



รายงานผลการดำเนินงาน  
ทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดินปี 2555

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ  
สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี  
สนองพระราชดำริโดยจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เรื่อง

การประเมินสุขภาพของสัตว์เลื้อยคลานในระบบนิเวศทะเล  
(Evaluation of Health Status of Reptiles in Marine Ecosystem)

คณะผู้วิจัย

อาจารย์ ดร. จิรารัช กิตนะ	อาจารย์ ดร. นพดล กิตนะ
รองศาสตราจารย์ ผุสดี ปริยานนท์	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วิเชษฐ คนชื่อ
นายภาณุพงศ์ ธรรมโชติ	นายธงชัย ฐิติภูรี
นายรชตะ มณีอินทร์	นายศราวุธ โภมุทธพงษ์
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	

พลเรือตรีวินัย กล่อมอินทร์

หน่วยบัญชาการสงครามพิเศษทางเรือ กองเรือยุทธการ กองทัพเรือ

รายงานผลการดำเนินงาน  
ทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดินปี 2555

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ  
สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี  
สนองพระราชดำริโดยจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เรื่อง

(ภาษาไทย) การประเมินสุขภาพของสัตว์เลื้อยคลานในระบบนิเวศทะเล

(ภาษาอังกฤษ) Evaluation of Health Status of Reptiles in Marine  
Ecosystem

คณะผู้วิจัย

อาจารย์ ดร. จีรารัช กิตนะ

อาจารย์ ดร. นพดล กิตนะ

รองศาสตราจารย์ ผุสดี ปريانนท์

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วิเชษฐุ์ คนชื้อ

นายภาณุพงศ์ ธรรมโชติ

นายธงชัย ฐิติภูรี

นายรชตะ มณีอินทร์

นายศราวุธ โกมุทพงษ์

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พลเรือตรีวินัย กล่อมอินทร์

หน่วยบัญชาการสงครามพิเศษทางเรือ กองเรือยุทธการ กองทัพเรือ

## กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2555 คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี และ หน่วยบัญชาการสงครามพิเศษทางเรือ กองเรือยุทธการ กองทัพเรือ ที่ให้การสนับสนุนและอำนวยความสะดวกในการทำงานวิจัยในพื้นที่ ขอขอบคุณ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และผู้ร่วมงานทุกท่านที่ได้ให้ความร่วมมือในการปฏิบัติงานภาคสนาม มาเป็นอย่างดี

## บทคัดย่อ

เกาะหุยง (เกาะหนึ่ง) ของหมู่เกาะสิมิลัน จังหวัดพังงา เป็นพื้นที่วางไข่ที่สำคัญของเต่าทะเลในฝั่งทะเลอันดามัน โดยพบเต่าตนุใช้พื้นที่หาดทรายของเกาะสำหรับวางไข่เป็นจำนวนมากที่สุดเมื่อเทียบกับพื้นที่อื่นในฝั่งทะเลอันดามัน จนได้รับการพิจารณาให้เป็นหนึ่งในพื้นที่ดำเนินการของโครงการอนุรักษ์พันธุ์เต่าทะเลฝั่งทะเลอันดามันของกองทัพเรือ มาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2538 จากการสำรวจภาคสนามในช่วงปี พ.ศ.2553-2554 ที่เกาะหุยง คณะผู้วิจัยได้พบการขึ้นวางไข่ของเต่าตนุจำนวน 28 รัง โดยมีจำนวนไข่ต่อหลุม (clutch size) เฉลี่ย  $105 \pm 23$  ฟอง เมื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิสิ่งแวดล้อมในช่วง 8 สัปดาห์ ในช่วงฤดูการวางไข่ พบว่าอุณหภูมิอากาศบริเวณหาดทรายที่พบการทำรังวางไข่มีการเปลี่ยนแปลงตั้งแต่ 23.6 ถึง 35.4 องศาเซลเซียส อย่างไรก็ตามในหลุมทรายที่เต่าทำรังจะมีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในช่วงแคบ โดยมีความแตกต่างของอุณหภูมิสูงสุด-ต่ำสุดเพียง 1.4 ถึง 2.2 องศาเซลเซียสเท่านั้น เมื่อเจาะเลือดเต่าเพศเมียจากตำแหน่ง external jugular vein (dorsal cervical sinus) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร นำมาตรวจสอบค่าทางโลหิตวิทยา ได้แก่ ชนิดและจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาว และจำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดง เพื่อตรวจสอบสุขภาพโดยรวมของเต่าในธรรมชาติ พบว่าเต่าตนุที่ขึ้นวางไข่มีจำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดงเฉลี่ย  $406,667 \pm 51,377$  เซลล์/ลูกบาศก์มิลลิเมตร และเซลล์เม็ดเลือดขาวเฉลี่ย  $19,847 \pm 9,328$  เซลล์/ลูกบาศก์มิลลิเมตร ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ปกติ (reference interval) ที่รายงานในเต่าตนุที่พบในธรรมชาติและในที่เลี้ยง และมีการกระจายของค่าร้อยละของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดย่อยเป็นแบบปกติ ซึ่งแสดงให้เห็นถึงสุขภาพและความสมบูรณ์ของเต่าตนุที่ขึ้นวางไข่ที่เกาะหุยง ข้อมูลด้านนิเวศสรีรวิทยาเหล่านี้สามารถนำมาใช้บ่งบอกการดำรงชีวิตของสัตว์ในธรรมชาติ และเมื่อเก็บรวบรวมอย่างต่อเนื่องจะเป็นประโยชน์ต่อการติดตามตรวจสอบสุขภาพในระยะยาว เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในการพัฒนาเกาะหุยงให้เป็นสถานที่ศึกษาและอนุรักษ์พันธุ์เต่าทะเลอย่างยั่งยืนต่อไป

**คำสำคัญ** เต่าตนุ การวางไข่ อุณหภูมิ เซลล์เม็ดเลือดแดง เซลล์เม็ดเลือดขาว



## Abstract

Huyong Island of the Similan Islands in Phang-Nga Province is an important nesting site for sea turtle in the Andaman Sea. Compared to other islands in the Andaman Sea, the highest number of green sea turtle (*Chelonia mydas*) eggs was found on this island. As a result, this island has been selected to be used as an implemented area for the Andaman Sea Turtle Conservation Project of the Royal Thai Navy since 1995. In this research, a record of 2010-2011 field surveys showed that 28 green sea turtle nests with the average clutch size of  $105 \pm 23$  eggs were found on this island. Temperature loggers were used to monitor changes in air and nest temperature at the nesting beach during nesting season. Although air temperature was found to fluctuate from 23.6 °C to 35.4 °C, temperature in the nest was relatively stable with the difference in highest to lowest temperature of only 1.4 to 2.2 °C. In order to monitor health status of the nesting female turtles, blood sample (0.5 mL) was taken from external jugular vein (dorsal cervical sinus) of the turtle and subjected to hematological evaluation. Blood parameters examined included blood cell count and blood cell morphology. It was found that an average erythrocyte (red blood cell) count of these nesting female turtle was  $406,667 \pm 51,377 \text{ cell/mm}^3$  and an average leucocyte (white blood cell) count was  $19,847 \pm 9,328 \text{ cell/mm}^3$ . These values are within a reported reference interval of natural and captive populations of green sea turtle. Examination of differential leucocyte count showed the normal distribution of these values. These indicated a normal health status of nesting turtles at Huyong Island. Ecophysiological data of this kind is an important indicative for sea turtle well being in nature, and when gather systematically and continuously, could provide a means for long term health status monitoring program and contribute to an effort to establish Huyong Island as a sea turtle research and conservation base in the future.

**Keywords:** green sea turtle, nesting, temperature, erythrocyte, leukocyte

## สารบัญ

กิตติกรรมประกาศ.....	i
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ii
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	iii
สารบัญ .....	iv
สารบัญตาราง .....	v
สารบัญภาพ .....	vi
บทนำ .....	1
วัตถุประสงค์ .....	2
วิธีดำเนินการวิจัย .....	2
สถานที่ทำการวิจัยและเก็บข้อมูล .....	4
ผลการศึกษา .....	5
สรุปผลการวิจัย .....	17
เอกสารอ้างอิง .....	18

เลขหมู่  
เอกทระเบียน 015908  
วัน, เดือน, ปี 17พ.ค. 56

## สารบัญตาราง

ตารางที่ 1: ข้อมูลการขึ้นวางไข่ของเต่าตนุที่เกาะหุยง อุทยานแห่งชาติหมู่เกาะสิมิลัน จังหวัดพังงา ในช่วงปี พ.ศ. 2553-2554 .....	6
ตารางที่ 2: ข้อมูลการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของบริเวณหาดทรายที่เต่าตนุทำรังวางไข่ ในช่วงเดือน พฤษภาคม-สิงหาคม พ.ศ.2554 .....	11
ตารางที่ 3: จำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดง และจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาว ของเต่าตนุเพศเมียที่ขึ้นวางไข่ ที่หาดทรายบนเกาะหุยง อุทยานแห่งชาติหมู่เกาะสิมิลัน จังหวัดพังงา .....	13
ตารางที่ 4: ร้อยละของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดย่อย (differential leucocyte count) ของของเต่าตนุเพศเมียที่ขึ้นวางไข่ที่หาดทรายบนเกาะหุยง อุทยานแห่งชาติหมู่เกาะสิมิลัน จังหวัดพังงา .....	17

