



## Abstract

Project Code : TRG5380012

Project Title : Artificial insemination and *in vitro* fertilization in wild felids

Investigator : Ampika Thongphakdee      Zoological Park Organization

E-mail Address : ampialaska@hotmail.com

Project Period : 2 years (31 May 2010-31 May 2012)

Current status of wild felids in Thailand is dramatically decline and in risk of extinct. Captive breeding management, genome resource bank and assisted reproductive technologies are important tools for enhancing reproductive trait and genetic diversity in small population. The objectives of the study were to investigate 1) semen quality, sperm characteristic and morphology, 2) quality of sperm, oocyte binding and fertilizing ability after cryopreserved and 3) response of estrus and ovulation induction and feasibility of pregnancy establishment after artificial insemination (AI). Experiment I Semen collected by electro-ejaculation was quality evaluated in 6 felis species including leopard cat (22/25), flat-headed cat (5/9), jungle cat (4/6), fishing cat (7/8), asian golden cat (3/4) and clouded leopard (4/7). Result show high degree of teratospermia with pear shape sperm head, coiled and bent tail. Standard value of normal sperm structure was measured in each species for future use in computerized sperm analysis program. Experiment II Sperm cryosurvival of leopard cat and jungle cat was evaluated. Result showed decreasing of motility and viability percentage after thawing. After heterologous *in vitro* fertilization (IVF) with domestic cat oocytes, leopard cat and jungle cat thawed spermatozoa were able to bind with oocytes and developed to blastocyst. Experiment II Induction of estrus and ovulation was done by administrating of 150 IU of PMSG and 100 IU of hCG. Result showed that 3/5 leopard cat response to the treatment by developing 2-5 follicle/ individual. Significant smaller ovarian sized was observed in poorly-responded females treated with exogenous gonadotropin. The AI was conducted via oviduct (1 cat,  $7 \times 10^6$  spermatozoa) and uterine horn (2 cats,  $10-20 \times 10^6$  spermatozoa/cat). None of them delivered offspring. In conclusion, this information is valuable for male fertility assessment in captive small felids and can benefit breeding management. Cryopreserved sperm were functioned and able to fertilized *in vitro*. Banked semen and assisted reproductive technologies can play important roles on genetic exchange and future research. However, ability to establish pregnancy by AI was limited by poor response to exogenous hormone, reducing sperm quality and possibly survives shortly after thawed which would be improved and studied in detail in the future.

Keywords : semen quality, sperm, artificial insemination, *in vitro* fertilization, wild felids



## บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: TRG5380012

ชื่อโครงการ: การผสมเทียมและการปฏิสินธิภัณฑ์ก่อร่างกายในสัตว์ป่าตระกูลแมว

ชื่อนักวิจัย: สพ.ญ. ดร. อัมพิกา ทองภักดี องค์การสวนสัตว์ ในพระบรมราชูปถัมภ์

E-mail Address: ampi.alaska@hotmail.com

ระยะเวลาโครงการ: 2 ปี (31 พฤษภาคม 2553-31 พฤษภาคม 2555)

