คุณภาพน้ำเชื้อของเสือปลาในกรงเลี้ยงที่ได้จากผลของการรีดน้ำเชื้อโดยวิธีการกระตุ้นด้วยกระแสไฟฟ้า

Semen Quality of Captive Fishing Cats (*Prionailurus viverrinus*) Obtained by Electroejaculation

นันทนา โปธาคำ[1*] พงษ์ธร สุวรรณธาดา[2] สราวุธ ศรีงาม[2] ศักดิ์ศิริ ศิริเสถียร[2] และ สุจิรา ธรรมวัง[3]

Nanthana Pothakam[1*], Pongthorn Suwannathada[2], Sarawut Sringam[2], Saksiri Sirisathein[2], and Sujira Thammawang[3]

บทคัดย่อ

เสือปลา (*Prionailurus viverrinus*) จัดอยู่ในกลุ่มเสือหรือแมวขนาดเล็ก มีขนมันวาวหยาบสั้นสีเทาอมน้ำตาล มีเส้นและจุดรี ๆ สีน้ำตาลพาดตามแนวยาวของลำตัวทั่วทั้งตัว เป็นสัตว์ป่าชนิดหนึ่งที่สำคัญ เนื่องจากจัดเป็นสัตว์ป่าคุ้มครองของไทย สัตว์ใกล้สูญพันธุ์ (IUCN) และเป็นสัตว์ในบัญชีชนิดพันธุ์หมายเลข 2 (CITES) วัตถุประสงค์ในการศึกษาครั้งนี้ เพื่อศึกษาคุณภาพน้ำเชื้อที่ได้จากการรีดน้ำเชื้อด้วยวิธีการกระตุ้นด้วยกระแสไฟฟ้า ทำการรีดน้ำเชื้อเสือปลาจำนวน 5 ตัว อายุประมาณ 13 ปี น้ำหนัก 9-16 กิโลกรัม เสือปลาถูกวางยาสลบด้วย dexmedetomidine (0.02 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) กับ ketamine (4 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) ก่อนทำการรีดน้ำเชื้อ กระแสไฟฟ้าที่ใช้กระตุ้นอยู่ในช่วง 0.5-5 โวลต์ โดยทำการสอดแท่งนำกระแสไฟฟ้าขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.27 เซนติเมตร เข้าทางช่องทวารหนัก และกระตุ้นเป็นจังหวะโดยใช้การปล่อยกระแสไฟฟ้าด้วยโปรแกรมอัตโนมัติ ผลการตรวจคุณภาพน้ำเชื้อของเสือปลาจำนวน 16 ครั้ง จากการรีดทั้งหมด 20 ครั้ง พบว่า ปริมาตรของน้ำเชื้อและการเคลื่อนไหวของอสุจิมีความผันแปรมาก ปริมาตรน้ำเชื้อเฉลี่ย 43.13 ไมโครลิตร (อยู่ในช่วง 5-200 ไมโครลิตร) มีค่าความเป็นกรด-ด่าง เฉลี่ย 5.81 (อยู่ในช่วง 5-7) มีการเคลื่อนไหวของอสุจิเฉลี่ย 28.25 เปอร์เซ็นต์ (อยู่ในช่วง 1-90 เปอร์เซ็นต์) และความเข้มข้นอสุจิเฉลี่ย 207.44 ล้านตัวต่อมิลลิลิตร (อยู่ในช่วง 12-860 ล้านตัวต่อมิลลิลิตร) ผลของการศึกษาในครั้งนี้สามารถใช้เป็นแนวทางในการเก็บน้ำเชื้อแช่แข็งและการผสมเทียมในเสือปลาเพื่อการขยายพันธุ์และการอนุรักษ์จำนวนประชากรเสือปลาต่อไป