## สารบัญภาพ

ภาพที่ 1: การเจือจางเลือดด้วยสารละลายสำหรับเจือจางเลือดของสัตว์เลี้ยงคลานและสัตว์ปีกก่อน หดยดลงบน hemocytometer .....	3
ภาพที่ 2: ลักษณะรูปร่างของเซลล์เม็ดเลือดแดง (ลูกครสีแดง) และเซลล์เม็ดเลือดขาว (ลูกครสีน้ำ เงิน) ที่สังเกตเห็นภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง .....	4
ภาพที่ 3: การขึ้นทำรังวางไข่จำนวน 80 ฟองของ “แม่เมธินี” ในวันที่ 20 พฤษภาคม พ.ศ.2554 ลูกครสีแดงซึ่งบริเวณปากหลุมที่วางไข่ .....	5
ภาพที่ 4: ตำแหน่งการวางเครื่องบันทึกอุณหภูมิต่อเนื่องทั้งที่ปากหลุมเพื่อบันทึกอุณหภูมิอากาศ (วงกลมสีแดง) และ ที่กันหลุมเพื่อบันทึกอุณหภูมิตราภายในหลุม (ไม่แสดงในภาพ) .....	10
ภาพที่ 5: กราฟการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิอากาศ (เส้นประสีขาว) และอุณหภูมิตราภายในหลุมที่เต่า ตนุวางไข่ ภายหลังจากการย้ายไข่ไปยังหลุมปักแล้ว (เส้นทึบสีฟ้า, แดง, เขียว, ม่วง และ ส้ม) ตลอด 8 สัปดาห์ในฤดูการวางไข่ (พฤษภาคม-สิงหาคม พ.ศ.2554) เส้นประแนวตั้งสีชมพูแสดงช่วงเวลาที่ยพบ กระบวนการกำหนดเพศในเต่าตนุ .....	12
ภาพที่ 6: ภาพเซลล์เม็ดเลือดของ “แม่ศรีจามจรี” เต่าตนุเพศเมียที่ขึ้นวางไข่ที่หาดทรายบนเกาะหุ ยง อุทยานแห่งชาติหมู่เกาะสิมิลัน จังหวัดพังงา (Erythrocyte = เซลล์เม็ดเลือดแดง; Granulocyte = เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดที่แกรนูลย้อมติดสี; Agranulocyte = เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดที่แกรนูล ย้อมไม่ติดสี; scale bar ขนาด 20 ไมโครเมตร) .....	14
ภาพที่ 7: เซลล์ทรอมโบไซต์ (thrombocyte: ลูกครซี) ที่พบอยู่เป็นเซลล์เดี่ยว (n: scale bar ขนาด 20 ไมโครเมตร) และที่พบรวมกลุ่มกัน (x: scale bar ขนาด 50 ไมโครเมตร) บนสไลด์เลือด เกลี่ยบางของเต่าตนุเพศเมีย .....	14
ภาพที่ 8: เซลล์เม็ดเลือดแดง (erythrocyte) และเม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ (lymphocyte) และ โมโนไซต์ (monocyte) ของเต่าตนุเพศเมียที่ขึ้นวางไข่ (scale bar ขนาด 50 ไมโครเมตร) .....	15
ภาพที่ 9: เซลล์เม็ดเลือดแดง (erythrocyte) และเม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ (lymphocyte) ซึ่ง เป็นเม็ดเลือดขาวชนิดที่ไม่มีแกรนูล เปรียบเทียบกับเฮเทอโรฟิล (heterophil) ซึ่งเป็นเม็ดเลือดขาว ชนิดมีแกรนูล ของเต่าตนุเพศเมียที่ขึ้นวางไข่ (scale bar ขนาด 50 ไมโครเมตร) .....	16
ภาพที่ 10: (n) เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดเฮเทอโรฟิล (heterophil) (x) เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดอีโอซิ โนฟิล (eosinophil) ของเต่าตนุเพศเมียที่ขึ้นวางไข่ (scale bar ขนาด 20 ไมโครเมตร) .....	16



รายงานผลการดำเนินงาน  
ทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดินปี 2555

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ  
สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี  
สนองพระราชดำริโดยจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ชื่อโครงการวิจัย (ภาษาไทย) การประเมินสุขภาพของสัตว์เลื้อยคลานในระบบนิเวศทะเล  
(ภาษาอังกฤษ) Evaluation of Health Status of Reptiles in Marine Ecosystem

คณะผู้วิจัย  
อาจารย์ ดร. จิรารักษ์ กิตนะ  
อาจารย์ ดร. นพดล กิตนะ  
รองศาสตราจารย์ ผุสดี ปริยานนท์  
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วิเชษฐ คุนซื่อ  
นายภาณุพงศ์ ธรรมโชติ นายธงชัย ฐิติภูรี  
นายรัชตะ มณีอินทร์ นายศรารัฐ โกมูทพงษ์  
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พลเรือตรีวินัย กล่อมอินทร์  
หน่วยบัญชาการสงครามพิเศษทางเรือ กองเรือยุทธการ กองทัพเรือ

## 1. บทนำ

พื้นที่โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ ประกอบด้วยระบบนิเวศอันหลากหลายตั้งแต่ระบบนิเวศบก ระบบนิเวศน้ำจืด และระบบนิเวศทะเล ที่ยังคงสภาพอุดมสมบูรณ์ จากผลการศึกษาในภาคสนามที่ผ่านมาพบว่าพื้นที่โครงการในหลายบริเวณมีความหลากหลายทางชีวภาพของสัตว์เลื้อยคลานค่อนข้างสูง มีสัตว์เลื้อยคลานชนิดสำคัญหลายชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่ง กลุ่มเต่าทะเล ซึ่งล้วนเป็นสัตว์ป่าคุ้มครอง (สุพจน์ จันทราภรณ์ศิลป์, 2544) จึงสมควรอย่างยิ่งที่จะต้องอนุรักษ์พื้นที่บริเวณนี้ไว้ ซึ่งการบริหารจัดการและอนุรักษ์ทรัพยากรธรรมชาติอย่างยั่งยืนจำเป็นต้องอาศัยองค์ความรู้พื้นฐานที่เกี่ยวข้องกับทรัพยากรต่าง ๆ ในพื้นที่ ซึ่งรวมถึงข้อมูลเกี่ยวกับความหลากหลายของทรัพยากรสิ่งมีชีวิต และลักษณะทางชีววิทยาด้านต่าง ๆ ของสิ่งมีชีวิตนั้น

เต่าทะเลเป็นสัตว์เลื้อยคลานที่มีบทบาทสำคัญในฐานะผู้บริโภคลำดับสูงในระบบนิเวศ และยังเป็นกลุ่มสัตว์ที่ตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมได้ทั้งทางตรงและทางอ้อม ดังนั้นการศึกษาสุข

ภาวะเบื้องต้นของเต่าทะเลในพื้นที่โครงการฯ จึงจัดได้ว่ามีความสำคัญและจะเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการติดตามการเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ ที่อาจเกิดขึ้นทั้งในด้านความหลากหลายทางชีวภาพและนิเวศวิทยาที่เกี่ยวข้องกับทรัพยากรสิ่งมีชีวิตในพื้นที่ และจะเป็นข้อมูลพื้นฐานในการวางแผนการบริหารจัดการ และการอนุรักษ์เต่าทะเลในพื้นที่ดังกล่าวอย่างเหมาะสมและยั่งยืน

เกาะหุยง (เกาะหนึ่ง) ของหมู่เกาะสิมิลัน จังหวัดพังงา เป็นพื้นที่วางไข่ที่สำคัญของเต่าทะเลในฝั่งทะเลอันดามัน โดยพบเต่าตนุ (*Chelonia mydas*) ใช้พื้นที่หาดทรายของเกาะสำหรับวางไข่เป็นจำนวนมากที่สุดเมื่อเทียบกับพื้นที่อื่นในฝั่งทะเลอันดามัน (Yasuda et al., 2005) จนได้รับการพิจารณาให้เป็นหนึ่งในพื้นที่ดำเนินการของโครงการอนุรักษ์พันธุ์เต่าทะเลฝั่งทะเลอันดามันของกองทัพเรือ มาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2538 (วินัย กล่อมอินทร์, 2545) และมีศักยภาพที่จะพัฒนาให้เป็นสถานที่ศึกษาและอนุรักษ์พันธุ์เต่าทะเลในอนาคต

ในการศึกษาครั้งนี้ เป็นการประเมินสุขภาวะเบื้องต้นของเต่าตนุที่ขึ้นวางไข่ ณ เกาะหุยง หมู่เกาะสิมิลัน จังหวัดพังงา ซึ่งข้อมูลด้านนิเวศวิทยาเหล่านี้สามารถนำมาใช้บ่งบอกการดำรงชีวิตของสัตว์ในธรรมชาติ (Wood and Ebanks, 1984; Samour et al., 1998) และเมื่อเก็บรวบรวมอย่างต่อเนื่องจะเป็นประโยชน์ต่อการติดตามตรวจสอบสุขภาวะในระยะยาว (Work and Balazs, 1999) เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในการพัฒนาเกาะหุยงให้เป็นสถานที่ศึกษาและอนุรักษ์พันธุ์เต่าทะเลอย่างยั่งยืนต่อไป

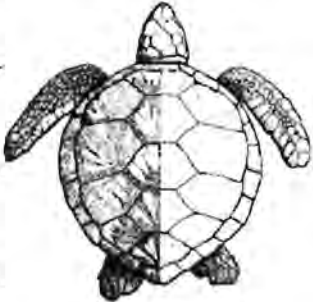
## 2. วัตถุประสงค์

สำรวจสุขภาวะด้านต่าง ๆ ของเต่าทะเลในบริเวณพื้นที่โครงการอนุรักษ์พันธุ์กรรมพีซอันเนื่องมาจากพระราชดำริ

## 3. วิธีดำเนินการวิจัย

### 3.1 ขอบเขตของโครงการวิจัย

เก็บข้อมูลเกี่ยวกับสุขภาวะของเต่าทะเลในธรรมชาติจาก เกาะหุยง อุทยานแห่งชาติหมู่เกาะสิมิลัน จังหวัดพังงา ซึ่งเป็นพื้นที่โครงการอนุรักษ์พันธุ์กรรมพีซอันเนื่องมาจากพระราชดำริ หมู่เกาะและทะเลไทย โดยมุ่งเน้นการประเมินปัจจัยทางกายภาพและชีวภาพที่บ่งบอกสุขภาวะเบื้องต้นของเต่าตนุที่ใช้พื้นที่เกาะหุยง เป็นพื้นที่ทำรังวางไข่ ดังนี้

