนำเสนอผลงานวิชาการภาคบรรยาย “ระดับชนะเลิศ” ในงานสัมมนาทางวิชาการสัตว์ป่าสวนสัตว์ ครั้งที่ 16



ผลงานวิชาการ ประจำปีงบประมาณ 2568

ลำดับ	ชื่อผลงานวิชาการ
1	Implementing artificial insemination as an effective tool for ex situ conservation of fishing cat (<i>Prionailurus viverrinus</i>) at Chiang Mai Night Safari
2	The Study of Gastrointestinal Tract Microbiome in Captive Red-shanked Douc Langur (<i>Pygathrix nemaeus</i>) at Chiang Mai Night Safari



Implementing artificial insemination as an effective tool for *ex situ* conservation of fishing cat (*Prionailurus viverrinus*) at Chiang Mai Night Safari

Nanthana Pothakam^{1*}, Pongthorn Suwannathada², Sarawut Sringam², Saksiri Sirisathein², Suchat Wattanachai², Sujira Thammawang³, Cheewarat Rungpenngam⁴, Yuttana Klangnongsang¹, Sakorn Dechkajorn¹, Fadao Kongngern¹, and Raksiri Nomsiri¹

¹ Veterinary, Conservation and Research Section, Animal Management Division, Chiang Mai Night Safari, Thailand; ² Division of Veterinary Theriogenology, Faculty of Veterinary Medicine, Khon Kaen University, Thailand; ³ Chiang Mai Artificial Insemination and Biotechnology Research Center, Thailand; ⁴ Hug me pet clinic, Chiang Mai, Thailand

*Corresponding author: n.pothakam@gmail.com



Abstract

Artificial insemination technology (AI) has been adapted for use in many other taxa to conserve threatened and endangered species. However its use for the genetic management of small fishing cat populations has met numerous challenges and has seen limited success. The fishing cat (*Prionailurus viverrinus*) is a small cat that is protected under Thai wildlife conservation laws. It is also classified as endangered by IUCN and is listed in CITES Appendix II. Breeding of the fishing cat in captivity at Chiang Mai Night Safari has problems with mating. This research aimed to introduce AI techniques to help their breeding in captivity. Six fishing cats (3 male, 3 female) were used in this study. Semen was collected from anesthetized male fishing cats through electric stimulation. Semen analysis revealed an average volume of 28.33 μ l, 65% sperm motility, and a sperm concentration of 373.33×10^6 sperm/ml. For estrus synchronization, female fishing cats were injected with equine chorionic gonadotrophin (eCG) and human chorionic gonadotrophin (hCG). Artificial insemination was performed 50-70 hours after hCG injection. Vaginal cytology on the day of insemination revealed 50-70% cornified cells. For the AI procedure, the female fishing cat was anesthetized, and semen containing 80×10^6 sperm/ml was deposited either cervically or intrauterine. Following the procedure, the pregnancy status of fishing cats was monitored. Despite hormonal results indicated that all female fishing cats had not reached the late estrus stage, the AI attempt was unsuccessful. Characteristics affecting the unsuccessful AI attempt include a lack of understanding of species-specific reproductive characteristics, the inability to minimize handling stress, and management after AI. Currently, the appropriate breeding technique for fishing cats is being adjusted to increase the fishing cat population in captivity for conservation.

Keywords: Artificial insemination, Chiang Mai Night Safari, *Ex situ* conservation, Fishing cat

Introduction



UICN : Endangered
CITES : Appendix II

Fishing cat populations appear to have declined significantly in recent years. (Phosri et al., 2021; Mukherjee et al., 2022)

Fishing cat in captive at Chiang Mai Night Safari

Assisted reproductive technology (ART)

Increase the number of fishing cats in the future.

Material and Methods

Animal and Anesthesia

Three male and three female fishing cats were examined according to the annual health check-up program, assessed for health, and fasted before each study. Regulations related to the use of animals for scientific purposes were followed. The fishing cats were anesthetized with dexmedetomidine (0.02 mg/kg) and ketamine (4 mg/kg) (Arnemo, 2002) before electro-ejaculation and artificial insemination.

Table 1 Shows data on fishing cats in the study.

