

การประยุกต์ใช้เทคนิคทางชีววิทยาโมเลกุลเพื่อประเมินขนาดประชากรของ
เต่ากระ *Eretmochelys imbricata* วยเจริญพันธุ์บริเวณเกาะทะลุ จังหวัดประจวบคีรีขันธ์



บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย

The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR)
are the thesis authors' files submitted through the University Graduate School.

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม (สหสาขาวิชา)
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2560
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

APPLICATION OF MOLECULAR BIOLOGY TECHNIQUES FOR AN ASSESSMENT OF
REPRODUCTIVE POPULATION SIZE OF HAWKSBILL TURTLE
Eretmochelys imbricata AT TALU ISLAND, PRACHUAP KHIRI KHAN PROVINCE



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Environmental Science
(Interdisciplinary Program)

Graduate School

Chulalongkorn University

Academic Year 2017

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การประยุกต์ใช้เทคนิคทางชีววิทยาโมเลกุลเพื่อประเมินขนาดประชากรของเต่ากระ <i>Eretmochelys imbricata</i> วยเจริญพันธุ์บริเวณเกาะทะลุ จังหวัดประจวบคีรีขันธ์
โดย	นางสาวมุกเรขา เชี่ยวชาญชัย
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นพดล กิตนะ
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ธงชัย งามประเสริฐวงศ์

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

.....คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(รองศาสตราจารย์ ดร. ชรรมนบุญ หนูจักร)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร. อัจฉราภรณ์ เปี่ยมสมบูรณ์)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นพดล กิตนะ)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ธงชัย งามประเสริฐวงศ์)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศานิต ปิยพัฒน์นกร)

.....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

(รองศาสตราจารย์ ดร. กำธร ชีร์คุปต์)

มุกเรชา เชี่ยวชาญชัย : การประยุกต์ใช้เทคนิคทางชีววิทยาโมเลกุลเพื่อประเมินขนาดประชากรของเต่ากระ *Eretmochelys imbricata* วิทยานิพนธ์ปริญญาโท สาขาชีววิทยา มหาวิทยาลัยราชภัฏวชิรเวศน์ (APPLICATION OF MOLECULAR BIOLOGY TECHNIQUES FOR AN ASSESSMENT OF REPRODUCTIVE POPULATION SIZE OF HAWKSBILL TURTLE *Eretmochelys imbricata* AT TALU ISLAND, PRACHUAP KHIRI KHAN PROVINCE) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผศ. ดร. นพดล กิตนนะ, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: ผศ. ดร. ธงชัย งามประเสริฐวงศ์, 125 หน้า.

การขยายตัวของกิจกรรมมนุษย์ทั่วโลกส่งผลกระทบต่อเต่าทะเลอย่างเลี่ยงไม่ได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง เต่ากระ *Eretmochelys imbricata* ซึ่งเป็นสัตว์ที่มีประชากรลดลงจนมีความเสี่ยงขั้นวิกฤตต่อการสูญพันธุ์ เนื่องจากการลดลงของพื้นที่แหล่งวางไข่และแหล่งหาอาหาร การเสียชีวิตจากการติดเครื่องมือประมง รวมถึงการถูกล่าโดยมนุษย์ ข้อมูลประชากรเต่ากระจึงมีความสำคัญสำหรับนำมาใช้ในการประเมินสถานการณ์ในการศึกษานี้จึงได้นำเทคนิคทางชีววิทยาโมเลกุลมาประยุกต์ใช้ศึกษาไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอและนิวเคลียร์ดีเอ็นเอของลูกเต่ากระที่เกิดในปี พ.ศ. 2557 เพื่อตรวจสอบรูปแบบพันธุกรรมที่ลูกเต่าได้รับจากเต่ากระเพศเมียและเต่ากระเพศผู้มีแหล่งผสมพันธุ์และแหล่งวางไข่ บริเวณเกาะทะเล จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ประกอบกับการสืบค้นข้อมูลการพบเห็นเต่ากระในประเทศไทย เพื่อใช้เป็นข้อมูลสำหรับการประเมินสถานการณ์ประชากรเต่ากระ ผลการศึกษาภาวะพหุสัณฐานของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอของลูกเต่ากระจำนวน 5 รัง รวมทั้งสิ้น 38 ตัว พบรูปแบบสารพันธุกรรม 1 แอสไพโลไทป์ และมีค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมเท่ากับ 0 เมื่อพิจารณาร่วมกับบันทึกข้อมูลภาคสนามการขึ้นวางไข่ของเต่ากระเพศเมียที่เกาะทะเล แสดงให้เห็นว่าในปี พ.ศ. 2557 ลูกเต่ากระเกิดมาจากแม่เต่าตัวเดียวกัน กล่าวคือ พบเต่ากระเพศเมียจำนวน 1 ตัว ส่วนการศึกษาภาวะพหุสัณฐานของไมโครแซทเทลไลต์ในนิวเคลียร์ดีเอ็นเอของลูกเต่ากระจำนวน 5 รัง รวมทั้งสิ้น 214 ตัว สามารถประมาณการจำนวนเต่ากระเพศผู้ได้ 1 - 4 ตัว สำหรับการสืบค้นข้อมูลการพบเต่ากระในประเทศไทยพบว่า เต่ากระส่วนใหญ่ (ร้อยละ 67) ถูกพบในรูปแบบการเกยตื้นตามพื้นที่ชายฝั่ง โดยมีเครื่องมือประมงและขยะทะเลเป็นปัจจัยหลักที่ส่งผลกระทบต่ออาการบาดเจ็บหรือเสียชีวิตของเต่ากระ จากการตรวจสอบด้วยเทคนิคทางชีววิทยาโมเลกุลที่พบว่ามีความถี่ของเต่ากระวัยเจริญพันธุ์น้อย ประกอบกับแนวโน้มการเกยตื้นของเต่ากระที่สูงขึ้นในช่วง 5 - 10 ปีที่ผ่านมา แสดงถึงสถานการณ์ที่น่าเป็นห่วงของเต่ากระในบริเวณอ่าวไทย จึงควรมีการวางแผนการจัดการด้านการประมงและขยะทะเลในบริเวณอ่าวไทยเพื่อการอนุรักษ์พันธุ์เต่ากระต่อไป

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม

ปีการศึกษา 2560

ลายมือชื่อนิสิต

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม

5787217320 : MAJOR ENVIRONMENTAL SCIENCE

KEYWORDS: CONSERVATION, MARINE TURTLE, MICROSATELLITE, MITOCHONDRIAL DNA, MULTIPLE NESTING, MULTIPLE PATERNITY

MUKREKHA CHIEWCHANCAI: APPLICATION OF MOLECULAR BIOLOGY TECHNIQUES FOR AN ASSESSMENT OF REPRODUCTIVE POPULATION SIZE OF HAWKSBILL TURTLE *Eretmochelys imbricata* AT TALU ISLAND, PRACHUAP KHIRI KHAN PROVINCE. ADVISOR: ASST. PROF. NOPPADON KITANA, Ph.D., CO-ADVISOR: ASST. PROF. THONGCHAI NGAMPRASERTWONG, Ph.D., 125 pp.

With ever-increasing human activities around the globe, disturbance of sea turtle life is inevitable. Hawksbill turtle, *Eretmochelys imbricata*, a critically endangered species, is facing a global population decline as results of decreased nesting habitats and foraging grounds, death by fishing gears as well as exploitation by human. It is thus crucial to monitor population status of the sea turtle. In this study, the number of adult hawksbill turtles breeding and nesting at Talu Island, Prachuap Khiri Khan Province in the Gulf of Thailand was assessed by using molecular techniques on mitochondrial DNA and nuclear DNA from juvenile turtles. Furthermore, secondary data of hawksbill turtle sighting were compiled to assess population situation in Thailand. In nesting season of 2014, mtDNA polymorphism of 38 juvenile turtles representing 5 nests revealed only one haplotype ($h=0$, $\mathbf{TT}=0$), consideration with field data record, indicating that these 5 nests were potentially laid by one single female. While analysis of microsatellite polymorphism in nuclear DNA of 214 juvenile turtles from 5 nests revealed the estimated number of male hawksbill turtles of 1 to 4 individuals. Literature surveys on sighting of the hawksbill turtle in Thailand showed that, rather than the nesting female turtles, majority (67%) of the turtles found in the Gulf of Thailand was the stranded turtles due to injury or death involving fishing gears and marine debris. The low number of adult hawksbill turtles together with an increasing number of stranded turtles in the Gulf of Thailand during the past 5 - 10 years further bring about concerns over the population status of this critically endangered species and suggest that management plan for fishery and marine debris in the Gulf of Thailand are crucial for conservation of the hawksbill turtle.

Field of Study: Environmental Science

Academic Year: 2017

Student's Signature

Advisor's Signature

Co-Advisor's Signature

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จลุล่วงลงด้วยดี เนื่องจากได้รับความช่วยเหลือและความกรุณาอย่างสูงจากบุคคลที่เกี่ยวข้องหลายท่าน

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.นพดล กิตนะ อาจารย์ที่ปรึกษาและ ผศ.ดร.ธงชัย งามประเสริฐวงศ์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่กรุณาให้ความรู้ คำแนะนำ ความเมตตาและกำลังใจ ตลอดจนให้ความช่วยเหลือเพื่อให้การทำวิทยานิพนธ์ดำเนินไปราบรื่นและสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร.อัจฉราภรณ์ เปี่ยมสมบูรณ์ ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ รศ.ดร.กำธร ชีรคุปต์ และ ผศ.ดร.ศานิต ปิยพัฒน์กร กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่สละเวลาอันมีค่าให้คำแนะนำและข้อคิดเห็นต่าง ๆ เพื่อให้วิทยานิพนธ์นี้มีความถูกต้องสมบูรณ์

ขอขอบคุณมูลนิธิฟื้นฟูทรัพยากรทะเลสยามและเจ้าหน้าที่เกาะทะเล ภูเก็ต รีสอร์ท สำหรับการเอื้อเฟื้อที่พักและอาหารเป็นอย่างดี รวมถึงการเข้าใช้พื้นที่และอำนวยความสะดวกเป็นอย่างมากในระหว่างการเก็บข้อมูล โดยเฉพาะอย่างยิ่ง คุณบุญเลิศ เผือกทอง ที่ช่วยนำไข่เต่ามาเพาะฟักและเลี้ยงลูกเต่ากระที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้

ขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนาทรัพยากรทางทะเล ชายฝั่งทะเล และ ป่าชายเลน และนายสัตวแพทย์วีรพงษ์ เหล่าเวชประสิทธิ์ สถานีอนุรักษ์พันธุ์เต่าทะเล เกาะมันใน จังหวัดระยอง ที่เอื้อเฟื้อการเข้าใช้พื้นที่และอำนวยความสะดวกระหว่างการเก็บข้อมูล ตลอดจนช่วยเก็บตัวอย่างเลือดเต่ากระตัวเต็มวัย

ขอขอบคุณเพื่อน ๆ พี่ ๆ น้อง ๆ สมาชิกแล็บ BioSentinel และสมาชิกแล็บเต่า ที่ให้การช่วยเหลือ คำแนะนำและกำลังใจตลอดการทำงาน

ขอขอบคุณทุก ๆ ท่านที่ให้ความช่วยเหลือแต่ไม่ได้เอ่ยนามมา ณ ที่นี้ด้วย

วิทยานิพนธ์นี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากบริษัท มูบาดาลา ปีโตรเลียม (ประเทศไทย) จำกัด ทุน 90 ปี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช และโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี สมองพระราชดำริโดยจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (อพ.สธ.-จพ.)

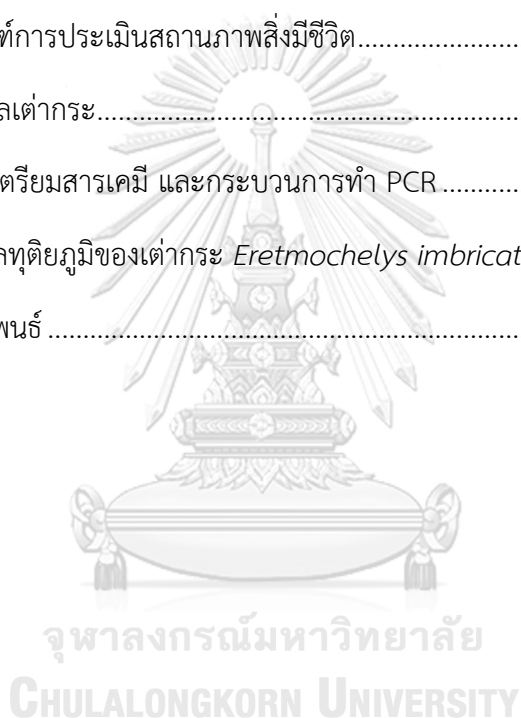
สุดท้ายนี้ ขอขอบคุณครอบครัวที่ให้กำลังใจและเป็นแรงผลักดันจนสำเร็จการศึกษาในครั้งนี้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ญ
สารบัญภาพ	ฎ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์	3
1.3 สมมติฐานการวิจัย	3
1.4 ขอบเขตของการวิจัย.....	4
บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	6
2.1 หลักการและทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง.....	6
2.1.1 เต่าทะเล (sea turtles).....	6
2.1.1.1 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับเต่าทะเล.....	6
2.1.1.2 การกระจายตัวของเต่าทะเล.....	8
2.1.1.4 เส้นทางการเคลื่อนที่และแหล่งอาหารของเต่าทะเลฝั่งอ่าวไทย.....	13
2.1.1.5 ความสำคัญของเต่าทะเล.....	14
2.1.1.6 ภาวะคุกคามที่มีผลต่อแนวโน้มการลดลงของเต่าทะเล	15
2.1.2 เต่ากระ <i>Eretmochelys imbricata</i> หรือ Hawksbill turtle.....	17
2.1.2.1 การกระจายตัวของเต่ากระ.....	18
2.1.2.2 แหล่งวางไข่ของเต่ากระ.....	18

2.1.2.3 สถานภาพเต่ากระ	24
2.1.3 การศึกษาพันธุศาสตร์ระดับโมเลกุล (molecular genetics).....	25
2.1.3.1 การศึกษาไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ (mitochondrial DNA)	25
2.1.3.2 การศึกษานิวเคลียร์ดีเอ็นเอ (nuclear DNA).....	28
2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	30
2.2.1 การศึกษาไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอของเต่าทะเล.....	30
2.2.2 การศึกษานิวเคลียร์ดีเอ็นเอของเต่าทะเล	32
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	36
3.1 พื้นที่ศึกษาวิจัย.....	36
3.2 จรรยาบรรณการใช้สัตว์เพื่อนงานทางวิทยาศาสตร์.....	37
3.3 การศึกษาภาคสนาม.....	37
3.4 การสกัดและตรวจสอบคุณภาพดีเอ็นเอ	41
3.5 การศึกษาภาวะพหุสัณฐานของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ.....	42
3.6 การศึกษาภาวะพหุสัณฐานของไมโครแซทเทลโลด์บนนิวเคลียร์ดีเอ็นเอ	43
3.7 การวิเคราะห์ข้อมูล	45
3.7.1 ตรวจสอบข้อมูลลำดับเบสของจีโนมบนไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ	45
3.7.2 ตรวจสอบข้อมูลอัลลีลหรือลักษณะจีโนมของลูกเต่ากระที่พบในแต่ละตำแหน่ง ของเครื่องหมายไมโครแซทเทลโลด์บนนิวเคลียร์ดีเอ็นเอ	47
3.7.3 ประเมินขนาดประชากรของเต่ากระวัยเจริญพันธุ์.....	48
3.8 การประเมินขนาดประชากรและปัจจัยเสี่ยงที่มีผลกระทบต่อประชากรของเต่ากระใน บริเวณอ่าวไทย.....	48
บทที่ 4 ผลการศึกษาและอภิปรายผลการศึกษา.....	50
4.1 การศึกษาภาวะพหุสัณฐานของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ (mitochondrial DNA polymorphism).....	50

4.2 การศึกษาภาวะพหุสัณฐานของไมโครแซทเทลไลต์ (microsatellite polymorphism) บนนิวเคลียร์ดีเอ็นเอ.....	61
4.3 การประเมินขนาดประชากรและปัจจัยเสี่ยงที่มีผลกระทบต่อประชากรของเต่ากระใน บริเวณอ่าวไทย.....	69
บทที่ 5 สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ.....	83
รายการอ้างอิง.....	88
ภาคผนวก ก. เกณฑ์การประเมินสถานภาพสิ่งมีชีวิต.....	90
ภาคผนวก ข. ข้อมูลเต่ากระ.....	94
ภาคผนวก ค. การเตรียมสารเคมี และกระบวนการทำ PCR.....	111
ภาคผนวก ง. ข้อมูลทุติยภูมิของเต่ากระ <i>Eretmochelys imbricata</i>	118
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	125



สารบัญตาราง

ตารางที่ 2 - 1	แหล่งวางไข่ของเต่ากระบริเวณมหาสมุทรอินเดียและมหาสมุทรแปซิฟิก	20
ตารางที่ 2 - 2	จำนวนหลุมไข่เต่าทะเลแต่ละชนิด บริเวณฝั่งทะเลอันดามันและฝั่งอ่าวไทย ระหว่างปี พ.ศ. 2528 – 2548	21
ตารางที่ 2 - 3	จำนวนรังไข่เต่าทะเลบริเวณฝั่งอ่าวไทยในปี พ.ศ. 2552.....	22
ตารางที่ 2 - 4	การวางไข่ของเต่ากระบนหาดทรายเกาะทะเล จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ในช่วง พ.ศ. 2553 – 2560.....	23
ตารางที่ 4 - 1	การเก็บตัวอย่างลูกเต่ากระที่เกิดในปี พ.ศ. 2557 ณ เกาะทะเล จังหวัด ประจวบคีรีขันธ์ และ เต่ากระ ณ เกาะมันใน จังหวัดระยอง	51
ตารางที่ 4 - 2	ค่าความหลากหลายทางพันธุกรรม (genetic diversity) ของเต่ากระ เกาะทะเล และ เกาะมันใน ปี พ.ศ. 2561	52
ตารางที่ 4 - 3	การวางไข่ของเต่ากระ <i>Eretmochelys imbricata</i> บนเกาะทะเล จังหวัด ประจวบคีรีขันธ์ ในปี พ.ศ. 2557	53
ตารางที่ 4 - 4	ความแตกต่างทางพันธุกรรม (F_{ST}) ระหว่างกลุ่มประชากรของเต่ากระ <i>Eretmochelys imbricata</i> ในมหาสมุทรอินเดีย – มหาสมุทรแปซิฟิกที่ $p <$ 0.05.....	57
ตารางที่ 4 - 5	การประมาณจำนวนเต่ากระเพศผู้ <i>Eretmochelys imbricata</i> จากจีโนมโทป์และ รูปแบบอัลลีลของลูกเต่ากระที่เกิดในปี พ.ศ. 2557 ณ เกาะทะเล จังหวัด ประจวบคีรีขันธ์.....	63
ตารางที่ 4 - 6	ความน่าจะเป็นของการจับคู่กันของตำแหน่งเครื่องหมายทางพันธุกรรมในอัลลีล ลูกเต่ากระ <i>Eretmochelys imbricata</i> ที่เกิดในปี พ.ศ. 2557 ณ เกาะทะเล จังหวัดประจวบคีรีขันธ์.....	67
ตารางที่ 4 - 7	การศึกษาภาวะพหุสัณฐานของไมโครแซทเทลไลต์ของลูกเต่ากระ <i>Eretmochelys imbricata</i> ที่เกิดในปี พ.ศ. 2557 ณ เกาะทะเล จังหวัด ประจวบคีรีขันธ์.....	68

ตารางที่ ข - 1 ข้อมูลทางสัณฐานวิทยาของลูกเต่ากระที่เกิดในปี พ.ศ. 2557 ณ เกาะทะเล จังหวัดประจวบคีรีขันธ์.....	112
ตารางที่ ข - 2 ข้อมูลทางสัณฐานวิทยาของเต่ากระ ณ ศูนย์อนุรักษ์พันธุ์เต่าทะเล เกาะมันใน จังหวัดระยอง.....	127
ตารางที่ ค - 1 Mitochondrial primer (ขนาด 800-900 base pairs).....	131
ตารางที่ ค - 2 Microsatellite primer	131
ตารางที่ ค - 3 คู่ mitochondrial primer บริเวณ control region สำหรับใช้ศึกษาในเต่าทะเล จากงานวิจัยที่ผ่านมา	132
ตารางที่ ค - 4 คู่ microsatellites primer สำหรับใช้ศึกษาในเต่าทะเลจากงานวิจัยที่ผ่านมา	133
ตารางที่ ง - 1 การพบเห็นเต่ากระ <i>Eretmochelys imbricata</i> ในบริเวณอ่าวไทย ช่วงปี พ.ศ. 2538 – 2561	136

สารบัญภาพ

ภาพที่ 1 - 1 แผนผังขั้นตอนการทำงานวิจัยในโครงการ 5

ภาพที่ 2 - 1 ลักษณะการจำแนกชนิดเต่าทะเลไทย 7

ภาพที่ 2 - 2 การกระจายของเต่าทะเลในประเทศไทย 9

ภาพที่ 2 - 3 วงจรชีวิตของเต่าทะเล 11

ภาพที่ 2 - 4 ฤดูกาลวางไข่เต่าทะเลในน่านน้ำไทย 12

ภาพที่ 2 - 5 เส้นทางเคลื่อนที่ของเต่าตนุบริเวณทะเลอ่าวไทยและทะเลจีนใต้ 14

ภาพที่ 2 - 6 ภาวะคุกคามที่ส่งผลกระทบต่อเต่าทะเล 16

ภาพที่ 2 - 7 แนวโน้มการลดลงของเต่าทะเล..... 17

ภาพที่ 2 - 8 เต่ากระ *Eretmochelys imbricata* 18

ภาพที่ 2 - 9 แหล่งวางไข่ของเต่ากระในพื้นที่ต่าง ๆ ของโลก..... 19

ภาพที่ 2 - 10 ตำแหน่งของยีนต่าง ๆ ในไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอของสัตว์ 26

ภาพที่ 2 - 11 Electropherogram แสดงการเกิด stutter band ระหว่างช่วง microsatellite alleles 29

ภาพที่ 3 - 1 พื้นที่การเก็บตัวอย่างเต่ากระ บริเวณอ่าวไทย 36

ภาพที่ 3 - 2 ทาดแซม หนึ่งในหาดทรายที่พบการขึ้นวางไข่ของเต่ากระ ณ เกาะทะเลลู จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ 37

ภาพที่ 3 - 3 ขั้นตอนการนำไข่มาเพาะฟักและอนุบาลลูกเต่ากระ ณ เกาะทะเลลู จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ 38

ภาพที่ 3 - 4 โรงเรือนอนุบาลลูกเต่ากระ 39

ภาพที่ 3 - 5 การเก็บข้อมูลด้านสัณฐานวิทยาของลูกเต่ากระ ณ เกาะทะเลลู จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ 40

ภาพที่ 3 - 6 การเก็บตัวอย่างเลือดจากลูกเต่ากระ ณ เกาะทะเลลู จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ 41

ภาพที่ 3 - 7 การเปรียบเทียบคุณภาพตัวอย่างดีเอ็นเอจำนวน 19 ตัวอย่างกับแถบดีเอ็นเอมาตรฐาน (DNA ladder) ขนาด 1.5 กิโลเบส ด้วยวิธี agarose gel electrophoresis 42

ภาพที่ 3 - 8	ผลิตภัณฑ์ PCR (PCR product; ~800 base pairs) ที่ผ่านการทำให้มีความบริสุทธิ์ยิ่งขึ้น (purification) เปรียบเทียบคุณภาพผลิตภัณฑ์ PCR กับแถบดีเอ็นเอมาตรฐาน (DNA ladder) ขนาด 1.5 กิโลเบส ด้วยวิธี agarose gel electrophoresis	43
ภาพที่ 3 - 9	การเปรียบเทียบคุณภาพผลิตภัณฑ์ PCR (PCR product; ~230 – 300 base pairs) กับแถบดีเอ็นเอมาตรฐาน (DNA ladder) ขนาด 1.5 กิโลเบส ด้วยวิธี agarose gel electrophoresis	44
ภาพที่ 3 - 10	กราฟแสดงตัวอย่างผลการวิเคราะห์สารพันธุกรรมของลูกเต่ากระ	45
ภาพที่ 3 - 11	การแปลผลและจัดเรียงข้อมูลลำดับเบสของลูกเต่ากระด้วย MUSCLE algorithm ในโปรแกรม MEGA-X.....	46
ภาพที่ 3 - 12	กราฟแสดงปริมาณดีเอ็นเอ (แกนตั้ง) และ ขนาดอัลลีล (แกนนอน) ในภาวะพหุสัณฐานไมโครแซทเทลไลต์ (microsatellite polymorphism) ของลูกเต่ากระ	47
ภาพที่ 4 - 1	พื้นที่ที่พบเต่ากระ <i>Eretmochelys imbricate</i> ในแถบมหาสมุทรอินเดีย – มหาสมุทรแปซิฟิก.....	55
ภาพที่ 4 - 2	Haplotype network แสดงการแบ่งกลุ่มรูปแบบพันธุกรรม จำนวน 64 แฮพโลไทป์ (567 คู่เบส) ของเต่ากระ <i>Eretmochelys imbricata</i> ในแถบมหาสมุทรอินเดีย – มหาสมุทรแปซิฟิก	58
ภาพที่ 4 - 3	แผนภูมิต้นไม้แสดงการแบ่งกลุ่มประชากรเต่ากระ <i>Eretmochelys imbricata</i> ในแถบมหาสมุทรอินเดีย – มหาสมุทรแปซิฟิก ด้วยวิธีการคำนวณความเป็นไปได้แบบ maximum likelihood.....	59
ภาพที่ 4 - 4	แผนภูมิต้นไม้แสดงการแบ่งกลุ่มของประชากรเต่ากระ <i>Eretmochelys imbricata</i> ในแถบมหาสมุทรอินเดีย – มหาสมุทรแปซิฟิก ด้วยวิธีการคำนวณความเป็นไปได้แบบ Bayesian inference	60
ภาพที่ 4 - 5	ค่าความถี่อัลลีล (allele frequency) ของตำแหน่งเครื่องหมายทางพันธุกรรมของไมโครแซทเทลไลต์จำนวน 6 ตำแหน่ง (loci) จากลูกเต่ากระ <i>Eretmochelys imbricata</i> ที่เกิดในปี พ.ศ. 2557 ณ เกาะทะเล จังหวัดประจวบคีรีขันธ์	62

ภาพที่ 4 - 6 อัตราส่วนการพบเห็นเต่ากระ <i>Eretmochelys imbricata</i> บริเวณอ่าวไทย ในช่วง ปี พ.ศ. 2538 – 2561.....	70
ภาพที่ 4 - 7 จังหวัดที่พบการเกยตื้นของเต่ากระ <i>Eretmochelys imbricata</i> ในบริเวณอ่าวไทย..	71
ภาพที่ 4 - 8 เต่ากระสตาฟที่ถูกพบในอำเภอบางบัวทอง จังหวัดนนทบุรี.....	72
ภาพที่ 4 - 9 พื้นที่การเกยตื้นของเต่ากระ <i>Eretmochelys imbricata</i> ในบริเวณอ่าวไทย	73
ภาพที่ 4 - 10 สัดส่วนการเกยตื้นของเต่ากระ <i>Eretmochelys imbricata</i> ในบริเวณอ่าวไทย	74
ภาพที่ 4 - 11 สาเหตุการเสียชีวิตของเต่ากระ <i>Eretmochelys imbricata</i> ที่พบการเกยตื้นใน บริเวณอ่าวไทย ช่วงปี พ.ศ. 2538 – 2561	74
ภาพที่ 4 - 12 สภาพการเสียชีวิตของเต่ากระ <i>Eretmochelys imbricata</i>	75
ภาพที่ 4 - 13 สาเหตุการเกยตื้นของเต่ากระ <i>Eretmochelys imbricata</i> ในบริเวณอ่าวไทย	76
ภาพที่ 4 - 14 สภาพเต่ากระ <i>Eretmochelys imbricata</i> ที่ได้รับผลกระทบจากเครื่องมือ ประมง	76
ภาพที่ 4 - 15 แนวโน้มการเกยตื้นของเต่ากระ <i>Eretmochelys imbricata</i> ในบริเวณอ่าวไทย	77
ภาพที่ 4 - 16 บริเวณที่พบเต่ากระ <i>Eretmochelys imbricata</i> เพศเมียและรังที่เต่ากระวางไข่....	79
ภาพที่ 4 - 17 จำนวนเต่ากระ <i>Eretmochelys imbricata</i> เพศเมียที่พบในบริเวณอ่าวไทย ช่วง ปี พ.ศ. 2538 – 2561.....	80
ภาพที่ 4 - 18 จำนวน รังที่เต่ากระ <i>Eretmochelys imbricata</i> วางไข่ในบริเวณอ่าวไทย ช่วงปี พ.ศ. 2538 – 2561	81

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญของปัญหา

การพัฒนาเศรษฐกิจและการขยายตัวของประชากร ทำให้ทรัพยากรที่มีอยู่อย่างจำกัดลดลงอย่างรวดเร็ว ส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตและระบบนิเวศต่าง ๆ เช่น การสูญเสียความหลากหลายของสปีชีส์และการเปลี่ยนแปลงระดับประชากรของสปีชีส์เด่นในระบบนิเวศนั้น (จิรากรณ์ คชเสนี และ นันทนา คชเสนี, 2558) เต่าทะเลเป็นสัตว์ชนิดหนึ่งที่ได้รับผลกระทบจากการพัฒนาเศรษฐกิจและการขยายตัวของมนุษย์ ทำให้พื้นที่แหล่งวางไข่และแหล่งหาอาหารลดลง ประกอบกับการล่าเต่าทะเลและเก็บไข่เต่าทะเลเพื่อการค้าและอื่น ๆ จึงทำให้ประชากรของเต่าทะเลลดลงอย่างรวดเร็วจนถูกจัดเป็นสิ่งมีชีวิตที่เสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ หรือ endangered species (Mortimer and Donnelly, 2008)