ปัจจัยทางกายภาพ		สุขภาวะของเต่าทะเล
- อุณหภูมิ/ความชื้น อากาศ		- การทำรังวางไข่
- อุณหภูมิ/ความชื้น หาดทราย		- โลหิตวิทยา
- การเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อม		- ภาวะเจริญพันธุ์

### 3.2 วิธีการศึกษา

- 3.2.1 สํารวจการขึ้นวางไข่บนชายหาดในพื้นที่หาดทรายเกาะหุยง (เกาะหนึ่ง) บันทึกข้อมูลของแต่ละตัวเกี่ยวกับ ขนาด น้ำหนัก และลักษณะสัณฐานวิทยา และบันทึกพิกัดภูมิศาสตร์และข้อมูลทางนิเวศวิทยา และลักษณะของถิ่นอาศัยย่อยของบริเวณที่พบเต่าทะเลขึ้นวางไข่
- 3.2.2 เก็บข้อมูลอุณหภูมิของหาดทรายบริเวณที่พบการทำรังวางไข่อย่างต่อเนื่อง เพื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิสิ่งแวดล้อมในช่วงเวลาที่สอดคล้องกับฤดูกาลวางไข่
- 3.2.3 เก็บข้อมูลจำนวนไข่ที่เต่าขึ้นวางไข่ในแต่ละช่วงเวลา พร้อมทั้งติดตามข้อมูลการทำรังวางไข่ในแต่ละฤดูกาล
- 3.2.4 ประเมินสุขภาพโดยรวมของเต่าในธรรมชาติ โดยเก็บตัวอย่างเลือดของเต่าทะเลที่ขึ้นวางไข่ เพื่อนำมาตรวจสอบลักษณะทางโลหิตวิทยาของเนื้อเยื่อเลือด เช่น จำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดง และจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาว ดังนี้

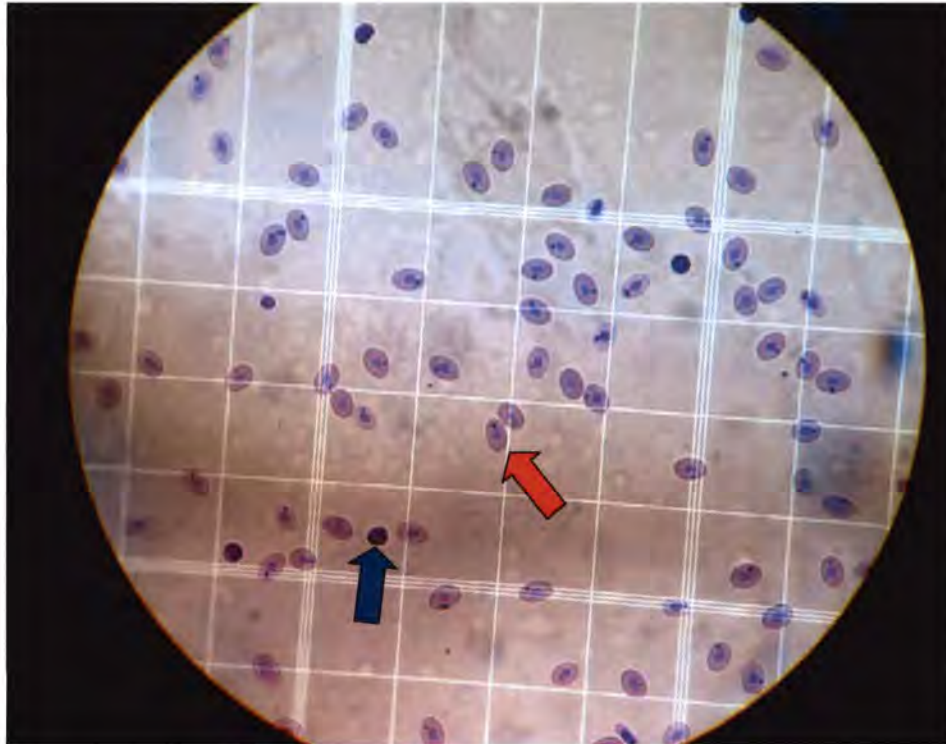
จำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดงและเซลล์เม็ดเลือดขาว: ใช้ปิเปตต์สำหรับเจาะจางเลือด (ชนิดเซลล์เม็ดเลือดแดง) ดูดเก็บตัวอย่างเลือด แล้วนำมาเจาะจาง 100 เท่า ด้วยสารละลายสำหรับเจาะจางเลือดของสัตว์เลี้ยงคลานและสัตว์ปีก (Natt and Herrick, 1952; ภาพที่ 1) รอจนกระทั่งการเจาะจางสมบูรณ์เป็นเวลา 2-3 นาที ก่อนนำตัวอย่างเลือดที่เจาะจางแล้ว มาใส่ใน hemocytometer รอจนกระทั่งนิ่งแล้วนำไปตรวจนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดง และเซลล์เม็ดเลือดขาว ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงกำลังขยาย 400 เท่า (ภาพที่ 2) แล้วนำข้อมูลไปคำนวณเป็นจำนวนเซลล์เม็ดเลือดต่อลูกบาศก์มิลลิเมตร (Tharp and Woodman, 2002)



ภาพที่ 1: การเจาะจางเลือดด้วยสารละลายสำหรับเจาะจางเลือดของสัตว์เลี้ยงคลานและสัตว์ปีกก่อนหยดลงบน hemocytometer



ลักษณะพื้นฐานของเซลล์เม็ดเลือด: หยดเลือดลงบนกระจกสไลด์ แล้วเกลี่ยให้บาง (smear) รอนจนแห้งแล้วรักษาสภาพโดยจุ่มลงใน methanol ก่อนนำมาย้อมด้วยสี giemsa เพื่อตรวจสอบลักษณะพื้นฐานของเซลล์เม็ดเลือดภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงกำลังขยาย 400 เท่า (Tharp and Woodman, 2002) เพื่อจำแนกเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดย่อย และนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวแต่ละชนิดย่อย (differential leucocyte count)



ภาพที่ 2: ลักษณะรูปร่างของเซลล์เม็ดเลือดแดง (ลูกศรสีแดง) และเซลล์เม็ดเลือดขาว (ลูกศรสีน้ำเงิน) ที่สังเกตเห็นภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง

### 3.2.5 วิเคราะห์ข้อมูลจากการศึกษาในภาคสนาม และสรุปผลการศึกษา

## 4. สถานที่ทำการวิจัยและเก็บข้อมูล

สำรวจภาคสนามและเก็บข้อมูลทางกายภาพและชีวภาพในพื้นที่โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ หมู่เกาะและทะเลไทย ได้แก่ เกาะหุยง อุทยานแห่งชาติหมู่เกาะสิมิลัน จังหวัดพังงา และนำตัวอย่างมาศึกษาเพิ่มเติมที่ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## 5. ผลการศึกษา

### 5.1 การทำรังวางไข่ของเต่าตนุบนเกาะหุยง

จากการสำรวจภาคสนามเพื่อเก็บข้อมูลการทำรังวางไข่ของเต่าตนุที่เกาะหุยงในช่วงปี พ.ศ. 2553 (เมษายน-พฤษภาคม) และ 2554 (พฤษภาคม-สิงหาคม) คณะผู้วิจัยได้พบการขึ้นวางไข่ของเต่าตนุจำนวน 28 รัง โดยมีจำนวนไข่ต่อหลุม (clutch size) เฉลี่ย  $105 \pm 23$  ฟอง ในจำนวนนี้เป็นรังที่พบและสามารถระบุตัวแม่เต่าได้จำนวน 12 ตัว (ตัวอย่างในภาพที่ 3) โดยแม่เต่ามีขนาดใกล้เคียงกัน คือ มีความยาวกระดองหลังตามแนวโค้งเฉลี่ย  $95.73 \pm 4.36$  เซนติเมตร และ มีความกว้างกระดองหลังตามแนวโค้งเฉลี่ย  $86.36 \pm 2.94$  เซนติเมตร (ตารางที่ 1)



ภาพที่ 3: การขึ้นทำรังวางไข่จำนวน 80 ฟองของ “แม่เมธินี” ในวันที่ 20 พฤษภาคม พ.ศ.2554 ลูกศรสีแดงชี้บริเวณปากหลุมที่วางไข่



ตารางที่ 1: ข้อมูลการขึ้นวางไข่ของเต่าตนุที่เกาะหุยง อุทยานแห่งชาติหมู่เกาะสิมิลัน จังหวัดพังงา ในช่วงปี พ.ศ. 2553-2554