คำสำคัญ: รีดน้ำเชื้อ คุณภาพน้ำเชื้อ เสือปลา สภาพกรงเลี้ยง

Abstract

Fishing cat (*Prionailurus viverrinus*) is categorized in a group of small cats. The cat has brownish grey fur with dark brown spots and lines running across the length of body. It is wildlife conserved (IUCN) and protected as wildlife animal in Thailand. It is also in the CITES Appendix II. The aim of this study was to study semen quality of this cat by electroejaculation. Five male fishing cats aging approximately 13 years old and body weighed between 9-16 kg were employed in this study. Anesthetic by dexmedetomidine (0.02 mg/kg) and ketamine (4 mg/kg)) was used before semen collection. Stimulation patterns for electrical stimuli using 0.5-5 volts by autonomous program were applied into the rectum of each fishing cat using the rectal probe (r=1.27 cm). Semen was successfully collected from sixteen out of twenty attempts. Semen volume and sperm motility were much variable. Average semen volume was 43.13 µl (range between 5-200 µl). Average pH was 5.81 (range from 5-7). Average sperm motility was 28.25 % (range from 1-90 %). Average sperm concentration was 207.44 million/ml (range from 12-860 million/ml). The semen collection method developed in this study proved to be a useful technique for frozen semen preservation and planning of artificial insemination in order to propagate and conserve the threatened and endangered fishing cat species in the future.

Keywords: electroejaculation, semen quality, fishing cats, captive

[1] กลุ่มงานสัตวแพทย์ อนุรักษ์และวิจัย ฝ่ายบริหารจัดการสัตว์ สำนักงานเชียงใหม่ไนท์ซาฟารี

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

[2] กลุ่มวิชา วิทยาการสืบพันธุ์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

[2] Division of Veterinary Theriogenology. Faculty of Veterinary Medicine. Khon Kaen University.

[3] ศูนย์วิจัยการผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพเชียงใหม่

[3] Chaing Mai Artificial Insemination and Biotechnology Research Center

* Corresponding author: n.pothakam@gmail.com

คำนำ

เสือปลา (fishing cat; *Prionailurus viverrinus*) จัดอยู่ในกลุ่มเสือหรือแมวขนาดเล็ก (small cat) มีขนาดใหญ่กว่าแมวบ้าน รูปร่างอ้วนหนา บึกบึน ลวดลายคล้ายแมวดาวมาก ขนมันวาวหยาบสั้นสีเทาอมน้ำตาลหรือเทาอมมะกอก มีเส้นและจุดรี ๆ สีน้ำตาลพาดตามแนวยาวของลำตัวทั่วทั้งตัว (Wasalai, 2007) เสือปลาพบการแพร่กระจายในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ชอบหากินบริเวณที่ราบลุ่มใกล้แหล่งน้ำ ไม่ชอบอยู่ในป่าทึบ และสามารถจับปลาหรือสัตว์น้ำขนาดเล็กเป็นอาหาร (Nowell & Jackson, 1996; Thiangtum et al., 2006) เสือปลาเป็นสัตว์ที่มีถิ่นอาศัยอยู่ใกล้กับแหล่งน้ำ ดังนั้นการสูญเสียถิ่นอาศัยบริเวณพื้นที่ชุ่มน้ำจึงเป็นภัยคุกคามหลักต่อการอยู่รอดเสือปลาถูกจัดให้อยู่อันดับใกล้สูญพันธุ์ (endangered) ในบัญชีแดงของสหภาพนานาชาติเพื่อการอนุรักษ์ธรรมชาติ และด้านทรัพยากรธรรมชาติ (IUCN, 2008) และอยู่ในบัญชีที่ 2 ของอนุสัญญาการค้าระหว่างประเทศซึ่งชนิดสัตว์ป่าและพืชป่าที่ใกล้สูญพันธุ์ (CITES appendix II) และในประเทศไทยจัดให้เสือปลาอยู่ในบัญชีสัตว์ป่าคุ้มครองตามพระราชบัญญัติสงวนและคุ้มครองสัตว์ป่า พ.ศ. 2535