เต่ากระ *Eretmochelys imbricata* เป็นเต่าทะเลชนิดหนึ่งที่อยู่ในภาวะเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ เนื่องจากการลดลงของพื้นที่แหล่งวางไข่และแหล่งหาอาหาร การเสียชีวิตจากการติดเครื่องมือประมง และการเสื่อมโทรมของระบบนิเวศทะเล ส่งผลให้ประชากรของเต่ากระมีจำนวนลดลง (Mortimer and Donnelly, 2008) โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อพิจารณาจากจำนวนเต่าเพศเมียในวัยเจริญพันธุ์และการเปลี่ยนแปลงจำนวนการขึ้นวางไข่ของเต่าเพศเมีย (International Union for Conservation of Nature, 2012) จนสหภาพนานาชาติเพื่อการอนุรักษ์ธรรมชาติและ (International Union for Conservation of Nature: IUCN) ประกาศให้เต่ากระเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีความเสี่ยงขั้นวิกฤติต่อการสูญพันธุ์ หรือ critically endangered species (Mortimer and Donnelly, 2008) นอกจากนี้ ด้วยลักษณะกระดองของเต่ากระที่มีสีสันสวยงาม จึงมักถูกล่าเพื่อนำไปทำเป็นเครื่องประดับราคาสูง รวมถึงสามารถนำเนื้อ ไข่ หนังและไขมันไปใช้ประโยชน์ได้ อนุสัญญาว่าด้วยการค้าระหว่างประเทศด้านชนิดสัตว์ป่าและพืชป่าที่ใกล้สูญพันธุ์ (Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora: CITES) จึงจัดให้เต่ากระเป็นสัตว์ในบัญชีหมายเลข 1 (CITES, 2013)

ในประเทศไทย เต่ากระมีแนวโน้มการลดลงของประชากรเช่นกัน สืบเนื่องมาจากการอนุญาตสัมปทานไข่เต่าทะเลในอดีต การติดเครื่องมือประมงแบบอวนลาก (ระบบฐานข้อมูลกลางและมาตรฐานข้อมูลทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง, 2556) การมีแหล่งอาหารบริเวณน้ำตื้นตามแนว

ชายฝั่งและแนวปะการังจึงทำให้เต่ากระสามารถถูกจับได้ง่าย และการบุกรุกพื้นที่ทางทะเลและชายฝั่งของมนุษย์ที่เป็นปัจจัยสำคัญทำให้แหล่งวางไข่ แหล่งที่อยู่อาศัย และแหล่งหาอาหารของเต่ากระลดลง ส่งผลกระทบให้ประชากรของเต่ากระในธรรมชาติลดลง จนถูกจัดให้เป็นสัตว์ป่าคุ้มครองประเภทที่ 1 ตามพระราชบัญญัติสงวนและคุ้มครองสัตว์ป่า พ.ศ. 2535 (พระราชบัญญัติสงวนและคุ้มครองสัตว์ป่า, 2535) โดยปัจจุบันพบแหล่งวางไข่และแหล่งหาอาหารของเต่ากระในประเทศไทยเฉพาะทางฝั่งอ่าวไทยเท่านั้น (กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง, สัมภาษณ์, 5 มกราคม 2559) เช่น เกาะคราม จังหวัดชลบุรี (ชลาทิพ จันท์ชมภู, สัมภาษณ์, 18 มกราคม 2559) เกาะทะลุ จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ (ปรีดา เจริญพักตร์, สัมภาษณ์, 11 ตุลาคม 2557) และเกาะกุลา จังหวัดชุมพร (อดิชาติ อินทองคำ, สัมภาษณ์, 12 มกราคม 2559) ซึ่งพื้นที่ส่วนใหญ่พบจำนวนแม่เต่าขึ้นทำรังวางไข่ลดลงและอัตราการทำรังวางไข่ไม่ต่อเนื่องทุกปี

จากสถานการณ์การเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมและภาวะคุกคามในระดับประเทศและระดับโลก ทำให้มีความจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องมีข้อมูลขนาดประชากรของเต่ากระ เพื่อประกอบการตัดสินใจ สถานภาพการอนุรักษ์และการคุ้มครองเต่ากระ อย่างไรก็ตาม การศึกษาขนาดประชากรหรือติดตามการเจริญเติบโตของเต่ากระจนถึงวัยที่สามารถสืบพันธุ์ได้เป็นเรื่องยากและต้องใช้เวลาหลายปี เนื่องจากเต่ากระมีขอบเขตการกระจายตัวที่กว้างขวาง มีการเดินทางเคลื่อนที่และอาศัยอยู่ในทะเลตลอดเวลา นอกจากนี้ การที่มีเฉพาะเต่าเพศเมียขึ้นมาทำรังวางไข่บนหาดทราย จึงทำให้ข้อมูลประชากรของเต่ากระส่วนใหญ่มาจากการสังเกตเต่ากระเพศเมียวัยเจริญพันธุ์เท่านั้น (International Union for Conservation of Nature, 2012) โดยไม่มีข้อมูลหรือขนาดประชากรของเต่ากระเพศผู้วัยเจริญพันธุ์ ยิ่งไปกว่านั้น เต่าเพศเมียยังสามารถวางไข่ได้หลายครั้งในหนึ่งฤดูวางไข่และมีโครงสร้างสำหรับเก็บสเปิร์มของเต่าเพศผู้เพื่อนำมาผสมกับไข่ของเพศเมียเมื่อมีสภาพแวดล้อมและปัจจัยต่าง ๆ ที่เหมาะสม (Pearse and Avise, 2001) ด้วยเหตุนี้จึงทำให้การประเมินขนาดประชากรของเต่ากระโดยตรงทำได้ยาก จึงมีความพยายามที่จะนำเทคนิคด้านพันธุศาสตร์ระดับโมเลกุล (molecular genetics) มาประยุกต์ใช้เพื่อศึกษาชีววิทยาของเต่าทะเล เช่น การกลับมาวางไข่ยังแหล่งกำเนิดของแม่เต่า การถ่ายทอดยีนของเต่าทะเลเพศผู้ การศึกษาวิวัฒนาการของเต่าทะเล การติดตามเส้นทางการอพยพของเต่าทะเล (Donnelly et al., 1999) ตลอดจนการศึกษาประชากรของเต่าทะเล (Encalada et al., 1996; Joseph and Shaw, 2010; Zolgharnein et al., 2011; Ekanayake et al., 2013)

ในการศึกษานี้ได้มุ่งเน้นการนำเทคนิคด้านชีววิทยาโมเลกุลมาใช้ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของเต่ากระ และพัฒนาเป็นแนวทางในการประเมินขนาดประชากรของเต่ากระวัยเจริญพันธุ์ โดยพิจารณาเลือกเกาะทะเล จังหัดประจวบคีรีขันธ์ ซึ่งเป็นเกาะขนาดเล็กอยู่บริเวณอ่าวไทยตอนกลางเป็นพื้นที่ศึกษา เนื่องจากมีบริเวณชายหาดที่เงียบสงบเหมาะแก่การวางไข่ของเต่ากระ โดยปัจจุบันพบแม่เต่าขึ้นวางไข่อย่างต่อเนื่องทุกปี ซึ่งมูลนิธิฟื้นฟูทรัพยากรทะเลสยามและเกาะทะเล ไรส์แลนด์ รีสอร์ทได้มีการจัดการแหล่งเพาะฟักไข่เต่าและแหล่งอนุบาลลูกเต่ากระเพื่อช่วยเพิ่มอัตราการรอดของลูกเต่าก่อนปล่อยคืนสู่ธรรมชาติ โดยวิธีการและข้อมูลจากการศึกษานี้ อาจนำไปเชื่อมโยงกับการศึกษาเต่ากระในพื้นที่อื่น เพื่อวางแผนการจัดการและอนุรักษ์สัตว์ที่มีความเสี่ยงขั้นวิกฤติต่อการสูญพันธุ์ชนิดนี้ต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์

พัฒนาแนวทางการประเมินขนาดประชากรของเต่ากระ *Eretmochelys imbricata* วัยเจริญพันธุ์ที่มีแหล่งผสมพันธุ์และวางไข่บริเวณเกาะทะเล จังหัดประจวบคีรีขันธ์ โดยอาศัยเทคนิคทางชีววิทยาโมเลกุล

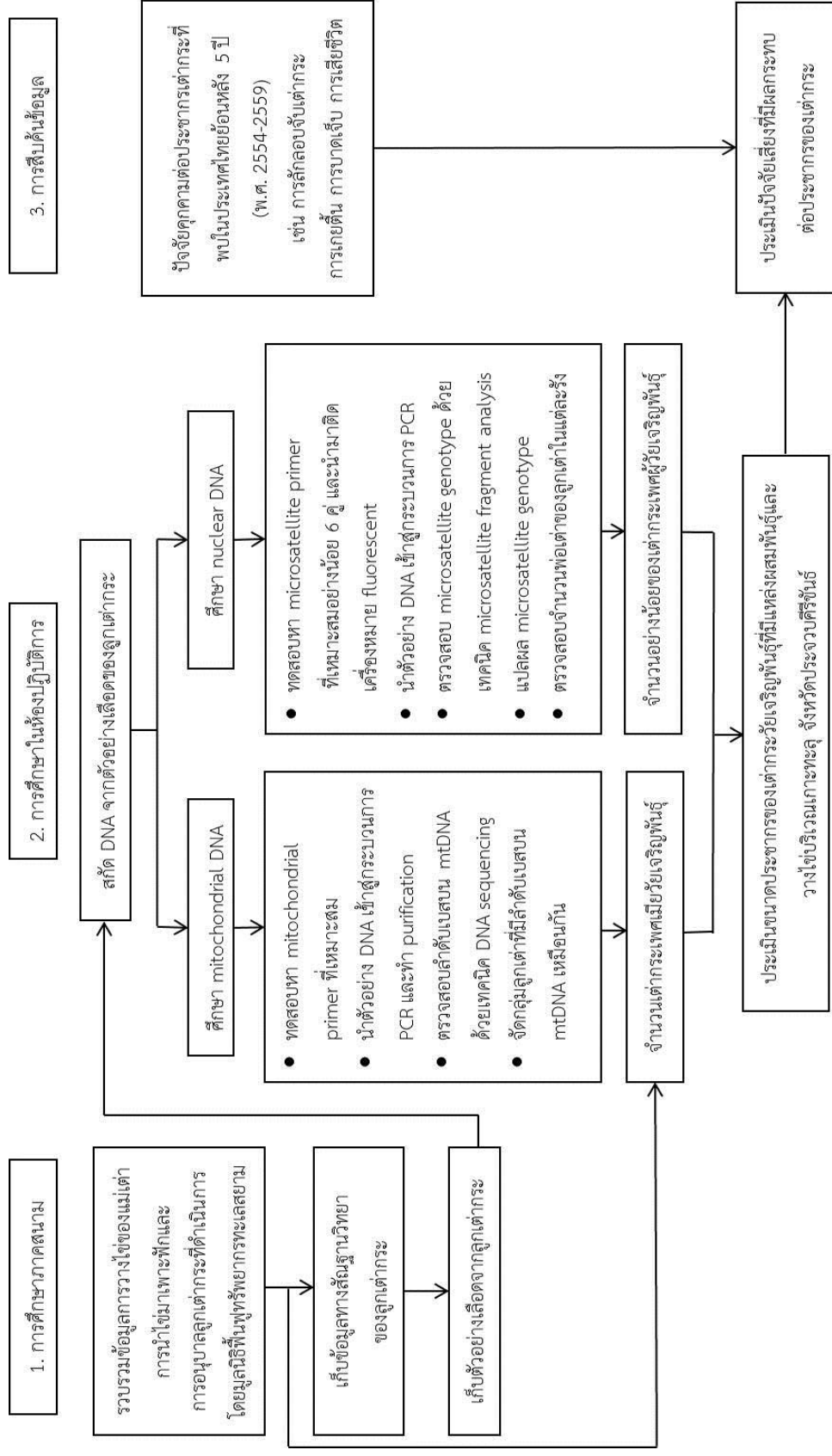
1.3 สมมติฐานการวิจัย

การศึกษาภาวะพหุสัมพันธ์ฐานบนไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอและนิวเคลียร์ดีเอ็นเอของเต่ากระด้วยเทคนิคทางชีววิทยาโมเลกุล สามารถนำข้อมูลมาประมาณจำนวนเต่ากระเพศเมียและเต่ากระเพศผู้วัยเจริญพันธุ์ได้

1.4 ขอบเขตของการวิจัย

- 1) รวบรวมข้อมูลการขึ้นทำรังวางไข่ของเต่ากระเพศเมียและข้อมูลของลูกเต่ากระ *Eretmochelys imbricata* ในบ่อเลี้ยงบนเกาะทะเล จังหวัดประจวบคีรีขันธ์จากการจดบันทึกของมูลนิธิฟื้นฟูทรัพยากรทะเลสยาม และเกาะทะเล ไอส์แลนด์ รีสอร์ท
- 2) เก็บเลือดของลูกเต่ากระในบ่อเลี้ยงบนเกาะทะเล จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ นำมาสกัดดีเอ็นเอ และศึกษาภาวะพหุสัญญาณบนไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอและนิวเคลียร์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิคทางชีววิทยาโมเลกุลเพื่อจำแนกเต่ากระเพศเมียและเต่ากระเพศผู้วัยเจริญพันธุ์ที่เป็นพ่อและแม่ของลูกเต่ากระ
- 3) ประเมินขนาดประชากรของเต่ากระวัยเจริญพันธุ์บริเวณเกาะทะเล จังหวัดประจวบคีรีขันธ์
- 4) ศึกษาปัจจัยเสี่ยงที่มีผลกระทบต่อประชากรเต่ากระในบริเวณอ่าวไทยจากการสืบค้นข้อมูลทุติยภูมิ





ภาพที่ 1 - 1 แผนผังขั้นตอนการทำงานวิจัยในโครงการ “การประยุกต์ใช้เทคนิคทางชีววิทยาโมเลกุลเพื่อประเมินขนาดประชากรของเต่ากระ *Eretmochelys imbricata* วัยเจริญพันธุ์บริเวณเกาะทะเล จันทบุรี ประจวบคีรีขันธ์”

บทที่ 2

บททวนวรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

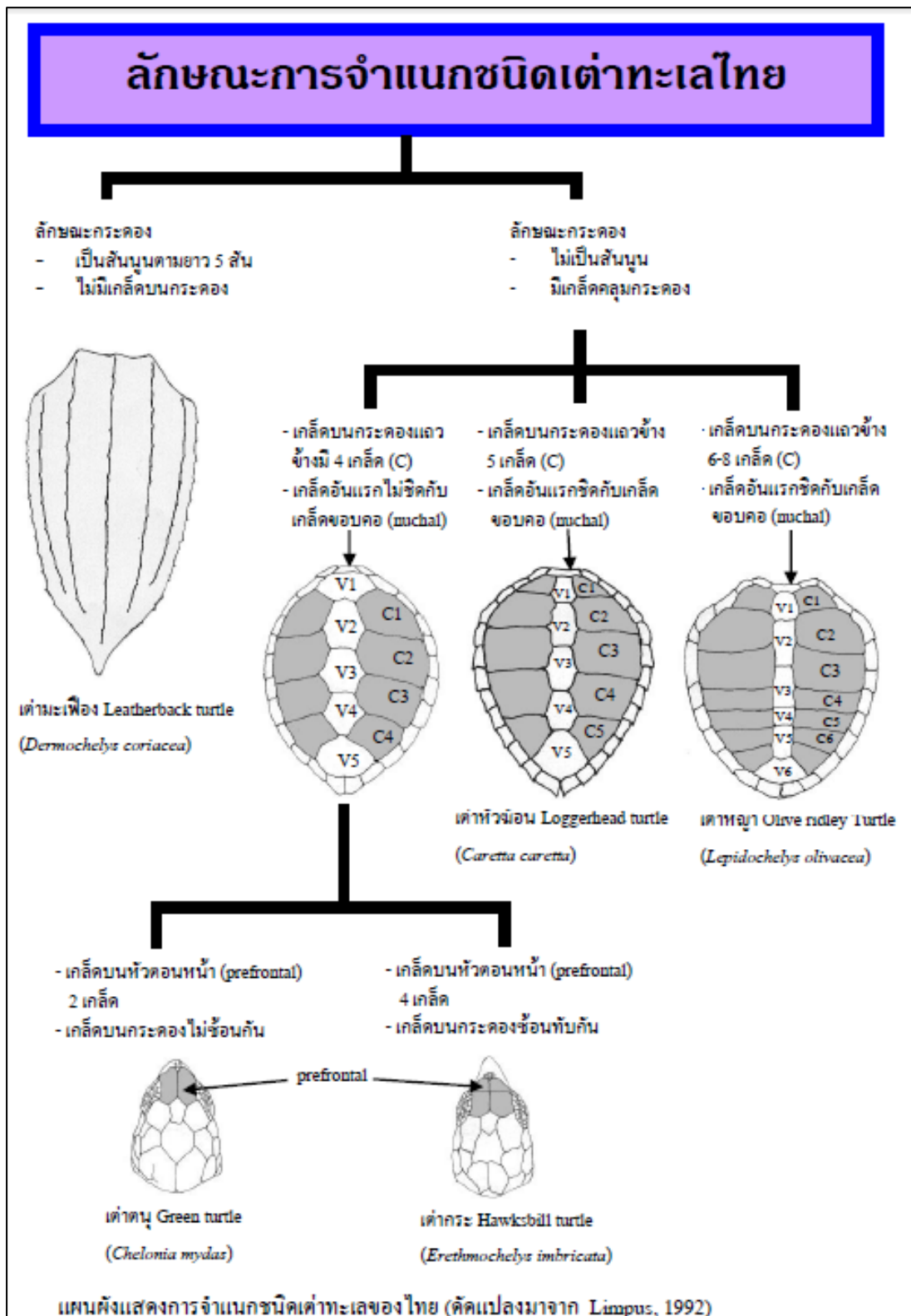
2.1 หลักการและทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

2.1.1 เต่าทะเล (sea turtles)

2.1.1.1 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับเต่าทะเล

เต่าทะเลเป็นเลื้อยคลานในวงศ์ Cheloniidae อันดับ Testudines เป็นสัตว์เลือดเย็น ซึ่งอุณหภูมิในร่างกายเปลี่ยนแปลงได้ตามสภาพแวดล้อม หายใจด้วยปอด มีหัวใจสามห้องเหมือนสัตว์เลื้อยคลานทั่วไป อาศัยอยู่ในทะเล กระดองมีลักษณะเป็นเกล็ด ยกเว้นเต่ามะเฟืองมีกระดองเป็นแผ่นหนังหนา เต่าทั้งสี่แบนกว้างแบบใบพายเหมาะแก่การเคลื่อนตัวใต้น้ำ ลักษณะปากเป็นจะงอยคมและแข็งแรงสำหรับขบแทะอาหาร ได้แก่ กุ้ง ปู ปลา หอย และพืชชนิดอื่น ๆ เต่าทะเลมีระบบขับเกลือแร่ออกจากร่างกายทางต่อมขับเกลือด้านหลังดวงตา เพื่อรักษาสมดุลของของเหลวในร่างกายเพราะมีการดื่มน้ำทะเลตลอดเวลา

เต่าทะเลทั่วโลกมีทั้งหมด 8 ชนิด คือ เต่ามะเฟือง *Dermochelys coriacea*, เต่ากระ *Eretmochelys imbricata*, เต่าตนุ *Chelonia mydas*, เต่าตนุหลังแบน *Chelonia depressa*, เต่าหัวค้อน *Caretta caretta*, เต่าหญ้า *Lepidochelys olivacea*, เต่าหญ้าแอดแลนติก *Lepidochelys kempii* และเต่าดำ *Chelonia agassizii* สุพจน์ จันทราภรณ์ศิลป์ (2556) ได้รายงานว่ เต่าทะเลในประเทศไทยสามารถพบได้ทั้งหมด 5 ชนิด ได้แก่ เต่ามะเฟือง เต่ากระ เต่าตนุ เต่าหัวค้อน และเต่าหญ้า โดยสามารถจำแนกชนิดของเต่าด้วยลักษณะต่าง ๆ ดังภาพ



ภาพที่ 2 - 1 ลักษณะการจำแนกชนิดเต่าทะเลไทย (สุพจน์ จันทราภรณ์ศิลป์, 2556)

2.1.1.2 การกระจายตัวของเต่าทะเล

ในอดีต ประเทศไทยเคยมีเต่าทะเลชุกชุมทั้งทางทะเลฝั่งอันดามันและฝั่งอ่าวไทย โดยทะเลฝั่งอันดามันเคยพบเต่าทะเลขึ้นวางไข่บริเวณชายหาดฝั่งตะวันตกของจังหวัดภูเก็ต จังหวัดพังงา และหมู่เกาะใกล้เคียง มีพบบ้างที่จังหวัดตรังและจังหวัดสตูล ส่วนฝั่งอ่าวไทยเคยพบเต่าทะเลขึ้นวางไข่บนชายหาดตามเกาะต่าง ๆ ของจังหวัดชลบุรี จังหวัดตราด จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ เกาะกระ จังหวัดนครศรีธรรมราช จังหวัดปัตตานี และจังหวัดนราธิวาส ปัจจุบันการกระจายตัวของเต่าทะเลมีปริมาณลดลง โดยฝั่งทะเลอันดามันยังคงปรากฏการขึ้นวางไข่ของเต่าทะเลที่หาดท้ายเหมือง จังหวัดพังงา หาดในยาง จังหวัดภูเก็ต และหมู่เกาะต่าง ๆ ที่อยู่ห่างไกลจากฝั่ง ได้แก่ หมู่เกาะสุรินทร์และหมู่เกาะสิมิลัน ส่วนฝั่งพื้นที่อ่าวไทยพบจำนวนเต่าทะเลน้อยมาก โดยมีหาดทรายและเกาะที่พบแหล่งวางไข่ตามธรรมชาติ ได้แก่ เกาะกูด จังหวัดชุมพร (อดิชาติ อินทองคำ, สัมภาษณ์, 12 มกราคม 2559) เกาะทะลุ จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ (ปรีดา เจริญพัทธ์, สัมภาษณ์, 11 ตุลาคม 2557) จังหวัดสุราษฎร์ธานี จังหวัดนครศรีธรรมราช และบริเวณอ่าวสัตหีบ เกาะคราม เกาะอีร้า และเกาะจาน จังหวัดชลบุรี ซึ่งอยู่ในเขตรักษาความปลอดภัยของทหารเรือ (ภาพที่ 2 - 2; ระเบียบฐานข้อมูลกลางและมาตรฐานข้อมูลทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง, 2556)



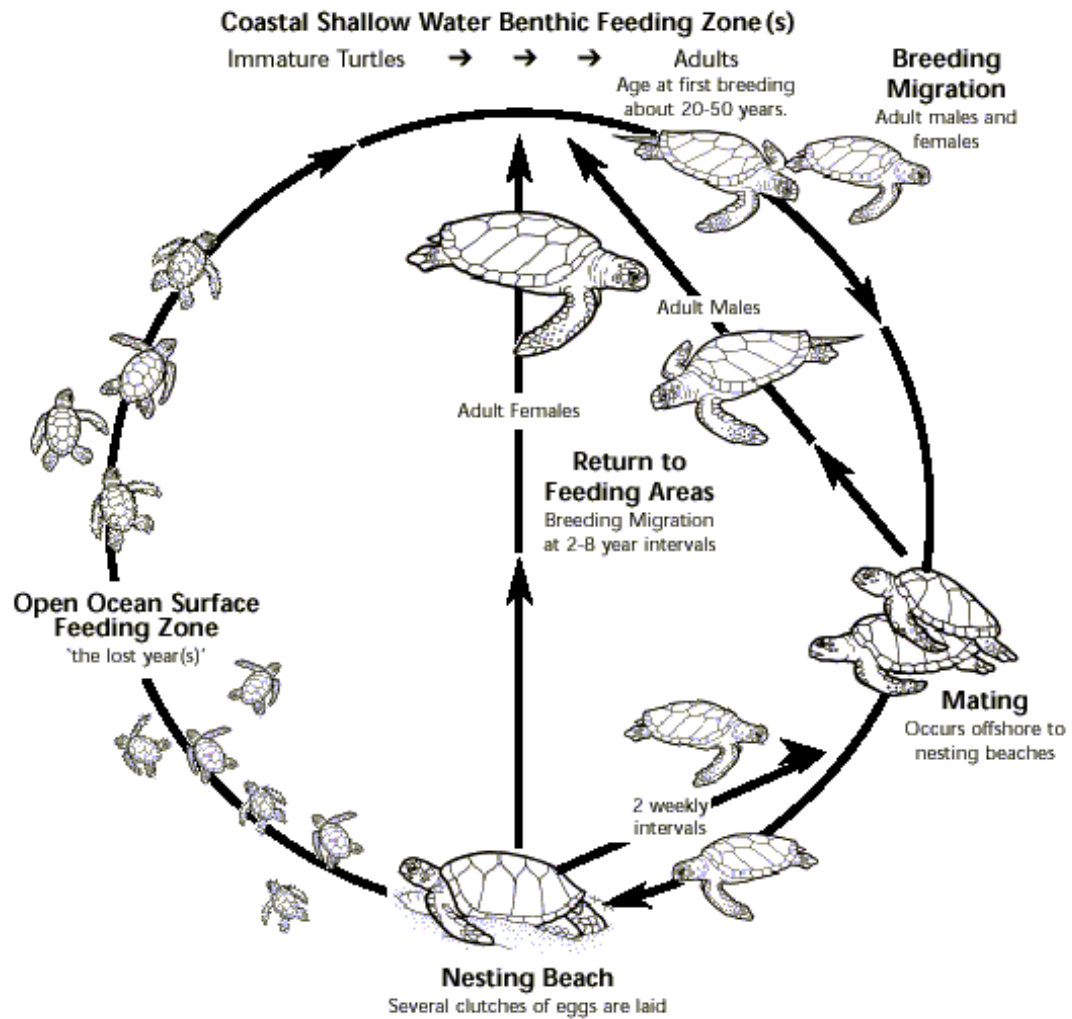
ภาพที่ 2 - 2 การกระจายของเต่าทะเลในประเทศไทย (ดัดแปลงข้อมูลจากศูนย์อนุรักษ์พันธุ์เต่าทะเล กองทัพเรือ, 2553)

2.1.1.3 วงจรชีวิตเต่าทะเล

1) การจับคู่และผสมพันธุ์

เมื่อเต่าทะเลเติบโตถึงวัยที่พร้อมจะผสมพันธุ์แล้ว เต่าทะเลจะเดินทางไปสู่แหล่งผสมพันธุ์ซึ่งอยู่ไม่ไกลจากแหล่งวางไข่ โดยเต่าเพศผู้และเต่าเพศเมียจะอยู่ร่วมกันและผสมพันธุ์กัน (ภาพที่ 2 – 3) ซึ่งเต่าเพศเมียหนึ่งตัวอาจผสมกับเต่าเพศผู้ได้หลายตัว และเต่าเพศผู้สามารถผสมกับเต่าเพศเมียได้หลายตัวเช่นเดียวกัน จากการศึกษาสารพันธุกรรมของเต่าทะเลที่วางไข่ที่เกาะคราม จังหวัดชลบุรี (Lutz et al., 1996; สุพจน์ จันทราภรณ์ศิลป์, 2556) พบว่าเต่าเพศเมีย 1 ตัว มีการผสมพันธุ์กับเต่าเพศผู้ 2 ตัว และจากการสังเกตเต่าหญ้าในบ่อเลี้ยง พบว่า เต่าเพศผู้สามารถผสมพันธุ์กับเต่าเพศเมียได้หลายตัวในฤดูเดียวกัน (สุพจน์ จันทราภรณ์ศิลป์, 2556) นอกจากนี้ ในปี 1997 Miller (อ้างถึงใน สุพจน์ จันทราภรณ์ศิลป์, 2556) รายงานว่า เต่าเพศเมียมีโครงสร้างสำหรับเก็บสเปิร์มจากเต่าเพศผู้ ทำให้สามารถเก็บสเปิร์มไว้ได้นานประมาณ 4 เดือน เพื่อรอผสมกับไข่ของเพศเมียเมื่อสภาพแวดล้อมและปัจจัยต่าง ๆ เหมาะสม โดยไม่จำเป็นต้องผสมพันธุ์ใหม่ทุกครั้งก่อนวางไข่

เต่าทะเลเพศผู้และเต่าทะเลเพศเมียสามารถระบุเพศได้อย่างชัดเจนเมื่อเจริญเติบโตถึงวัยเจริญพันธุ์และมีขนาดใหญ่แล้ว โดยเต่าทะเลเพศเมียจะมีหางสั้นมาก ส่วนเต่าทะเลเพศผู้จะมีลักษณะหางยื่นยาวออกมาจากกระดอง เนื่องจากมีอวัยวะเพศอยู่ที่โคนหาง เต่าทะเลใช้เวลาในการจับคู่ผสมพันธุ์ประมาณ 30 – 60 นาที หลังจากผสมพันธุ์แล้วประมาณ 2 – 4 อาทิตย์ เต่าทะเลเพศเมียก็จะพร้อมวางไข่ (สุพจน์ จันทราภรณ์ศิลป์, 2556)

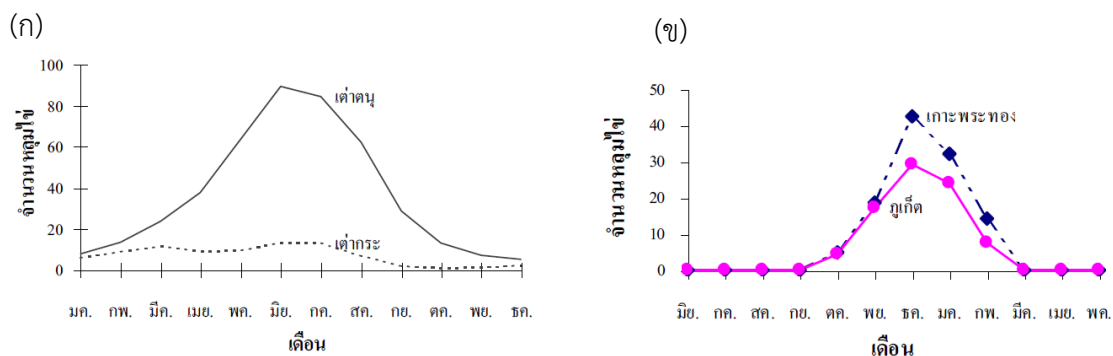


ภาพที่ 2 - 3 วงจรชีวิตของเต่าทะเล (Great Barrier Reef Marine Park Authority, 2018)

CHULALONGKORN UNIVERSITY

2) ช่วงฤดูการวางไข่เต่าทะเล

ช่วงฤดูการวางไข่ของเต่าทะเลจะแตกต่างกันตามลักษณะภูมิประเทศและชนิดของเต่าทะเล สำหรับฤดูการวางไข่เต่าทะเลในน่านน้ำประเทศไทยพบว่า เต่าตนุและเต่ากระขึ้นวางไข่ตลอดปีทั้งทางฝั่งทะเลอันดามันและฝั่งอ่าวไทย โดยมีช่วงชุกชุมอยู่ในเดือนพฤษภาคมถึงเดือนสิงหาคม ส่วนเต่าหญ้าและเต่ามะเฟืองพบการวางไข่เฉพาะฝั่งทะเลอันดามัน บริเวณหมู่เกาะพระทองและหาดท้ายเหมืองของจังหวัดพังงา และ บริเวณหาดสวนมะพร้าวและหาดในยาง จังหวัดภูเก็ต ในช่วงเดือนตุลาคมถึงเดือนกุมภาพันธ์เท่านั้น (ภาพที่ 2 - 4)



ภาพที่ 2 - 4 ถดูการวางไข่เต่าทะเลในน่านน้ำไทย (สุพจน์ จันทราภรณ์ศิลป์, 2554)

(ก) ถดูการวางไข่เต่าตนุและเต่ากระในฝั่งอ่าวไทยที่เกาะคราม จังหวัดชลบุรี ค่าเฉลี่ยปี พ.ศ.