รังที่ / แม่เต่า	ขนาด	ขนาดหลุมที่วางไข่	จำนวนไข่
รังที่ 1 แม่ศรีจามจรี	ความยาวกระดองหลังตามแนว โค้ง = 94 เซนติเมตร ความกว้างกระดองหลังตามแนว โค้ง = 85 เซนติเมตร	กว้าง: 25 เซนติเมตร ลึก: 40-65 เซนติเมตร	111 ฟอง
รังที่ 2 แม่เรณูนคร	ความยาวกระดองหลังตามแนว โค้ง = 98 เซนติเมตร ความกว้างกระดองหลังตามแนว โค้ง = 86 เซนติเมตร	กว้าง: 28 เซนติเมตร ลึก: 64-80 เซนติเมตร	103 ฟอง
รังที่ 3 แม่ศรีสุรัตน์	ความยาวกระดองหลังตามแนว โค้ง = 97 เซนติเมตร ความกว้างกระดองหลังตามแนว โค้ง = 84 เซนติเมตร	กว้าง: ไม่มีข้อมูล ลึก: 60-90 เซนติเมตร	109 ฟอง
รังที่ 4 แม่เมธิณี	ความยาวกระดองหลังตามแนว โค้ง = 86 เซนติเมตร ความกว้างกระดองหลังตามแนว โค้ง = 82 เซนติเมตร	กว้าง: ไม่มีข้อมูล ลึก: 75 เซนติเมตร	80 ฟอง
รังที่ 5 ไม่พบแม่เต่า	ความยาวกระดองหลังตามแนว โค้ง = ไม่มีข้อมูล ความกว้างกระดองหลังตามแนว โค้ง = ไม่มีข้อมูล	กว้าง: ไม่มีข้อมูล ลึก: 64 เซนติเมตร	126 ฟอง
รังที่ 6 ไม่พบแม่เต่า	ความยาวกระดองหลังตามแนว โค้ง = ไม่มีข้อมูล ความกว้างกระดองหลังตามแนว โค้ง = ไม่มีข้อมูล	กว้าง: ไม่มีข้อมูล ลึก: 74 เซนติเมตร	104 ฟอง
รังที่ 7 แม่กฤษณา	ความยาวกระดองหลังตามแนว โค้ง = 93 เซนติเมตร ความกว้างกระดองหลังตามแนว โค้ง = 87 เซนติเมตร	กว้าง: ไม่มีข้อมูล ลึก: 72 เซนติเมตร	124 ฟอง

ตารางที่ 1: ข้อมูลการขึ้นวางไข่ของเต่าตนุที่เกาะหุยง อุทยานแห่งชาติหมู่เกาะสิมิลัน จังหวัดพังงา ในช่วงปี พ.ศ. 2553-2554 (ต่อ)

รังที่ / แม่เต่า	ขนาด	ขนาดหลุมที่วางไข่	จำนวนไข่
รังที่ 8 แม่ศรีอรอนงค์	ความยาวกระดองหลังตามแนว โค้ง = 99 เซนติเมตร ความกว้างกระดองหลังตามแนว โค้ง = 86 เซนติเมตร	กว้าง: ไม่มีข้อมูล ลึก: 51-65 เซนติเมตร	110 ฟอง
รังที่ 9 ไม่พบแม่เต่า	ความยาวกระดองหลังตามแนว โค้ง = ไม่มีข้อมูล ความกว้างกระดองหลังตามแนว โค้ง = ไม่มีข้อมูล	กว้าง: ไม่มีข้อมูล ลึก: 42-71 เซนติเมตร	141 ฟอง
รังที่ 10 แม่กระบี่ศรีบุญจิต	ความยาวกระดองหลังตามแนว โค้ง = 91 เซนติเมตร ความกว้างกระดองหลังตามแนว โค้ง = 84 เซนติเมตร	กว้าง: ไม่มีข้อมูล ลึก: 62-72 เซนติเมตร	98 ฟอง
รังที่ 11 แม่ศรีปกรณ์	ความยาวกระดองหลังตามแนว โค้ง = 98 เซนติเมตร ความกว้างกระดองหลังตามแนว โค้ง = 86 เซนติเมตร	กว้าง: ไม่มีข้อมูล ลึก: 46-75 เซนติเมตร	105 ฟอง
รังที่ 12 แม่เมธินี	ความยาวกระดองหลังตามแนว โค้ง = 86 เซนติเมตร ความกว้างกระดองหลังตามแนว โค้ง = 82 เซนติเมตร	กว้าง: ไม่มีข้อมูล ลึก: 71 เซนติเมตร	87 ฟอง
รังที่ 13 แม่กฤษณา	ความยาวกระดองหลังตามแนว โค้ง = 93 เซนติเมตร ความกว้างกระดองหลังตามแนว โค้ง = 87 เซนติเมตร	กว้าง: ไม่มีข้อมูล ลึก: 67-71 เซนติเมตร	99 ฟอง
รังที่ 14 แม่ศรีลพบุรี	ความยาวกระดองหลังตามแนว โค้ง = 101 เซนติเมตร ความกว้างกระดองหลังตามแนว โค้ง = 88 เซนติเมตร	กว้าง: ไม่มีข้อมูล ลึก: 66-70 เซนติเมตร	78 ฟอง

ตารางที่ 1: ข้อมูลการขึ้นวางไข่ของเต่าตนุที่เกาะหุยง อุทยานแห่งชาติหมู่เกาะสิมิลัน จังหวัดพังงา ในช่วงปี พ.ศ. 2553-2554 (ต่อ)

รังที่ / แม่เต่า	ขนาด	ขนาดหลุมที่วางไข่	จำนวนไข่
รังที่ 15 แม่ศรีคอเอน	ความยาวกระดองหลังตามแนว โค้ง = ไม่มีข้อมูล ความกว้างกระดองหลังตามแนว โค้ง = ไม่มีข้อมูล	กว้าง: ไม่มีข้อมูล ลึก: ไม่มีข้อมูล	137 ฟอง
รังที่ 16 แม่ศรีอรอนงค์	ความยาวกระดองหลังตามแนว โค้ง = 99 เซนติเมตร ความกว้างกระดองหลังตามแนว โค้ง = 86 เซนติเมตร	กว้าง: ไม่มีข้อมูล ลึก: 49-74 เซนติเมตร	101 ฟอง
รังที่ 17 แม่ศรีปรกรณ์	ความยาวกระดองหลังตามแนว โค้ง = 98 เซนติเมตร ความกว้างกระดองหลังตามแนว โค้ง = 86 เซนติเมตร	กว้าง: ไม่มีข้อมูล ลึก: 51-69 เซนติเมตร	109 ฟอง
รังที่ 18 แม่ศรีลพบุรี	ความยาวกระดองหลังตามแนว โค้ง = 101 เซนติเมตร ความกว้างกระดองหลังตามแนว โค้ง = 88 เซนติเมตร	กว้าง: ไม่มีข้อมูล ลึก: ไม่มีข้อมูล	72 ฟอง
รังที่ 19 แม่ศรีคอเอน	ความยาวกระดองหลังตามแนว โค้ง = ไม่มีข้อมูล ความกว้างกระดองหลังตามแนว โค้ง = ไม่มีข้อมูล	กว้าง: ไม่มีข้อมูล ลึก: ไม่มีข้อมูล	87 ฟอง
รังที่ 20 แม่เมธินี	ความยาวกระดองหลังตามแนว โค้ง = 86 เซนติเมตร ความกว้างกระดองหลังตามแนว โค้ง = 82 เซนติเมตร	กว้าง: ไม่มีข้อมูล ลึก: 75 เซนติเมตร	76 ฟอง
รังที่ 21 แม่ศรีธีรคุปต์	ความยาวกระดองหลังตามแนว โค้ง = 97 เซนติเมตร ความกว้างกระดองหลังตามแนว โค้ง = 89 เซนติเมตร	กว้าง: ไม่มีข้อมูล ลึก: 76 เซนติเมตร	94 ฟอง

ตารางที่ 1: ข้อมูลการขึ้นวางไข่ของเต่าตนุที่เกาะหุยง อุทยานแห่งชาติหมู่เกาะสิมิลัน จังหวัดพังงา ในช่วงปี พ.ศ. 2553-2554 (ต่อ)

รังที่ / แม่เต่า	ขนาด	ขนาดหลุมที่วางไข่	จำนวนไข่
รังที่ 22 ไม่พบแม่เต่า	ความยาวกระดองหลังตามแนว โค้ง = ไม่มีข้อมูล ความกว้างกระดองหลังตามแนว โค้ง = ไม่มีข้อมูล	กว้าง: ไม่มีข้อมูล ลึก: 83 เซนติเมตร	158 ฟอง
รังที่ 23 ไม่พบแม่เต่า	ความยาวกระดองหลังตามแนว โค้ง = ไม่มีข้อมูล ความกว้างกระดองหลังตามแนว โค้ง = ไม่มีข้อมูล	กว้าง: ไม่มีข้อมูล ลึก: ไม่มีข้อมูล	53 ฟอง
รังที่ 24 ไม่พบแม่เต่า	ความยาวกระดองหลังตามแนว โค้ง = ไม่มีข้อมูล ความกว้างกระดองหลังตามแนว โค้ง = ไม่มีข้อมูล	กว้าง: ไม่มีข้อมูล ลึก: ไม่มีข้อมูล	108 ฟอง
รังที่ 25 แม่ศรีร้อยเอ็ด	ความยาวกระดองหลังตามแนว โค้ง = 99 เซนติเมตร ความกว้างกระดองหลังตามแนว โค้ง = 93 เซนติเมตร	กว้าง: ไม่มีข้อมูล ลึก: ไม่มีข้อมูล	126 ฟอง
รังที่ 26 แม่ศรีธีรคุปต์	ความยาวกระดองหลังตามแนว โค้ง = 97 เซนติเมตร ความกว้างกระดองหลังตามแนว โค้ง = 89 เซนติเมตร	กว้าง: ไม่มีข้อมูล ลึก: ไม่มีข้อมูล	113 ฟอง
รังที่ 27 แม่ศรีร้อยเอ็ด	ความยาวกระดองหลังตามแนว โค้ง = 99 เซนติเมตร ความกว้างกระดองหลังตามแนว โค้ง = 93 เซนติเมตร	กว้าง: ไม่มีข้อมูล ลึก: ไม่มีข้อมูล	143 ฟอง
รังที่ 28 แม่ศรีธีรคุปต์	ความยาวกระดองหลังตามแนว โค้ง = 97 เซนติเมตร ความกว้างกระดองหลังตามแนว โค้ง = 89 เซนติเมตร	กว้าง: ไม่มีข้อมูล ลึก: ไม่มีข้อมูล	86 ฟอง