การอนุรักษ์เสือปลาถือว่ามีความสำคัญอย่างมากเนื่องจากประชากรเสือปลาในธรรมชาติลดจำนวนลงอย่างรวดเร็ว รวมถึงปัจจุบันได้มีการนำเทคโนโลยีช่วยการสืบพันธุ์มาประยุกต์ใช้ในสัตว์ป่า เช่น ศึกษาระดับฮอร์โมนในกวาง ละอง-ละมั่ง และเสือปลา (Santymire et al., 2011; Khonmee et al., 2014; Zanetti et al.,2014) การทำผสมเทียม (artificial insemination; AI) การทำปฏิสนธินอกร่างกาย (*in vitro* fertilization; IVF) การย้ายตัวอ่อน (embryo transfer; ET) การแช่แข็งตัวอสุจิและตัวอ่อนในแมวขนาดเล็ก (Swanson, 2006) เป็นต้น ประกอบกับสำนักงานเชียงใหม่ไนท์ซาฟารี เป็นอีกหนึ่งแหล่งที่ได้เก็บรวบรวมพันธุ์ของสัตว์ป่าที่สำคัญและหายากไว้เป็นจำนวนมาก หนึ่งในนั้นคือ เสือปลา ด้วยเหตุนี้ทางสำนักงานเชียงใหม่ไนท์ซาฟารี เล็งเห็นความสำคัญและความจำเป็นที่ต้องการเพิ่มจำนวนประชากรเสือปลา และการเก็บสารพันธุกรรม เพื่อนำไปสู่การอนุรักษ์เสือปลาที่ยั่งยืนในอนาคตต่อไป งานวิจัยในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาคุณภาพน้ำเชื้อเสือปลาที่ได้จากการรีดน้ำเชื้อด้วยวิธีการกระตุ้นด้วยกระแสไฟฟ้า และผลของการศึกษาในครั้งนี้สามารถใช้เป็นแนวทางในการเก็บน้ำเชื้อแช่แข็งและการผสมเทียมในเสือปลาเพื่อการขยายพันธุ์และการอนุรักษ์จำนวนประชากรเสือปลาต่อไป

วิธีการศึกษา

สัตว์ทดลอง และการวางยาสลบ

เสือปลาเพศผู้ จำนวน 5 ตัว อายุประมาณ 13 ปี มีน้ำหนักตั้งแต่ 9-16 กิโลกรัม ถูกเลี้ยงในสำนักงานเชียงใหม่ไนท์ซาฟารี เสือปลาถูกตรวจสุขภาพตามโปรแกรมตรวจสุขภาพประจำปี และถูกตรวจประเมินสุขภาพสัตว์ พร้อมกับงดน้ำงดอาหาร ก่อนการทำวิจัยในแต่ละครั้ง และได้ปฏิบัติตามกฎระเบียบที่เกี่ยวข้องกับการใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ การวางยาสลบเสือปลา ด้วย dexmedetomidine (0.02 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) กับ ketamine (4 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) (Arnemo, 2002) ก่อนการรีดน้ำเชื้อ

การรีดน้ำเชื้อด้วยการใช้เครื่องกระตุ้นไฟฟ้า (Electroejaculator)