2523 – 2533

(ข) ถดูการวางไข่เต่าหญ้าและเต่ามะเฟืองฝั่งทะเลอันดามันที่จังหวัดภูเก็ต และ จังหวัดพังงา ค่าเฉลี่ย

ปี พ.ศ. 2522 – 2536

3) ลูกเต่าทะเลแรกเกิด

ไข่เต่าทะเลส่วนใหญ่ใช้เวลาฟักตัวประมาณ 50 – 55 วัน ยกเว้นไข่เต่ามะเฟืองซึ่งจะใช้เวลาฟักตัวประมาณ 60 – 65 วัน ในธรรมชาติอัตราการเกิดเป็นตัวของลูกเต่าประมาณ 80 – 90% เมื่อฟักออกจากไข่ ลูกเต่ามีขนาดความยาวกระดองประมาณ 4 – 4.5 เซนติเมตร ยกเว้นลูกเต่ามะเฟืองซึ่งมีความยาวกระดองประมาณ 6 เซนติเมตร เมื่อลูกเต่าทะเลเกาะเปลือกไข่ออกมาแล้ว จะขยับตัวพร้อมกันภายในหลุมใต้ทราย ให้ทรายด้านบนยุบตัวลงมา และลูกเต่าจะเริ่มเคลื่อนที่ขึ้นสู่ด้านบนเรื่อย ๆ จนถึงผิวทราย รอจนถึงเวลาช่วงกลางคืนจึงขึ้นออกมาจากหลุมพร้อมกันและมุ่งหน้าลงสู่ทะเลทันทีเพื่อตรงสู่ทะเลลึกให้ห่างจากชายฝั่งมากที่สุด เนื่องจากบริเวณชายฝั่งเป็นพื้นที่ที่มีศัตรูอาศัยอยู่มาก เช่น ปูลม นกและปลาขนาดใหญ่ โดยลูกเต่าจะอาศัยแสงจากแนวขอบฟ้ากำหนดทิศทางการออกจากพื้นที่ชายฝั่ง และลูกเต่าจะว่ายน้ำอย่างต่อเนื่องไม่หยุดพักเป็นเวลา 3 – 5 วัน ซึ่งการว่ายน้ำอย่างต่อเนื่องจะช่วยพัฒนากล้ามเนื้อขาหน้าให้มีความแข็งแรงอีกด้วย โดยลูกเต่าในระยะนี้จะใช้ไข่แดงที่สะสมอยู่ในตัวเป็นแหล่งอาหาร สามารถใช้ดำรงชีวิตได้ 5 – 7 วัน หลังจากนั้นจึงหยุดพัก ลอยตัวและหาอาหารกิน โดยอาศัยการแผ่ตัวกับกอพืชหรือสาหร่ายที่ลอยในทะเล หรือวัสดุอื่น ๆ และกลับมาหาอาหารกินตามแนวชายฝั่งเมื่อมีอายุประมาณ 2 – 5 ปี โดยเต่าตนุจะกินวัชพืชทะเล หญ้าทะเล และผลของไม้จากป่าโกงกางที่ลอยในน้ำ เต่ากระกินฟองน้ำในแหล่ง

ปะการัง เต่าหญ้าจะกินสัตว์น้ำขนาดเล็ก ซึ่งบางครั้งเต่าทะเลข้างต้นก็กินแมงกะพรุนเป็นอาหารด้วย ส่วนเต่ามะเฟืองเป็นเต่าทะเลชนิดเดียวที่ดำรงชีวิตในท้องทะเลลึกตลอดชีวิตและกินแมงกะพรุนเป็นอาหาร (สุพจน์ จันทราภรณ์ศิลป์, 2554)

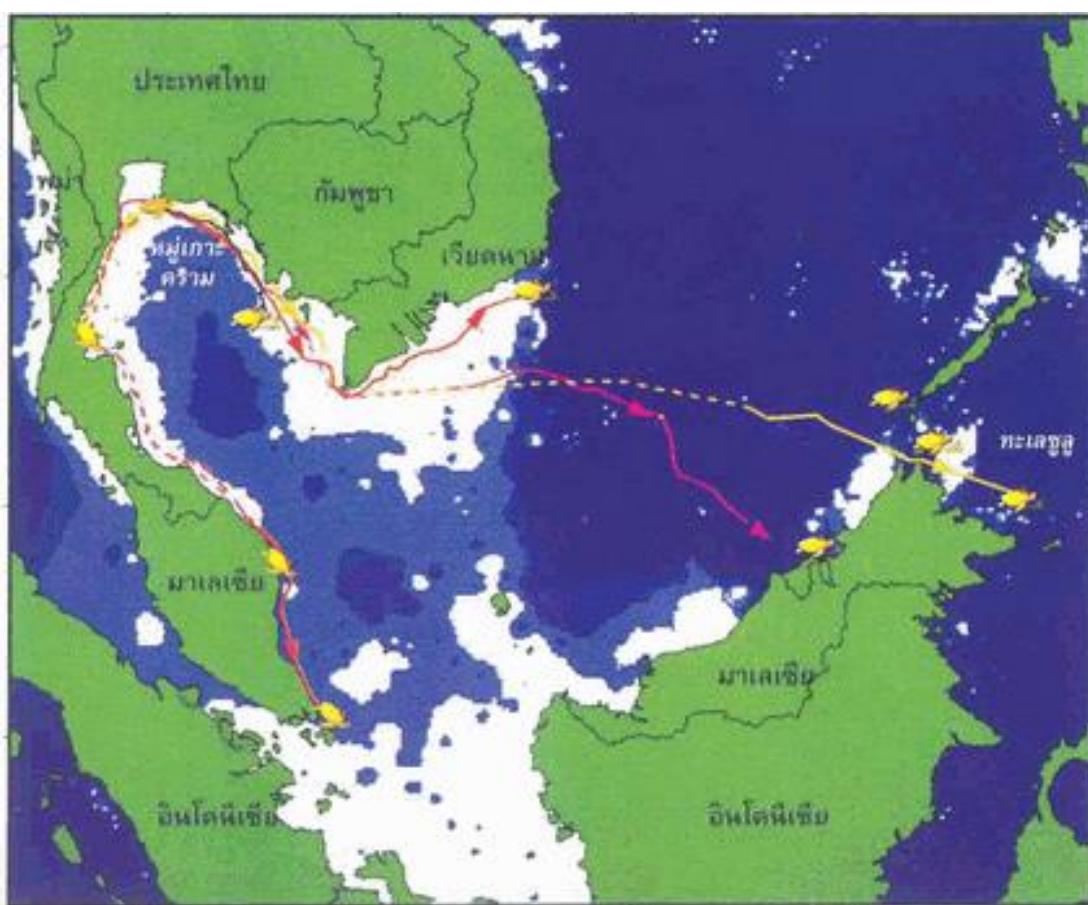
4) การเจริญพันธุ์

เต่าทะเลในธรรมชาติที่โตพอจะผสมพันธุ์ได้ ต้องใช้เวลาประมาณ 15 – 30 ปี ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความอุดมสมบูรณ์ของแหล่งอาหาร เช่น การเลี้ยงเต่าหญ้า *Lepidochelys olivacea* ในบ่อเลี้ยงของสถาบันวิจัยและพัฒนาทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง จังหวัดภูเก็ต ซึ่งได้รับอาหารอย่างสม่ำเสมอ จะพร้อมผสมพันธุ์เมื่ออายุประมาณ 6 – 7 ปี (สุพจน์ จันทราภรณ์ศิลป์, 2556) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Wood และ Fern ในปี 1998 (อ้างถึงใน สุพจน์ จันทราภรณ์ศิลป์, 2556) ที่ฟาร์มเต่าทะเล Grand Cayman พบว่า เต่าหญ้าแอตแลนติก *Lepidochelys kempii* เจริญเติบโตจนสามารถผสมพันธุ์ได้เมื่ออายุ 5 ปี และเต่าตนุ *Chelonia mydas* ในฟาร์มเลี้ยงสามารถโตจนผสมพันธุ์ได้เมื่ออายุ 15 ปี ทั้งนี้ แตกต่างจากการศึกษาของ Hamann ในปี 2003 (อ้างถึงใน สุพจน์ จันทราภรณ์ศิลป์, 2556) ซึ่งศึกษาการเจริญเติบโตของเต่าตนุในธรรมชาติพบว่า สามารถผสมพันธุ์ได้เมื่ออายุประมาณ 25 ปี และศึกษาการเจริญเติบโตของเต่าทะเลด้วยการติดเครื่องหมายในเต่าตนุที่ Great Barrier Reef ประเทศออสเตรเลีย พบว่า เต่าตนุมีอายุยืนยาวราว 55 – 60 ปี โดยมีช่วงอายุในการวางไข่ประมาณ 19 ปี และความพร้อมในการกลับมาวางไข่แต่ละครั้งของเต่าตนุใช้เวลาประมาณ 5 ปี กล่าวคือ โดยเฉลี่ย 5 ปี เต่าตนุวางไข่หนึ่งครั้ง

2.1.1.4 เส้นทางเคลื่อนที่และแหล่งอาหารของเต่าทะเลฝั่งอ่าวไทย

สุพจน์ จันทราภรณ์ศิลป์ (2554) รายงานว่า เต่าทะเลมีแหล่งที่อยู่อาศัย แหล่งหาอาหาร และแหล่งวางไข่ที่ประจำและแน่นอน จึงมีการเดินทางไปยังสถานที่ดังกล่าวตามเวลา และฤดูกาลเสมอ ซึ่งระยะทางใกล้หรือไกลขึ้นกับชนิดและขนาดตัวของเต่าทะเล ในประเทศไทย มีการศึกษาการเดินทางย้ายถิ่นของเต่าตนุทั้งในฝั่งทะเลอันดามันและอ่าวไทย โดยใช้เครื่องส่งสัญญาณดาวเทียมภายใต้ความร่วมมือกับมหาวิทยาลัยเกียวโต ประเทศญี่ปุ่น พบข้อมูลในเบื้องต้น คือ เต่าตนุของไทยมีการเดินทางไปยังแหล่งหาอาหารที่ห่างไกลนอกเขตน่านน้ำไทย กระจายไปหลายทิศทาง เช่น บางตัวเดินทางถึงประเทศฟิลิปปินส์ บางตัวเดินทางไปอยู่บริเวณเกาะรีดิง ประเทศมาเลเซีย หรือเดินทางไปอยู่ในเขตทะเลประเทศเวียดนาม

จากการศึกษาทะเลฝั่งอ่าวไทยและทะเลจีนใต้ ของระบบฐานข้อมูลกลาง และมาตรฐานข้อมูลทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง (2556) พบว่า แม่เต่าตนุส่วนใหญ่ที่วางไข่บริเวณ หมู่เกาะคราม จังหวัดชลบุรี ว่ายน้ำเป็นระยะทางถึง 2,500 กิโลเมตร ใช้เวลามากกว่า 30 วันเพื่อเดินทางกลับไปยังแหล่งหากินหลักบริเวณทะเลชูลู ซึ่งเป็นทะเลอาณาเขตของประเทศมาเลเซีย ฟิลิปปินส์ และอินโดนีเซีย นอกจากนี้ แม่เต่าบางส่วนยังมีแหล่งหากินในทะเลตอนใต้ของประเทศ กัมพูชา เวียดนาม และมาเลเซีย ดังการศึกษาเส้นทางการเคลื่อนที่ของเต่าทะเลในภาพที่ 2 - 5



ภาพที่ 2 - 5 เส้นทางการเคลื่อนที่ของเต่าตนุบริเวณทะเลอ่าวไทยและทะเลจีนใต้ (ระบบฐานข้อมูลกลางและมาตรฐานข้อมูลทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง, 2556)

2.1.1.5 ความสำคัญของเต่าทะเล

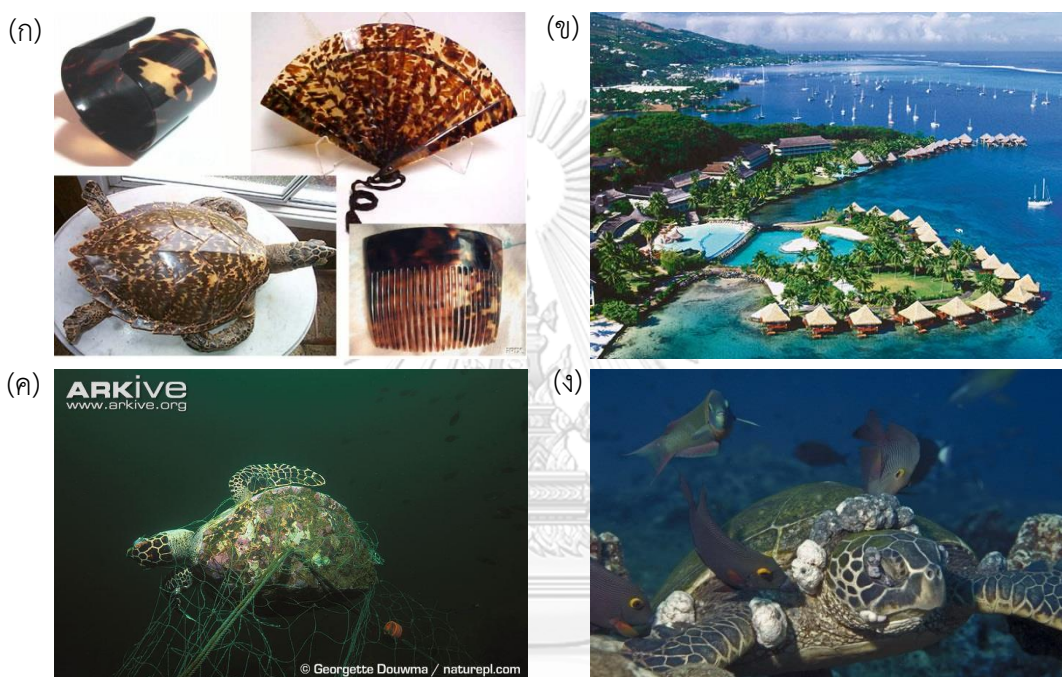
เต่าทะเลเป็นส่วนหนึ่งของห่วงโซ่อาหารในระบบนิเวศทะเลและระบบนิเวศชายฝั่ง สามารถใช้เป็นตัวบ่งบอกถึงความอุดมสมบูรณ์ของแนวปะการังและระบบนิเวศชายฝั่งได้ เมื่อ

เต่าทะเลอายุประมาณ 2 – 5 ปี จะเดินทางเข้ามาหาอาหารบริเวณชายฝั่ง เช่น สัตว์ที่มีขนาดเล็กตามแนวปะการัง ฟองน้ำ สาหร่าย ซึ่งช่วยควบคุมการแพร่ระบาดของพืชทางทะเล ช่วยเพิ่มอินทรีย์สารสู่ระบบนิเวศ การแทะกินอาหารของเต่าทะเลตามแนวปะการังช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของปะการังและเป็นอาหารของปลาขนาดเล็กที่อาศัยตามแนวหินโสโครก (ระบบฐานข้อมูลกลางและมาตรฐานข้อมูลทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง, 2556) นอกจากนี้ เต่าทะเลยังมีความสำคัญในระดับท้องถิ่นและระดับภูมิภาค เนื่องจากการศึกษาพฤติกรรมความเป็นอยู่ เส้นทางการเคลื่อนที่และแหล่งหาอาหารของเต่าทะเลด้วยเทคนิคเครื่องส่งสัญญาณดาวเทียม พบว่า เต่าทะเลมีขอบเขตแหล่งที่อยู่อาศัยและแหล่งหาอาหารในหลายประเทศ (สุพจน์ จันทราภรณ์ศิลป์, 2544 และ มิคมินทร์ จารุจินดา, 2545 อ้างถึงใน สุพจน์ จันทราภรณ์ศิลป์, 2556) ดังนั้น การศึกษาหรือการอนุรักษ์เต่าทะเลจึงต้องมีความร่วมมือระหว่างประเทศภูมิภาค และดำเนินการอนุรักษ์ให้เป็นไปในทิศทางเดียวกันจึงจะประสบผลสำเร็จได้

2.1.1.6 ภาวะคุกคามที่มีผลต่อแนวโน้มการลดลงของเต่าทะเล

กิจกรรมของมนุษย์ถือเป็นปัจจัยหลักที่คุกคามเต่าทะเล อันเป็นสาเหตุทำให้ประชากรเต่าทะเลลดจำนวนลงอย่างรวดเร็ว ในอดีตเต่าทะเลจำนวนมากถูกล่าเพื่อนำเนื้อและไขมาบริโภค ถูกล่าเพื่อนำกระดองและซากเต่ามาแปรรูปเป็นเครื่องประดับตกแต่ง (ภาพที่ 2 – 6ก) นำหนังของเต่าทะเลไปผลิตเป็นเครื่องหนังชนิดต่าง ๆ ไขมันของเต่าทะเลยังสามารถสกัดใช้เป็นส่วนผสมของสบู่ หรือน้ำหอมที่มีราคาได้ รวมถึงการอนุญาตสัมปทานไข่เต่าทะเลจนทำให้เต่าทะเลที่จะเจริญเติบโตไปเป็นพ่อพันธุ์แม่พันธุ์ลดลงอย่างรวดเร็ว นอกจากนี้ การก่อสร้างสิ่งปลูกสร้างต่าง ๆ ตามบริเวณชายหาด (ภาพที่ 2 – 6ข) ก่อให้เกิดกิจกรรมและแสงไฟบริเวณชายฝั่งซึ่งส่งผลกระทบต่อ การเข้าใจผิดของแม่เต่าที่ขึ้นมาวางไข่และมักมีผลต่ออัตราการตายของลูกเต่าแรกเกิด โดยการได้รับผลกระทบจากสารเคมีหรือสิ่งตกค้างในธรรมชาติ และการกินขยะทะเลหรือเครื่องมือประมงเข้าไปเป็นอีกสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เต่าทะเลได้รับผลกระทบต่อระบบทางเดินอาหารและอาจมีการสะสมสารพิษในร่างกายจนเป็นสาเหตุที่ทำให้เสียชีวิตได้ (Inter-American Convention for the Protection and Conservation of Sea Turtles, 2006) อีกทั้งการติดเครื่องมือประมง เช่น เบ็ด อวนลาก อวนลอย ก็ทำให้เกิดอาการบาดเจ็บหรือถึงแก่ความตายต่อเต่าทะเลได้ เนื่องจากเต่าทะเลเป็นสัตว์น้ำที่หายใจด้วยปอดต้องขึ้นมาหายใจบนผิวน้ำ ถ้าติดอวนหรือเบ็ดอยู่ใต้น้ำนาน ๆ ก็อาจจมน้ำตายได้ (ภาพที่ 2 – 6ค) (ระบบฐานข้อมูลกลางและมาตรฐานข้อมูลทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง, 2556) นอกจากนี้ ปัจจัย

ทางธรรมชาติต่าง ๆ ทั้งการถูกบริโภคโดยผู้ล่า เช่น พังพอน แรคคูน ปูแสม สัตว์เลื้อยคลานต่าง ๆ เป็นต้น การเกิดเนื้องอก (fibropapillomas) ที่ส่งผลกระทบต่อกรว่ายน้ำ การหาอาหาร และการหลบหนีจากผู้ล่า (ภาพที่ 2 – 6) รวมถึงปัจจัยด้าน การเปลี่ยนแปลงภูมิอากาศ (climate change) การเกิดพายุ คลื่นสึนามิ ก็ส่งผลกระทบต่อกรลดลงของเต่าทะเลเช่นกัน (National Marine Fisheries Service and U.S. Fish and Wildlife Service, 2013)

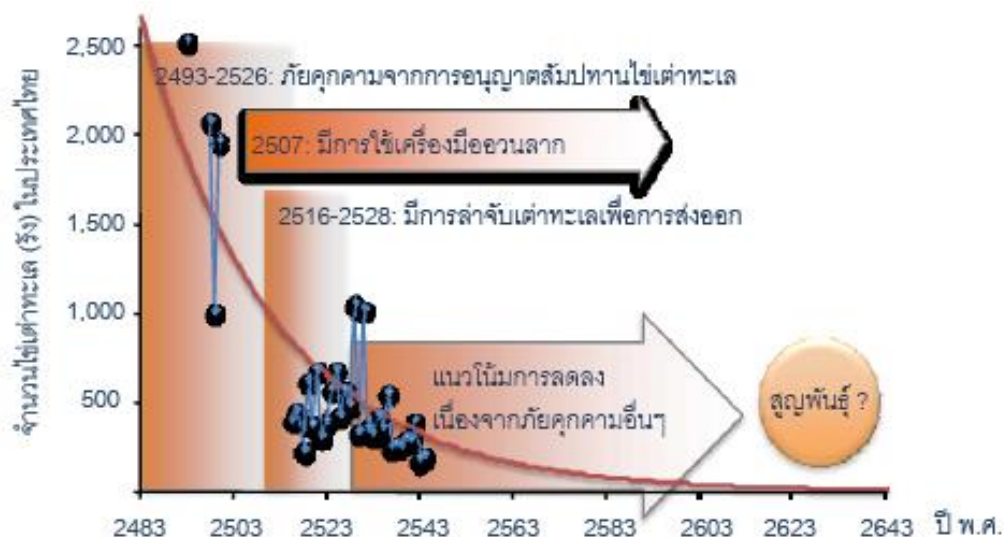


ภาพที่ 2 - 6 ภาวะคุกคามที่ส่งผลกระทบต่อเต่าทะเล

- (ก) สินค้าเครื่องประดับแปรรูปจากกระดองเต่าทะเล (Sea Turtle Conservancy, 2017)
 (ข) สิ่งก่อสร้างบริเวณแหล่งวางไข่และแหล่งหาอาหารของเต่าทะเล (OKnation, 2555)
 (ค) การติดเครื่องมือประมงซึ่งอาจทำให้เต่าทะเลเสียชีวิตได้ (Douwma, 2002)
 (ง) การเกิดเนื้องอก (fibropapillomas) ของเต่าทะเล (Bennett and Bennett, 1992)

ประชากรเต่าทะเลทั่วโลกมีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่อง ส่วนใหญ่เกิดจากการบุกรุกพื้นที่บริเวณทะเลและกิจกรรมบริเวณชายฝั่งของมนุษย์ รวมถึงการกีดเซาะบริเวณชายฝั่งที่ชายฝั่ง ทำให้แหล่งวางไข่ แหล่งที่อยู่อาศัย และแหล่งหาอาหารของเต่าทะเลลดลง นอกจากนี้สภาพแวดล้อมที่เสื่อมโทรมยังส่งผลกระทบต่อประชากรเต่าทะเลอ่อนแอและมีจำนวนลดลง แม้แต่

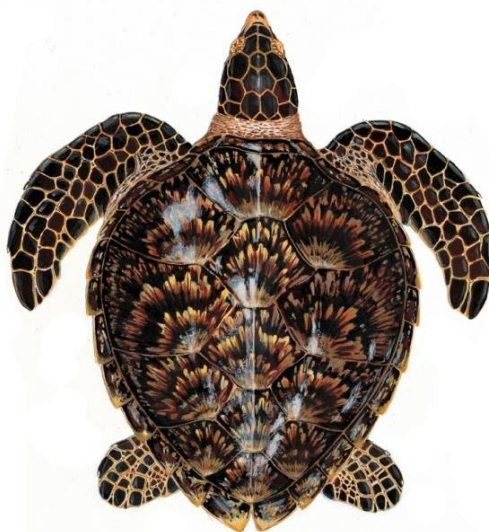
ทะเลในประเทศไทยจะมีกฎหมายคุ้มครอง แต่สถิติการลดลงยังคงเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง หากแนวโน้มการลดลงของเต่าทะเลยังคงเพิ่มขึ้น สิ่งมีชีวิตชนิดนี้อาจจะสูญพันธุ์ได้ในไม่ช้า (ภาพที่ 2 - 7)



ภาพที่ 2 - 7 แนวโน้มการลดลงของเต่าทะเล (ระบอบฐานข้อมูลกลางและมาตรฐานข้อมูลทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง, 2556)

2.1.2 เต่ากระ *Eretmochelys imbricata* หรือ Hawksbill turtle

เต่ากระมีลักษณะจะงอยปากค่อนข้างแหลมจุ่มคล้ายปากเหยี่ยว มีเกล็ดบนส่วนหัวตอนหน้า (prefrontal scute) 2 คู่ เกล็ดบนหลังแถวข้าง (costal scute) มีจำนวนข้างละ 4 เกล็ด ดังภาพที่ 2 - 8 เกล็ดอันแรกไม่ชิดกับเกล็ดขอบคอ (nuchal scute) ลักษณะเด่นของเต่ากระ คือ เกล็ดบนกระดองมีลวดลายสวยงาม และลักษณะเกล็ดซ้อนกันเห็นได้ชัดเจน เมื่อโตเต็มที่มีความยาวกระดองประมาณ 100 เซนติเมตร น้ำหนักประมาณ 120 กิโลกรัม ขนาดตัวที่สามารถแพร่พันธุ์ได้ประมาณ 70 เซนติเมตร โดยเต่ากระมีแหล่งหาอาหารตามแนวปะการังชายฝั่งน้ำตื้น กินสัตว์จำพวกฟองน้ำ หอย สัตว์ขนาดเล็กและพวกสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังต่าง ๆ (สุพจน์ จันทราภรณ์ศิลป์, 2556)



ภาพที่ 2 - 8 เต่ากระ *Eretmochelys imbricata* (กลไกการเผยแพร่ข้อมูลข่าวสารความหลากหลายทางชีวภาพ, 2550)

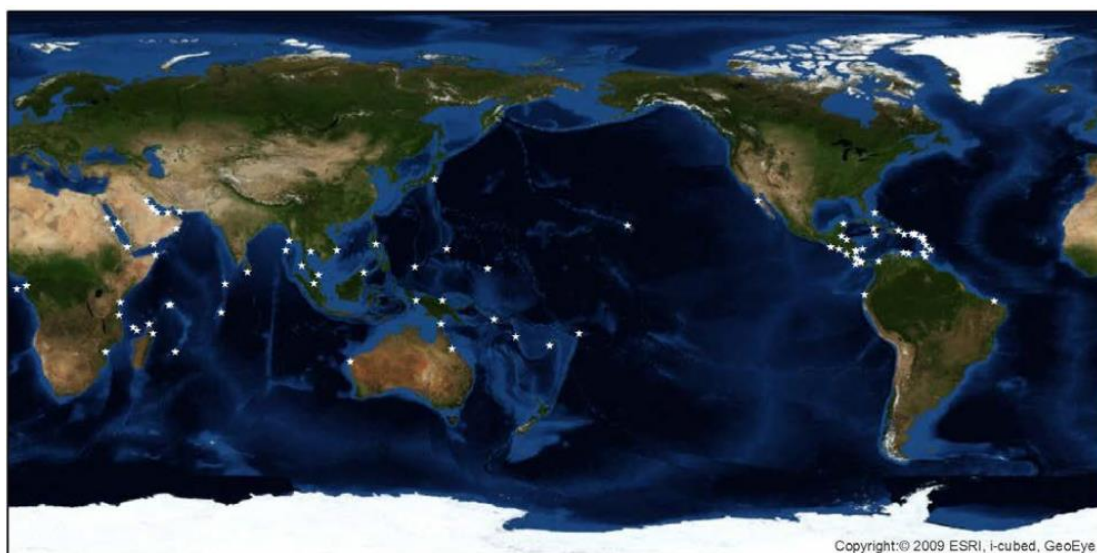
2.1.2.1 การกระจายตัวของเต่ากระ

การกระจายตัวของเต่ากระมีอาณาเขตกว้างขวาง พบเฉพาะในเขตร้อนและเขตอบอุ่นที่มีอุณหภูมิสูงกว่า 19 องศาเซลเซียส การเคลื่อนที่หาอาหารยังไม่เป็นที่แน่ชัด แต่เชื่อว่าอาศัยอยู่ตามแนวหินปะการังกว่า 108 ประเทศในแถบมหาสมุทรอินเดีย แปซิฟิกและแอตแลนติก พบมากบริเวณแนวปะการัง บริเวณน้ำตื้นใกล้ชายฝั่ง ทะเลสาบน้ำเค็ม หมู่เกาะกลางมหาสมุทรและช่องแคบต่าง ๆ โดยเชื่อว่าแหล่งประชากรที่ใหญ่ที่สุดอาศัยอยู่แถบบริเวณทะเลแคริบเบียน สาธารณรัฐเซเชลส์ในมหาสมุทรอินเดีย และประเทศออสเตรเลีย (National Marine Fisheries Service and U.S. Fish and Wildlife Service, 2013)

2.1.2.2 แหล่งวางไข่ของเต่ากระ

National Marine Fisheries Service และ U.S. Fish and Wildlife Service (2013) ศึกษาแหล่งวางไข่ของเต่ากระทั่วโลกจากการรวบรวมข้อมูลการศึกษาเกี่ยวกับเต่ากระในประเทศต่าง ๆ พบว่ามีพื้นที่การวางไข่กระจายตัวอยู่ตามบริเวณหมู่เกาะและบริเวณชายหาดของแผ่นดินใหญ่มากกว่าเต่าทะเลชนิดอื่น โดยพื้นที่ที่พบการวางไข่ขึ้นวางไข่อย่างหนาแน่น ได้แก่ เกาะ Dimaniyat ประเทศโอมาน เกาะ Milman ประเทศออสเตรเลีย Australia Yucatan Peninsula ประเทศเม็กซิโก และบริเวณพื้นที่อนุรักษ์อย่างหมู่เกาะเซเชลส์ ทั้งนี้ กลับพบจำนวนการ