## 5.2 การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของหาดทรายบริเวณที่พบการทำรังวางไข่ของเต่าตนุ

เมื่อทหารเรือและเจ้าหน้าที่ย้ายไข่เต่าไปยังหลุมเพาะฟักบนเกาะหุยงแล้ว คณะผู้วิจัยได้สุ่มตัวอย่างหลุมไข่เต่าจำนวน 5 หลุม เพื่อใช้เก็บข้อมูลอุณหภูมิของหาดทรายบริเวณที่พบการทำรังวางไข่อย่างต่อเนื่อง เพื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิสิ่งแวดล้อมในช่วงเวลาที่สอดคล้องกับฤดูกาลวางไข่ โดยฝังเครื่องบันทึกอุณหภูมิ (Trix-8, LogTag Recorders) ไว้ที่ก้นหลุม พร้อมกับแขวนเครื่องบันทึกอุณหภูมิอากาศที่ปากหลุม (ภาพที่ 3) แล้วบันทึกต่อเนื่อง 8 สัปดาห์ในช่วงฤดูกาลวางไข่ (พฤษภาคม-สิงหาคม พ.ศ.2554)



ภาพที่ 4: ตำแหน่งการวางเครื่องบันทึกอุณหภูมิต่อเนื่องทั้งที่ปากหลุมเพื่อบันทึกอุณหภูมิอากาศ (วงกลมสีแดง) และ ที่ก้นหลุมเพื่อบันทึกอุณหภูมิตรายในหลุม (ไม่แสดงในภาพ)

เมื่อนำข้อมูลอุณหภูมิอากาศและทรายที่บันทึกไว้ 4 ครั้งต่อวันมาหาค่าเฉลี่ยรายวัน แล้วติดตามการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิตลอด 8 สัปดาห์ในช่วงฤดูกาลวางไข่ พบว่าอุณหภูมิอากาศมีการเปลี่ยนแปลงค่อนข้างมากตั้งแต่ 23.6 ถึง 35.4 องศาเซลเซียส (ช่วงต่าง 11.8 องศาเซลเซียส) อย่างไรก็ตามในหลุมทรายที่เต่าทำรังวางไข่จะมีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในช่วงแคบ โดยมีความแตกต่างของอุณหภูมิสูงสุด-อุณหภูมิต่ำสุดเพียง 1.4 ถึง 2.2 องศาเซลเซียสเท่านั้น (ตารางที่ 2)

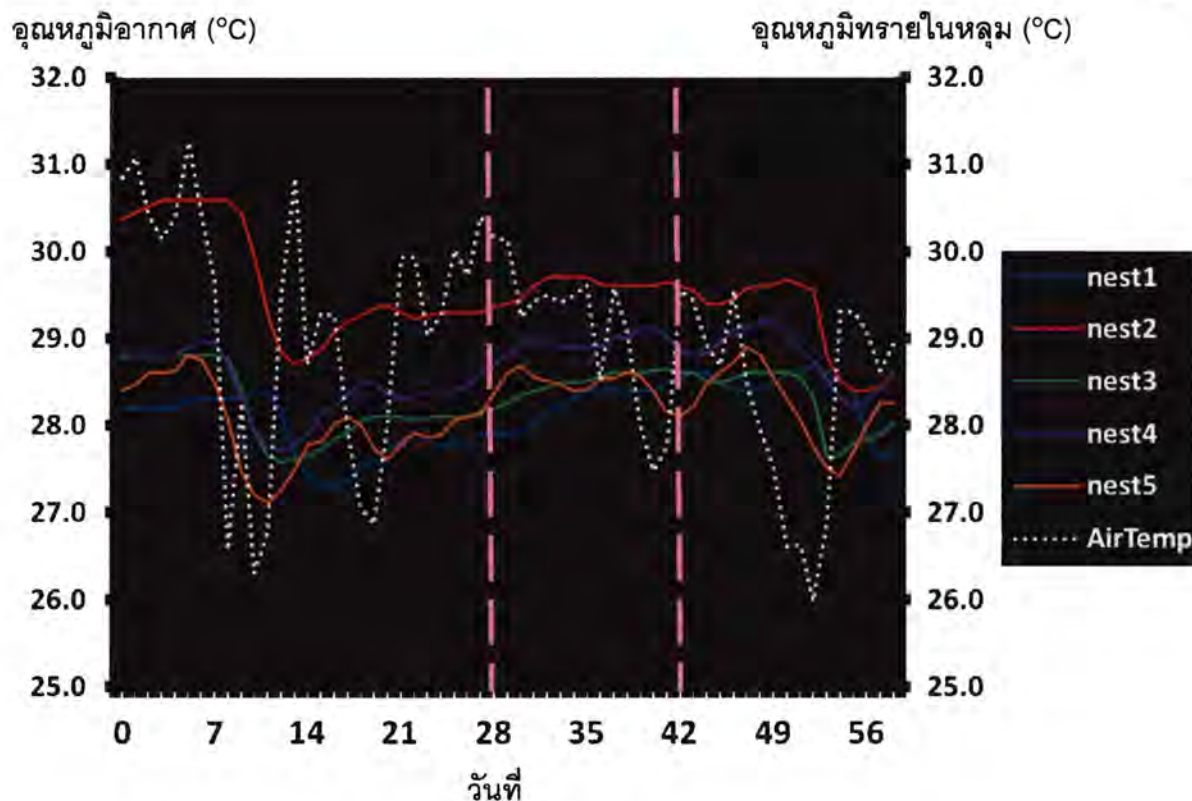


ตารางที่ 2: ข้อมูลการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของบริเวณหาดทรายที่เต่าตนุทำรังวางไข่ ในช่วงเดือนพฤษภาคม-สิงหาคม พ.ศ.2554

บริเวณ	อุณหภูมิต่ำสุด (°C)	อุณหภูมิสูงสุด (°C)	อุณหภูมิเฉลี่ย (°C)
อุณหภูมิอากาศ	23.6	35.4	28.9 ± 2.5
อุณหภูมิทรายหลุมที่ 1	27.3	28.7	28.1 ± 0.4
อุณหภูมิทรายหลุมที่ 2	28.4	30.6	29.5 ± 0.6
อุณหภูมิทรายหลุมที่ 3	26.6	28.8	28.3 ± 0.4
อุณหภูมิทรายหลุมที่ 4	27.7	29.2	28.6 ± 0.4
อุณหภูมิทรายหลุมที่ 5	27.1	28.9	28.2 ± 0.4

การที่เต่าทะเลเป็นสัตว์ที่อาศัยอุณหภูมิในการกำหนดเพศ (Standora and Spotila, 1985) โดยมีช่วงของอุณหภูมิที่กำหนดอัตราส่วนเพศ เรียกว่า transitional range of temperature (TRT) หากอุณหภูมิต่ำกว่า TRT จะทำให้ไข่ที่ฟักออกมาทั้งรังเป็นเพศผู้ และหากอุณหภูมิสูงกว่า TRT ไข่ทั้งรังจะฟักออกมาเป็นเพศเมีย โดยค่าของ TRT มีค่าแปรผันตามชนิด ประชากร และหลุมไข่ของเต่าทะเล (Valenzuela and Lance, 2004) ซึ่งในเต่าตนุมีรายงานค่า TRT ในช่วง 28.0-30.5 องศาเซลเซียส (Wibbels, 2003) ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิสิ่งแวดล้อมบริเวณหาดทรายที่เต่าทำรังวางไข่จึงอาจส่งผลให้เกิดประชากรเต่าเพศใดเพศหนึ่งเพียงอย่างเดียวซึ่งอาจมีผลต่อสมดุลประชากรในระยะยาวได้

เมื่อพิจารณาจากข้อมูลอุณหภูมิเฉลี่ยรายวันที่นำมาสร้างกราฟแสดงการเปลี่ยนแปลงตลอด 8 สัปดาห์ในช่วงฤดูการวางไข่ (ภาพที่ 5) พบว่าหลุมไข่เต่าตนุบนเกาะหุยงมีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในช่วงแคบ โดยเฉพาะเมื่อเข้าสู่ช่วงสัปดาห์ที่ 4 ถึง 6 ซึ่งเป็นช่วงเวลาที่มักกระบวนการกำหนดเพศของเอ็มบริโอ (Miller, 1985) ทำให้เต่าตนุมีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ (temperature sensitive period; Valenzuela and Lance, 2004) จะพบการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในช่วงแคบและอยู่ในขอบเขตช่วง TRT ของเต่าตนุ ทำให้คาดการณ์ได้ว่าประชากรเต่าตนุที่ได้จากหลุมไข่เต่าบนเกาะหุยงน่าจะมีโอกาสเกิดเป็นประชากรเพศเดียวได้ค่อนข้างยาก



ภาพที่ 5: กราฟการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิอากาศ (เส้นประสีขาว) และอุณหภูมิทรายในหลุมที่เต่าตนุวางไข่ ภายหลังจากย้ายไข่ไปยังหลุมฟักแล้ว (เส้นทึบสีฟ้า, แดง, เขียว, ม่วง และ ส้ม) ตลอด 8 สัปดาห์ในฤดูการวางไข่ (พฤษภาคม-สิงหาคม พ.ศ.2554) เส้นประแนวตั้งสีชมพูแสดงช่วงเวลาที่ยังพบกระบวนการกำหนดเพศในเต่าตนุ