ทำการตรวจระบบสืบพันธุ์เสือปลาเพศผู้ โดยทำการวัดขนาดของลูกอัณฑะ โดยวัดขนาดความกว้างและยาวทั้งด้านซ้ายและขวา และล้างทำความสะอาดลึงค์ก่อนทำการรีดเก็บน้ำเชื้อ จากนั้นสอดโพรบ (probe) ผ่านช่องทวาร ลึกประมาณ 10-15 เซนติเมตร โดยความลึกขึ้นอยู่กับตัวเสือปลาแต่ละตัว และใช้เครื่องกระตุ้นไฟฟ้า (minitube electroejaculator, Germany) กระแสไฟฟ้าสลับ ความถี่ 60 เฮิรตซ์ นำการกระตุ้นการหลั่งน้ำเชื้อ โดยใช้ rectal probe ที่เส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 1.27 เซนติเมตร ทำการกระตุ้นโดยใช้โปรแกรมอัตโนมัติ ความต่างศักย์ไฟฟ้า 0.5-5 โวลต์ เริ่มจากความต่างศักย์ 0 โวลต์ จนถึงความต่างศักย์สูงสุด 5 โวลต์ ซึ่งการเปลี่ยนความต่างศักย์ไฟฟ้าทีละ 0.5 โวลต์ ใช้เวลา 3 วินาที นับเป็น 1 รอบ (cycle) ทำเช่นนี้ 3 รอบ รวมทั้งสิ้น 30 ครั้งที่เสือปลาแต่ละตัวได้รับการกระตุ้น โดยระหว่างการกระตุ้นทำการเลื่อนโพรบเข้าออกเพื่อหาตำแหน่งที่เหมาะสมในการกระตุ้น เมื่อได้ตำแหน่งแล้วแต่ละยกให้ถอยโพรบออก จากนั้นจึงนำน้ำเชื้อมาตรวจคุณภาพต่อไป

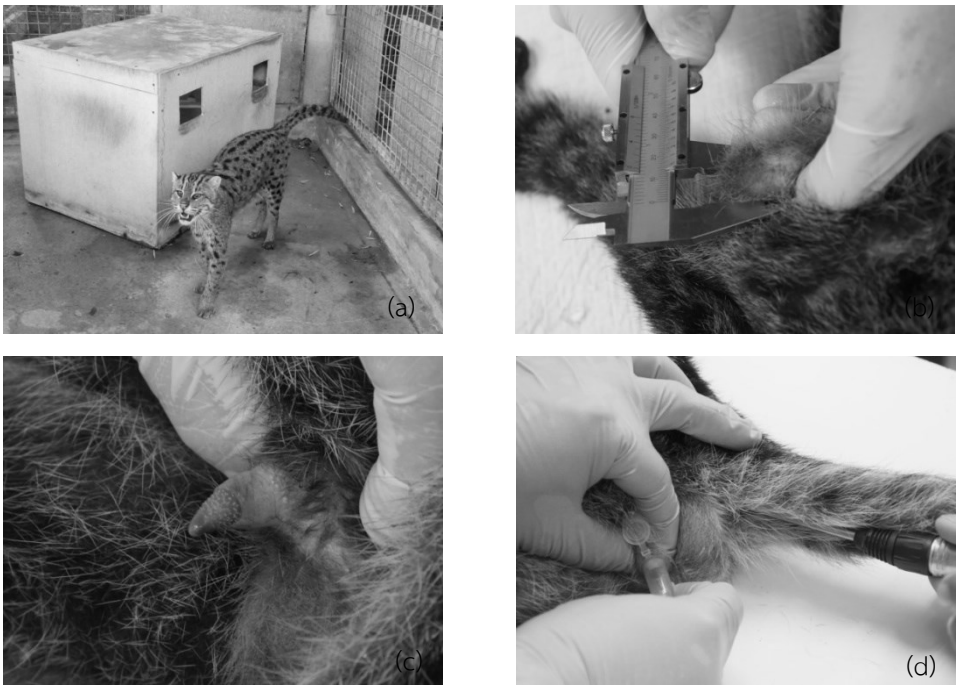

Figure 1 Presence of fishing cat in captive (a) testis (b) presence of keratinized spines on the glans of a fishing cat (c) electroejaculation (d).

การตรวจประเมินคุณภาพน้ำเชื้อ

ตรวจประเมินคุณภาพน้ำเชื้อ โดยการประเมินจาก การเคลื่อนไหวหมู่ เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ (motility) เปอร์เซ็นต์อสุจิมีชีวิต (viability) จากการย้อมสี eosin-Aniline blue เพื่อดูตัวเป็นตัวตาย ดังรายละเอียดต่อไปนี้

- การประเมินการเคลื่อนไหวหมู่ โดยหยดน้ำเชื้อ 1 หยด ลงบนแผ่นสไลด์ที่วางบนเครื่องอุ่นสไลด์ จากนั้นนำไปส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (olympus cx23 binocular microscope, Japan) กำลังขยาย 400 เท่า

- การประเมินการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ โดยตรวจประเมินร้อยละการเคลื่อนที่ด้วยเครื่อง computer assisted sperm analysis (CASA) (Hamilton Throne, CEROS II)

- การประเมินลักษณะและความผิดปกติของอสุจิ โดยการหยดน้ำเชื้อลงแผ่นสไลด์ และทำการสเมียร์ จากนั้นปล่อยให้แห้ง จากนั้นนำไปส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ชนิด phase contrast ทำการบันทึกข้อมูลลักษณะรูปร่าง และความผิดปกติของตัวอสุจิ

- การประเมินเปอร์เซ็นต์อสุจิมีชีวิต โดยนำน้ำเชื้อ 10 ไมโครลิตรเจือจางกับสี eosin-anelin blue 20 ไมโครลิตร บนแผ่นสไลด์ผสมให้เข้ากัน บ่มทิ้งไว้ 30 วินาที ก่อนทำการสเมียร์ จากนั้นตรวจนับตัวอสุจิจำนวน 200 ตัว ด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง (1,000 เท่า) โดยตัวอสุจิที่มีชีวิตไม่ติดสี ตัวที่ตายส่วนหัว (ทั้งหมดหรือครึ่งหนึ่ง) ติดสีแดงหรือสีส้ม

ผลการศึกษาและวิจารณ์

ผลการวางยาสลบ

การวางยาสลบเสือปลาส่งผลให้เสือปลามีอาการคลื่นไส้ ก่อนทำการรีดด้วยวิธีกระตุ้นด้วยกระแสไฟฟ้า เสือปลาจะถูกเก็บตัวอย่างเลือด (เพื่อตรวจสุขภาพ) และวัดขนาดของอัณฑะ และทำการรีดน้ำเชื้อ จะใช้เวลาทั้งหมด 30 นาที ต่อ 1 ตัว หลังจากสิ้นสุดกระบวนการรีดน้ำเชื้อ จะฉีดวิตามินบำรุง และฉีดยาทำให้ฟื้นจากการวางยาสลบ และให้พักผ่อนในกล่อง รอจนกว่าเสือปลาจะฟื้นสมบูรณ์และปลอดภัย และเคลื่อนย้ายลงไปคอกเลี้ยงตามเดิม วันต่อมาพบว่าเสือปลามีอาการปกติและสามารถกินอาหารได้ตามเดิม

การรีดน้ำเชื้อโดยการกระตุ้นด้วยกระแสไฟฟ้า

จากการรีดน้ำเชื้อในเสือปลา จำนวน 5 ตัว โดยมีการรีดน้ำเชื้อทั้งหมดจำนวน 4 ครั้ง พบว่าเสือปลาแต่ละตัวมีการตอบสนองที่แตกต่างกันโดย เสือปลา M1 และ M8 มีการหลั่งน้ำเชื้อได้ทั้ง 4 ครั้ง เสือปลา M2 สามารถรีดน้ำเชื้อได้แค่ 2 ครั้ง คือ ครั้งที่ 1 และ 2 เสือปลา M3 สามารถรีดน้ำเชื้อได้ 3 ครั้ง คือ ครั้งที่ 1 ครั้งที่ 2 และครั้งที่ 3 เสือปลา M5 สามารถรีดน้ำเชื้อได้ 3 ครั้ง คือ ครั้งที่ 1 ครั้งที่ 2 และครั้งที่ 4 ทำให้ปริมาณน้ำเชื้อที่ได้มีความแปรผันมาก ทั้งนี้อาจจะขึ้นอยู่กับการสอดโพรบที่เหมาะสมของเสือปลาแต่ละตัว เพื่อนำไปสู่การตอบสนองที่ดี