ขึ้นวางไข่ของเต่ากระน้อยมากหรือพบจำนวนเต่ากระเพศเมียน้อยกว่า 10 ตัวต่อปีในหลายพื้นที่ เช่น สาธารณรัฐคอสตาริกา สาธารณรัฐฮอนดูรัส เคนยา ศรีลังกา พม่า ไทย มาเลเซีย ญี่ปุ่น เป็นต้น (ดังภาพที่ 2 - 9)



ภาพที่ 2 - 9 แหล่งวางไข่ของเต่ากระในพื้นที่ต่าง ๆ ของโลก แสดงด้วยสัญลักษณ์รูปดาว ★
(National Marine Fisheries Service and U.S. Fish and Wildlife Service, 2013)

จากรายงานการเก็บข้อมูลสำรวจแหล่งวางไข่ของเต่ากระทั่วโลกของ National Marine Fisheries Service and U.S. Fish and Wildlife Service (2013) พบว่า บริเวณน่านน้ำประเทศไทยทั้งฝั่งทะเลอันดามันและอ่าวไทย มีการขึ้นทำรังวางไข่ของเต่ากระ แต่มีจำนวนน้อยมากและมีแนวโน้มที่ลดลง ดังตารางที่ 2 - 1

ตารางที่ 2 - 1 แหล่งวางไข่ของเต่ากระบริเวณมหาสมุทรอินเดียและมหาสมุทรแปซิฟิก (ดัดแปลงข้อมูลจาก National Marine Fisheries Service and U.S. Fish and Wildlife Service, 2013)

พื้นที่	ปี ค.ศ.	จำนวนเต่าเพศเมียที่ขึ้นวางไข่ต่อฤดูกาล	สถานการณ์ปัจจุบัน ⁽¹⁾	แนวโน้มในอดีต ⁽²⁾
Indian ocean: Central and Eastern				
Thailand (Andaman Sea)	2006	< 10	▼	▼
Pacific ocean: Western				
Thailand (Gulf of Thailand)	1990-2005	~20	▼	▼

หมายเหตุ: แนวโน้มข้อมูลประชากรของเต่ากระ (Mortimer and Donnelly, 2008) แบ่งออกเป็น

(1) ช่วงเวลา 20 ปีที่ผ่านมา ประมาณปี ค.ศ. 1992-2012

(2) ช่วงเวลา >20-100 ปี

สัญลักษณ์ ▼ คือ ประชากรลดลง

ในอดีต ประเทศไทยพบแหล่งวางไข่ของเต่ากระบริเวณชายหาดเกาะต่าง ๆ ของจังหวัดชลบุรี จังหวัดตราด จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ เกาะกระ จังหวัดนครศรีธรรมราช ชายหาดจังหวัดปัตตานี และจังหวัดนราธิวาส (ระบบฐานข้อมูลกลางและมาตรฐานข้อมูลทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง, 2556) แต่ปัจจุบันสถิติการวางไข่ของเต่ากระลดลงกว่าในอดีตมาก เนื่องจากปัญหาการล่าเต่าเพื่อการค้า การลักลอบเก็บไข่เต่าและการติดเครื่องมือประมง (สุพจน์ จันทราภรณ์ศิลป์, 2556) จึงทำให้จำนวนแม่เต่าทะเลที่ขึ้นวางไข่ลดจำนวนลงเรื่อย ๆ ดังตารางที่ 2 - 2

ตารางที่ 2 - 2 จำนวนหลุมไข่เต่าทะเลแต่ละชนิด บริเวณฝั่งทะเลอันดามันและฝั่งอ่าวไทย ระหว่างปี พ.ศ. 2528 – 2548 (สุพจน์ จันทร์ภรณ์ศิลป์, 2556)

ปี	ฝั่งทะเลอันดามัน			ฝั่งอ่าวไทย	
	เต่าหญ้า	เต่ามะเฟือง	เต่าตนุ	เต่าตนุ	เต่ากระ
2528	360*		no data	390	119
2529	235*		no data	933	123
2530	255*		no data	251	90
2531	192*		no data	904	126
2532	87*		no data	289	69
2533	92*		no data	259	69
2534	88*		no data	411	27
2535	no data		no data	295	64
2536	123*		no data	478	78
2537	58*		no data	215	39
2538	36*		12	255	51
2539	13	17	44	223	42
2540	14	3	68	257	50
2541	11	31	32	235	64
2542	16	7	39	292	99
2543	11	13	46	162	47
2544	5	14	80	140	43
2545	6	4	64	114	65
2546	3	0	67	98	44
2547	3	18	82	118	58
2548	NA	4	40	75	70

หมายเหตุ: สัญลักษณ์ * หมายถึง เก็บตัวอย่างข้อมูลเต่าหญ้าและเต่ามะเฟืองรวมกัน

สัญลักษณ์ NA หมายถึง ไม่มีข้อมูลข้อมูลเต่าหญ้า เนื่องจากเกิดภัยพิบัติสึนามิ

จากการสำรวจพื้นที่ของระบบฐานข้อมูลกลางและมาตรฐานข้อมูลทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง (2556) บริเวณฝั่งอ่าวไทยบริเวณเกาะคราม จังหวัดชลบุรี พบแม่เต่าตนุและเต่ากระในแต่ละปี ประมาณ 550 ตัว โดยบางตัวกลับมาวางไข่ในบริเวณชายหาดเดิมได้ถึง 5 ครั้งในฤดูวางไข่ปีเดียวกันและมีระยะเวลาวางไข่แต่ละครั้งห่างกันประมาณ 10 - 12 วัน ในปี พ.ศ. 2550

พบแม่เต่าทะเลที่สมบูรณ์เพศจำนวน 400 ตัว ซึ่งมีแหล่งวางไข่บริเวณเกาะคราม จังหวัดชลบุรี โดยเต่าทะเลกลุ่มเด่นคือ เต่าตนุ รองลงมาคือ เต่ากระ และในปี พ.ศ. 2552 พบเต่าทะเลขึ้นมาวางไข่ฝั่งอ่าวไทยจำนวน 387 รัง โดยพบแหล่งวางไข่เต่าทะเลเพิ่มเติมจากที่บันทึกไว้ คือ บริเวณจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ชุมพร และสุราษฎร์ธานี ดังตารางที่ 2 - 3 และไม่มีรายงานการพบเต่าหญ้าและเต่ามะเฟืองในอ่าวไทย

ตารางที่ 2 - 3 จำนวนรังไข่เต่าทะเลบริเวณฝั่งอ่าวไทยในปี พ.ศ. 2552 (ระบบฐานข้อมูลกลางและมาตรฐานข้อมูลทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง, 2556)

จังหวัด	พื้นที่วางไข่	จำนวนรังไข่เต่า				
		เต่าตนุ	เต่ากระ	เต่ามะเฟือง	เต่าหญ้า	รวม
ชลบุรี	เกาะคราม	188	125	-	-	313
ประจวบคีรีขันธ์	เกาะทะลุ	-	4	-	-	4
	หาดแหลมกุ่ม อ.ทับสะแก	1	-	-	-	1
ชุมพร	อ่าวท้องทราย อ.หลังสวน	-	1	-	-	1
สุราษฎร์ธานี	เกาะเต่า	5	-	-	-	5
นครศรีธรรมราช	เกาะกระ	38	25	-	-	63
รวม		232	155	0	0	387

CHULALONGKORN UNIVERSITY

สำหรับปี พ.ศ. 2553 มีรายงานการสำรวจพบเต่าตนุและเต่ากระ บริเวณอ่าวนาจอมเทียน อ่าวบางละมุง เกาะคราม อ่าวบางเสร่ และอ่าวแสมสาร จังหวัดชลบุรี โดยบริเวณเกาะคราม จังหวัดชลบุรี พบแม่เต่าทะเลขึ้นมาวางไข่จำนวน 10 ตัว (ระบบฐานข้อมูลกลางและมาตรฐานข้อมูลทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง, 2556) และจากการบันทึกข้อมูลของมูลนิธิฟื้นฟูทรัพยากรทะเลสยาม และเกาะทะลุ ไอส์แลนด์ รีสอร์ท พบแม่เต่ากระขึ้นวางไข่อย่างต่อเนื่องที่เกาะทะลุ จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ โดยในระยะแรกยังไม่ได้มีการจดบันทึกข้อมูล ต่อมาในฤดูวางไข่ปี พ.ศ. 2553 ได้รับความร่วมมือจากหน่วยบัญชาการสงครามพิเศษทางเรือ กองเรือยุทธการ กองทัพเรือ ช่วยพัฒนาแนวทางในการเพาะฟักโดยอาศัยประสบการณ์จากการศึกษาวิจัยในเต่าตนุมาอย่างต่อเนื่อง (วินัย

กลุ่มอินทร์, 2545) ทั้งการจดบันทึกข้อมูลแม่เต่า (ตารางที่ 2 - 4) การย้ายไข่เต่าจากหาดทรายที่วางไข่ไปเพาะฟักยังหาดทรายกึ่งธรรมชาติ การอนุบาล และการปล่อยคืนสู่ธรรมชาติ

ตารางที่ 2 - 4 การวางไข่ของเต่ากระบนหาดทรายเกาะทะลุ จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ในช่วง พ.ศ. 2553 - 2560 (รวบรวมโดยมูลนิธิฟื้นฟูทรัพยากรทะเลสยาม และเกาะทะลุ ไรส์แลนด์ รีสอร์ท)

ปี (พ.ศ.)	ชื่อแม่เต่า	จำนวนรัง	อัตราการวางไข่ โดยเฉลี่ย (รัง)	จำนวนไข่ (ฟอง)	หมายเหตุ
2553	N/A	11	-	1,608	
2554	แม่เพรียง	2	2.00	250	
	N/A	12	-	1,616	
2555	แม่นกแก้ว	5	4.25	601	
	แม่เพรียง	4		605	
	แม่ศรีประจวบ	5		705	
	แม่ศรีบางสะพาน	3		310	
2556	แม่นกแก้ว	2	3.00	318	
	แม่เพรียง	4		651	
2557	แม่ศรีประจวบ	7	7.00	1,066	
2558	แม่ศรีสยาม	6	5.67	768	
	แม่ศรีจันทร์	5		673	
	แม่ศรีประจวบ	6		925	
	N/A	9		-	1,235
2559	แม่เพรียง	6	6.00	592	ไม่ได้ย้ายไข่ 1 รัง
	N/A	4	-	665	
2560	แม่ศรีสยาม	5	2.50	715	
	แม่ศรีประจวบ	3		388	
	แม่ศรีประจวบ	1		140	
	แม่นกแก้ว	1		-	ไม่ได้ย้ายไข่
	N/A	10	-	1,185	ไม่ได้ย้ายไข่ 2 รัง
เฉลี่ย/ปี		13.88	4.35	1,877	

หมายเหตุ: N/A ไม่มีข้อมูล

2.1.2.3 สถานภาพเต่ากระ

สหภาพนานาชาติเพื่อการอนุรักษ์ธรรมชาติ (The International Union for Conservation of Nature: IUCN) ได้ออกบัญชีแดง (IUCN red list of threatened species หรือ IUCN red list หรือ red data list) เพื่อระบุสถานภาพทางการอนุรักษ์ของพืชและสัตว์ในโลก โดยมีเกณฑ์การประเมิน (criteria) ที่วางไว้อย่างจำเพาะเจาะจงในการประเมินระดับความเสี่ยงของสปีชีส์และสปีชีส์ย่อยเป็นจำนวนมาก และเผยแพร่ข้อมูลอันเร่งด่วนเกี่ยวกับความจำเป็นในการอนุรักษ์แก่สาธารณชนและผู้มีอำนาจในการวางนโยบาย รวมทั้งช่วยเหลือประชาคมนานาชาติในการพยายามลดจำนวนการสูญพันธุ์ของสปีชีส์ตามที่ระบุในดัชนี โดยบัญชีแดงของสหภาพเพื่อการอนุรักษ์ธรรมชาติ ฉบับล่าสุดเมื่อวันที่ 6 ตุลาคม พ.ศ. 2551 ได้ประกาศให้เต่ากระ (*Hawksbill turtle*) *Eretmochelys imbricata* เป็นสิ่งมีชีวิตที่มีความเสี่ยงขั้นวิกฤติต่อการสูญพันธุ์ (critically endangered species: CR) มีระดับความเสี่ยงขั้นอันตรายต่อการสูญพันธุ์จากที่อาศัยตามธรรมชาติ ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2539 เป็นต้นมา โดยมีเกณฑ์พิจารณาการจัดเต่ากระเข้าในบัญชีดังกล่าวด้วยข้อกำหนด ดังนี้ (A2bd; ภาคผนวก ก - 1)

- ขนาดประชากรลดลง (เกณฑ์ A) โดยพิจารณาจาก:
 - ข้อมูลจากการสังเกต การประมาณ การอนุमान หรือการคาดการณ์ที่แสดงการลดลงของขนาดประชากรมากกว่าหรือเท่ากับ 80% ในช่วง 10 ปีหรือช่วงเวลา 3 รุ่นประชากร (เกณฑ์ A2) เมื่อพิจารณาจาก:
 - ดัชนีความอุดมสมบูรณ์ที่เหมาะสมกับสิ่งมีชีวิตแต่ละกลุ่ม (เกณฑ์ A2b)
 - ระดับการคุกคามที่เกิดขึ้นหรือที่เป็นไปได้ (เกณฑ์ A2d)

โดยสาเหตุที่ทำให้ลดลงอาจจะยังไม่สิ้นสุด หรือยังไม่ชัดเจน หรือยังไม่สามารถแก้ไขได้
หมายเหตุ การประเมิน สังเกตจากจำนวนเต่าเพศเมียในวัยเจริญพันธุ์ (International Union for Conservation of Nature, 2012) โดยเฉพาะการเปลี่ยนแปลงจำนวนการวางไข่ของเต่าเพศเมีย

ด้านอนุสัญญาว่าด้วยการค้าระหว่างประเทศชนิดสัตว์ป่าและพืชป่าที่ใกล้สูญพันธุ์ (Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora: CITES) ซึ่งมีเป้าหมายในการอนุรักษ์ทรัพยากรสัตว์ป่าและพืชที่ใกล้จะสูญพันธุ์หรือถูกคุกคามจนอาจเป็นเหตุให้สูญพันธุ์ โดยใช้วิธีการสร้างเครือข่ายทั่วโลกในการควบคุมการค้าระหว่างประเทศ

(international trade) ทั้งสัตว์ป่า พืชป่า และผลิตภัณฑ์ ได้ประกาศให้เต่ากระ *Eretmochelys imbricata* เป็นสัตว์ที่ระบุไว้ในบัญชีหมายเลข 1 (Appendix I) คือ เป็นชนิดพันธุ์ของสัตว์ป่าและพืชป่าที่ห้ามค้าโดยเด็ดขาด เนื่องจากใกล้จะสูญพันธุ์ ยกเว้นเพื่อการศึกษา วิจัยหรือเพาะพันธุ์ ซึ่งต้องได้รับคำยินยอมจากประเทศที่จะนำเข้าเสียก่อน ประเทศส่งออกจึงจะออกใบอนุญาตส่งออกได้ ทั้งนี้ ต้องคำนึงถึงความอยู่รอดของชนิดพันธุ์นั้น ๆ ด้วย รวมถึงมีการรณรงค์ให้ใช้เครื่องมือแยกเต่าออกจากอวนลาก (turtle exclusive device: TED) อีกด้วย (CITES, 2013)

ในประเทศไทย เต่ากระ *Eretmochelys imbricata* ถูกจัดเป็นสัตว์ป่าคุ้มครองประเภทที่ 1 ตามพระราชบัญญัติสงวนและคุ้มครองสัตว์ป่า พุทธศักราช 2535 กล่าวคือ สัตว์ป่าซึ่งคนไม่ใช่เนื้อเป็นอาหาร ไม่ล่าเพื่อการค้า เป็นสัตว์ที่ทำลายศัตรูพืชหรือขจัดสิ่งปฏิกูล หรือเป็นสัตว์ป่าที่ควรสงวนไว้เพื่อประดับความงามตามธรรมชาติ หรือสงวนไว้เพื่อมิให้ลดจำนวนลงตามระบุในกฎกระทรวง โดยสัตว์ป่า คุ้มครองประเภทที่ 1 ห้ามไม่ให้ล่าด้วยวิธีทำให้ตาย เว้นแต่จะทำการศึกษาวินิจฉัยทางวิชาการ (พระราชบัญญัติสงวนและคุ้มครองสัตว์ป่า, 2535)

2.1.3 การศึกษาพันธุศาสตร์ระดับโมเลกุล (molecular genetics)

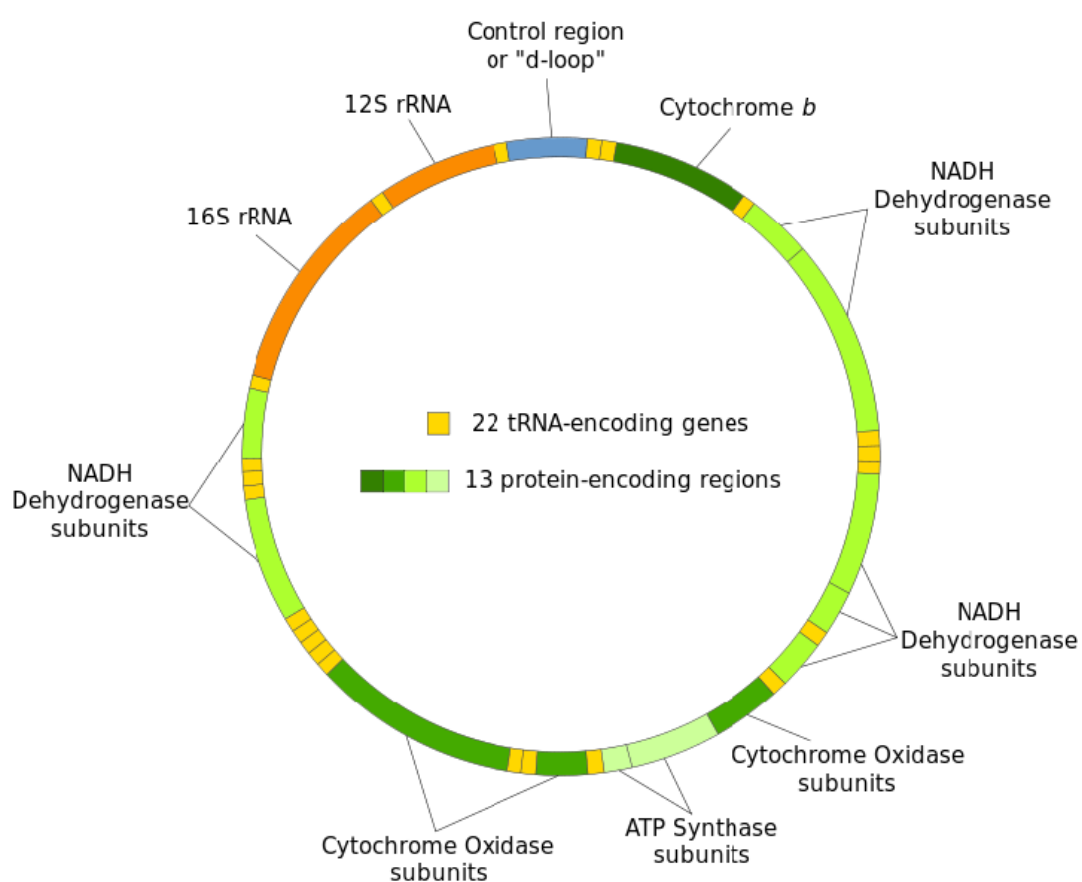
สารพันธุกรรมที่ปรากฏในรุ่นลูก สามารถใช้ศึกษาหารูปแบบพันธุกรรมที่ได้รับมาจากพ่อแม่ได้ จึงสามารถนำไปใช้บ่งบอกความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมในสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดได้ โดยการศึกษาทางด้านนิเวศวิทยาโมเลกุล (molecular ecology) จะต้องใช้ข้อมูลของสารพันธุกรรมเป็นจำนวนมากเพื่อศึกษาหาความสัมพันธ์ที่ส่งต่อกันรุ่นสู่รุ่น และเมื่อเข้าใจรูปแบบการส่งต่อสารพันธุกรรมแบบต่าง ๆ จะช่วยให้สามารถทำนายขอบเขตของดีเอ็นเอที่เกิดการเปลี่ยนแปลงไปจากสภาพแวดล้อมที่ต่างกันหรือการวิวัฒนาการที่เกิดขึ้นในแต่ละยุคได้ (Freeland et al., 2011)

2.1.3.1 การศึกษาไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ (mitochondrial DNA)

สิ่งมีชีวิตที่สืบพันธุ์แบบอาศัยเพศจะส่งต่อสารพันธุกรรมจากแม่และพ่ออย่างละครึ่งหนึ่งไปสู่รุ่นลูก เช่น ในมนุษย์ nuclear genome ของลูกจะได้รับสารพันธุกรรมจากแม่ 1 คู่ และจากพ่อ 1 คู่ เรียกว่า biparental inheritance อย่างไรก็ตาม มีสารพันธุกรรมบางชนิดที่จะสืบทอดจากแม่หรือพ่อเพียงฝ่ายเดียว (uniparentally inherited) ได้แก่ ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ (mitochondria DNA: mtDNA) และ plastids ซึ่งสารพันธุกรรมทั้ง 2 ชนิดนี้พบบริเวณนอก

นิวเคลียสโดย mtDNA สามารถพบได้ทั้งในพืชและในสัตว์ แต่ plastids พบเฉพาะในพืชเท่านั้น (Freeland et al., 2011)

ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ คือ ดีเอ็นเอที่อยู่ในไมโทคอนเดรีย โดยใน mtDNA ของสัตว์ประกอบด้วย 13 protein-coding genes 22 transfer RNAs และ 2 ribosomal RNAs (สุทัศน์ ดวงจิตร, 2554) ดังภาพที่ 2 - 10 ซึ่งแต่ละตำแหน่งมีการจำลองและการถอดรหัสสารพันธุกรรมที่มีเอกลักษณ์เฉพาะตัวแตกต่างกันไป



ภาพที่ 2 - 10 ตำแหน่งของยีนต่าง ๆ ในไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอของสัตว์ (สุทัศน์ ดวงจิตร, 2554)

คุณสมบัติของ mtDNA ที่แตกต่างจากนิวเคลียร์ดีเอ็นเอ คือ มีปริมาณมาก สามารถพบได้ทั่วไปในเซลล์ และสารพันธุกรรมของ mtDNA ได้รับการถ่ายทอดมาจากแม่เท่านั้น คุณสมบัตินี้ทำให้สามารถนำมาใช้ตรวจสอบการสืบทอดทางพันธุกรรมจากแม่ได้เป็นอย่างดี

นอกจากนี้ ยังนิยมใช้ mtDNA ในการศึกษาพันธุศาสตร์ประชากร (population genetics) ด้วย เหตุผลดังต่อไปนี้ (Freeland et al., 2011)

- 1) mtDNA สามารถทำงานสะดวก มีขนาดเล็ก รูปแบบการจัดเรียงตัวมีลักษณะเฉพาะในแต่ละยีน ซึ่งสามารถใช้คู่ primer ที่เป็นสากล (universal primers) ตรวจสอบได้อย่างหลากหลายทั้งใน สัตว์ที่มีกระดูกสันหลังและไม่มีกระดูกสันหลัง
- 2) แม้การเรียงตัวของยีนจะมีลักษณะเฉพาะ แต่ mtDNA มีอัตราการกลายพันธุ์ค่อนข้างสูง เช่น ใน สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมมีอัตราการกลายพันธุ์ของ mtDNA ประมาณ 5.7×10^{-8} เบสต่อตำแหน่งต่อปี หรือประมาณ 10 เท่าของการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นบริเวณ protein-coding nuclear genes ซึ่งสาเหตุการกลายพันธุ์ของ mtDNA อาจเกิดจากสาเหตุในกระบวนการหายใจหรือกลไกการซ่อมแซมในนิวเคลียร์ดีเอ็นเอซึ่งอัตราการกลายพันธุ์ที่ค่อนข้างสูงใน mtDNA นี้แสดงให้เห็นถึง ภาวะพหุสัณฐาน (polymorphism) ในสิ่งมีชีวิต ซึ่งเหมาะสมต่อการใช้ศึกษาหาความหลากหลายทางพันธุศาสตร์ของประชากร
- 3) mtDNA ไม่มีการสร้างรูปแบบใหม่ของยีน (non recombination) หมายความว่า ไมโทคอนเดรียลจีโนมในรุ่นลูกจะมีลักษณะเหมือนแม่ทุกประการ ยกเว้นเกิดการกลายพันธุ์ (mutation) ดังนั้น การระบุตัวตนด้วยยีนบนไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอจะมีความแม่นยำกว่าการใช้ยีนบน นิวเคลียร์ดีเอ็นเอ นอกจากนี้ mtDNA นิยมนำมาใช้ศึกษาด้านสายวิวัฒนาการเชิงภูมิศาสตร์ (phylogeography) เพื่อใช้บ่งบอกช่วงเวลาหรือระยะห่างที่เกิดการเปลี่ยนแปลงของประชากร ได้
- 4) mtDNA มีโครโมโซม (chromosome) ชุดเดียว (n) เรียกว่า แฮพลอยด์ (haploid) ซึ่งเป็นสารพันธุกรรมที่ได้รับสืบทอดจากแม่โดยตรง มีจำนวน 1 ใน 4 ของนิวเคลียร์ดีเอ็นเอเนื่องจากจำนวนซ้ำของ mtDNA ค่อนข้างน้อยจึงไวต่อการเปลี่ยนแปลงสถิติประชากร (demographic) หรือเรียกว่า การเกิดปรากฏการณ์คอขวด (bottleneck) ซึ่งปรากฏการณ์นี้จะเกิดขึ้นเมื่อขนาดประชากรลดลงอย่างรวดเร็วในช่วงเวลาหนึ่ง เช่น การเกิดโรคระบาด หรือปรากฏการณ์ธรรมชาติร้ายแรง เมื่อขนาดประชากรฟื้นคืนสู่สภาพปกติ จะคงเหลือรูปแบบความหลากหลายทางพันธุกรรมของ mtDNA น้อยเมื่อเทียบกับรูปแบบของสารพันธุกรรมในนิวเคลียร์ดีเอ็นเอ

2.1.3.2 การศึกษานิวเคลียร์ดีเอ็นเอ (nuclear DNA)

การเพิ่มประสิทธิภาพในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมวิธีหนึ่งคือ การใช้เครื่องหมายโมเลกุลหรือเครื่องหมายทางดีเอ็นเอ (molecular marker or DNA marker) โดยเลือกใช้ดีเอ็นเอที่มีลำดับเบสช่วงหนึ่งเป็นเครื่องหมายบ่งชี้ความเป็นเอกลักษณ์ของสิ่งมีชีวิต ซึ่งอาจมีตำแหน่งอยู่บนโครโมโซม (locus) หรือในนิวเคลียส และสามารถถ่ายทอดไปยังรุ่นลูกได้ โดยสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดมีการจัดเรียงตัวของลำดับเบสในดีเอ็นเอที่มีลักษณะจำเพาะและเป็นเอกลักษณ์เฉพาะตัว ทำให้นำมาใช้แยกความแตกต่างของสิ่งมีชีวิตและประยุกต์เป็นเครื่องหมายทางโมเลกุลได้ โดยการเลือกใช้ลำดับเบสในดีเอ็นเอเป็นเครื่องหมายบ่งบอกความแตกต่างของสิ่งมีชีวิตสามารถทำได้ โดยการเปรียบเทียบลักษณะของดีเอ็นเอในสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ ด้วยเทคนิคทางชีววิทยาโมเลกุลซึ่งเป็นที่รู้จักกันโดยทั่วไปว่า ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (DNA fingerprint) สามารถนำมาตรวจสอบความแตกต่างของสิ่งมีชีวิตหรือลักษณะภาวะพหุสัญญาณของสิ่งมีชีวิตที่ต้องการตรวจสอบได้ (สุริพร เกตุงาม, 2546)

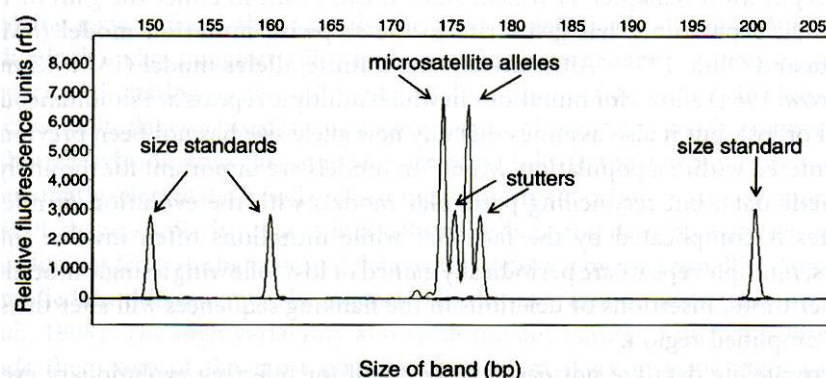
เครื่องหมายทางโมเลกุลแบ่งออกเป็น 2 ประเภท ดังนี้ (Freeland et al., 2011)

- 1) dominant marker เช่น AFLP (amplified fragment length polymorphism) ข้อมูลจะปรากฏและไม่ปรากฏแถบ DNA ซึ่งเครื่องหมายชนิดนี้ไม่สามารถแยกสิ่งมีชีวิตที่มีรูปแบบพันธุกรรมเป็นโฮโมไซโกต (homozygote) และ เฮเทอโรไซโกต (heterozygote) ได้ แต่จะสะดวกและใช้เวลาน้อยกว่า co-dominant marker
- 2) co-dominant marker เช่น ไมโครแซทเทลไลต์ (microsatellite) ใช้ระบุลำดับเบสทุกรูปแบบที่เกิดขึ้นบนโครโมโซม โดยจะแสดงแถบดีเอ็นเอที่มีขนาดแตกต่างกันและสามารถนำมาใช้แยกสิ่งมีชีวิตที่รูปแบบพันธุกรรมเป็นโฮโมไซโกต หรือ เฮเทอโรไซโกต ได้

เครื่องหมายทางพันธุกรรมของไมโครแซทเทลไลต์ (microsatellite marker) เป็นเครื่องหมายทางพันธุกรรมที่ประกอบด้วยลำดับเบสบนสายดีเอ็นเอที่มีจำนวนซ้ำต่อเนื่อง (tandem repeat) ตั้งแต่ 1 – 6 เบส (base pair) และมีจำนวนซ้ำ 10 – 50 ซ้ำ กระจายตัวอยู่ทั่วไปในจีโนม (genome) โดยจำนวนซ้ำของไมโครแซทเทลไลต์บนโครโมโซมในสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดมีไม่เท่ากัน จึงสามารถนำมาประยุกต์ใช้เป็นเครื่องหมายในการแยกความแตกต่างของสิ่งมีชีวิตได้ โดยการออกแบบ primer ที่สามารถเข้ากับลำดับเบสที่อยู่รอบจำนวนซ้ำต่อเนื่อง และตรวจสอบด้วยเทคนิค PCR (polymerase chain reaction) โดยการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณที่มีไมโครแซท