### 5.3 จำนวนเซลล์เม็ดเลือดของเต่าตนุ

เมื่อสุ่มตัวอย่างแม่เต่าทะเลที่ขึ้นมาทำรังวางไข่บนเกาะหุยงจำนวน 3 ตัว มาเจาะเลือดจากตำแหน่ง external jugular vein (dorsal cervical sinus) แล้วนำมาตรวจสอบค่าทางโลหิตวิทยา ได้แก่ จำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดง และจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาว พบว่าเต่าตนุที่ขึ้นวางไข่มีจำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดงเฉลี่ย  $406,667 \pm 51,377$  เซลล์/ลูกบาศก์มิลลิเมตร และเซลล์เม็ดเลือดขาวเฉลี่ย  $19,847 \pm 9,328$  เซลล์/ลูกบาศก์มิลลิเมตร (ตารางที่ 3) ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ปกติ (reference interval) ที่รายงานในเต่าตนุที่พบในธรรมชาติและในที่เลี้ยง (Samour et al., 1998; Flint et al., 2010) ซึ่งแสดงให้เห็นถึงสุขภาพและความสมบูรณ์ของเต่าตนุที่ขึ้นวางไข่ที่เกาะหุยง

ตารางที่ 3: จำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดง และจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาว ของเต่าตนุเพศเมียที่ขึ้นวางไข่ที่หาดทรายบนเกาะหุยง อุทยานแห่งชาติหมู่เกาะสิมิลัน จังหวัดพังงา

เต่าที่ขึ้นวางไข่	จำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดง (เซลล์/มม. <sup>3</sup> )		จำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาว (เซลล์/มม. <sup>3</sup> )	
	ค่าที่วัดได้	ค่าอ้างอิง	ค่าที่วัดได้	ค่าอ้างอิง
ตัวที่ 1	440,000	280,000 - 640,000 (Samour et al., 1998)	11,917	2,600 - 29,200 (Flint et al., 2010)
ตัวที่ 2	347,500		30,125	
ตัวที่ 3	432,500		17,500	

#### 5.4 ลักษณะพื้นฐานของเซลล์เม็ดเลือดเต่าตนุ

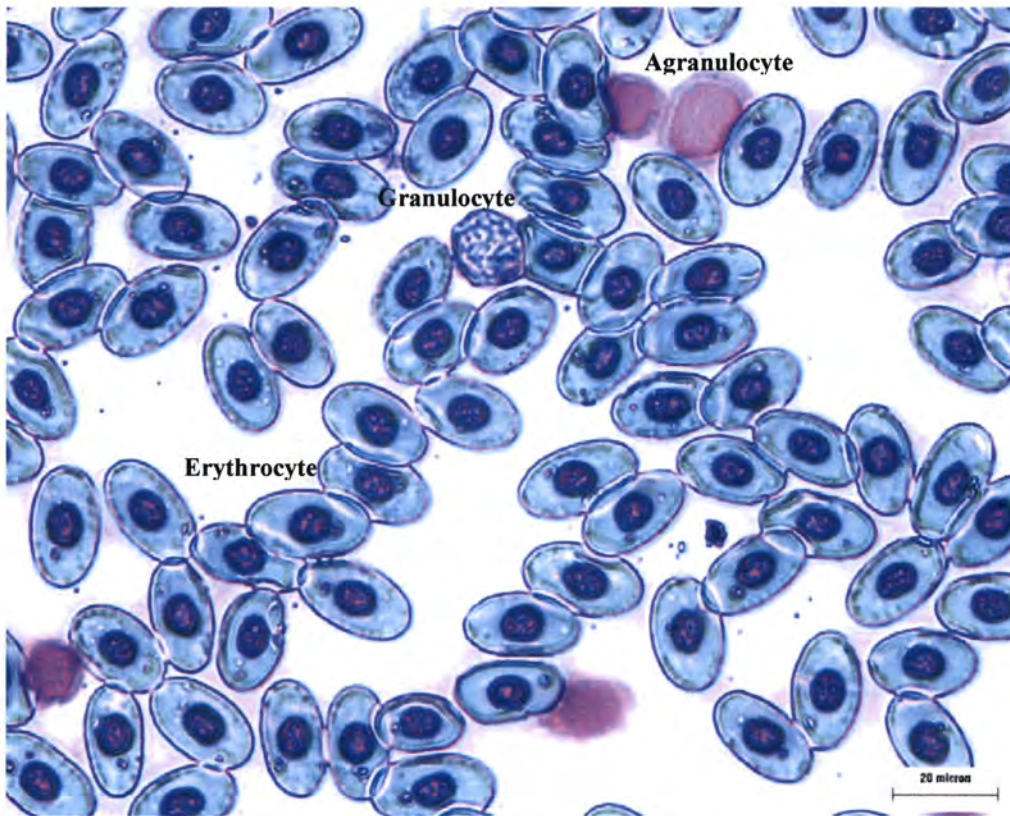
เมื่อนำตัวอย่างเลือดของเต่าตนุที่เกลี่ยให้บางบนกระจกสไลด์ รักษาสภาพใน methanol และย้อมด้วยสี giemsa มาตรวจสอปลักษณะพื้นฐานของเซลล์เม็ดเลือดภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (ภาพที่ 6) พบว่าสามารถจำแนกชนิดเซลล์เม็ดเลือดของเต่าตนุตามลักษณะการติดสีของนิวเคลียส และ รูปร่างของเซลล์และนิวเคลียส ได้เป็น 3 กลุ่ม คือ

เซลล์เม็ดเลือดแดง (erythrocyte) มีรูปร่างเซลล์เป็นวงรี มีนิวเคลียสกลมติดสีม่วงน้ำเงิน และมีขนาดที่ไม่แตกต่างจากเซลล์เม็ดเลือดขาวมากนัก ซึ่งลักษณะพื้นฐานดังกล่าวมีความแตกต่างอย่างชัดเจนจากเซลล์เม็ดเลือดแดงในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม

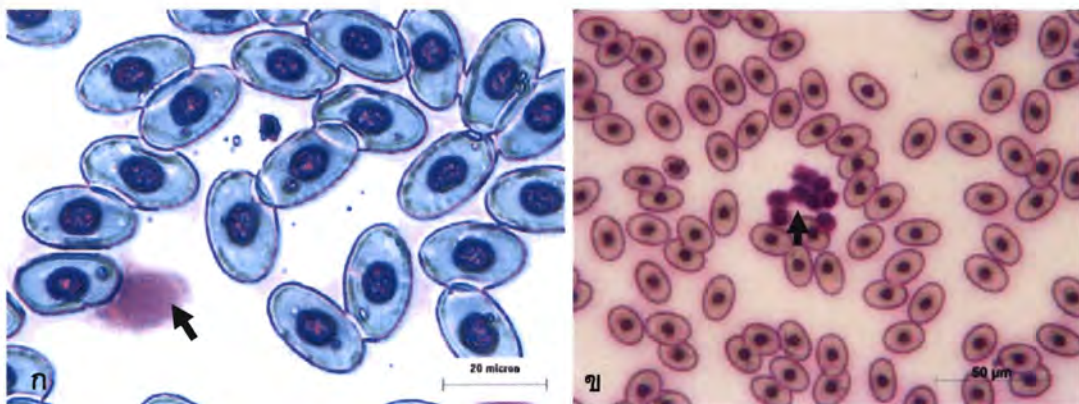
เซลล์เม็ดเลือดขาว (leucocyte) มีรูปร่างเซลล์ค่อนข้างกลม มีนิวเคลียสได้หลายรูปร่าง และอาจมีแกรนูลที่มีสมบัติแตกต่างกัน โดยในเบื้องต้นสามารถจำแนกชนิดย่อยได้เป็น 2 กลุ่มย่อย คือ เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดที่มีแกรนูลที่ย้อมติดสี (granulocyte) และเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดที่มีแกรนูลที่ย้อมไม่ติดสี (agranulocyte)

เซลล์tromโบไซต์ (thrombocyte) มีรูปร่างคล้ายกระสวย และมีนิวเคลียสกลมติดสีม่วง (ภาพที่ 7) มีไซโทพลาสซึมน้อยและมีลักษณะแหลมหัวแหลมท้าย ทำให้เซลล์มีรูปร่างคล้ายกระสวย อาจพบอยู่รวมกลุ่มกันบนสไลด์เลือดเกลี่ยบาง เนื่องจากมีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการแข็งตัวของเลือด (clotting) คล้ายเกล็ดเลือดของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม





ภาพที่ 6: ภาพเซลล์เม็ดเลือดของ “แม่ศรีจามจรี” เต่าตนุเพศเมียที่ขึ้นวางไข่ที่หาดทรายบนเกาะหุยง อุทยานแห่งชาติหมู่เกาะสิมิลัน จังหวัดพังงา (Erythrocyte = เซลล์เม็ดเลือดแดง; Granulocyte = เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดที่แกรนูลย้อมติดสี; Agranulocyte = เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดที่แกรนูล ย้อมไม่ติดสี; scale bar ขนาด 20 ไมโครเมตร)

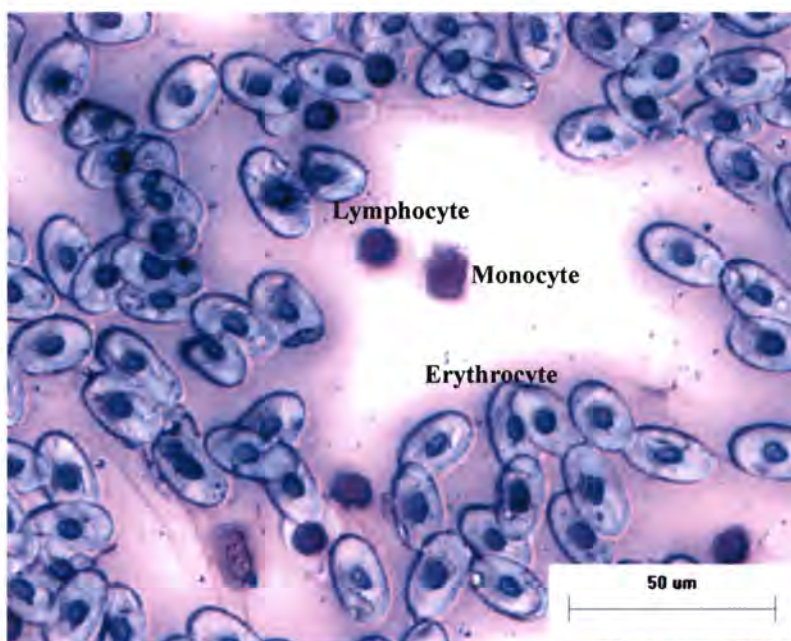


ภาพที่ 7: เซลล์ทรอมโบไซต์ (thrombocyte: ลูกศรชี้) ที่พบอยู่เป็นเซลล์เดี่ยว (ก: scale bar ขนาด 20 ไมโครเมตร) และที่พบรวมกลุ่มกัน (ข: scale bar ขนาด 50 ไมโครเมตร) บนสไลด์เลือดเกลี่ยบางของเต่าตนุเพศเมีย