ผลการตรวจคุณภาพน้ำเชื้อของเสือปลา

ในเสือปลาจำนวน 5 ตัว ได้รับการรีดน้ำเชื้อทั้งหมด 20 ครั้ง (ตัวละ 4 ครั้ง โดยรีดห่างกันประมาณ 2 เดือน) สามารถรีดเก็บน้ำเชื้อได้จำนวน 18 ครั้ง ซึ่งคิดเป็นร้อยละความสำเร็จของการรีดน้ำเชื้อได้ ร้อยละ 90 (Table 1) ผลของการตรวจคุณภาพน้ำเชื้อ พบว่า ปริมาตรของน้ำเชื้อและการเคลื่อนไหวของอสุจิมีความผันแปรมาก (Figure 2) ปริมาตรน้ำเชื้อเฉลี่ย 43.13 ไมโครลิตร (อยู่ในช่วง 5-200 ไมโครลิตร) มีค่าความเป็นกรด-ด่าง เฉลี่ย 5.81 (อยู่ในช่วง 5-7) มีการเคลื่อนไหวของอสุจิเฉลี่ย 28.25 เปอร์เซ็นต์ (อยู่ในช่วง 1-90 เปอร์เซ็นต์) และความเข้มข้นอสุจิเฉลี่ย 207.44 ล้านตัวต่อมิลลิลิตร (อยู่ในช่วง 12-860 ล้านตัวต่อมิลลิลิตร) (Table 2) ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Pinyopummin et al. (2011) พบว่าความเข้มข้นของน้ำเชื้อจะมีอสุจิ 40-358 ล้านตัวต่อมิลลิลิตร และการเคลื่อนไหวของตัวอสุจิอยู่ที่ 80-95 เปอร์เซ็นต์ และเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับการศึกษาคุณภาพน้ำเชื้อในสัตว์ตระกูลเสือ (สิงโต เสือ และเสือดาว) พบความเข้มข้นของน้ำเชื้อจะมีอสุจิอยู่ระหว่าง 42-56 ล้านตัวต่อมิลลิลิตร และการเคลื่อนไหวของอสุจิอยู่ในช่วง 46-57 เปอร์เซ็นต์ (Shivaji et al., 2003) ในการศึกษาครั้งนี้ยังพบว่าคุณภาพน้ำเชื้อของเสือปลายังมีความผันแปรเป็นอย่างมาก อาจจะเนื่องจากคุณภาพน้ำเชื้อขึ้นอยู่กับปัจจัยหลาย ๆ อย่าง เช่น สุขภาพสัตว์ อายุ พันธุกรรม เป็นต้น

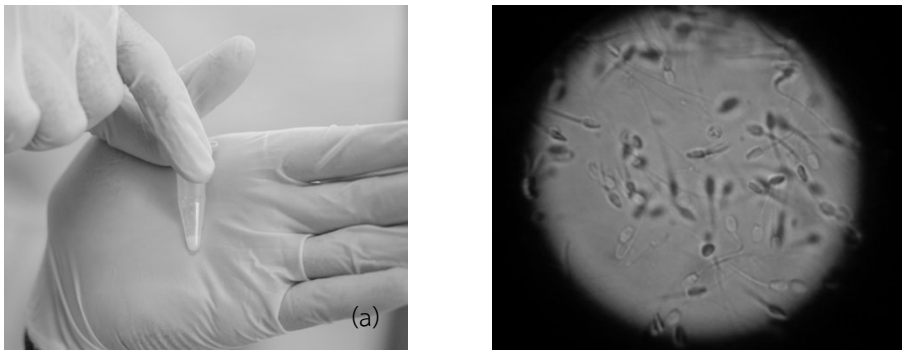

Figure 2 Presence of volume semen (a) Semen characteristics under the microscope x 400 (b).

Table 1 Result of electroejaculation in fishing cat.