เทลโลด์อยู่ ซึ่งขนาดของดีเอ็นเอที่แตกต่างกันในชิ้นส่วน PCR คือ ผลของจำนวนซ้ำไมโครแซทเทลโลด์ที่ไม่เท่ากัน สามารถใช้บ่งบอกความแตกต่างระหว่างสิ่งมีชีวิตได้ (Morgante และ Oliveieri, 1993, Brown, 1996, Paterson, 1996 และ Powell, 1996 อ้างถึงใน สุริพร เกตุงาม, 2546) ตัวอย่างเช่น การใช้จำนวนซ้ำของลำดับเบส GT จำนวน n ซ้ำ $(GT)_n$ เพื่อบ่งบอกความแตกต่างทางพันธุกรรมพืช หรือใช้เป็นลายพิมพ์ดีเอ็นเอ โดยไมโครแซทเทลโลด์มีชื่อเรียกที่แตกต่างกันไป เช่น simple sequence repeats (SSRs) simple sequence length polymorphisms (SSLP) และ sequence-tagged microsatellite site (STMS) เป็นต้น

ด้วยลักษณะที่สามารถใช้แยกความแตกต่างทางพันธุกรรมในสิ่งมีชีวิตได้ จึงทำให้มีผู้นิยมใช้ไมโครแซทเทลโลด์ในการศึกษาทางด้านนิเวศวิทยาโมเลกุล เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างประชากรและช่วงเวลาที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลง แต่การเลือกใช้เครื่องหมายไมโครแซทเทลโลด์ก็มีข้อจำกัด คือ การพัฒนาหรือการสร้าง microsatellite primer มีค่าใช้จ่ายค่อนข้างสูงมาก ซึ่งเป็นอุปสรรคสำหรับสิ่งมีชีวิตที่ไม่เคยมีข้อมูลลำดับเบสใน GenBank มาก่อน นอกจากนี้ ปัญหาทางด้านเทคนิคที่สามารถพบได้บ่อย คือ การวิเคราะห์ผลค่อนข้างยากโดยเฉพาะในกรณีที่ต้องการรู้ขนาดอัลลีลที่แน่นอน เนื่องจากการเกิด “stutter band” ดังตัวอย่างในภาพที่ 2 – 11 ซึ่งเกิดจากการเลื่อนตัว (slippage) ออกจากกันของสายดีเอ็นเอบริเวณไมโครแซทเทลโลด์ในการทำปฏิกิริยา PCR เมื่อแปลผล microsatellite fragment analysis จะพบ peak ที่เกิดขึ้นระหว่างช่วง microsatellite alleles ที่สนใจ จึงทำให้การแปลผลขนาดของอัลลีลอาจเกิดข้อผิดพลาดได้



ภาพที่ 2 - 11 Electropherogram แสดงการเกิด stutter band ระหว่างช่วง microsatellite alleles ที่สนใจ (Freeland et al., 2011)

แม้ปัจจุบันจะมีการพัฒนา microsatellite primer ให้เหมาะสมกับสิ่งมีชีวิตหลายชนิดและสามารถนำมาใช้ประโยชน์ร่วมกันได้มากขึ้น แต่ไมโครแซทเทลไลต์มีอัตราการกลายพันธุ์ (mutation rate) ของจำนวนซ้ำค่อนข้างสูง ประมาณ 2.4×10^{-4} ต่ออัลลีลต่อรุ่นในเมล็ดข้าวสาลี และมีอัตราการกลายพันธุ์ประมาณ 5.1×10^{-6} ต่ออัลลีลต่อรุ่นในแมลงหวี่ หากไม่ระวังอัตราการกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นอาจทำให้เกิดการจับคู่ผิดพลาดในช่วงการจำลองตัวเองของดีเอ็นเอ (DNA replication) ได้ อย่างไรก็ตาม อัตราการกลายพันธุ์ของไมโครแซทเทลไลต์ส่งผลให้มีลักษณะภาวะพหุสัณฐานสูง จึงนิยมนำมาใช้ศึกษาเหตุการณ์ที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของพันธุศาสตร์ประชากรด้วย (Freeland et al., 2011)

2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.2.1 การศึกษาไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอของเต่าทะเล

ตั้งแต่ช่วงปี ค.ศ. 1989 ได้มีการพัฒนาเทคนิคทางชีววิทยาโมเลกุลให้มีความเหมาะสมและสามารถใช้ศึกษาไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอของสัตว์ชนิดต่าง ๆ (Kocher et al., 1989) โดยในการศึกษาของเต่าทะเลได้มีการนำมาประยุกต์ใช้โดยอาศัยข้อมูลนิวคลีโอไทด์หรือจีโนไทป์ที่ได้จากการศึกษาไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอเพื่อนำมาหาความสัมพันธ์ของเต่าทะเลชนิดต่าง ๆ ที่มีแหล่งอาศัยแหล่งหาอาหารและแหล่งวางไข่ในบริเวณภูมิภาคที่แตกต่างกัน รวมถึงสามารถใช้ศึกษาแหล่งอาหารและแนวการเคลื่อนที่ไปยังแหล่งอาหารของเต่าทะเลได้อีกด้วย ดังในงานวิจัยของ Carreras และคณะ (2006) ที่ศึกษาแหล่งอาหารของเต่าหัวค้อน *Caretta caretta* ในทะเลเมดิเตอร์เรเนียนจำนวน 8 พื้นที่ด้วยการศึกษาข้อมูลพันธุกรรมในไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ พบว่า เต่าหัวค้อนที่อาศัยอยู่ในมหาสมุทรแอตแลนติกมีแหล่งอาหารบริเวณชายฝั่งแอฟริกาตอนเหนือและเกาะ Gimnesies ประเทศสเปน ส่วนเต่าหัวค้อนที่อาศัยอยู่ทางฝั่งตะวันออกของทะเลเมดิเตอร์เรเนียนมีแหล่งอาหารบริเวณชายฝั่งยุโรป แถบตะวันตกของทะเลเมดิเตอร์เรเนียน และเมื่ออธิบายด้วยมวลน้ำและกระแสน้ำพบว่า เต่าหัวค้อนในระยะ juvenile มีทิศทางการเคลื่อนที่จากมหาสมุทรแอตแลนติกและทะเลเมดิเตอร์เรเนียนฝั่งตะวันออกเพื่อเข้าสู่ทะเลเมดิเตอร์เรเนียนฝั่งตะวันตกซึ่งเป็นบริเวณที่พบเต่าหัวค้อนระยะ juvenile เป็นจำนวนมาก ดังนั้น จึงควรมีการวางแผนอนุรักษ์ในพื้นที่ดังกล่าวเพื่อลดอัตราการตายของเต่าหัวค้อนจากการทำประมง

ในการศึกษาหาความสัมพันธ์ด้วยข้อมูลทางพันธุกรรมในเต่าทะเลชนิดต่าง ๆ อาทิเช่น ในงานวิจัยของ Encalada และคณะ (1996) ที่ศึกษาสายสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการภูมิศาสตร์ (phylogeography) และพันธุศาสตร์ประชากรของเต่าตนุ *Chelonia mydas* บริเวณมหาสมุทรแอตแลนติกและทะเลเมดิเตอร์เรเนียนด้วยข้อมูลไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ โดยใช้ mitochondrial primer LTCM2 และ HDCM2 ซึ่งมีความจำเพาะต่อตำแหน่ง control region (D-loop) เก็บตัวอย่างรวมทั้งสิ้น 147 ตัว จาก 9 พื้นที่ ได้แก่ ประเทศบราซิล ประเทศไซปรัส ประเทศกินี-บิสเซา ประเทศเม็กซิโก ประเทศคอซตาริกา ประเทศซูรินาม รัฐฟลอริดา ประเทศสหรัฐอเมริกา เกาะอิสลา อีฟ ประเทศเวเนซุเอลา และ เกาะอัสเซนชัน สหราชอาณาจักร โดยมีเต่าตนุจากรัฐควีนส์แลนด์ ประเทศออสเตรเลียเป็น outgroup จากการวิเคราะห์ด้วยแผนภูมิต้นไม้ (phylogenetic tree) แสดงให้เห็นถึงรูปแบบพันธุกรรมจำนวน 18 แฮพโลไทป์ (haplotypes) และสามารถแบ่งประชากรออกเป็น 2 กลุ่ม คือ ประชากรแถบทะเลแคริบเบียนตะวันตกและทะเลเมดิเตอร์เรเนียน กับ ประชากรแถบทะเลแคริบเบียนตะวันออก ตอนใต้ของมหาสมุทรแอตแลนติกและทางตะวันตกของประเทศแอฟริกา โดยข้อมูลด้านสายสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการภูมิศาสตร์ของเต่าตนุในบริเวณมหาสมุทรแอตแลนติกสามารถนำมาใช้อธิบายช่วงระยะเวลาการวางไข่ของเต่าทะเลเมียได้ และจากข้อมูลแฮพโลไทป์สามารถใช้อธิบายการเปลี่ยนแปลงทางธรณีวิทยาและสภาพภูมิอากาศเมื่อหลายล้านปีก่อนได้ และในงานวิจัยของ Carreras และคณะ (2013) ซึ่งศึกษาสารพันธุกรรมของเต่าทะเล 3 ชนิดที่อาศัยอยู่บริเวณสาธารณรัฐโดมินิกันเพื่อเชื่อมโยงข้อมูลกับกลุ่มประชากรเต่าทะเลแถบทะเลแคริบเบียน ด้วยการศึกษาลำดับเบสบนไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอบริเวณ control region ด้วย mitochondrial primer LCM15382 และ H950 ในเต่าทะเลทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ เต่ากระ *Eretmochelys imbricata* จำนวน 48 ตัว เต่าตนุ *Chelonia mydas* จำนวน 2 ตัวและเต่ามะเฟือง *Dermochelys coriacea* จำนวน 42 ตัว พบว่า เต่ามะเฟืองที่แยกออกมาอาศัยอยู่ที่อ่าวลาายาลีมา โปและกาเยน ประเทศฝรั่งเศส ประเทศตรินิแดด และ เซนต์ครอย หมู่เกาะเวอร์จินของสหรัฐอเมริกา มีความเชื่อมโยงกับประชากรเต่ามะเฟืองในแถบทะเลแคริบเบียน สำหรับเต่ากระพบความเชื่อมโยงระหว่างแหล่งวางไข่กับเต่ากระในระยะ juvenile และพบการรวมกลุ่มหาอาหารของเต่ากระเพศผู้ในกลุ่มประชากรสาธารณรัฐโดมินิกันกับกลุ่มทะเลแคริบเบียนอย่างชัดเจน ส่วนเต่าตนุ ในการศึกษาที่พบจำนวนตัวน้อยมากจึงไม่สามารถสรุปผลได้ และในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างกลุ่มประชากรของเต่าหญ้า *Lepidochelys olivacea* ในบริเวณพื้นที่ 3 ชายฝั่งของรัฐโอริศา ประเทศอินเดีย ที่พบ

การวางไข่ของเต่าหญ้ามากที่สุด (Shanker et al., 2004) โดยใช้ mitochondrial primer HDCM1 และ TCR5 ในศึกษาหารูปแบบแฮพโลไทป์ของเต่าหญ้า พบว่า เต่าหญ้าประมาณ 96% มีแฮพโลไทป์แบบ K ซึ่งเป็นรูปแบบที่ไม่เคยพบในกลุ่มประชากรอื่นแถบมหาสมุทรแอตแลนติกและมหาสมุทรแปซิฟิกมาก่อน จึงอาจสันนิษฐานได้ว่าเต่าหญ้าบริเวณพื้นที่ชายฝั่งรัฐโอริสสา ประเทศอินเดีย อาจเป็นต้นกำเนิดหรือบรรพบุรุษของเต่าหญ้าที่กระจายตัวอยู่ทั่วโลก ดังนั้น จึงควรมีการจัดการวางแผนอนุรักษ์เพื่อรักษาให้ประชากรเต่าหญ้างุ่มนี้คงอยู่ต่อไป

สำหรับการศึกษาความสัมพันธ์ของข้อมูลพันธุกรรมในเต่ากระ *Eretmochelys imbricata* พบการใช้ mitochondrial primer LTEi9 และ H950 ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมและสายสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการภูมิศาสตร์ของเต่ากระใน 13 พื้นที่บริเวณมหาสมุทรอินเดีย – มหาสมุทรแปซิฟิก (Vargas et al., 2015) โดยตรวจพบรูปแบบพันธุกรรม 52 แฮพโลไทป์ และสามารถแบ่งกลุ่มประชากรออกเป็น 5 กลุ่ม ซึ่งพบว่า ช่วงเวลาที่กลุ่มประชากรแยกออกจากกันสัมพันธ์กับข้อมูลการเปลี่ยนแปลงของระดับน้ำทะเลในอดีต ทั้งนี้ จากผลการวิเคราะห์แสดงให้เห็นถึงเส้นทางการเคลื่อนที่ของเต่ากระในมหาสมุทรอินเดีย – มหาสมุทรแปซิฟิก และแสดงถึงความสัมพันธ์ของกลุ่มประชากรเต่ากระในแถบมหาสมุทรอินเดีย – มหาสมุทรแปซิฟิก กับ แหล่งอาหารบริเวณมหาสมุทรแอตแลนติก และในงานวิจัยของ Nishizawa และคณะ (2016) ได้ศึกษารูปแบบพันธุกรรมในไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอด้วย mitochondrial primer LCM15382 และ H950g เพื่อดูความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการภูมิศาสตร์ของข้อมูลประชากรและการกระจายตัวของเต่ากระบริเวณมหาสมุทรอินเดีย – มหาสมุทรแปซิฟิก โดยเก็บข้อมูลของเต่ากระจากแหล่งหาอาหารและแหล่งวางไข่ในบริเวณประเทศมาเลเซีย ตั้งแต่ปี ค.ศ. 1996 – 2014 ผลการศึกษาแสดงให้เห็นถึงความแตกต่างของประชากรเต่ากระในบริเวณเกาะ แลบทะเลซูลู และ เกาะในคาบสมุทรมลายูอย่างชัดเจน แต่ยังไม่พบการเปลี่ยนแปลงข้อมูลพันธุกรรมของเต่ากระในช่วงระยะเวลา 10 ปีที่ผ่านมา ซึ่งจากข้อมูลที่ได้เชื่อว่า เต่ากระสามารถเดินทางไปยังแหล่งอาหารบริเวณเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ได้ด้วย

2.2.2 การศึกษานิวเคลียร์ดีเอ็นเอของเต่าทะเล

ในการศึกษาความแตกต่างของข้อมูลพันธุกรรมเต่าทะเลที่มีลักษณะเป็นเอกลักษณ์ในสิ่งมีชีวิตแต่ละตัว ได้มีการพัฒนาเครื่องหมายทางพันธุกรรมบนนิวเคลียร์ดีเอ็นเอหรือเรียกว่าเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลต์ขึ้น (FitzSimmons et al., 1995; Miro-Herrans et al., 2008) ซึ่งมี

ความเหมาะสมในการจำแนกความแตกต่างของข้อมูลพันธุกรรมในเต่าทะเลแต่ละชนิดที่แตกต่างกันออกไป โดยในการประยุกต์ใช้นิยมนำมาศึกษาจำนวนของเต่าเพศผู้หรือพ่อเต่าที่สามารถพบได้ (multiple paternity) จากข้อมูลพันธุกรรมของลูกเต่าใน 1 รัง อาทิเช่น การศึกษาโครงสร้างประชากรและการกระจายตัวของเต่าหัวค้อนเพศผู้ *Caretta caretta* บริเวณชายฝั่งเมลเบิร์น รัฐฟลอริดา สหรัฐอเมริกา (Moore and Ball, 2002) ด้วยการใช้ microsatellite marker จำนวน 4 ตำแหน่ง (loci) ได้แก่ Ccar176 CCM2 Cc7 และ Cc141 กับตัวอย่างลูกเต่าหัวค้อนจำนวน 70 รัง พบว่า มีลูกเต่าที่เกิดจากการผสมพันธุ์ระหว่างเต่าหัวค้อนเพศเมีย 1 ตัวกับเต่าหัวค้อนเพศผู้มากกว่า 1 ตัว (multiple paternity) โดยกรณีที่พบพ่อเต่ามากกว่า 1 ตัว มีจำนวน 22 รัง และ กรณีที่พบพ่อเต่ามากกว่า 2 ตัว มีจำนวน 6 รัง ซึ่งถือเป็นครั้งแรกที่ตรวจพบจำนวนพ่อเต่ามากกว่า 2 ตัวในกลุ่มประชากรเต่าหัวค้อนที่รัฐฟลอริดา ส่วนในการศึกษาข้อมูลของเต่ามะเฟือง *Dermochelys coriacea* บริเวณ Playa Gandoca ประเทศคอสตาริกา (Figgner et al., 2016) ซึ่งจากข้อมูลในอดีตพบอัตราการเกิด multiple paternity ที่ต่ำมาก ในการศึกษานี้ใช้ microsatellite marker จำนวน 3 ตำแหน่ง ได้แก่ Dc99 Cc117 และ Ei8 ศึกษาลูกเต่าจำนวนทั้งสิ้น 35 รัง และเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อเพิ่มเติมเต่ามะเฟืองเพศเมียหรือแม่เต่าจำนวน 18 ตัว ผลการศึกษาพบว่า มีเต่าเพศเมียจำนวน 4 ตัว (22.22%) ที่ผสมพันธุ์กับเต่าเพศผู้อย่างน้อย 2 หรือ 3 ตัว (multiple paternity) แสดงให้เห็นว่าการประยุกต์ใช้เทคนิคทางชีววิทยาโมเลกุลสามารถช่วยตอบคำถามงานวิจัยที่ยังไม่ชัดเจนในอดีตได้ และสามารถทำได้รวดเร็วอีกด้วย รวมถึงในการศึกษา multiple paternity ของลูกเต่าตนุ *Chelonia mydas* จากแม่เต่าจำนวน 19 ตัวที่วางไข่บริเวณชายฝั่ง Kosgoda ประเทศศรีลังกา (Ekanayake et al., 2013) โดยใช้ microsatellite primer จำนวน 6 ตำแหน่ง ได้แก่ Cm58 Cm3 Cm72 Cc117 Cm84 และ Cc7 พบว่า จากจำนวนรังที่แม่เต่าวางไข่ 47% พบ multiple paternity ที่มีการผสมพันธุ์กับเต่าเพศผู้อย่างน้อย 2 ตัว (62.5%) หรือ 3 ตัว (37.5%) และจากการตรวจสอบอัลลีลในแต่ละรังพบว่า ไม่มีเต่าเพศผู้ตัวใดที่ผสมพันธุ์กับเต่าเพศเมียได้หลายตัว แต่พบอัลลีลของเต่าเพศผู้ที่ปรากฏซ้ำในรังแรกและพบในรังต่อ ๆ มาของเต่าเพศเมียตัวเดียวกัน แสดงให้เห็นว่าเต่าตนุสามารถผสมพันธุ์ได้หลายครั้งในช่วงฤดูผสมพันธุ์และ/หรือเต่าเพศเมียสามารถเก็บสเปิร์มของเต่าเพศผู้ไว้ได้ ซึ่งสามารถนำข้อมูลที่ได้มาศึกษาโครงสร้างประชากรของเต่าทะเล รวมถึงวางแผนการจัดการและการอนุรักษ์สัตว์ที่ใกล้สูญพันธุ์ชนิดนี้ได้ นอกจากนี้ การศึกษา multiple paternity ในเต่าหญ้า *Lepidochelys olivacea* พบที่บริเวณประเทศซูรินามจากงานวิจัยของ Hoekert และคณะ (2002) โดยใช้ตัวอย่าง

จากลูกเต่าหญ้าจำนวน 10 รัง รวม 703 ตัว ด้วย microsatellite primer 2 ตำแหน่ง ได้แก่ Ei8 และ Cm84 พบการเกิด multiple paternity ที่เต่าเพศเมียผสมพันธุ์กับเต่าเพศผู้อย่างน้อย 2 ตัว ในลูกเต่าหญ้าจำนวน 2 รัง หรือคิดค่าความน่าจะเป็นในการมี multiple paternity ของเต่าหญ้าเท่ากับ 0.903 ทั้งนี้ จากข้อมูลของลูกเต่าหญ้าจำนวน 8 รังที่ตรวจพบเต่าเพศผู้เพียงตัวเดียวอาจมีโอกาพบ multiple paternity ได้เช่นกัน เพียงแต่ตรวจสอบไม่พบในการศึกษานี้ และในงานวิจัยของ Duran และคณะ (2015) ศึกษา multiple paternity ของเต่าหญ้า *Lepidochelys olivacea* บริเวณประเทศฮอนดูรัส ในช่วงปี ค.ศ. 2011 – 2013 ด้วยการใช้ microsatellite primer 2 ตำแหน่ง ได้แก่ Or1 และ Cm84 กับตัวอย่างเลือดของลูกเต่าจำนวน 8 รัง และตัวอย่างเนื้อเยื่อของเต่าหญ้าเพศเมียหรือแม่เต่าจำนวน 26 ตัว พบว่ามี multiple paternity จากลูกเต่าจำนวน 6 รัง (75%) โดยพบเต่าเพศผู้อย่างน้อย 2 ตัว ในจำนวน 4 รัง และ พบเต่าเพศผู้อย่างน้อย 3 ตัว ในจำนวน 2 รัง จากการพบอัตรา multiple paternity ที่สูงในกลุ่มประชากรขนาดเล็กของเต่าหญ้าแสดงให้เห็นว่า เต่าเพศเมียที่วางไข่ในประเทศฮอนดูรัสอาจเดินทางมาจากประเทศนิการากัวที่มีแหล่งวางไข่ของเต่าหญ้าอยู่ ซึ่งสอดคล้องกับหลักฐานและผลการศึกษาเส้นทางการเคลื่อนที่ของเต่าหญ้าจากดาวเทียมในอดีต

สำหรับการศึกษา multiple paternity ของเต่ากระ *Eretmochelys imbricata* พบการศึกษาเพื่อทดสอบบทบาทของโครงสร้างการเก็บสเปิร์มของเต่าเพศเมียต่อการคัดเลือกทางเพศ (sexual selection) บริเวณเกาะ Cousine ในประเทศเซเชลส์ ช่วงปี ค.ศ. 2007 – 2008 (Phillips et al., 2013) โดยใช้ microsatellite primer จำนวน 4 ตำแหน่ง ได้แก่ Eim11 Eim38 Eim41 และ HKB31 ศึกษาตัวอย่างลูกเต่าจำนวน 1,600 ตัว จาก 85 รัง และตัวอย่างเต่ากระเพศเมียจำนวน 53 ตัว พบว่า มี multiple paternity ที่พบเต่ากระเพศผู้อย่างน้อย 2 ตัวคิดเป็น 9.3% หรือจากเต่ากระเพศเมียจำนวน 10 ตัวและไม่พบเต่ากระเพศผู้ที่ผสมพันธุ์กับเต่ากระเพศเมียมากกว่า 1 ตัว อาจสรุปในเบื้องต้นได้ว่าโครงสร้างการเก็บสเปิร์มของเต่าเพศเมียในเต่าทะเลสามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการผสมพันธุ์และไม่มีผลต่อการคัดเลือกทางเพศของเต่าเพศเมีย ทั้งนี้ จากงานวิจัยของ Joseph และคณะ (2010) ที่ศึกษา multiple paternity ของเต่ากระ *Eretmochelys imbricata* บริเวณ Pulau Gulisaan รัฐซาบารุ ประเทศมาเลเซีย โดยใช้ microsatellite primer จำนวน 5 คู่ ได้แก่ Ei8 Cm58 Cm72 cCm84 และ Cc7 ศึกษาในตัวอย่างลูกเต่ากระจำนวน 375 ตัว จากแม่เต่าจำนวน 10 ตัว พบว่า มีเต่ากระเพศเมียจำนวน 2 ตัวที่ผสมพันธุ์กับเต่ากระเพศผู้หลายตัว

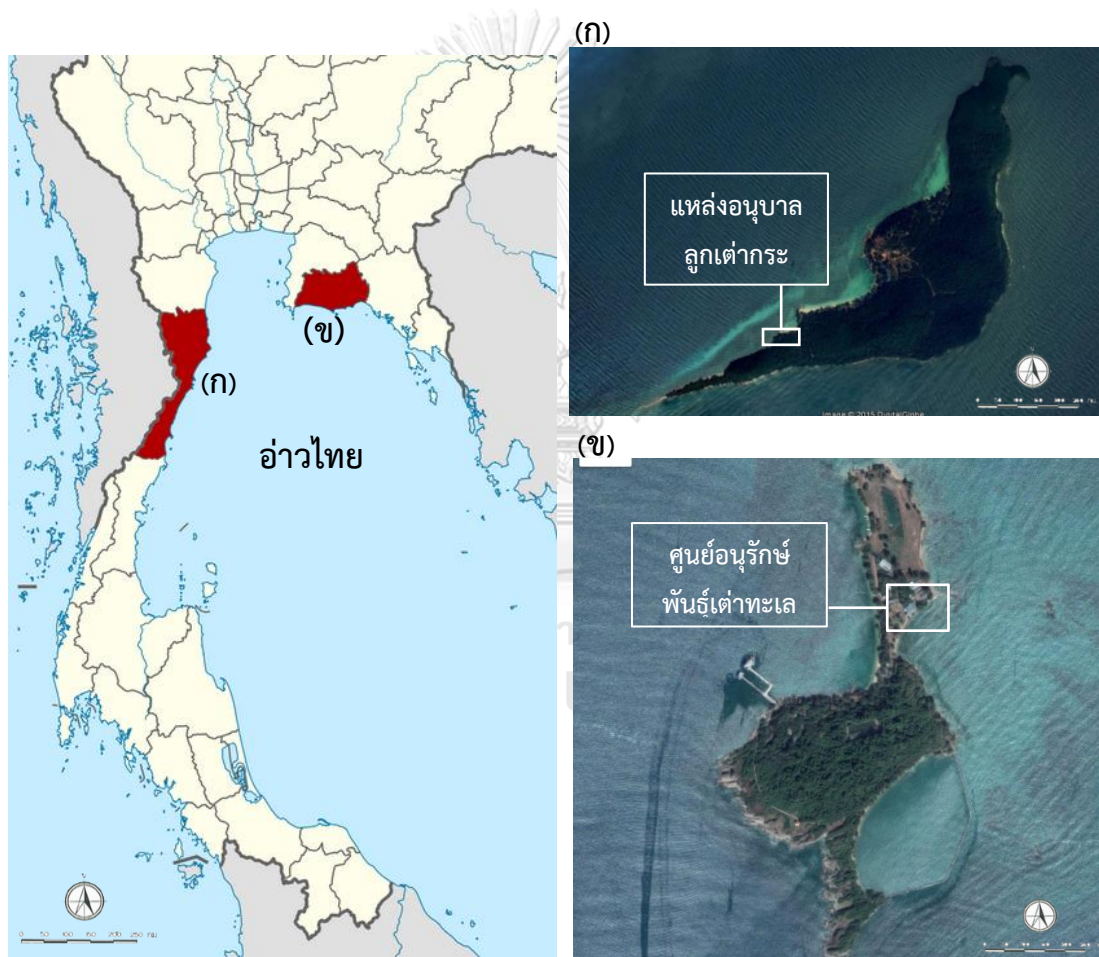
(จำนวนมากที่สุดคือ 2 ตัว) ถึงแม้จะพบการเกิด multiple paternity ค่อนข้างน้อย แต่สอดคล้องกับการศึกษาในเต่าทะเลชนิดอื่นและสนับสนุนสมมติฐานที่ว่าเต่าทะเลเพศเมียสามารถเก็บสเปิร์มของเต่าทะเลเพศผู้ได้



บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 พื้นที่ศึกษาวิจัย

แหล่งทำรังวางไข่ของเต่ากระบริเวณเกาะทะเล จังหัดประจวบคีรีขันธ์ และ เก็บตัวอย่างเพิ่มเติมจากศูนย์อนุรักษ์พันธุ์เต่าทะเล เกาะมันใน จังหวัดระยอง สำหรับใช้ทดสอบประสิทธิภาพของ mitochondrial primer ในการจำแนกลำดับเบสของเต่ากระเท่านั้น



ภาพที่ 3 - 1 พื้นที่การเก็บตัวอย่างเต่ากระ บริเวณอ่าวไทย (วิกิพีเดีย สารานุกรมเสรี, 2554)

(ก) เกาะทะเล จังหัดประจวบคีรีขันธ์ (Google Maps, 2018)

(ข) เกาะมันใน จังหวัดระยอง (Google Maps, 2018)

3.2 จรรยาบรรณการใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์

- 1) ได้รับหนังสืออนุญาตให้ทำการประมงเพื่อประโยชน์ทางวิชาการ เลขที่ 11/2559 และ เลขที่ 8/2560 จากกรมประมง
- 2) ผ่านการพิจารณาและอนุมัติการใช้สัตว์ทดลองจากคณะกรรมการควบคุมดูแลการเลี้ยง และการใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ ของคณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (Protocol review no. 1623013)

3.3 การศึกษาภาคสนาม

- 1) รวบรวมข้อมูลการวางไข่ของเต่ากระเพศเมีย การนำไข่มาเพาะฟักและการอนุบาลลูกเต่ากระ ในช่วงปี พ.ศ. 2557-2558 จากมูลนิธิฟื้นฟูทรัพยากรทะเลสยามซึ่งได้มอบหมายให้นายบุญเลิศ เผือกทอง พนักงานของเกาะทะเล ภูเก็ต รีสอร์ท เป็นผู้ดำเนินการ



ภาพที่ 3 - 2 หาดแสม หนึ่งในหาดทรายที่พบการขึ้นวางไข่ของเต่ากระ ณ เกาะทะเล ภูเก็ต ประจวบคีรีขันธ์

(ก)



(ข)



(ค)



(ง)



ภาพที่ 3 - 3 ขั้นตอนการนำไข่มาเพาะฟักและอนุบาลลูกเต่ากระ ณ เกาะทะลุ จังหวัด
ประจวบคีรีขันธ์