สัตว์ป่าตระกูลแมวในประเทศไทยปัจจุบันมีจำนวนประชากรลดลงอย่างมาก และมีความเสี่ยงในการสูญพันธุ์ การจัดการทางการสืบพันธุ์ สร้างธนาคารพันธุกรรม และนำเอาเทคโนโลยีชีวภาพทางการสืบพันธุ์มาใช้ในสัตว์ป่าจึงเป็นเครื่องมือสำคัญในการเพิ่มประสิทธิภาพทางการสืบพันธุ์ และเพิ่มความหลากหลายทางพันธุกรรมของกลุ่มประชากรขนาดเล็ก การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษา 1) คุณภาพน้ำเชื้อ และลักษณะรูปร่างของตัวอสุจิ 2) คุณภาพของตัวอสุจิภายหลังการแช่แข็ง ความสามารถในการเก็บเปลือกໂອໂஐซ์ต์ และการปฏิสินธิภัณฑ์ก่อร่างกาย และ 3) การตอบสนองของการเหนี่ยวนำการเป็นสัตด และการผสมเทียม การทดลองที่ 1 เก็บน้ำเชื้อด้วยวิธีกระตุ้นกระแสไฟฟ้า ตรวจสอบคุณภาพน้ำเชื้อ และลักษณะรูปร่างของตัวอสุจิในสัตว์ป่าตระกูลแมว 6 ชนิด ผลการศึกษาพบว่าสามารถเก็บน้ำเชื้อจากแมวดาว (22/25 ตัว) แมวป่าหัวแม่น (5/9 ตัว) เสือกระต่าย (4/6 ตัว) เสือป่า (7/8 ตัว) เสือไฟ (3/4 ตัว) และเสือลายเมฆ (4/7 ตัว) ตรวจพบความผิดปกติของตัวอสุจิส่วนใหญ่ คือ มีหัวอสุจิเป็นรูปกลุ่มแพรหางม้วน และงอ ได้ค่ามาตรฐานของขนาดตัวอสุจิที่ปกติของสัตว์แต่ละชนิด การทดลองที่ 2 ศึกษาคุณภาพของตัวอสุจิแมวดาวและเสือกระต่ายภายหลังการแช่แข็ง พบเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ และการมีชีวิตของตัวอสุจิลดลงภายหลังการละลาย ภายหลังการเลี้ยงตัวอสุจิแมวดาว และเสือกระต่ายร่วมกับໂອໂஐซ์ต์แมวบ้าน (ปฏิสินธิภัณฑ์ก่อร่างกาย) พบว่าตัวอสุจิสามารถเก็บกับเปลือกໂອໂஐซ์ต์ และมีการปฏิสินธิ สามารถแบ่งตัวถังระบบลากส์โตซีส การทดลองที่ 3 กระตุ้นพัฒนาของฟอลลิเคิลด้วยฮอร์โมนพี อีม เอส จี 150 ไออยู และ เอช ซี จี 100 ไออยู พบว่าแมวดาว 3/5 ตัว ตอบสนองต่อการกระตุ้น มีจำนวนฟอลลิเคิล 2-5 ฟอลลิเคิลต่อรังไข่ แมวดาวที่ไม่ตอบสนองต่อการกระตุ้น พบว่ารังไข่มีขนาดเล็ก ผสมเทียมโดยการสอดเข้าท่อน้ำไข่ 1 ตัว ซึ่งมีจำนวนตัวอสุจิมีชีวิต 7 ล้านตัว และผสมเทียมทางปีกมดลูก 2 ตัว ซึ่งมีจำนวนตัวอสุจิมีชีวิต 10-20 ล้านตัว พบว่าไม่มีแมวดาวตัวใดตั้งท้อง โดยสรุปการตรวจคุณภาพน้ำเชื้อและรูปร่างลักษณะตัวอสุจิที่เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการวินิจฉัยความสมบูรณ์พันธุ์ของเสือขนาดเล็กของประเทศไทย สามารถแช่แข็งตัวอสุจิเพื่อการเพาะขยายพันธุ์ และวิจัยต่อไปในอนาคตตัวอสุจิแมวดาว และเสือกระต่ายภายหลังการแช่แข็งรอดชีวิตและสามารถปฏิสินธิกับໂອໂஐซ์ต์แมวบ้านได้ สามารถพัฒนาจนถึงระบบลากส์โตซีส อย่างไรก็ตามการผสมเทียมยังมีข้อจำกัดทำให้ไม่สามารถผลิตลูกสัตว์ได้ เช่น การไม่ตอบสนองต่อการกระตุ้นด้วยฮอร์โมน นำเชื้อภายหลังการแช่แข็งมีคุณภาพต่ำ และอาจมีชีวิตอยู่รอดได้ไม่นาน ซึ่งต้องมีการศึกษาพัฒนาเพิ่มเติมต่อไปในอนาคต

คำหลัก : คุณภาพน้ำเชื้อ ตัวอสุจิ การผสมเทียม การปฏิสินธิภัณฑ์ก่อร่างกาย สัตว์ป่าตระกูลแมว