No	ID	Weight (kg)	Electro. (V)	Volume (µl)	pH	%Motility		Concentration (x10^6/ml)
						% Motile	% Progressive	
1	M1	9.2	1.5	20	5	20	5	50
2	M1	11.7	4	20	7	1	1	20
3	M1	11.6	1	20	6	1	1	20
4	M1	11.2	1	80	7	1	1	25
	mean-M1	**10.925**	**1.875**	**35**	**6.25**	**5.75**	**2**	**28.75**
5	M2	12.7	2	15	6	5	1	15
6	M2	13.7	1	20	7	1	1	20
7	M2	13	5	-	-	-	-	-
8	M2	12.7	5	-	-	-	-	-
	mean-M2	**13.025**	**3.25**	**8.75**	**3.25**	**1.5**	**0.5**	**8.75**
9	M3	11	0.5	50	5	23	13	120
10	M3	11	0.5	50	5	23	13	120
11	M3	13.8	1.5	50	6	20	5	100
12	M3	12	5	0	-	-	-	-
	mean-M3	**11.95**	**1.875**	**37.5**	**4**	**16.5**	**7.75**	**85**
13	M5	11	3	15	6	85	10	220
14	M5	15.2	3	25	6	1	1	32
15	M5	14.7	5	0	-	-	-	-
16	M5	14.1	4.5	200	6	5	1	30
	mean-M5	**13.75**	**3.875**	**60**	**4.5**	**22.75**	**3**	**70.5**
17	M8	9.1	1	50	5	90	60	850
18	M8	14.7	2	20	5	49	15	155
19	M8	13.5	0.5	30	5	80	70	860
20	M8	13.8	3.5	70	5	65	60	790
	mean-M5	**12.775**	**1.75**	**42.5**	**5**	**71**	**51.25**	**663.75**

-: not determined.

Table 2 Semen characteristics collected by electroejaculation in fishing cat.

Items	Characteristic of semen (Mean ± SEM)
Seminal fluid	clear to milky white semen
Volume (µl)	5-200 (43.13±11.73)
pH	5-7 (5.81±0.19)
Motility (%)	1-90 (28.25±8.41)
Progressive motility (%)	1-70 (15.38±6.08)
Concentration (x 10^6/ml)	12-860 (207.44±79.09)
Morphologically normal sperm (%)	85.5-99 (85.06±5.86)
Morphologically abnormal sperm (%)	
Head defects	1-14.5 (9.08±2.12)
Tail defects	1-65.5 (20.80±10.18)

สรุปผลการศึกษา

จากการศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่า เสือปลาสามารถรีดน้ำเชื้อด้วยวิธีการกระตุ้นด้วยกระแสไฟฟ้าได้ และปริมาตรน้ำเชื้อเฉลี่ย 43.13 ไมโครลิตร (อยู่ในช่วง 5-200 ไมโครลิตร) มีค่าความเป็นกรด-ด่าง เฉลี่ย 5.81 (อยู่ในช่วง 5-7) มีการเคลื่อนไหวของอสุจิเฉลี่ย 28.25 เปอร์เซ็นต์ (อยู่ในช่วง 1-90 เปอร์เซ็นต์) และความเข้มข้นอสุจิเฉลี่ย 207.44 ล้านตัวต่อมิลลิลิตร (อยู่ในช่วง 12-860 ล้านตัวต่อมิลลิลิตร) ผลของการศึกษาในครั้งนี้สามารถใช้เป็นแนวทางในการเก็บน้ำเชื้อแช่แข็งและการผสมเทียมในเสือปลาเพื่อการขยายพันธุ์และการอนุรักษ์จำนวนประชากรเสือปลาต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณผู้อำนวยการสำนักงานพัฒนาพิงคนคร (องค์การมหาชน) ผู้อำนวยการสำนักงานเชียงใหม่ไนท์ซาฟารี ผู้อำนวยการฝ่ายบริหารจัดการสัตว์ กลุ่มงานสัตวแพทย์ อนุรักษ์ และวิจัย และขอขอบคุณ นางกรรณิการ์ โฉมแก้ว นายกานตพงศ์ ไชยา นายสุรชัย พนาไพรเลิศ นางสาวธิลาพร ฉัตรมณีชัย นางสาวน้ำฝน ศรีนวลเขียว เจ้าหน้าที่ผู้ดูแลเสือปลา และเจ้าหน้าที่ทุกท่านที่อำนวยความสะดวกในการศึกษาครั้งนี้ ขอขอบคุณกลุ่มวิชา วิทยาการสืบพันธุ์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่อนุเคราะห์เครื่องมือและสารเคมี และขอขอบคุณศูนย์วิจัยการผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพเชียงใหม่ ที่อนุเคราะห์อุปกรณ์ เครื่องมือ และสารเคมี ที่ใช้ในการศึกษาในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