เมื่อตรวจสอบลักษณะพื้นฐานของเซลล์เม็ดเลือดภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง สามารถจำแนกชนิดย่อยของเซลล์เม็ดเลือดขาวได้ดังนี้

### 1. เม็ดเลือดขาวชนิดไม่มีแกรนูล (agranulocyte)

- 1.1 ลิมโฟไซต์ (lymphocyte) เป็นเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดไม่มีแกรนูล นิวเคลียสกลมหรือรีตึตตีมีวงเข้ม มีสัดส่วนของนิวเคลียสมากเมื่อเทียบกับปริมาณไซโทพลาสซึมที่มีน้อย ส่วนใหญ่พบมีขนาดเล็กกว่าเม็ดเลือดแดง (ภาพที่ 8)
- 1.2 โมโนไซต์ (monocyte) เป็นเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดไม่มีแกรนูล ที่มีนิวเคลียสขนาดใหญ่รูปร่างไม่แน่นอน ย้อมติดสีม่วงจาง เซลล์มีขนาดใหญ่กว่าเม็ดเลือดขาวชนิดอื่น (ภาพที่ 8)

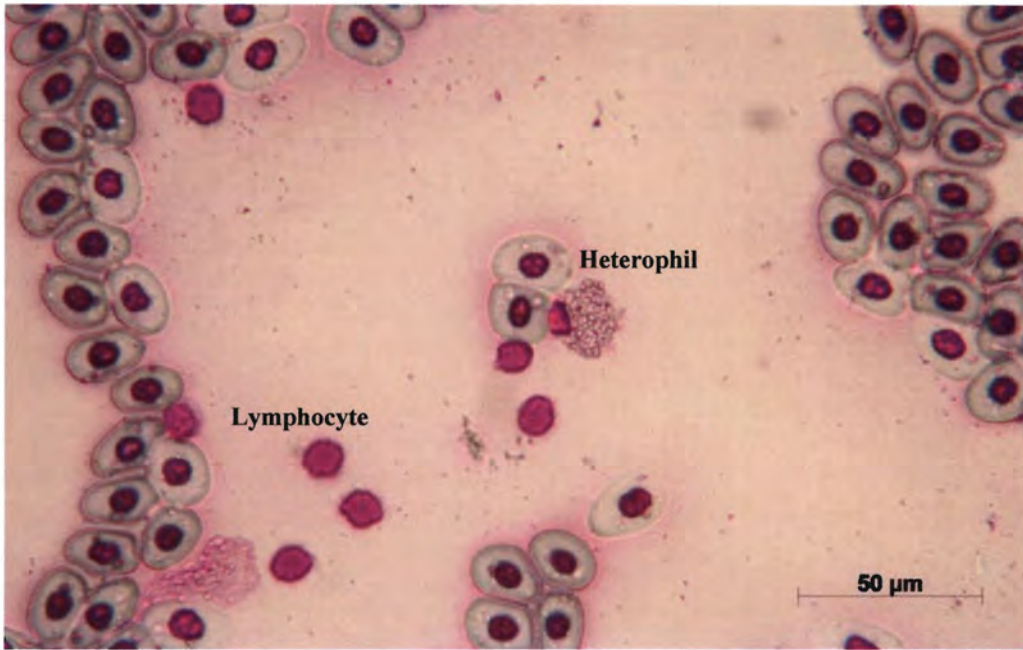


ภาพที่ 8: เซลล์เม็ดเลือดแดง (erythrocyte) และเม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ (lymphocyte) และโมโนไซต์ (monocyte) ของเต่าตนุเทศเมียที่ขึ้นวางไข่ (scale bar ขนาด 50 ไมโครเมตร)

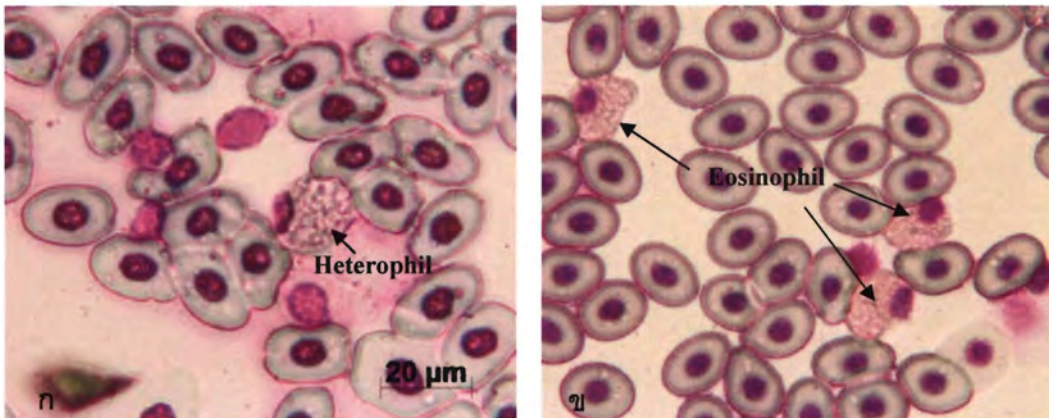
### 2. เม็ดเลือดขาวชนิดมีแกรนูล (granulocyte)

- 2.1 เฮเทอโรฟิล (heterophil) มีขนาดใหญ่กว่าเม็ดเลือดแดง นิวเคลียสรูปร่างรีอยู่ชิดเยื่อหุ้มเซลล์ ย้อมติดสีม่วง ภายในไซโตพลาสซึมมีแกรนูลที่เห็นเป็นสีเทาอมน้ำเงินเมื่อย้อมด้วยสี Giemsa (ภาพที่ 9 และ 10 ก)
- 2.2 อีโอซิโนฟิล (eosinophil) มีขนาดใหญ่กว่าเม็ดเลือดแดง ขนาดใกล้เคียงกับเฮเทอโรฟิล มีนิวเคลียสรูปร่างรีอยู่ชิดเยื่อหุ้มเซลล์ ย้อมติดสีม่วง ภายในไซโตพลาสซึมมีแกรนูลย้อมติดสีแดงอมส้มเมื่อย้อมด้วยสี Giemsa (ภาพที่ 10 ข)





ภาพที่ 9: เซลล์เม็ดเลือดแดง (erythrocyte) และเม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ (lymphocyte) ซึ่งเป็นเม็ดเลือดขาวชนิดไม่มีแกรนูล เปรียบเทียบกับเฮเทอโรฟิล (heterophil) ซึ่งเป็นเม็ดเลือดขาวชนิดมีแกรนูล ของเต่าตนุเพศเมียที่ขึ้นวางไข่ (scale bar ขนาด 50 ไมโครเมตร)



ภาพที่ 10: (ก) เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดเฮเทอโรฟิล (heterophil) (ข) เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดอีโอซิโนฟิล (eosinophil) ของเต่าตนุเพศเมียที่ขึ้นวางไข่ (scale bar ขนาด 20 ไมโครเมตร)

## 5.5 การนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดย่อย (differential leucocyte count)

เมื่อนำสไลด์ที่ย้อมด้วย Giemsa's stain มาส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยกำลังขยาย 100x แล้วนับจำนวนร้อยละของเซลล์เม็ดเลือดขาวแต่ละชนิด โดยนับเซลล์เม็ดเลือดขาว 100 เซลล์ แล้วจำแนกเป็นเซลล์เม็ดเลือดขาวแต่ละชนิด ได้แก่ ลิมโฟไซต์ (lymphocyte) โมโนไซต์ (monocyte) เฮเทอโรฟิล (heterophil) และ อีโอสิโนฟิล (eosinophil) แล้วบันทึกด้วยเครื่องนับแยกชนิดเม็ดเลือดขาว (cell counter for differential count; เฉลียว ศาลากิจ, 2548) ได้ข้อมูลดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4: ร้อยละของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดย่อย (differential leucocyte count) ของของเต่าตนุเพศเมีย ที่ขึ้นวางไข่ที่หาดทรายบนเกาะหุยง อุทยานแห่งชาติหมู่เกาะสิมิลัน จังหวัดพังงา

เต่าที่ขึ้นวางไข่	ลิมโฟไซต์ (%)	โมโนไซต์ (%)	เฮเทอโรฟิล (%)	อีโอสิโนฟิล (%)
ตัวที่ 1	87.7	5.3	3.7	3.7
ตัวที่ 2	92	1	0	7
ตัวที่ 3	63.5	28.4	2.7	5.4
ค่าเฉลี่ย	81.1 ± 15.4	11.6 ± 14.7	2.1 ± 1.9	5.4 ± 1.7