(ก) เคลื่อนย้ายไข่เต่าจากหาดทรายธรรมชาติ

(ข) นำไข่มาฝังไว้ในหลุมเพาะฟักที่ธรรมชาติ

(ค) เคลื่อนย้ายลูกเต่าแรกเกิดไปอนุบาลที่โรงเรือน

(ง) เลี้ยงด้วยอาหารจำพวกสาหร่าย ปลาบด และกระดองหมึก



ภาพที่ 3 - 4 โรงเรือนอนุบาลลูกเต่ากระ มีลักษณะเปิดโล่งและหลังคามีกระเบื้องโปร่งแสงเพื่อรับแสงจากธรรมชาติ

- 2) สุ่มเก็บข้อมูลและตัวอย่างเลือดของลูกเต่ากระที่ฟักออกจากไข่ในช่วงฤดูวางไข่ พ.ศ. 2557 – 2558 จำนวน 5 รัง อย่างน้อย 50 ตัวต่อรัง
 - 2.1) เก็บข้อมูลทางสัณฐานวิทยาของลูกเต่ากระอายุประมาณ 7 – 9 เดือนในบ่อเลี้ยงบนเกาะทะเล จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ (ภาคผนวก ข.) ด้วยการชั่งน้ำหนักและวัดความกว้างของกระดอง (carapace width) และความยาวของกระดอง (carapace length)



ภาพที่ 3 - 5 การเก็บข้อมูลด้านสัณฐานวิทยาของลูกเต่าทะเล ณ เกาะทะลุ จังหวัดประจวบคีรีขันธ์

(ก) ชั่งน้ำหนักด้วยตาชั่งแบบแขวน

(ข) วัดความกว้างของกระดอง (carapace width)

(ค) วัดความยาวของกระดอง (carapace length)

CHULALONGKORN UNIVERSITY

2.2) เก็บตัวอย่างเลือดจากลูกเต่าทะเล โดยใช้กระบอกฉีดยาพลาสติก ขนาด 1 มิลลิลิตรและหัวเข็มฉีดยาขนาด 22 – 25 Ga ความยาว 1 – 1 ½ นิ้ว ดูดเลือดจากบริเวณแอ่งเลือดต้นคอ (supravertebral sinus) ปริมาตร 0.1 – 0.3 มิลลิลิตรหรือไม่เกิน 0.05% ของน้ำหนักตัว ซึ่งเป็นปริมาณที่สามารถเก็บตัวอย่างเลือดจากเต่าทะเลได้โดยไม่เป็นอันตรายต่อสัตว์ (Campbell, 2015) และเก็บตัวอย่างเลือดลงในหลอดไมโครเซนทริฟิวจ์ (microcentrifuge tube) ขนาด 1.5 มิลลิลิตร นำไปแช่แข็งที่ -20 องศาเซลเซียส เพื่อการศึกษาในห้องปฏิบัติการต่อไป

(ก)



(ข)



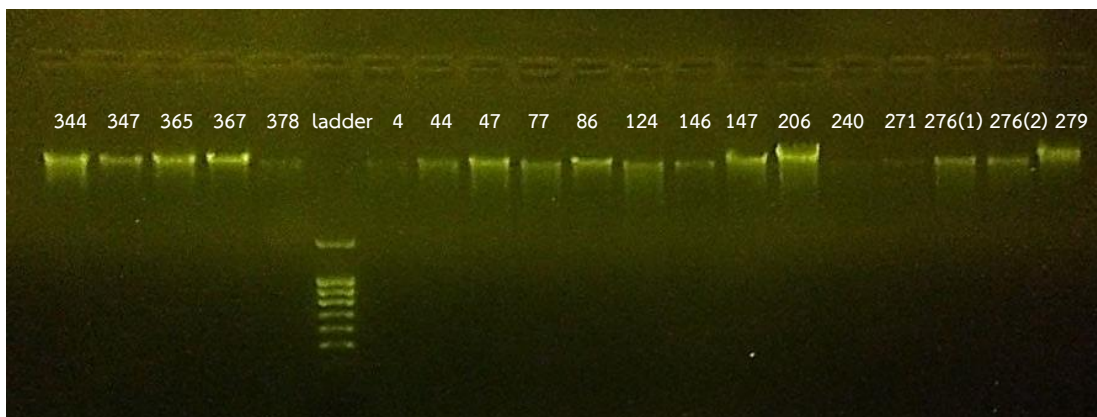
ภาพที่ 3 - 6 การเก็บตัวอย่างเลือดจากลูกเต่ากระ ณ เกาะทะลุ จังหวัดประจวบคีรีขันธ์

(ก) ตำแหน่งการเจาะเลือดบริเวณแอ่งเลือดต้นคอ (supravertebral sinus)

(ข) เก็บตัวอย่างเลือดลงในหลอดไมโครเซนทริฟิวจ์ (microcentrifuge tube) ขนาด 1.5 มิลลิลิตร
นำไปแช่แข็งที่ -20 องศาเซลเซียส

3.4 การสกัดและตรวจสอบคุณภาพดีเอ็นเอ

- 1) นำตัวอย่างเลือดของลูกเต่ากระมาสกัดดีเอ็นเอ โดยเทคนิคการตกตะกอนด้วยเอทานอล (ethanol precipitation) โดยใช้ BioFACT™ Genomic DNA Prep Kit (ภาคผนวก ค - 1)
- 2) นำตัวอย่างดีเอ็นเอปริมาตร 4 ไมโครลิตรผสม loading dye 1 ไมโครลิตร มาตรวจสอบคุณภาพด้วยวิธี agarose gel electrophoresis โดยใช้ agarose gel ความเข้มข้น 1% (ภาคผนวก ค - 3) และความต่างศักย์ไฟฟ้า 90 โวลต์ เป็นเวลา 40 นาที



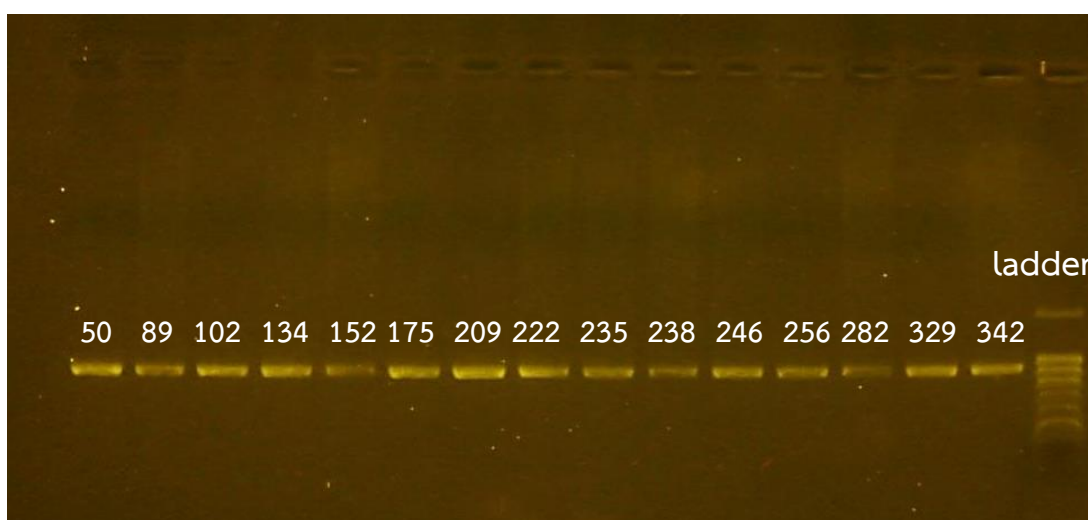
ภาพที่ 3 - 7 การเปรียบเทียบคุณภาพตัวอย่างดีเอ็นเอจำนวน 19 ตัวอย่างกับแถบดีเอ็นเอมาตรฐาน (DNA ladder) ขนาด 1.5 กิโลเบส ด้วยวิธี agarose gel electrophoresis

- 3) นำตัวอย่างดีเอ็นเอที่ผ่านการตรวจสอบคุณภาพมาศึกษาภาวะพหุสัณฐานของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอบนไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ และ ภาวะพหุสัณฐานของไมโครแซทเทลไลต์บนนิวเคลียร์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิคทางชีววิทยาโมเลกุล

3.5 การศึกษาภาวะพหุสัณฐานของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ

- 1) ทดสอบและคัดเลือก mitochondrial primer ที่มีความเหมาะสมต่อการจำลองและสังเคราะห์สารพันธุกรรมบริเวณ control region เพื่อตรวจสอบลำดับสารพันธุกรรมในไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอของลูกเต่ากระที่ได้รับจากเต่ากระเพศเมีย (แม่เต่า) จำนวน 38 ตัว โดยเลือกใช้คู่ primer ของ LCM15382 และ H950 ในการศึกษาครั้งนี้ (ตารางที่ ค - 3)
- 2) เตรียมสารละลาย master mix ปริมาตร 15 ไมโครลิตร (ภาคผนวก ค - 4) นำใส่เครื่อง MJ Research PTC - 200 dual thermal cycler เพื่อเข้าสู่กระบวนการ polymerase chain reaction (PCR) (ตารางที่ ค - 1)
- 3) แบ่งผลิตภัณฑ์ PCR (PCR product; ~800 base pairs) ปริมาตร 5 ไมโครลิตรผสมกับ loading dye 1 ไมโครลิตร เพื่อนำมาตรวจสอบคุณภาพด้วย 1% agarose gel electrophoresis เทียบกับแถบดีเอ็นเอมาตรฐาน (DNA ladder) ขนาด 1.5 กิโลเบส

- 4) เมื่อได้ผลิตภัณฑ์ PCR ที่มีคุณภาพเหมาะสม นำไปทำให้สารละลายมีความบริสุทธิ์ยิ่งขึ้น (purification) ด้วยเทคนิค spin column-based nucleic acid purification ของ NucleoSpin Gel and PCR Clean-up Kit (ภาคผนวก ค – 8)



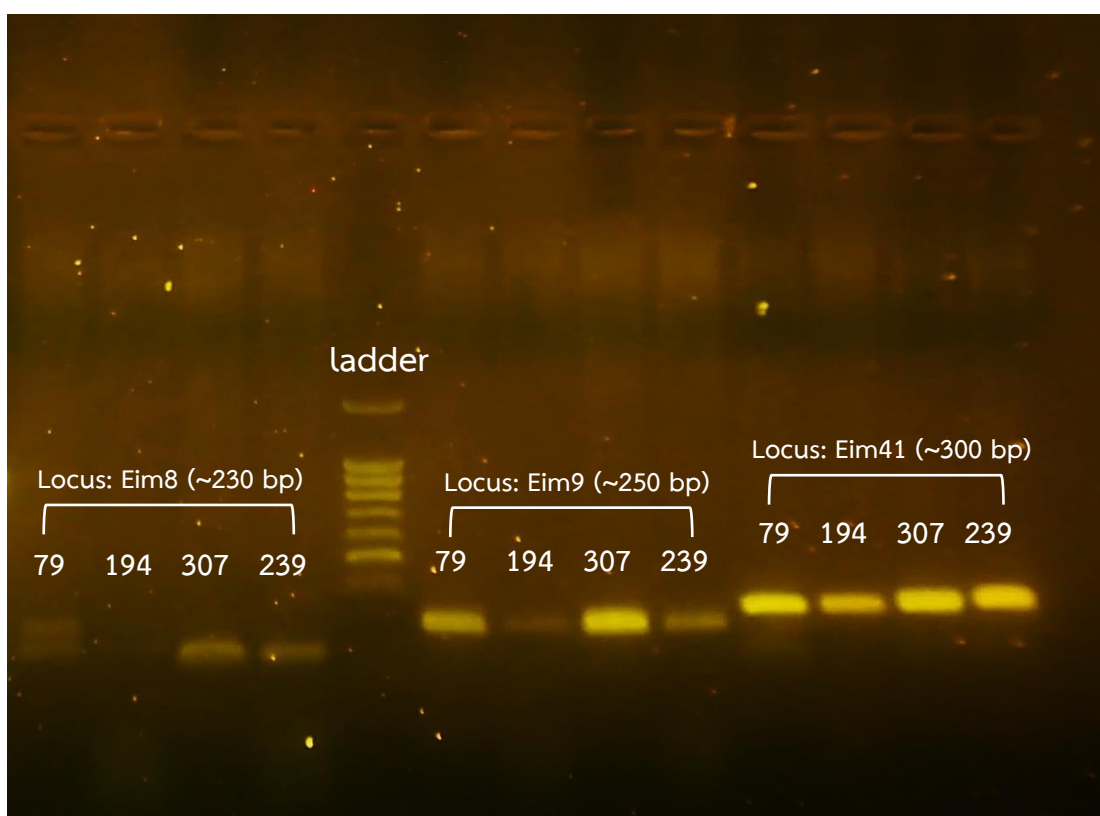
ภาพที่ 3 - 8 ผลิตภัณฑ์ PCR (PCR product; ~800 base pairs) ที่ผ่านการทำให้มีความบริสุทธิ์ยิ่งขึ้น (purification) โดยเปรียบเทียบคุณภาพผลิตภัณฑ์ PCR จำนวน 15 ตัวอย่างกับแถบดีเอ็นเอมาตรฐาน (DNA ladder) ขนาด 1.5 กิโลเบส ด้วยวิธี agarose gel electrophoresis

- 5) วิเคราะห์ลำดับเบสที่อยู่ในสารพันธุกรรม (DNA sequencing) จากผลิตภัณฑ์ PCR ที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์ ด้วยบริการจากบริษัท Bioneer ประเทศสาธารณรัฐเกาหลี

3.6 การศึกษาภาวะพหุสัณฐานของไมโครแซทเทลไลต์บนนิวเคลียร์ดีเอ็นเอ

- 1) ทดสอบและคัดเลือก microsatellites primer ที่มีความเหมาะสมต่อการจำลองและสังเคราะห์สารพันธุกรรม ในการศึกษาเลือกใช้ primer จำนวน 6 คู่ ที่ผ่านการตรวจสอบค่าสมดุลฮาร์ดี - ไวน์เบิร์ก (Hardy - Weinberg Equilibrium) ได้แก่ E_{i8} E_{m8} E_{m9} E_{m17} E_{m31} และ E_{m41} (FitzSimmons et al., 1995; Miro-Herrans et al., 2008) นำไปติดสารเรืองแสง (fluorescent label) (ตารางที่ ค – 4) สำหรับใช้ตรวจสอบการมีหลายพ่อ (multiple paternity) ของลูกเต่ากระจากแต่ละรังจำนวนรวมทั้งสิ้น 214 ตัว

- 2) เตรียมสารละลาย master mix ปริมาตร 25 ไมโครลิตร นำใส่เครื่อง MJ Research PTC-200 dual thermal cycler เพื่อเข้าสู่กระบวนการ PCR (ตารางที่ ค - 2)
- 3) แบ่งผลิตภัณฑ์ PCR (PCR product; ~180 – 340 base pairs) ปริมาตร 5 ไมโครลิตรผสมกับ loading dye 1 ไมโครลิตร เพื่อนำมาตรวจสอบคุณภาพด้วย 1% agarose gel electrophoresis เทียบกับแถบดีเอ็นเอมาตรฐาน (DNA ladder) ขนาด 1.5 กิโลเบส

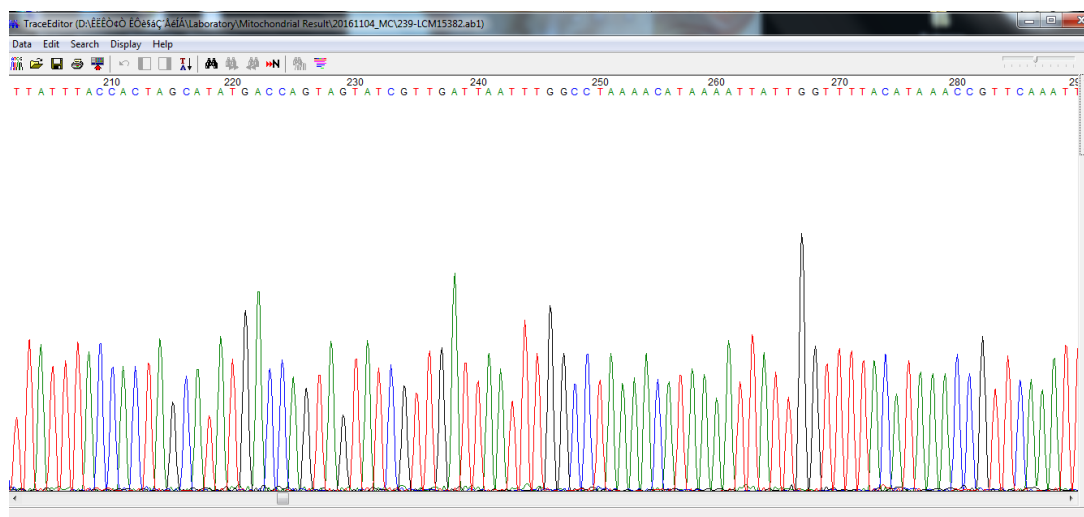


ภาพที่ 3 - 9 การเปรียบเทียบคุณภาพผลิตภัณฑ์ PCR (PCR product; ~230 – 300 base pairs) กับแถบดีเอ็นเอมาตรฐาน (DNA ladder) ขนาด 1.5 กิโลเบส โดยใช้ microsatellites primer จำนวน 3 loci กับตัวอย่างจำนวน 4 ตัว ด้วยวิธี agarose gel electrophoresis

- 4) วิเคราะห์ขนาดของอัลลีล (allele size) โดยการทำให้ microsatellite fragment analysis ด้วยเทคนิค capillary electrophoresis ด้วยบริการจากบริษัท MacroGen ประเทศสาธารณรัฐเกาหลี

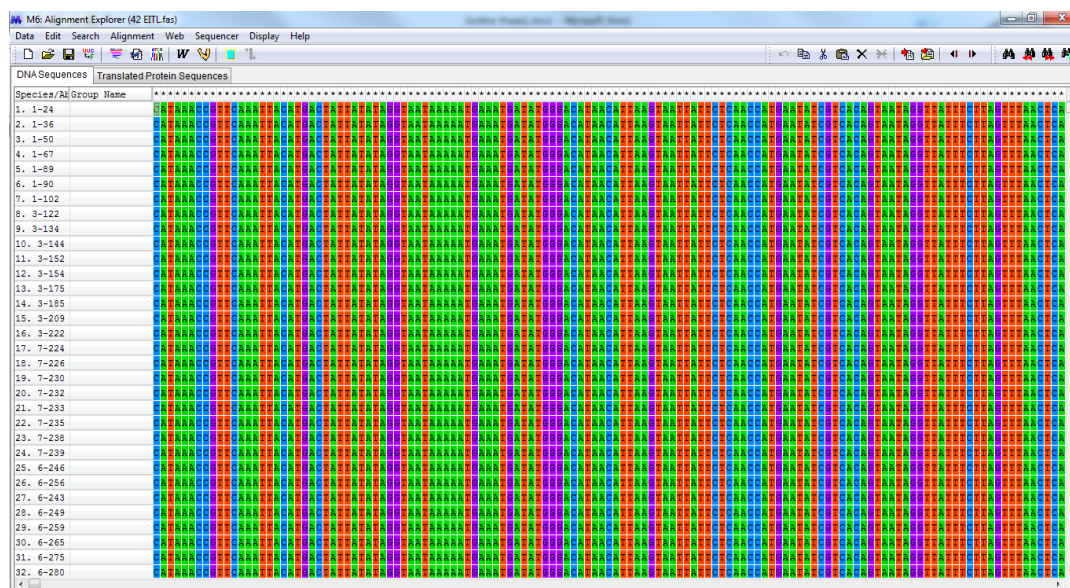
3.7 การวิเคราะห์ข้อมูล

3.7.1 ตรวจสอบข้อมูลลำดับเบสของจีโนมไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ



ภาพที่ 3 - 10 กราฟแสดงตัวอย่างผลการวิเคราะห์สารพันธุกรรมของลูกเต่ากระ

- 1) ตรวจสอบผลการวิเคราะห์สารพันธุกรรม (DNA sequence) ของเต่ากระ โดยการนำข้อมูลลำดับเบสไป BLAST ใน GenBank
- 2) จัดเรียงข้อมูลลำดับเบส (sequence alignment) ของลูกเต่ากระแต่ละตัว เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างทางพันธุกรรมด้วย MUSCLE algorithm ในโปรแกรม MEGA-X



ภาพที่ 3 - 11 การแปลผลและจัดเรียงข้อมูลลำดับเบสของลูกเต่ากระด้วย MUSCLE algorithm ในโปรแกรม MEGA-X

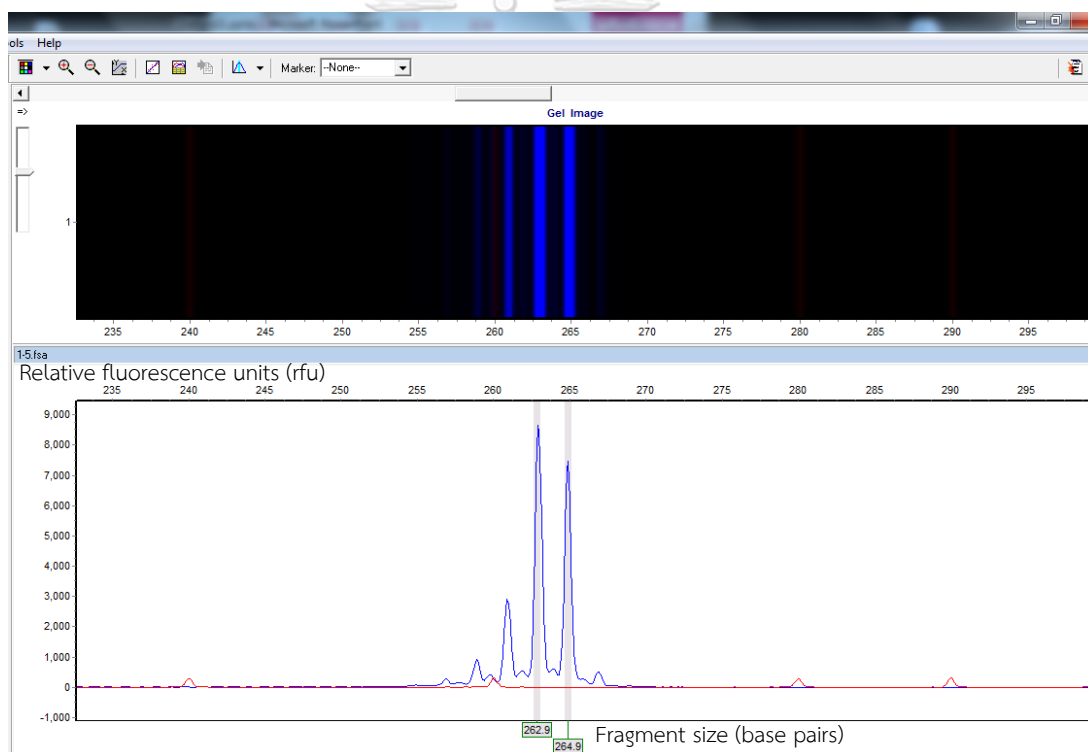
- 3) วิเคราะห์จำนวนแฮพโลไทป์ (haplotype) และค่าความหลากหลายทางพันธุกรรม (genetic diversity) ด้วยข้อมูลลำดับเบสลูกเต่ากระในโปรแกรม DnaSP5
- 4) จำแนกลูกเต่ากระที่มีแฮพโลไทป์รูปแบบเดียวกัน และประเมินจำนวนเต่ากระเพศเมีย
- 5) วิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมของเต่ากระในประเทศไทยเปรียบเทียบกับกลุ่มประชากรเต่ากระที่พบในประเทศแถบมหาสมุทรอินเดีย – มหาสมุทรแปซิฟิก ด้วยการคำนวณค่าความแตกต่างทางพันธุกรรม (genetic differentiation: F_{st}) ในโปรแกรม Alrequin 3.5
- 6) หาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการชาติพันธุ์ด้วยข้อมูลพันธุกรรม (molecular phylogenetic) ของเต่ากระที่พบในประเทศแถบมหาสมุทรอินเดีย – มหาสมุทรแปซิฟิก โดยการวิเคราะห์แผนภูมิต้นไม้ 3 รูปแบบ ได้แก่
 - Haplotype network ด้วยโปรแกรม PopART
 - Maximum likelihood ด้วยโปรแกรม MEGA-X โดยวิเคราะห์และเลือกใช้โมเดล Tamura 3 – parameter ที่มีความเหมาะสมที่สุดในการสร้างแผนภูมิต้นไม้
 - Bayesian inference ด้วยโปรแกรม MrBayes โดยกำหนดค่าพารามิเตอร์ ดังนี้

ก) กำหนดค่าการสุ่มตัวอย่างจำนวน 20,000 ตัวอย่าง

ข) ตั้งค่า Burn-in 50,000 รอบ

3.7.2 ตรวจสอบข้อมูลอัลลีลหรือลักษณะจีโนไทป์ของลูกเต่ากระทะที่พบในแต่ละตำแหน่งของเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลต์บนนิวเคลียร์ดีเอ็นเอ

- นำผลการวิเคราะห์ microsatellite fragment ของลูกเต่ากระทะมาแปลผลข้อมูลด้วยโปรแกรม GeneMarker 4.1 ด้วยขนาดมาตรฐาน (size standard) HD 400 และใช้สีแดงเป็นค่าสีมาตรฐาน (standard color)



ภาพที่ 3 - 12 กราฟแสดงปริมาณดีเอ็นเอ (แกนตั้ง) และ ขนาดอัลลีล (แกนนอน) ในภาวะพหุสัณฐานไมโครแซทเทลไลต์ (microsatellite polymorphism) ของลูกเต่ากระทะ

- บันทึกข้อมูลจีโนไทป์ของลูกเต่ากระทะแต่ละรังที่พบบนเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลต์ทุกตำแหน่ง และวิเคราะห์จำนวนอัลลีล (allelic richness)

- 3) คาคการณ์จำนวนเต่ากระเพศผู้ น้อยที่สุด – มากที่สุด ของเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลต์ทุกตำแหน่ง
- 4) คำนวณความถี่ของอัลลีล (allele frequency) และคำนวณค่า chi-square ด้วยข้อมูลอัลลีลรูปแบบเฮเทอโรไซโกต (heterozygote observed: H_o ; Heterozygote expected: H_e) สำหรับใช้ตรวจสอบค่าพื้นฐานทางทฤษฎีสมดุลฮาร์ดี – ไวน์เบิร์ก (Hardy – Weinberg Equilibrium) รวมถึงวิเคราะห์การเกิด linkage disequilibrium ด้วยโปรแกรม GENEPOP on the web และตรวจสอบการปรากฏ null allele ด้วยโปรแกรม ML – Null Freq

3.7.3 ประเมินขนาดประชากรของเต่ากระวัยเจริญพันธุ์

รวบรวมข้อมูลการประเมินจำนวนเต่ากระเพศเมียและจำนวนเต่ากระเพศผู้จากการศึกษาภาวะพหุสัณฐานของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอบนไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ และ ภาวะพหุสัณฐานของไมโครแซทเทลไลต์บนนิวเคลียร์ดีเอ็นเอเพื่อประเมินขนาดประชากรของเต่ากระวัยเจริญพันธุ์ที่มีแหล่งผสมพันธุ์และวางไข่บริเวณเกาะทะเล จังหวัดประจวบคีรีขันธ์

3.8 การประเมินขนาดประชากรและปัจจัยเสี่ยงที่มีผลกระทบต่อประชากรของเต่ากระในบริเวณอ่าวไทย

สืบค้นและรวบรวมข้อมูลทุติยภูมิเกี่ยวกับการพบเห็นเต่ากระในบริเวณอ่าวไทยย้อนหลังประมาณ 20 ปี (พ.ศ. 2538 – พฤษภาคม 2561) เพื่อศึกษาปัจจัยที่อาจส่งผลกระทบต่อประชากร เช่น ข้อมูลการเกยตื้นตามบริเวณชายฝั่ง การลักลอบทำประมงจับเต่ากระ รวมถึงสาเหตุของอาการบาดเจ็บต่าง ๆ และการเสียชีวิตของเต่ากระ เพื่อประเมินขนาดประชากรเต่ากระในประเทศไทยและปัจจัยเสี่ยงที่มีผลต่อการลดลงของประชากรเต่ากระในบริเวณอ่าวไทย โดยมีแหล่งข้อมูล ดังนี้

- เอกสารการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์ทางทะเล ครั้งที่ 1-5 (พ.ศ. 2555 – 2559)
- สำนักข่าว กรมประชาสัมพันธ์ พ.ศ. 2560 – 2561
- Facebook ทช. กิจกรรม ทช. ข่าวสาร ทช. ห้องสมุดอิเล็กทรอนิกส์ ทช. และ สรุปรายวัน ของกรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง ช่วงปี พ.ศ. 2558 – 2561
- บันทึกข้อมูลเต่ากระของมูลนิธิฟื้นฟูทรัพยากรทะเลสยาม ช่วงปี พ.ศ. 2552 – 2560

- Facebook และ ข่าวกิจกรรม ของศูนย์อนุรักษ์พันธุ์เต่าทะเล กองทัพเรือ ช่วงปี พ.ศ. 2559 – 2561
- ข่าวออนไลน์ต่าง ๆ เช่น เดลินิวส์ มติชนออนไลน์ เมเนเจอร์ออนไลน์ ไทยรัฐออนไลน์ ช่วงปี พ.ศ. 2556 – พฤษภาคม พ.ศ. 2561



บทที่ 4

ผลการศึกษาและอภิปรายผลการศึกษา

4.1 การศึกษาภาวะพหุสัณฐานของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ (mitochondrial DNA polymorphism)

จากการพบเต่ากระขึ้นวางไข่อย่างต่อเนื่องที่บริเวณเกาะทะเล ไรส์แลนด์ รีสอร์ท จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ทางมูลนิธิฟื้นฟูทรัพยากรทะเลสยามจึงได้จัดตั้งโครงการอนุรักษ์พันธุ์เต่าทะเลหายากขึ้น เพื่อเลี้ยงดูและเพิ่มอัตราการรอดของลูกเต่ากระก่อนปล่อยคืนสู่ธรรมชาติ โดยมีการจัดบันทึกข้อมูลการขึ้นวางไข่ของเต่ากระเพศเมีย (แม่เต่า) รวมถึงมีการสร้างหลุมเพาะฟักกิ่งธรรมชาติและโรงเรือนอนุบาลลูกเต่ากระ ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2554 เป็นต้นมา