Arnemo, J. M. (2002). **Reversible anaesthesia in non-domestic cats**. Tromsø: Norwegian School of Veterinary Science.

IUCN. (2008). **IUCN Red List of Threatened Species**. Retrieved from: www.iucnredlist.org.

Khonmee, J., Brown, J. L., Rojanasthien, S., Thumasanukul, D., Kongphoemphun, A., Siriaroonrat, B., Tipkantha, W., Punyapornwithaya, V. & Thitaram, C. (2014). Seasonality of fecal androgen and glucocorticoid metabolite excretion in male goral (*Naemorhedus griseus*) in Thailand. **Animal reproduction science**. 146(1-2), 70-78.

Nowell, K. & Jackson, P. (1996). **Wild Cats: Status Survey and Conservation Action Plan**. Cambridge: The Burlington Press.

Pinyopummin, A., Aunsusin, A., Kornkaewrat, K., Suthanmapinunt, P., Thiangtum, K. & Sirinarumitr, K. (2011). Semen Quality in Fishing Cats (*Prionailurus viverrinus*) with Unilateral Cryptorchidism or Presumptive Testicular Hypoplasia: A Preliminary Result. **The Thai Journal of Veterinary Medicine**. 41, 127-128.

Santymire, R. M., Brown, J. L., Stewart, R. A., Santymire, R. C., Wildt, D. E. & Howard, J. (2011). Reproductive gonadal steroidogenic activity in the fishing cat *(Prionailurus viverrinus*) assessed by fecal steroid analyses. **Animal reproduction science.** 128(1-4), 60-72.

Shivaji, S., Kholkute, S. D., Verma, S. K., Gaur, A., Umapathy, G., Singh, A., Sontakke, S., Shailaja, K., Reddy, A., Monika, S., Sivaram, V., Jyotsna, B., Bala, S., Ahmed, M. S., Bala, A., Chandrashekar, B. V., Gupta, S., Prakash, S. & Singh, L. (2003). Conservation of wild animals by assisted reproduction and molecular marker technology. **Indian journal of experimental biology**. 41(7), 710-723.

Swanson, W. F. (2006). Application of assisted reproduction for population management in felids: the potential and reality for conservation of small cats. **Theriogenology**. 66(1), 49-58.

Thiangtum, K., Swanson, W. F., Howard, J., Tunwattana, W., Tongthainan, D., Wichasilpa, W., Patumrattanathan, P. & Pinyopoommintr, T. (2006). Assessment of basic seminal characteristics, sperm cryopreservation and heterologous in vitro fertilisation in the fishing cat (*Prionailurus viverrinus*). **Reproduction, Fertility and Development**. 18(3), 373-382.

Wasalai, W. (2007). **Fishing cat**. Retrieved from: http://www.verdantplanet.org/. (in Thai).

Zanetti, E. S., Munerato, M. S., Cursino, M. S. & Duarte, J. M. (2014). Comparing two different superovulation protocols on ovarian activity and fecal glucocorticoid levels in the brown brocket deer (*Mazama gouazoubira*). **Reproductive biology and endocrinology**. 12(24), 12-24.

วันรับบทความ (Received date) : 21 มิ.ย. 65
วันแก้ไขบทความ (Revised date) : 7 เม.ย. 66
วันตอบรับบทความ (Accepted date) : 6 มิ.ย. 66
https://doi.org/10.55003/kmaj.2023.08.31.011