No	Species	Name	Microchip ID	Sex	Age (year)
1	Fishing cat	M1	900012000102194	M	13
2	Fishing cat	M7	900012000103010	M	15
3	Fishing cat	M8	96500000430028	M	7
4	Fishing cat	F3	900012000102364	F	13
5	Fishing cat	F8	96500000430206	F	7
6	Fishing cat	F4	900012000102901	F	13

Sperm electro-ejaculation and semen quality

Examine the male fishing cat's reproductive system by measuring the size of the testicles, measuring the width and length of both left and right sides, and cleaning the penis before extracting semen. Then, the probe was inserted through the anus to a depth of approximately 10-15 cm. The depth depended on the individual fishing cat. An electrical stimulator (mini tube electroejaculator, Germany) with an alternating current of 60 Hz was used to stimulate ejaculation using a rectal probe with a diameter of 1.27 cm. The stimulation was performed using an automatic program with an electrical potential difference of 0.5-5 volts. Changing the electrical potential by 0.5 volts takes 3 seconds to count as 1 cycle. The semen is then tested for quality as follows: volume, percentage of motility, progressive, and concentration.



Induction of estrus and artificial insemination

The estrus cycle of three female fishing cats was examined. The induction of estrus and ovulation was initiated using equine chorionic gonadotrophin (eCG) and human chorionic gonadotrophin (hCG) to stimulate ovulation. After hCG stimulation for approximately 50-70 hours, the fishing cats were artificially inseminated by intrauterine and cervical insemination using a sperm concentration of 80 million units/ml with a volume of approximately 150-200 microliters. The fishing cats were allowed to rest for approximately 10-15 minutes after insemination before being revived and placed in the recovery box. The pregnancy rate was then checked and maintained until pregnancy was complete.



Results

Results of electro-stimulation and semen quality

From the extraction of semen from 3 fishing cat, it was found that each fishing cat was able to extract semen, which is considered a success rate of 100 percent. Fishing cat responded differently, resulting in a significant variation in the amount of semen obtained. This may depend on the proper insertion of the probe for each fishing cat to achieve a good response.

Table 2 The results electro-stimulation and semen quality of fishing cat.

No	Name	Body weight (kg)	Volume (ul)	Motile (%)	Progressive (%)	concentration (x 10 ⁶ /ml)
1	M1	12.9	20	20	5	50
2	M7	12.6	15	85	10	220
3	M8	11.5	50	90	60	850
Mean		12.33	28.33	65.00	25.00	373.33

Results of artificial insemination

For the AI procedure, the female fishing cat was anesthetized, and semen containing 80×10^6 sperm/ml was deposited either cervically or intrauterine. Following the procedure, the pregnancy status of fishing cats was monitored. Despite hormonal results indicated that all female fishing cats had not reached the late estrus stage, the AI attempt was unsuccessful.



Figure 1 Despite hormonal results indicated that all female fishing cats

Figure 2 shows the vaginal cell staining of a female fishing cats.

Table 3 shows the results of artificial insemination in fishing cats.

Procedure	Vaginal cytology
Induction of estrus	
fishing cats (F3): eCG and hCG AI was performed 50-70 hours after hCG injection.	cornified cells 50%
fishing cats (F8): eCG and hCG AI was performed 50-70 hours after hCG injection.	cornified cells 70%
fishing cats (F4): eCG and hCG AI was performed 50-70 hours after hCG injection.	cornified cells > 70%
Artificial Insemination (intrauterine insemination or cervical insemination)	
fishing cats (F3, F8 and F4)	Not pregnant

Discussion

The application of AI technology to non-domestic species presents many challenges, including (1) precise knowledge of the genetics and reproductive biology of the species, (2) the ability to manipulate the animals for AI without undue stress or injury, and (3) the ability to manage the animals to promote establishment and maintenance of pregnancy and minimize neonate losses. Increasingly, scientists attempting to utilize genetic resource banks and AI to increase genetic diversity in these species are finding that each species is unique in all of these aspects, and careful study at each stage is necessary for a successful outcome. (Morrow et al., 2009)