จากข้อมูลพบว่าค่าร้อยละของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดย่อยมีความแปรผันค่อนข้างสูง แสดงถึงภาวะทางสรีรวิทยาที่แตกต่างกันระหว่างแม่เต่า โดยเฉพาะแม่เต่าตัวที่ 3 (แม่ศรีสุรัตน์) ที่มีค่าร้อยละของเซลล์โมโนไซต์สูงกว่า และมีค่าร้อยละของเซลล์ลิมโฟไซต์ต่ำกว่า แม่เต่าตัวอื่น อย่างไรก็ตามเมื่อวิเคราะห์ด้วยสถิติ Kolmogorov-Smirnov normality test พบว่าค่าร้อยละของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดย่อยที่ตรวจสอบมีรูปแบบการกระจายเป็นปกติ ( $p > 0.05$ ) เมื่อพิจารณาจากข้อมูลจำนวนตัวอย่างที่มีเพียง 3 ตัวอย่าง จึงอาจจะไม่สามารถสรุปได้ว่าสุขภาพของแม่เต่าตัวที่ 3 มีความผิดปกติจริง หรือเกิดจากการแปรผันตามธรรมชาติ

## 6. สรุปผลการศึกษา

จากการสำรวจภาคสนามที่เกาะหุยง อุทยานแห่งชาติหมู่เกาะสิมิลัน ซึ่งเป็นพื้นที่วางไข่ที่สำคัญของเต่าทะเลในฝั่งทะเลอันดามัน คณะผู้วิจัยได้พบการขึ้นวางไข่ของเต่าตนุจำนวน 28 รัง โดยมีจำนวนไข่ต่อห่อ (clutch size) เฉลี่ย  $105 \pm 23$  ฟอง ในจำนวนนี้เป็นรังที่พบและสามารถระบุตัวแม่เต่าได้จำนวน 12 ตัว โดยแม่เต่ามีขนาดใกล้เคียงกัน คือ มีความยาวกระดองหลังตามแนวโค้งเฉลี่ย  $95.73 \pm 4.36$  เซนติเมตร และ มีความกว้างกระดองหลังตามแนวโค้งเฉลี่ย  $86.36 \pm 2.94$  เซนติเมตร

เมื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิสิ่งแวดล้อมในช่วงเวลาที่สอดคล้องกับฤดูกาลวางไข่ โดยติดตามการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในช่วง 8 สัปดาห์ (ระยะเวลาสำหรับการฟักไข่เต่าตนุ) พบว่าอุณหภูมิอากาศบริเวณหาดทรายที่พบการทำรังวางไข่มีการเปลี่ยนแปลงตั้งแต่ 23.6 ถึง 35.4 องศาเซลเซียส (ช่วงต่าง 11.8



องศาเซลเซียส) อย่างไรก็ตามในหลุมทรายที่เต่าทำรังวางไข่จะมีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในช่วงแคบ โดยมีความแตกต่างของอุณหภูมิสูงสุด-ต่ำสุดเพียง 1.4 ถึง 2.2 องศาเซลเซียสเท่านั้น และเมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในหลุมตลอดระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าหลุมไข่เต่าตนุบนเกาะหุยงมีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในช่วงแคบ โดยเฉพาะเมื่อเข้าสู่ช่วงสัปดาห์ที่ 4 ถึง 6 ซึ่งเป็นช่วงเวลาที่มีการกำหนดเพศของเอ็มบริโอ จะพบการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในช่วงแคบและอยู่ในขอบเขตช่วง transitional range of temperature ของเต่าตนุ (Wibbels, 2003) จึงทำให้คาดการณ์ได้ว่าประชากรเต่าตนุที่ได้จากหลุมไข่เต่าบนเกาะหุยงน่าจะมีโอกาสเกิดเป็นประชากรเพศเดียวได้ค่อนข้างยาก

เมื่อเจาะเลือดมาตรวจสอบค่าทางโลหิตวิทยา ได้แก่ ชนิดและจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาว และจำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดง เพื่อตรวจสอบสุขภาพโดยรวมของเต่าในธรรมชาติ พบว่าเต่าตนุที่ขึ้นวางไข่มีจำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดงเฉลี่ย  $406,667 \pm 51,377$  เซลล์/ลูกบาศก์มิลลิเมตร และเซลล์เม็ดเลือดขาวเฉลี่ย  $19,847 \pm 9,328$  เซลล์/ลูกบาศก์มิลลิเมตร ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ปกติ (reference interval) ที่รายงานในเต่าตนุที่พบในธรรมชาติและในที่เลี้ยง (Samour et al., 1998; Flint et al., 2010) และมีการกระจายของค่าร้อยละของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดย่อยเป็นแบบปกติ

การศึกษาทางโลหิตวิทยาเป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญสำหรับการประเมินสุขภาพ โดยค่าทางโลหิตวิทยาสามารถใช้ประเมินหรือวินิจฉัยสัตว์ บ่งชี้ความสามารถของร่างกายที่จะต่อสู้กับเชื้อโรค การดำเนินไปของโรค รวมทั้งสามารถบอกถึงชนิดของภาวะโลหิตจาง เพื่อที่จะสืบสวนหาสาเหตุที่แน่นอนต่อไป สามารถแยกได้ว่าการเจ็บป่วยที่เกิดขึ้นนั้นมาจากภาวะทุพโภชนาการ หรือเกิดจากการติดเชื้อ (เฉลี่ยว ศาลากิจ, 2548) หรือ บ่งชี้ความผิดปกติที่สังเกตได้ยากในระยะแรกของการติดเชื้อ แต่สามารถวินิจฉัยได้โดยศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางโลหิตวิทยา (นันทริกา ชันช้อย, 2549)

ข้อมูลจากภาคสนามในโครงการวิจัยนี้แสดงให้เห็นถึงสุขภาพและความสมบูรณ์ของเต่าตนุที่ขึ้นวางไข่ที่เกาะหุยง ซึ่งข้อมูลด้านนิเวศสรีรวิทยาเหล่านี้สามารถนำมาใช้บ่งบอกการดำรงชีวิตของสัตว์ในธรรมชาติ และเมื่อเก็บรวบรวมอย่างต่อเนื่องจะเป็นประโยชน์ต่อการติดตามตรวจสอบสุขภาพในระยะยาวเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในการพัฒนาเกาะหุยงให้เป็นสถานที่ศึกษาและอนุรักษ์พันธุ์เต่าทะเลอย่างยั่งยืนต่อไป

## 7. เอกสารอ้างอิง

- เฉลี่ยว ศาลากิจ. 2548. โลหิตวิทยาทางสัตวแพทย์. นครปฐม: โรงพิมพ์ศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ.
- นันทริกา ชันช้อย. 2549. โรคเต่า: อายุรเวชศาสตร์และคลินิกปฏิบัติ. กรุงเทพมหานคร: โฮลิสติก พับลิชชิง.
- วินัย กล่อมอินทร์. 2545. แหล่งวางไข่เต่าตนุ (*Chelonia mydas*) เกาะหุยง: ชีววิทยาและการอนุรักษ์. วิทยาลัยการทัพเรือ สถาบันวิชาการทหารเรือชั้นสูง. 103 หน้า.
- สุพจน์ จันทราภรณ์ศิลป์. 2544. ชีววิทยาและการอนุรักษ์เต่าทะเลไทย. เอกสารวิชาการ กลุ่มสัตว์ทะเลหายาก สถาบันวิจัยชีววิทยาและประมงทะเล จังหวัดภูเก็ต. 18 หน้า.

- Flint, M., Morton, J.M., Limpus, C.J., Patterson-Kane, J.C., Murray, P.J. and Mills, P.C. 2010. Development and application of biochemical and haematological reference intervals to identify unhealthy green sea turtles (*Chelonia mydas*). **The Veterinary Journal** 185: 299-304.
- Miller, J.D. 1985. Embryology of marine turtles. In Gans, C., Billett, F. and Maderson, P.F.A. (eds), **Biology of the Reptilia**. vol.14. New York: John Wiley and Sons. pp. 270–328.
- Natt, M.P. and Herrick, C.A. 1952. A new blood diluent for counting the erythrocytes and leucocytes of the chicken. **Poultry Science** 31: 735-738.
- Samour, J.H., Howlett, J.C., Silvanose, C., Hasbun, C.R. and Al-Ghais, S.M. 1998. Normal hematology of free-living green sea turtles (*Chelonia mydas*) from the United Arab Emirates. **Comparative Haematology International** 8: 102-107.
- Standora, E.D., and Spotila, J.R. 1985. Temperature dependent sex determination in sea turtles. **Copeia** 3: 711-722.
- Tharp, G.D. and Woodman, D.A. 2002. **Experiments in Physiology**, 8<sup>th</sup> ed. Upper Saddle River, NJ: Prentice Hall. pp. 211-235.
- Valenzuela, N., and Lance, V.A. 2004. **Temperature-Dependent Sex Determination in Vertebrates**. Smithsonian Books. Washington D.C. 194 pp.
- Wibbels, T. 2003. Critical approaches to sex determination of sea turtles. In Lutz, P.L., Musick, J.A. and Wyneken, J. (eds.), **The Biology of Sea Turtles**. vol. 2. Boca Raton, FL: CRC Press. pp. 103-134.
- Wood, F.E. and Ebanks, G.K. 1984. Blood cytology and hematology of the green sea turtle, *Chelonia mydas*. **Herpetologica** 40: 331-336.
- Work, T.M. and Balazs, G.H. 1999. Relating tumor score to hematology in green turtles with fibropapillomatosis in Hawaii. **Journal of Wildlife Diseases** 35: 804-807.
- Work, T.M., Raskin, R.E., Balasz, G.H. and Whittaker, S.D. 1998. Morphologic and cytochemical characteristics of blood cells from Hawaiian green turtles. **American Journal of Veterinary Research** 59: 1252-1257.
- Wyneken, J. 2001. **The Anatomy of Sea Turtles**. U.S. Department of Commerce NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC-470. pp. 74-104.
- Yasuda, T., Kittiwattanawong, K., Klom-In, W. and Arai, N. 2005. Seasonal nesting of green turtles at Huyong Island, Thailand. **Proceedings of the 2<sup>nd</sup> International Symposium on Southeast Asia Sea Turtle Associative Research and Bio-logging Science**, 13-14 December 2005, Bangkok, Thailand. pp. 51-54.