ในปี พ.ศ. 2557 ได้รวบรวมข้อมูลการขึ้นวางไข่ของเต่ากระเพศเมีย จำนวนไข่ และจำนวนลูกเต่ากระแรกเกิดจากบันทึกข้อมูลของมูลนิธิฟื้นฟูทรัพยากรทะเลสยาม และเก็บตัวอย่างเลือดจากลูกเต่ากระจำนวน 5 รัง รวมทั้งสิ้น 379 ตัว ดังรายละเอียดในตารางที่ 4 – 1 เพื่อนำไปศึกษาในห้องปฏิบัติการ นอกจากนี้ เก็บตัวอย่างเลือดเต่ากระเพิ่มเติมจากศูนย์อนุรักษ์พันธุ์เต่าทะเล เกาะมัน-ใน จังหวัดระยอง จำนวน 32 ตัวซึ่งมีช่วงอายุที่แตกต่างกัน สำหรับนำมาใช้ตรวจสอบความเหมาะสมของ primer ในการจำแนกความแตกต่างของลำดับเบสในเต่ากระเท่านั้น

ตารางที่ 4 - 1 การเก็บตัวอย่างลูกเต่ากระดงที่เกิดขึ้นปี พ.ศ. 2557 ณ เกาะทะเล จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ และ เต่ากระ ณ เกาะมันใน จังหวัดระยอง

พื้นที่เก็บตัวอย่าง	ช่วงอายุ (ปี)	รัง	จำนวนไข่ (ฟอง)	ลูกเต่าแรกเกิด (ตัว)	จำนวนตัวอย่างที่เลือก	จำนวนตัวอย่างที่ใช้ศึกษาไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอ	จำนวนตัวอย่างที่ใช้ศึกษานิวเคลียร์ดีเอ็นเอ	น้ำหนัก (กิโลกรัม)	ความยาวกระดอง (เซนติเมตร)		ความกว้างกระดอง (เซนติเมตร)		
									แนวโค้ง	แนวตรง	แนวโค้ง	แนวตรง	
เกาะทะเล จังหวัดประจวบคีรีขันธ์	1	1	131	113	7	51	0.5-1.3	16.0-23.0	15.0-22.0	14.5-21.0	11.5-17.0		
		2 ⁽¹⁾	161	150	-	-	-	-	-	-	-	-	
		3	163	136	9	54	0.3-1.1	13.0-22.0	12.5-21.5	12.0-19.5	11.0-18.0		
		4 ⁽²⁾	167	132	-	-	-	-	-	-	-	-	
		5	153	132	8	51	0.3-1.1	14.5-22.5	14.0-22.0	13.0-20.5	11.0-16.0		
		6	163	48	8	41	0.3-1.1	14.5-22.0	14.0-21.0	13.0-19.5	11.0-16.5		
		7	128	17	6	17	0.1-4.9	10.0-16.5	9.5-16.5	9.0-12.0	8.0-12.5		
เกาะมันใน	1-10			22									
จังหวัดระยอง ⁽³⁾	~30			10	9								

หมายเหตุ: (1) เต่ากระถูกนำไปดูแลโดยศูนย์อนุรักษ์พันธุ์เต่าทะเลกองทัพเรือ สัตหีบ จังหวัดกระบี่

(2) เต่ากระถูกนำไปดูแลโดยศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งกระบี่ จังหวัดชลบุรี

(3) ตัวอย่างเลือดเต่ากระจากเกาะมันใน จังหวัดระยอง สำหรับนำมาทดสอบความเหมาะสมของ primer ในการจำแนกความแตกต่าง

ของลำดับเบสในเต่ากระเท่านั้น

นำตัวอย่างมาศึกษาภาวะพหุสัณฐานของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ (mitochondrial DNA polymorphism) โดยสุ่มตัวอย่างเลือดลูกเต่ากระ เกาะทะเล จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ จำนวน 6 – 9 ตัวต่อรัง และ ตัวอย่างเลือดเต่ากระจำนวน 31 ตัวจากเกาะมันใน จังหวัดระยอง มาสกัดดีเอ็นเอและเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมโดยกระบวนการ polymerase chain reaction (PCR) ด้วยคู่ primer ของ LCM15382 และ H950 แล้วนำผลิตภัณฑ์ PCR ไปทำมีความบริสุทธิ์ยิ่งขึ้นก่อนส่งวิเคราะห์ลำดับเบสภายในรูปแบบพันธุกรรม (DNA sequencing) เมื่อแปลผลและวิเคราะห์ข้อมูลจีโนไทป์ของเต่ากระทั้ง 2 พื้นที่ พบว่า ลูกเต่ากระ เกาะทะเล มีรูปแบบพันธุกรรม 1 แฮพโลไทป์ (haplotype) และค่าความหลากหลายทางพันธุกรรม (genetic diversity) เท่ากับ 0 สำหรับเต่ากระ เกาะมันใน พบรูปแบบพันธุกรรมทั้งหมด 9 แฮพโลไทป์ที่มีค่าความหลากหลายของแฮพโลไทป์ (haplotype diversity) เท่ากับ 0.714 ± 0.058 และค่าความหลากหลายของลำดับเบส (nucleotide diversity) เท่ากับ 0.0032 โดยมีรูปแบบพันธุกรรมของเกาะทะเลรวมอยู่ด้วย ดังแสดงในตารางที่ 4 – 2

ตารางที่ 4 - 2 ค่าความหลากหลายทางพันธุกรรม (genetic diversity) ของเต่ากระ เกาะทะเล และ เกาะมันใน ปี พ.ศ. 2561

พื้นที่เก็บตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่างที่ใช้ศึกษาไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ	จำนวนลำดับเบส	H	S	$h \pm SD$	π
เกาะทะเล	38	536	1	0	0	0
เกาะมันใน	31	715	9	12	0.714 ± 0.058	0.0032

หมายเหตุ: 1. H คือ จำนวนแฮพโลไทป์ (haplotype number)

2. S คือ ตำแหน่งของลำดับเบสที่มีความแตกต่าง (polymorphic site)

3. $h \pm SD$ คือ ค่าความหลากหลายของรูปแบบพันธุกรรม \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

4. π คือ ค่าความหลากหลายของลำดับเบส

จากการศึกษาค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมบนไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอของเต่ากระ เกาะทะเล และ เกาะมันใน พบว่า คู่ primer ของ LCM15382 และ H950 มีความเหมาะสมต่อการจำลองและสังเคราะห์สารพันธุกรรมบริเวณ control region เพื่อใช้ตรวจสอบลำดับสารพันธุกรรมใน

ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอที่ได้รับจากเต่ากระเพศเมียโดยตรง โดยสารพันธุกรรม 1 แอปโพลไทป์ที่พบในลูกเต่ากระ เกาะทะเล ปี พ.ศ. 2557 อาจแสดงว่า 1) ลูกเต่ากระเกิดมาจากเต่ากระเพศเมียตัวเดียวกันหรือ 2) ลูกเต่ากระอาจเกิดมาจากเต่ากระเพศเมียหลายตัวที่มีความสัมพันธ์ทางสายเลือดกัน เนื่องจากเต่าเพศเมียหรือแม่เต่าจะส่งผ่านรูปแบบพันธุกรรมแบบเดียวกันให้กับลูกเต่าทุกตัวในรุ่นถัดไป จึงทำให้ลูกเต่าทุกตัวมีรูปแบบพันธุกรรมเหมือนกันและสามารถถ่ายทอดลักษณะดังกล่าวไปยังลูกเต่ารุ่นถัด ๆ ไปได้ (Freeland et al., 2011)

เมื่อพิจารณาข้อมูลการขึ้นวางไข่ของเต่ากระเพศเมียในปี พ.ศ. 2557 จากบันทึกข้อมูลของมูลนิธิฟื้นฟูทรัพยากรทะเลสยาม (ตารางที่ 2 - 4) แสดงข้อมูลที่สอดคล้องกับการศึกษาไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ กล่าวคือ ลูกเต่ากระ เกาะทะเล เกิดมาจากเต่ากระเพศเมียตัวเดียวกัน แสดงให้เห็นว่าเต่ากระเพศเมียสามารถวางไข่ได้มากกว่า 1 ครั้งในฤดูวางไข่ (multiple nesting) โดยมีช่วงเวลาการวางไข่แต่ละครั้งประมาณ 15 วัน (ตารางที่ 4 - 3)

ตารางที่ 4 - 3 การวางไข่ของเต่ากระ *Eretmochelys imbricata* บนเกาะทะเล จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ในปี พ.ศ. 2557 (มูลนิธิฟื้นฟูทรัพยากรทะเลสยาม, 2558)

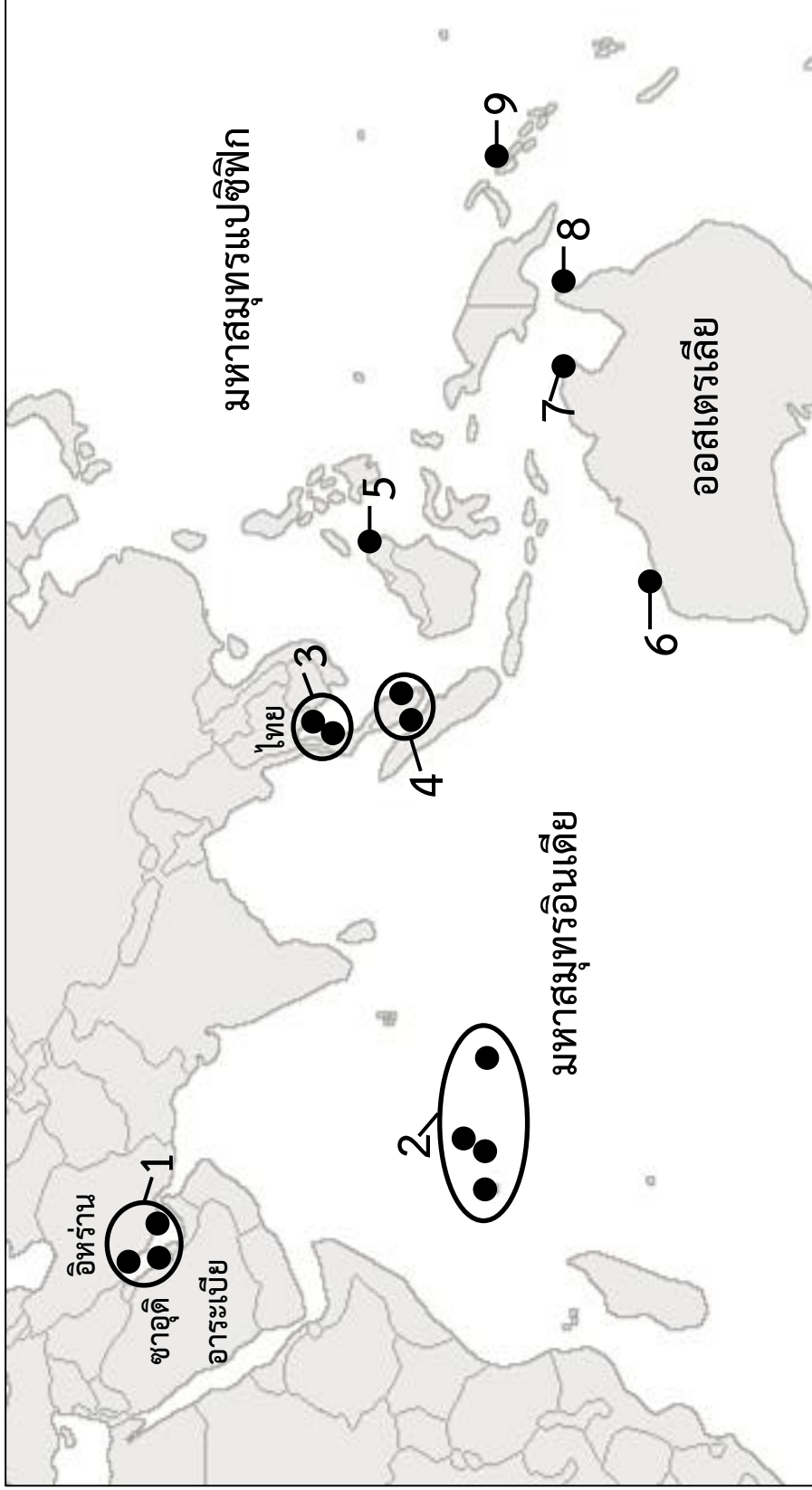
รัง	จำนวนไข่ (ฟอง)	จำนวน ตัวอย่าง	วันที่วางไข่ (พ.ศ. 2557)	ระยะห่างจากการวางไข่ ครั้งก่อนหน้า (วัน)
1	131	113	21 มิถุนายน	-
2	161	-	5 กรกฎาคม	14
3	163	110	20 กรกฎาคม	15
4	167	-	3 สิงหาคม	14
5	153	98	19 สิงหาคม	16
6	163	41	3 กันยายน	15
7	128	17	18 กันยายน	15

ผลการศึกษาที่แสดงว่าเต่ากระเพศเมียสามารถวางไข่ได้มากกว่า 1 ครั้งในฤดูวางไข่ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Allen และคณะ (2010) ที่ศึกษาและติดตามเต่ากระบริเวณเกาะ Cousin

และ เกาะ Cousine ประเทศเซเชลส์ ตั้งแต่ปี ค.ศ. 1999 – 2009 โดยในช่วงปี ค.ศ. 2006 – 2009 พบเต่ากระเพศเมียขึ้นสำรวจและวางไข่บริเวณพื้นที่ทั้ง 2 เกาะ และสามารถวางไข่ได้ 0 – 7 รังในฤดูวางไข่ โดยมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 2.6 รังต่อเต่ากระเพศเมีย 1 ตัว อีกทั้งยังสอดคล้องกับบันทึกข้อมูลการขึ้นวางไข่ของเต่ากระเพศเมีย โดยมูลนิธิฟื้นฟูทรัพยากรทะเลสยาม และเกาะทะเล ไรส์แลนด์ รีสอร์ท (ตารางที่ 2 – 4) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเต่ากระเพศเมีย 1 ตัวมีค่าเฉลี่ยการวางไข่ 2 – 7 รัง

เมื่อนำข้อมูลทางพันธุกรรมของเต่ากระที่พบในประเทศไทยมาวิเคราะห์ความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากร (genetic differentiation) ของเต่ากระที่พบในแถบมหาสมุทรอินเดีย – มหาสมุทรแปซิฟิก (ภาพที่ 4 – 1; Vargas et al., 2015; Nishizawa et al., 2016) โดยแบ่งกลุ่มประชากรออกเป็น 9 กลุ่ม ได้แก่

1. บริเวณอ่าวเปอร์เซีย ประเทศอิหร่าน และ ประเทศซาอุดีอาระเบีย
2. เกาะ Amirantes เกาะ Platte เกาะ Granitic ประเทศเซเชลส์ และ หมู่เกาะชาโลมอนในมหาสมุทรอินเดีย
3. เกาะทะเล และ เกาะมันใน ประเทศไทย
4. คาบสมุทรมมาเลเซีย เกาะเรตัง รัฐมะละกา และ รัฐยะโฮร์ ประเทศมาเลเซีย
5. เกาะบอร์เนียว ประเทศมาเลเซีย
6. เกาะ Rosemary และ เกาะ Varanus ประเทศออสเตรเลีย
7. Arnhem ประเทศออสเตรเลีย
8. เกาะ Milman รัฐควีนส์แลนด์
9. หมู่เกาะโซโลมอน



ภาพที่ 4 - 1 พื้นที่ที่พบเต่ากระ *Eretmochelys imbricata* ในแถบมหาสมุทรอินเดีย - มหาสมุทรแปซิฟิก; 1 บริเวณอ่าวอาระเบีย ประเทศอินโดนีเซียและประเทศไทย; 2 เกาะ Amirantes เกาะ Granitic ประเทศเซเชลส์ และ หมู่เกาะซาลอมอนในมหาสมุทรอินเดีย; 3 เกาะทะเลและเกาะมันใน ประเทศไทย; 4 คาบสมุทรมาเลเซีย เกาะเรตัง รัฐสุมาตรา และ รัฐยะโฮร์ ประเทศมาเลเซีย; 5 เกาะบอร์เนียว ประเทศมาเลเซีย; 6 เกาะ Rosemary และ เกาะ Varanus ประเทศออสเตรเลีย; 7 Arnhem ประเทศออสเตรเลีย; 8 เกาะ Milman รัฐควีนส์แลนด์; 9 หมู่เกาะโซโลมอน (ตัดแปลงข้อมูลจาก Outline World Map Image, 2009)

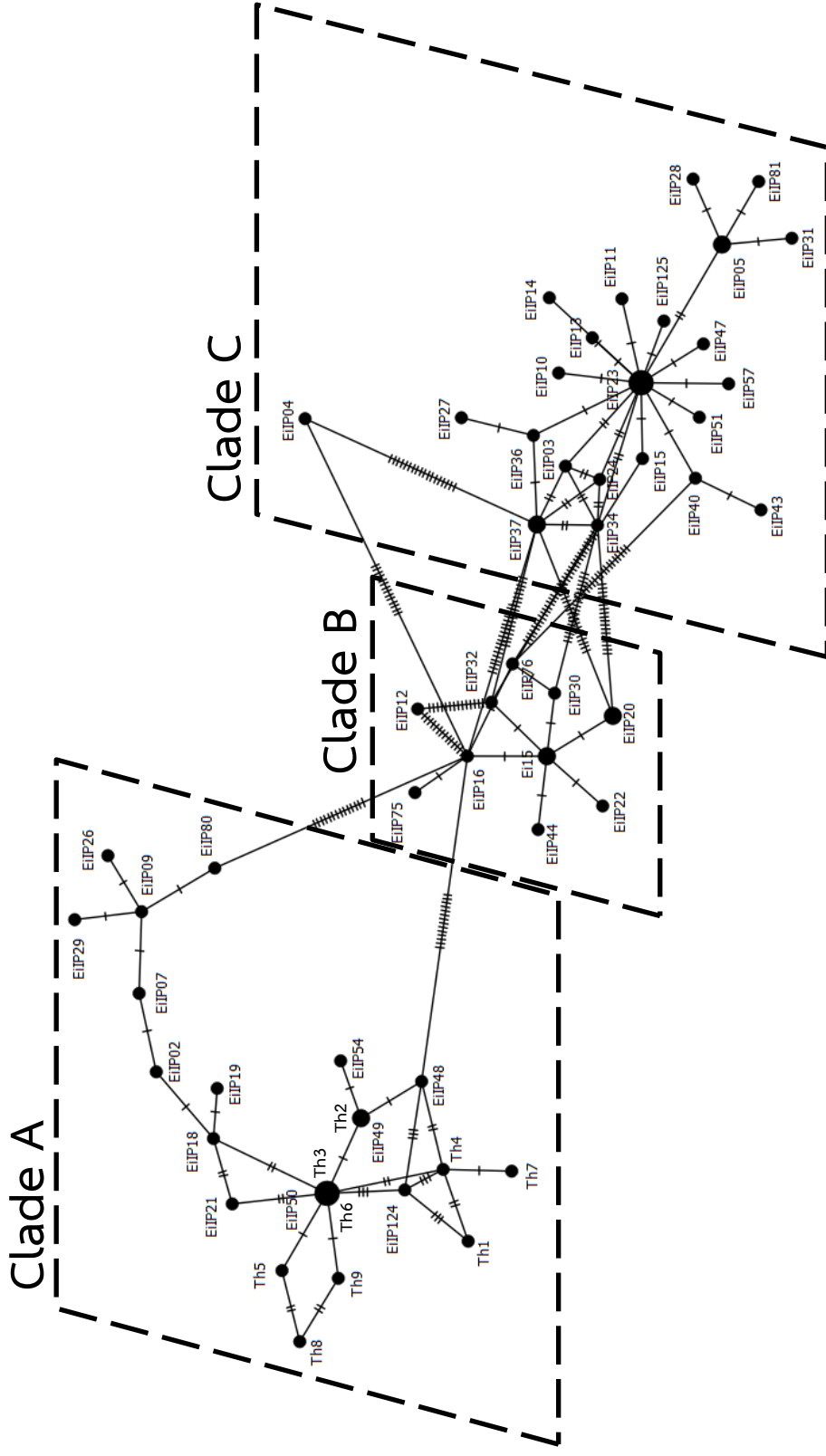
จากผลการวิเคราะห์พบว่าเต่ากระทะที่พบในประเทศไทยมีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้เคียงกับเต่ากระทะในแถบฝั่งตะวันออกของประเทศมาเลเซีย Arnhem ประเทศออสเตรเลีย และ เกาะ Milman รัฐควีนส์แลนด์ ($F_{st} = 0.36 - 0.47$) ในทางตรงกันข้ามกลับมีความแตกต่างทางพันธุกรรมกับเต่ากระทะที่พบในหมู่เกาะต่าง ๆ ของมหาสมุทรอินเดีย ฝั่งตะวันตกของประเทศมาเลเซีย หมู่เกาะโซโลมอน ฝั่งตะวันตกของประเทศออสเตรเลีย ประเทศอิหร่าน และ ประเทศซาอุดีอาระเบียในบริเวณอ่าวเปอร์เซียเป็นอย่างมาก ($F_{st} = 0.52 - 0.94$) ดังรายละเอียดในตารางที่ 4 - 4

เมื่อวิเคราะห์หาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการชาติพันธุ์ด้วยข้อมูลระดับโมเลกุล (molecular phylogenetic) ของเต่ากระทะที่อาศัยอยู่ในแถบมหาสมุทรอินเดีย - มหาสมุทรแปซิฟิกทั้งหมด พบความสอดคล้องของการแบ่งกลุ่มประชากรเต่ากระทะในแผนภูมิต้นไม้ทั้ง 3 รูปแบบ กล่าวคือ การวิเคราะห์ haplotype network (ภาพที่ 4 - 2) การวิเคราะห์ maximum likelihood (ภาพที่ 4 - 3) และการวิเคราะห์ Bayesian inference (ภาพที่ 4 - 4) โดยกลุ่มประชากรเต่ากระทะแบ่งออกเป็น 3 clade ได้แก่ clade A ประกอบด้วย เต่ากระทะที่พบในประเทศไทย ประเทศมาเลเซีย Arnhem ประเทศออสเตรเลีย เกาะ Milman รัฐควีนส์แลนด์ และ หมู่เกาะในมหาสมุทรอินเดีย สำหรับ clade B ประกอบด้วยเต่ากระทะที่พบในมหาสมุทรอินเดียเป็นส่วนใหญ่ รวมถึงเต่ากระทะที่พบทางฝั่งตะวันออกของประเทศมาเลเซีย และ clade C ประกอบด้วยเต่ากระทะที่อาศัยอยู่ในอ่าวเปอร์เซีย มหาสมุทรอินเดีย ฝั่งตะวันออกของประเทศมาเลเซีย ประเทศออสเตรเลีย รัฐควีนส์แลนด์ และหมู่เกาะโซโลมอน จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางพันธุกรรมและการหาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการชาติพันธุ์ด้วยข้อมูลระดับโมเลกุลของเต่ากระทะในแถบมหาสมุทรอินเดีย - มหาสมุทรแปซิฟิกสามารถยืนยันได้ว่าเต่ากระทะมีการกระจายตัวอย่างกว้างขวางในเขตร้อนและกึ่งเขตร้อนเพื่อหาแหล่งอาหารและแหล่งวางไข่ที่เหมาะสมต่อประชากรรุ่นถัดไป

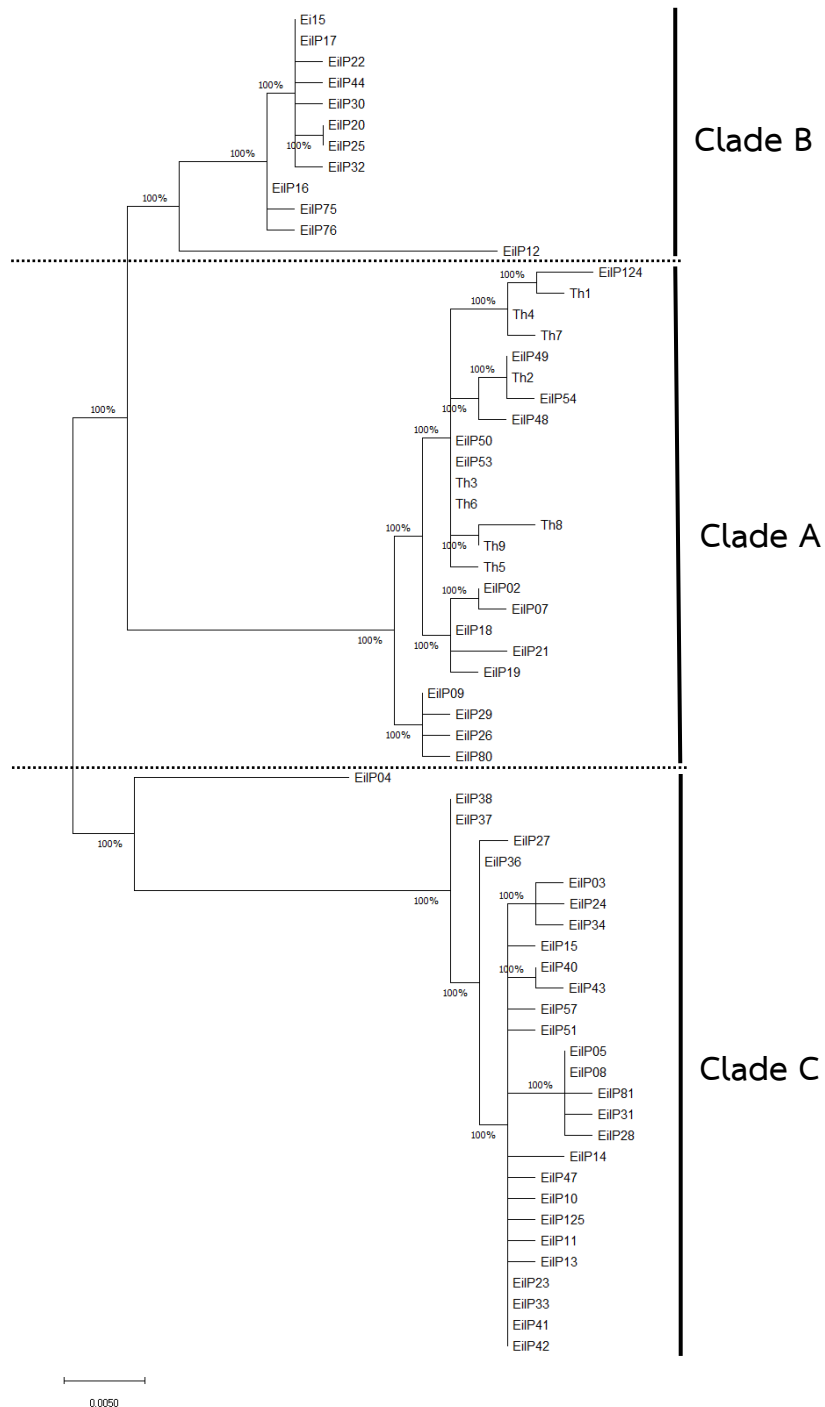
ตารางที่ 4 - 4 ความแตกต่างทางพันธุกรรม (F_{ST}) ระหว่างกลุ่มประชากรของแต่ละ *Eretmochelys imbricata* ในมหาสมุทรอินเดีย – มหาสมุทรแปซิฟิก
 ที่ $p < 0.05$

	Th	PerGulf	IndOcean	West Maly	East Maly	West Aust	nAL	nQM	Solo
Th									
PerGulf	0.9434 ($P < 0.0001$)								
IndOcean	0.5174 ($P < 0.0001$)	0.7509 ($P < 0.0001$)							
West Maly	0.6897 ($P < 0.0001$)	0.9699 ($P < 0.0001$)	0.6182 ($P < 0.0001$)						
East Maly	0.3594 ($P < 0.0001$)	0.4786 ($P < 0.0001$)	0.3661 ($P < 0.0001$)	0.4121 ($P < 0.0001$)					
West Aus	0.9374 ($P < 0.0001$)	0.5579 ($P < 0.0001$)	0.7221 ($P < 0.0001$)	0.9764 ($P < 0.0001$)	0.4466 ($P < 0.0001$)				
nAL	0.4709 ($P < 0.0001$)	0.4582 ($P < 0.0001$)	0.4130 ($P < 0.0001$)	0.5740 ($P < 0.0001$)	0.1017 ($P < 0.0001$)	0.3673 ($P < 0.0001$)			
nQM	0.4502 ($P < 0.0001$)	0.4722 ($P < 0.0001$)	0.3880 ($P < 0.0001$)	0.5586 ($P < 0.0001$)	0.0900 ($P = 0.0020$)	0.3918 ($P < 0.0001$)	-0.0108 ($P = 0.6348$)		
Solo	0.9340 ($P < 0.0001$)	0.2785 ($P < 0.0001$)	0.7040 ($P < 0.0001$)	0.9759 ($P < 0.0001$)	0.4309 ($P < 0.0001$)	0.5929 ($P < 0.0001$)	0.3851 ($P < 0.0001$)	0.3916 ($P < 0.0001$)	

หมายเหตุ: Th คือ ประเทศไทย; PerGulf = บริเวณอ่าวเปอร์เซีย ประเทศอิหร่านและประเทศซาอุดีอาระเบีย; IndOcean = เกาะ Amirantes เกาะ Platte
 เกาะ Granitic ประเทศเซเชลส์ และ หมู่เกาะชาโลมอนในมหาสมุทรอินเดีย; West Maly = คาบสมุทรมมาเลเซีย เกาะเรตัง รัฐมะละกา และ รัฐยะโฮร์
 ฝั่งตะวันตกของประเทศมาเลเซีย; East Maly = เกาะบอร์เนียว ฝั่งตะวันออกของประเทศมาเลเซีย; West Aust = เกาะ Rosemary และ เกาะ Varanus
 ฝั่งตะวันตกของประเทศออสเตรเลีย; nAL = Arnhem ประเทศออสเตรเลีย; nQM = เกาะ Milman รัฐควีนส์แลนด์; Solo = หมู่เกาะโซโลมอน



ภาพที่ 4 - 2 Haplotype network แสดงการแบ่งกลุ่มรูปแบบพันธุกรรม จำนวน 64 แอสไพโลไทป์ (567 คูเบส) ของเต่ากระ *Eretmochelys imbricata* ในแถบมหาสมุทรอินเดีย - มหาสมุทรแปซิฟิก โดยมีลำดับเบสที่แตกต่างกันอย่างน้อย 66 ตำแหน่ง
 หมายเหตุ: ข้อมูลทางพันธุกรรมของเต่ากระที่พบในประเทศไทยแสดงด้วยสัญลักษณ์ Th1 ถึง Th9



ภาพที่ 4 - 3 แผนภูมิต้นไม้แสดงการแบ่งกลุ่มประชากรเต่ากระ *Eretmochelys imbricata* ในแถบมหาสมุทรอินเดีย – มหาสมุทรแปซิฟิก ด้วยวิธีการคำนวณความเป็นไปได้แบบ maximum likelihood โดยใช้โมเดล Tamura 3 – parameter