Reference

- Arnemo, J. M. (2002). Reversible anaesthesia in non-domestic cats. Tromsø, Norway: Norwegian School of Veterinary Science.
- Morrow, C. J., Penfold, L. M., & Wolfe, B. A. (2009). Artificial insemination in deer and non-domestic bovids. *Theriogenology*, 71(1), 149-165. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.09.001>.
- Mukherjee, S., Appel, A., Duckworth, J. W., Sanderson, J., Dalal, S., Wilcox, D. H. A., Hieranz Muñoz, V., Malla, G., Ratnayaka, A., Kantimahanti, M., Thudugala, A., Thang, R., & Rahman, H. (2022). *Prionailurus viverrinus*. IUCN Red List of Threatened Species. eT18150A221434864. doi:10.2305/IUCN.UK.2016-2.rlts.T18150A221434864.en Retrieved 25 September 2024.
- Phosri, K., Tanupisanuh, N., Chutipong, W., Gore, M. L., Giordano, A. J., & Ngoprasert, D. (2021). Fishing cats in an anthropogenic landscape: A multi-method assessment of local population status and threats. *Global Ecology and Conservation*, 27, e01615. <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2021.e01615>.

Conclusion

- Fishing cats can extract semen by electro-stimulation.
- The fishing cat's estrus and ovulation were initiated using equine chorionic gonadotrophin (eCG) to stimulate follicle formation and the injection of human chorionic gonadotrophin (hCG) to induce ovulation.
- The results of this study can be used as a guideline for freezing semen in fishing cats for breeding and conservation of fishing cats populations. However, the methods for artificial insemination programs in fishing cats still need to be adjusted.

Acknowledge

Thank you to the Director of the Pinkanakorn Development Office (Public Organization), the Director of the Chiang Mai Night Safari Office, the Veterinary Conservation and Research Section of the Animal Management Division, and all the zookeepers involved.



**Chiang Mai
Night
Safari**

The Study of Gastrointestinal Tract Microbiome in Captive Red-shanked Douc Langur (*Pygathrix nemaeus*) at Chiang Mai Night Safari

Siriporn Umsook¹, Sakon Deekajorn¹, Tulyawat Sutthipat¹, Raksiri Nomsiri¹, Aratchaporn Meemey¹,
Yuttana Klangnongsang¹, Pawarat Jaidee¹, and Nanthana Pothakam^{1*}

¹ Veterinary, Conservation and Research Section, Animal Management Division, Chiang Mai Night Safari,
Chiang Mai, 50230, Thailand

Abstract

The red-shanked douc langur (*Pygathrix nemaeus*) is a primate species of significant conservation importance, listed as endangered by the International Union for Conservation of Nature (IUCN). Recovery efforts to restore their population are currently being carried out through conservation sanctuaries, zoos, and captive breeding programs. These conservation efforts must continue to ensure the species long-term survival. However, critical gaps remain in our understanding of their natural lifestyle, including their dietary habits, encompassing the consumption of leaves, unripe fruits, flowers, seeds, and other plant parts. Additionally, knowledge of their unique microflora is limited. Studies analyzing microbiota communities remain scarce in the literature on nonhuman primate microbiomes. The objective of this study was to investigate the gastrointestinal tract microbiome of captive red-shanked douc langurs at the Chiang Mai Night Safari. The study was conducted on two-quantity red-shanked douc langurs (male = 1 and female = 1).

Succus gastricus content samples were collected from red-shanked douc langurs immediately following their deaths in captivity. The bacterial community in the succus gastricus site was analyzed. Succus gastricus content samples were analyzed using 16S rDNA sequencing, and Operational taxonomic units (OTU) were identified through NGS analysis. The results identified six bacterial phyla: Actinobacteria, Bacteroidetes, Proteobacteria, Spirochaetes, Cyanobacteria/Chloroplast, and Firmicutes. The results of this study can be applied to adjust dietary management that suitable for captive condition and maintain animal health status includes digestive system, immune response and growth performance for sustainable conservation in captive.

Keywords: Captive, Gastrointestinal tract, Microbiome, Red-shanked douc langur

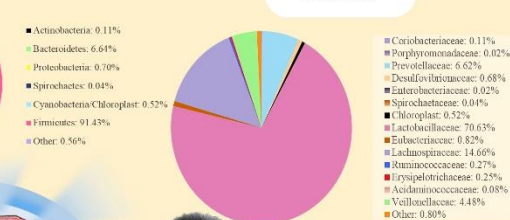


Results

PHYLA



FAMILY



Discussion

The gastrointestinal tract microbiome, as a dynamic ecosystem, is susceptible to many factors such as host genetics (Chen *et al.*, 2018) and diet (van Grevenhof *et al.*, 2011). In red-shanked douc langurs, very few studies have examined the microbiome of the succus gastricus. An understanding of the specific bacteria residing in the GI tract, particularly in the succus gastricus, and their associated functions is currently lacking. In the present study, investigated the succus gastricus microbiome of captive red-shanked douc langurs at the Chiang Mai Night Safari. The *Firmicutes* was found to be the most dominant phylum, and *Lactobacillaceae* was the most dominant family among the total 16S rRNA gene sequences in succus gastricus content samples. *Firmicutes* are thought to play a major role in lignocellulose degradation (Pankratov *et al.*, 2011). While *Proteobacteria* and *Bacteroidetes* play a major role in organic matter degradation (Wang *et al.*, 2018) and *Proteobacteria* also plays an important role in sulfur and degradation of sewage (Zhong *et al.*, 2017). At the family level, found that fourteen genera of bacteria in succus gastricus, with *Lactobacillus* most dominant. Interestingly, the proportion of *Lactobacillus*. This result corresponds to the high proportion of the *Firmicutes* phylum because *Lactobacillus* belongs to the phylum *Firmicutes*. *Lactobacillus* was the main lactic acid bacteria (Gao *et al.*, 2008).

Conclusion

This study examined the gastrointestinal tract (succus gastricus) microbiome of captive red-shanked douc langurs at the Chiang Mai Night Safari. The findings revealed that the succus gastricus of these red-shanked douc langurs was predominantly composed of six major bacterial phyla, with *Firmicutes* and *Bacteroidetes* representing the most abundant groups. Furthermore, fourteen bacterial families were identified, with *Lactobacillaceae* and *Lachnospiraceae* comprising the majority. These results provide valuable insights that can inform dietary management strategies to better align with captive conditions, thereby supporting the health of the animals. This includes optimizing the digestive system, enhancing immune responses, and promoting growth performance, all of which contribute to sustainable conservation efforts in captivity.

Acknowledgement

Thank you to the Director of the Pinkanokorn Development Office (Public Organization), the Director of the Chiang Mai Night Safari Office, the Veterinary Conservation and Research Section of the Animal Management Division, and all the zookeepers involved.

References

- Chen, C., Huang, Y., Fang, S., Yang, H., Hu, M., Zhao, Y., & Huang, T. Contribution of Host Genetics to the Variation of Microbial Composition of Cecum Faeces and Feces in Pigs. *Front. Microbiol.* 2018, 9, 2626. doi:https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02626
- Gao, L., Yang, H., Wang, X., Huang, Z., Ishii, M., Iguchi, Y., & Cui, Z. Rice straw fermentation using lactic acid bacteria. *Bioresour. Technology* 2008, 99, 2742-2748. doi:https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.07.001
- Pankratov, T.A., Iumova, A.O., Dedysh, S.N., & Tsimok, W. Bacterial populations and environmental factors controlling cellulose degradation in an acidic Sphagnum peat. *Environmental Microbiology* 2011, 23, 1800-1814. doi:10.1111/j.1462-2920.2011.02491.x
- van Grevenhof, J.M., Ott, S., Hanebeck, W., van Wieren, P.R., Wijma, P., & Kemp, B. The effects of housing system and feeding level on the joint-specific prevalence of osteochondritis in fattening pigs. *Food Res. Technol.* 2011, 135, 53-61. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.06.010
- Wang, K., Mao, W., & Li, X. Functional characteristics and influence factors of microbial community in sewage sludge composting with inorganic bulking agent. *Bioresour. Technology* 2018, 249, 327-335. doi:10.1016/j.biortech.2017.10.054
- Wei, H., Wang, L., Hanan, M., & Xu, B. Succession of the functional microbial communities and the metabolic functions in maize straw composting process. *Bioresour. Technology* 2018, 236, 333-341. doi:10.1016/j.biortech.2018.02.050
- Zhong, C., Pan, N., Gasser, A., Poprawe, R., & Schliebmum, J.L. The Influence of the Powder Stream on High-Deposition Rate Laser Metal Deposition with Inconel 718. *Metal* 2017, 7, 443.

Introduction

The red-shanked douc langur (*Pygathrix nemaeus*) is an endangered species of significant conservation importance, with a unique digestive system adapted for fermenting high-fiber diets, resembling ruminant digestion. This study provides foundational insights into the gastrointestinal microbiome of captive red-shanked douc langurs, with a specific focus on the succus gastricus. Understanding their microbiome contributes to sustainable captive breeding programs and broader conservation strategies for preserving this endangered species.



Methods