หมายเหตุ: 1. ตัวเลขบริเวณ node แสดงถึงค่าความน่าจะเป็นของแผนภูมิต้นไม้

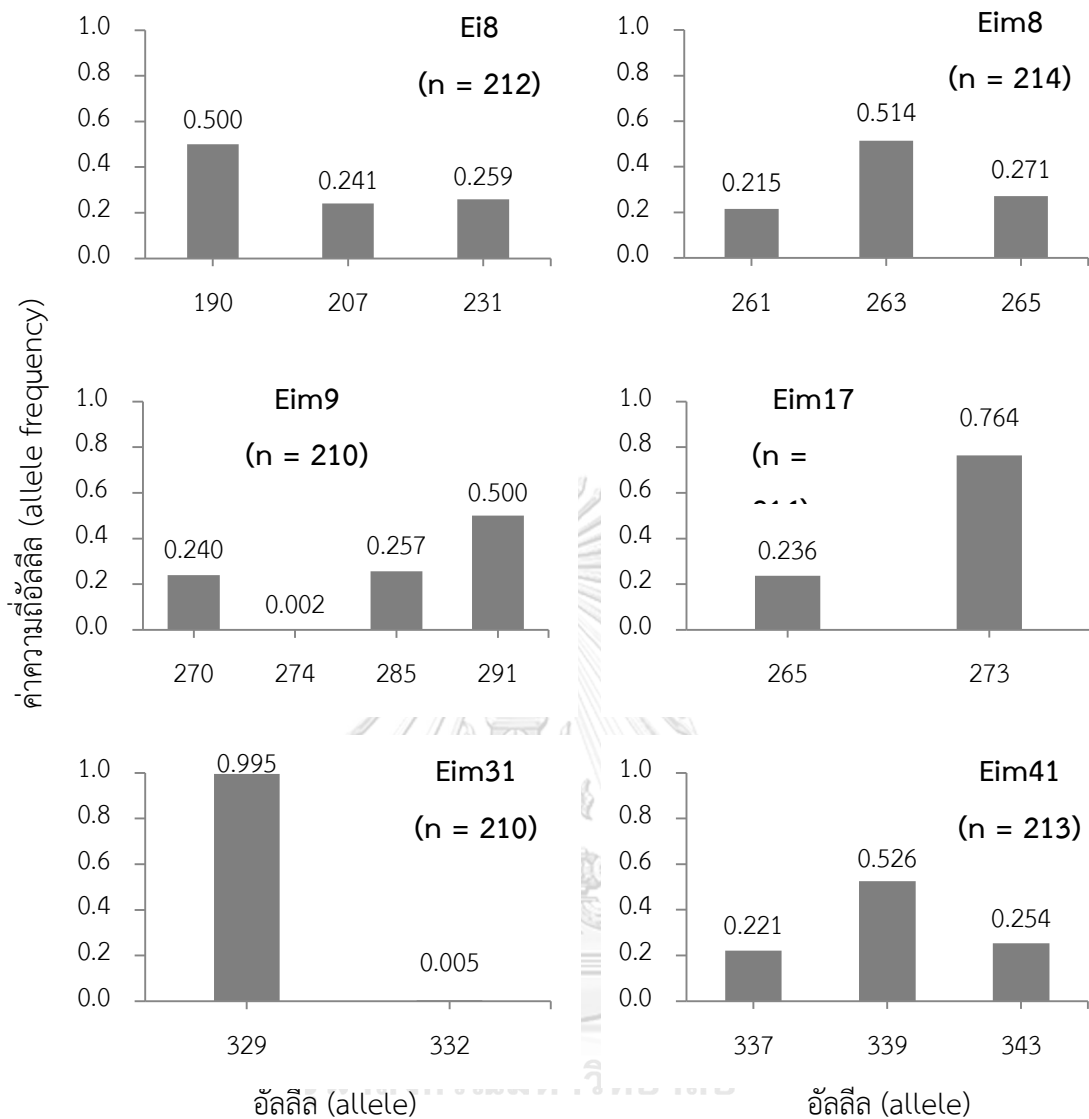
2. ข้อมูลทางพันธุกรรมของเต่ากระที่พบในประเทศไทยแสดงด้วยสัญลักษณ์ Th1 ถึง Th9

4.2 การศึกษาภาวะพหุสัณฐานของไมโครแซทเทลไลต์ (microsatellite polymorphism) บนนิวเคลียร์ดีเอ็นเอ

จากตัวอย่างเลือดลูกเต่ากระจำนวน 5 รังที่เกิดในปี พ.ศ. 2557 นำตัวอย่างมาศึกษาภาวะพหุสัณฐานของไมโครแซทเทลไลต์ (microsatellite polymorphism) โดยสุ่มตัวอย่างเลือดลูกเต่ากระเกาะทะเล จังหัดประจวบคีรีขันธ์ จำนวน 17 – 54 ตัวต่อรัง รวมทั้งสิ้น 214 ตัว (ตารางที่ 4 – 1) มาสกัดดีเอ็นเอ เพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วยกระบวนการ polymerase chain reaction (PCR) โดยใช้ primer ที่ติดสารเรืองแสง (fluorescent label) และมีความจำเพาะต่อตำแหน่งเครื่องหมายทางพันธุกรรมที่ผ่านการตรวจสอบค่าสมดุลฮาร์ดี – ไวน์เบิร์ก (Hardy – Weinberg Equilibrium) จำนวน 6 ตำแหน่ง (loci) ได้แก่ Ei8 Eim8 Eim9 Eim17 Eim31 และ Eim41 (ภาคผนวก ค – 6) เมื่อได้ผลิตภัณฑ์ PCR ส่งวิเคราะห์ microsatellite fragment เพื่ออ่านค่าจีโนไทป์ของลูกเต่ากระซึ่งแสดงในรูปแบบขนาดของอัลลีล (allele size) โดยจากการแปลผลและวิเคราะห์ข้อมูล พบว่าตำแหน่งเครื่องหมายทางพันธุกรรมเหล่านี้ มีค่าความถี่อัลลีล (allele frequency) ระหว่าง 0.002 – 0.995 (ภาพที่ 4 – 5)

เมื่อนำผลการศึกษาภาวะพหุสัณฐานของไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอซึ่งตรวจสอบพบเต่ากระเพศเมีย (แม่เต่า) จำนวน 1 ตัวจากข้อมูลสารพันธุกรรมของลูกเต่ากระที่เกิดในปี พ.ศ. 2557 ณ เกาะทะเล จังหัดประจวบคีรีขันธ์ (หัวข้อ 4.1) มาพิจารณาร่วมกับทฤษฎีการถ่ายทอดข้อมูลทางพันธุกรรมจากรุ่นพ่อ – แม่สู่รุ่นลูกอย่างละ 1 อัลลีล (Freeland et al., 2011) เพื่อคาดการณ์จำนวนเต่ากระเพศผู้ (พ่อเต่า) บริเวณเกาะทะเล จังหัดประจวบคีรีขันธ์ โดยจะพิจารณาจากข้อมูลจีโนไทป์แบบโฮโมไซโกสของลูกเต่ากระในทุกรัง (ตารางที่ 4 – 5) เพื่อหาจีโนไทป์ของเต่ากระเพศเมีย และประเมินจำนวนเต่ากระเพศผู้จากข้อมูลอัลลีลที่เหลือของลูกเต่ากระในทุกรัง โดยสามารถแบ่งการประเมินจำนวนเต่ากระเพศผู้ (พ่อเต่า) ออกเป็น 2 กรณี คือ

1. เต่ากระเพศผู้มีรูปแบบอัลลีลเป็นเฮเทอโรไซโกต (heterozygote) จะพบจำนวนเต่ากระเพศผู้อย่างน้อย 1 ตัว
2. เต่ากระเพศผู้มีรูปแบบอัลลีลเป็นโฮโมไซโกต (homozygote) พบจำนวนเต่ากระเพศผู้สูงสุด 4 ตัว (multiple paternity)



ภาพที่ 4 - 5 ค่าความถี่อัลลีล (allele frequency) ของตำแหน่งเครื่องหมายทางพันธุกรรมของไมโครแซทเทลไลต์จำนวน 6 ตำแหน่ง (loci) ได้แก่ Ei8 Eim8 Eim9 Eim17 Eim31 และ Eim41 จากลูกเต่ากระ *Eretmochelys imbricata* ที่เกิดในปี พ.ศ. 2557 ณ เกาะทะลุ จังหวัดประจวบคีรีขันธ์

ตารางที่ 4 - 5 การประมาณจำนวนตำการเพศผู้ *Eretmochelys imbricata* จากจีโนมป์และรูปแบบอัลลีลของลูกตำการที่เกิดในปี พ.ศ. 2557
 ณ เกาะทะเล จังหวัดประจวบคีรีขันธ์

ตำแหน่ง (Locus)	จีโนมป์ ลูกตำ	รัง						จีโนมป์ ตำการเพศเมีย	การคาคการณจำนวนตำการเพศผู้	
		1	3	5	6	7	ต่ำสุด		สูงที่สุด	
Ei8 (n = 212)	190/190	13	8	18	12	5	190/207	2	3	
	190/207	8	19	6	8	4				
	190/231	14	13	10	13	-				
	207/207	-	1	-	-	-				
Eim8 (n = 214)	207/231	14	13	17	8	8	263/265	1	2	
	unknown	2	-	-	-	-				
	261/263	13	7	13	9	5				
	261/265	7	13	11	11	4				
Eim8 (n = 214)	263/263	11	15	15	8	3	263/265	1	2	
	263/265	20	19	12	13	5				

ตารางที่ 4 – 5 การประมาณจำนวนตำแหน่งการเพศผู้ *Eretmochelys imbricata* จากจีโนมและรูปแบบอัลลีลของลูกเต่าทะเลที่เกิดในปี พ.ศ. 2557
ณ เกาะทะเล จันทบุรี ประจวบคีรีขันธ์ (ต่อ)

ตำแหน่ง (Locus)	จีโนม ลูกเต่า	รัง						จีโนม เต่าทะเลเมีย	การคาดการณ์จำนวนตำแหน่งการเพศผู้	
		1	3	5	6	7	ต่ำสุด		สูงสุด	
Eim9 (n = 210)	270/285	11	11	20	11	4	285/291		2	4
	270/291	13	16	7	6	2				
	274/285	-	1	-	-	-				
	285/291	14	8	14	10	4				
	291/291	12	17	10	13	6				
	unknown	1	1	-	1	1				
Eim17 (n = 214)	265/273	22	25	24	20	10	273/273	1	2	
	273/273	29	29	27	21	7				

ตารางที่ 4 – 5 การประมาณจำนวนตำแหน่งการเพคผู้ *Eretmochelys imbricata* จากจีโนมแบบอัลลีลของลูกเต่ากระที่เกิดในปี พ.ศ. 2557
ณ เกาะทะเล จันทบุรี ประจวบคีรีขันธ์ (ต่อ)

ตำแหน่ง (Locus)	จีโนมป์ ลูกเต่า	รัง							จีโนมป์ เต่ากระเพศเมีย	การคาดการณ์จำนวนตำแหน่งเพคผู้	
		1	3	5	6	7	ต่ำสุด	สูงสุด			
Eim31 (n = 210)	329/329	50	52	48	41	17					
	329/332	-	2	-	-	-		329/329	1	2	
	unknown	1	-	3	-	-					
Eim41 (n = 213)	337/339	10	13	12	8	6					
	337/343	9	11	13	9	3					
	339/339	14	15	11	11	5		337/339	1	2	
	339/343	17	15	15	13	3					
	unknown	1	-	-	-	-					

จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าสามารถใช้เครื่องหมายทางพันธุกรรมของไมโครแซทเทลไลต์ในการประเมินขนาดประชากรของเต่ากระได้ โดยพิจารณาจากข้อมูลจีโนไทป์ของลูกเต่ากระร่วมกับทฤษฎีการถ่ายทอดข้อมูลพันธุกรรมจากรุ่นพ่อ – แม่สู่รุ่นลูก อาจสรุปได้ว่าพบเต่ากระเพศผู้จำนวน 1 – 4 ตัว (ต่ำสุด – สูงสุด) ที่เป็นพ่อของลูกเต่ากระที่เกิดในปี พ.ศ. 2557 ณ เกาะทะเลลู จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ทั้งนี้ หากมีข้อมูลทางพันธุกรรมของเต่ากระเพศเมีย (แม่เต่า) จะช่วยให้การประเมินขนาดประชากรสามารถทำได้อย่างมีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น

การตรวจพบจำนวนเต่ากระเพศผู้มากกว่า 1 ตัวที่มีแหล่งผสมพันธุ์และวางไข่บริเวณเกาะทะเลลู จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ในปี พ.ศ. 2557 สอดคล้องกับการศึกษาภาวะการมีพ่อหลายตัว (multiple paternity) ของเต่ากระ *Eretmochelys imbricata* ในรัฐซาบาร์ท ประเทศมาเลเซีย โดยตรวจพบจำนวนเต่ากระเพศผู้ 2 ตัว จากลูกเต่ากระที่ทราบจีโนไทป์ของเต่ากระเพศเมีย โดยการใช้เครื่องหมายทางพันธุกรรมของไมโครแซทเทลไลต์จำนวน 5 ตำแหน่ง (Joseph and Shaw, 2010) นอกจากนี้ ยังตรวจพบจำนวนเต่ามะเฟืองเพศผู้ *Dermochelys coriacea* อย่างน้อย 2 หรือ 3 ตัว บริเวณ Playa Gandoca ประเทศคอสตาริกา จากการศึกษาในลูกเต่ามะเฟืองด้วยการใช้เครื่องหมายทางพันธุกรรมของไมโครแซทเทลไลต์จำนวน 5 ตำแหน่ง (Figgner et al., 2016) และในการศึกษาลูกเต่าตนุ *Chelonia mydas* ด้วยการใช้อาณัติเครื่องหมายทางพันธุกรรมของไมโครแซทเทลไลต์จำนวน 6 ตำแหน่ง พบจำนวนเต่าตนุเพศผู้อย่างน้อย 2 ตัว หรือ 3 ตัว บริเวณชายฝั่ง Kosgoda ประเทศศรีลังกา (Ekanayake et al., 2013) เช่นกัน

ในการศึกษานี้ ได้เลือกใช้เครื่องหมายทางพันธุกรรมจำนวน 6 ตำแหน่ง (loci) จากงานวิจัยของ FitzSimmons et al. (1995) และ Miro-Herrans (2008) ที่ผ่านการทดสอบสมดุลฮาร์ดี – ไวน์เบิร์ก (Hardy – Weinberg Equilibrium) แล้ว เมื่อนำข้อมูลอัลลีลมาตรวจสอบค่าพื้นฐานทางทฤษฎีพบการเกิด linkage disequilibrium ในตำแหน่งเครื่องหมายทางพันธุกรรมจำนวน 4 คู่ ที่ P -value < 0.05 (ตารางที่ 4 – 6) และไม่มีการปรากฏ null allele ในเครื่องหมายทางพันธุกรรมทุกตำแหน่ง แต่พบการเบี่ยงเบนจากทฤษฎีสมดุลฮาร์ดี – ไวน์เบิร์กของเครื่องหมายทางพันธุกรรมจำนวน 5 ตำแหน่งที่ P -value < 0.0001 (ตารางที่ 4 – 7) โดยพบการปรากฏของจีโนไทป์แบบเฮเทอโรไซโกตเป็นจำนวนมาก (heterozygous excess) แต่พบอัตราการเกิด inbreeding ต่ำ โดยมีค่า F_{IS} อยู่ระหว่าง -0.3067 ถึง -0.0024 ทั้งนี้ อาจเกิดจากการศึกษาตัวอย่างในกลุ่มประชากรที่มีขนาดเล็ก (Balloux, 2004) ซึ่งเกิดจากเต่ากระเพศเมียเพียง 1 ตัว และ เต่ากระเพศผู้จำนวน 1 – 4 ตัว ทำให้

ข้อมูลทางพันธุกรรมของลูกเต่ากระที่เกิดในปี พ.ศ. 2557 แสดงค่าที่ไม่สอดคล้องกับสมดุลฮาร์ดี - ไวน์เบิร์กแม้จะมีค่า heterozygote observed (H_o) และ ค่า Heterozygote expected (H_e) ที่ใกล้เคียงกัน

ตารางที่ 4 - 6 ความน่าจะเป็นของการจับคู่กันของตำแหน่งเครื่องหมายทางพันธุกรรมในอัลลีลลูกเต่ากระ *Eretmochelys imbricata* ที่เกิดในปี พ.ศ. 2557 ณ เกาะทะลุ จังหวัดประจวบคีรีขันธ์

การจับคู่ของตำแหน่ง เครื่องหมายทางพันธุกรรม		โอกาสของการเกิด จีโนไทป์ร่วมกันระหว่าง เครื่องหมายทางพันธุกรรม	Linkage disequilibrium (P-value)
Ei8	Eim9	0.0151	0.656
Ei8	Eim41	0.0149	0.286
Eim8	Ei8	0.0149	0.445
Eim8	Eim9	0.0010	0.003
Eim8	Eim17	0.0018	0.960
Eim8	Eim31	0.0031	0.241
Eim8	Eim41	0.0000	0.000
Eim9	Eim41	0.0089	0.097
Eim17	Ei8	0.0099	0.511
Eim17	Eim9	0.0046	0.889
Eim17	Eim31	0.0000	1.000
Eim17	Eim41	0.0033	0.920
Eim31	Ei8	0.0009	0.010
Eim31	Eim9	0.0009	0.009
Eim31	Eim41	0.0032	0.353

ตารางที่ 4 - 7 การศึกษาภาวะพหุสัณฐานของไมโครแซทเทลไลท์ของลูกเต่าทะเล *Eretmochelys imbricata* ที่เกิดในปี พ.ศ. 2557 ณ เกาะทะเลจันทบุรี โดยใช้เครื่องหมายทางพันธุกรรมบนไมโครแซทเทลไลท์ (microsatellite markers) จำนวน 6 ตำแหน่ง

ตำแหน่ง (Locus)	จำนวนตัวอย่างที่ใช้ศึกษา นิวเคลียร์ดีเอ็นเอ	N_a	H_o	H_e	Null alleles	HWE	H-deficiency (P-value)	H-excess (P-value)	F_{IS}
Ei8	212	3	0.731	0.626	0.000	S	1.000	<0.0001	-0.1678
Eim8	214	3	0.752	0.618	0.000	S	1.000	<0.0001	-0.2189
Eim9	210	4	0.724	0.628	0.000	S	1.000	<0.0001	-0.1538
Eim17	214	2	0.472	0.361	0.000	S	1.000	<0.0001	-0.3067
Eim31	214	2	0.010	0.010	0.000	NS	1.000	0.9976	-0.0024
Eim41	213	3	0.737	0.612	0.000	S	1.000	<0.0001	-0.2050

หมายเหตุ: 1. N_a คือ จำนวนอัลลีลที่พบ; H_o คือ ค่า Heterozygote observed; H_e คือ ค่า Heterozygote expected; HWE คือ สมดุลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก;

H-deficiency คือ ค่า heterozygote deficit; H-excess คือ ค่า heterozygote excess; F_{IS} คือ ค่าสัมประสิทธิ์ของการเกิด inbreeding

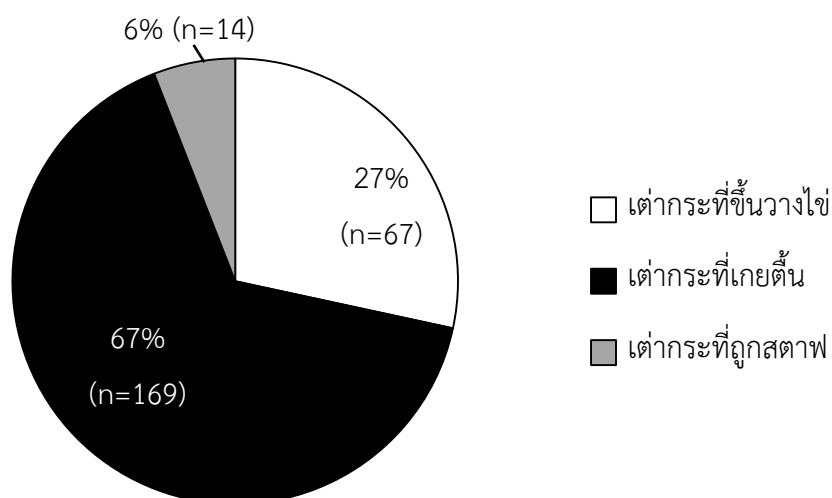
2. S คือ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ P -value <0.0001 (degree of freedom = 2)

4.3 การประเมินขนาดประชากรและปัจจัยเสี่ยงที่มีผลกระทบต่อประชากรของเต่ากระในบริเวณอ่าวไทย

จากการสืบค้นและรวบรวมข้อมูลต่าง ๆ เกี่ยวกับการพบเห็นเต่ากระในบริเวณอ่าวไทย ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2538 – 2561 (ภาคผนวก ง.) โดยมีแหล่งข้อมูล ดังนี้

- เอกสารการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์ทางทะเล ครั้งที่ 1 – 5 (พ.ศ. 2555 – 2559)
- สำนักข่าว กรมประชาสัมพันธ์ พ.ศ. 2560 – 2561
- Facebook ทช. กิจกรรม ทช. ข่าวสาร ทช. ห้องสมุดอิเล็กทรอนิกส์ ทช. และ สรุปรายวัน ของกรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง ช่วงปี พ.ศ. 2558 – 2561
- บันทึกข้อมูลเต่ากระของมูลนิธิฟื้นฟูทรัพยากรทะเลสยาม ช่วงปี พ.ศ. 2552 – 2560
- Facebook และ ข่าวกิจกรรม ของศูนย์อนุรักษ์พันธุ์เต่าทะเล กองทัพเรือ ช่วงปี พ.ศ. 2559 – 2561
- ข่าวออนไลน์ต่าง ๆ เช่น เดลินิวส์ มติชนออนไลน์ เมเนเจอร์ออนไลน์ ไทยรัฐออนไลน์ ช่วงปี พ.ศ. 2556 – พฤษภาคม พ.ศ. 2561

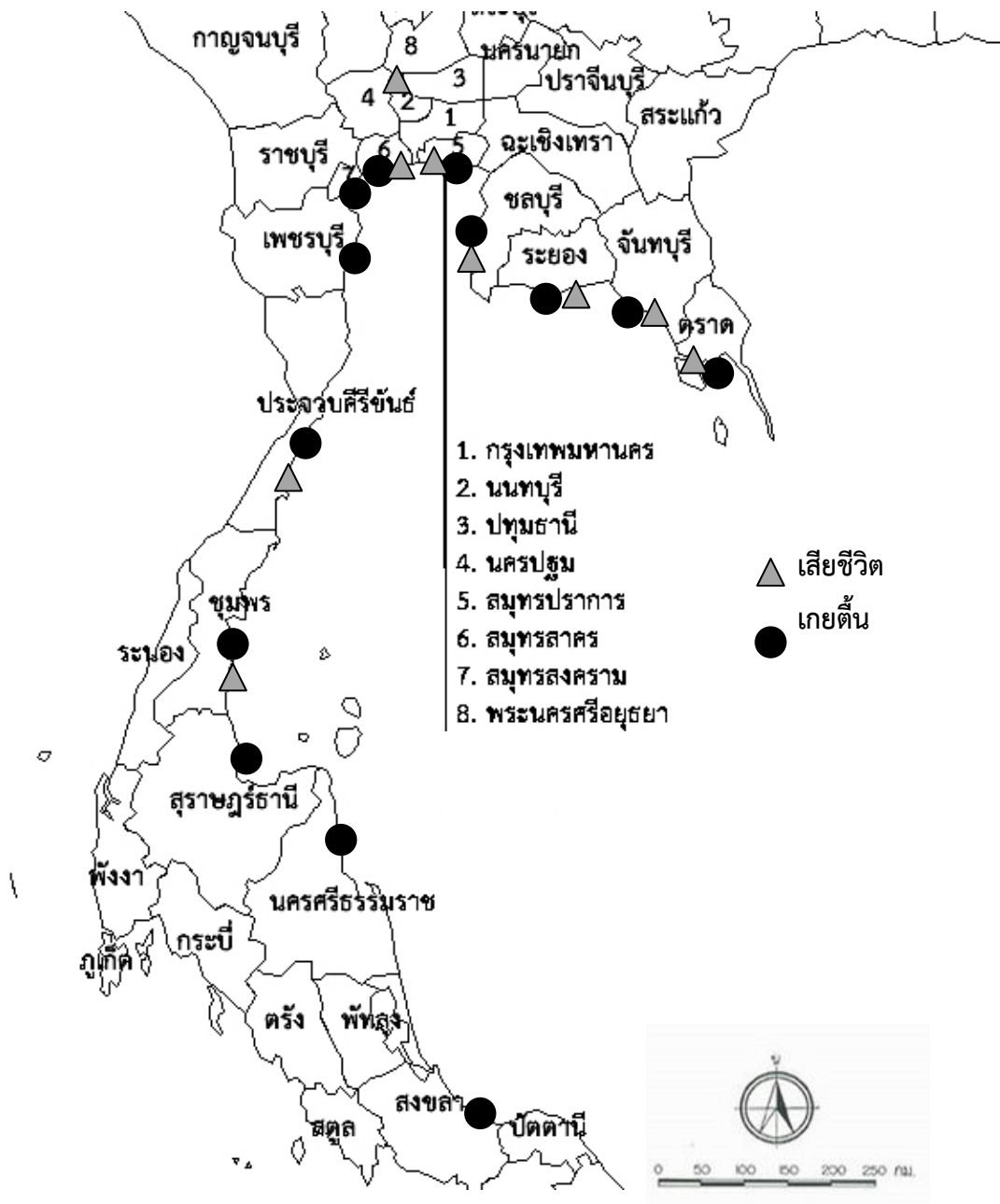
สามารถแบ่งการพบเห็นเต่ากระในบริเวณอ่าวไทยได้ 3 ลักษณะ คือ การเกยตื้น สัตว์สถาฟ และการขึ้นวางไข่ของเต่ากระเพศเมีย (ภาพที่ 4 – 6)



ภาพที่ 4 - 6 อัตราส่วนการพบเห็นเต่ากระ *Eretmochelys imbricata* บริเวณอ่าวไทย ในช่วงปี พ.ศ. 2538 – 2561

แหล่งข้อมูล: ตารางที่ จ - 1 ลำดับที่ 1 - 32, 34 - 76, 79 - 91, 113 - 116, 118 - 119 และ 129 - 137

ในช่วงระยะเวลาประมาณ 20 ปีที่ผ่านมา (พ.ศ. 2538 – 2561) เต่ากระที่พบในบริเวณอ่าวไทยรวมทั้งสิ้น 14 จังหวัด (ภาพที่ 4 – 7) จำนวน 183 ตัวหรือร้อยละ 73 ของจำนวนเต่ากระที่พบทั้งหมด ได้รับผลกระทบจากกิจกรรมของมนุษย์และส่งผลกระทบต่อประชากรของเต่ากระมีแนวโน้มลดลง โดยพบเต่ากระที่ถูกสตาฟสำหรับเตรียมนำไปขายเป็นเครื่องประดับหรือของตกแต่ง (ภาพที่ 4 – 8) บริเวณจังหวัดนนทบุรี และ ระยอง จำนวน 14 ตัว และพบเต่ากระจำนวน 169 ตัวหรือร้อยละ 67 ของจำนวนเต่ากระที่พบทั้งหมด เกยตื้นตามพื้นที่ลุ่มรอบชายฝั่งอ่าวไทย โดยพบการเกยตื้นของเต่ากระมากที่สุดในบริเวณอ่าวไทยตอนล่าง ได้แก่ จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ชุมพร สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช และสงขลา รวมทั้งสิ้น 74 ตัว ซึ่งแบ่งออกเป็นการเกยตื้นแบบมีชีวิตจำนวน 57 ตัว และแบบไม่มีชีวิตจำนวน 17 ตัว (ภาพที่ 4 – 9)

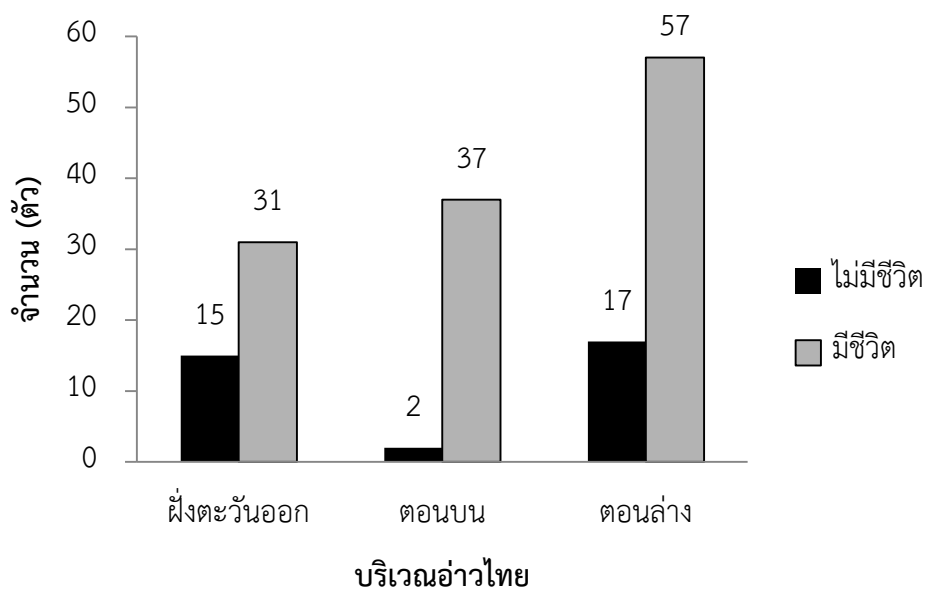


ภาพที่ 4 - 7 จังหวัดที่พบการเกยตื้นของเต่ากระ *Eretmochelys imbricata* ในบริเวณอ่าวไทย ช่วงปี พ.ศ. 2538 - 2561 (ดัดแปลงข้อมูลจากศูนย์ข้อมูลประเทศไทย, 2555)

แหล่งข้อมูล: ตารางที่ จ - 1 ลำดับที่ 1 - 15 , 17 - 32, 34 - 75, 79 - 90, 113 - 115, 118 และ 129 - 137



ภาพที่ 4 - 8 เต่ากระสตาฟที่ถูกพบในอำเภอบางบัวทอง จังหวัดนนทบุรี (มติชนออนไลน์, 2560)

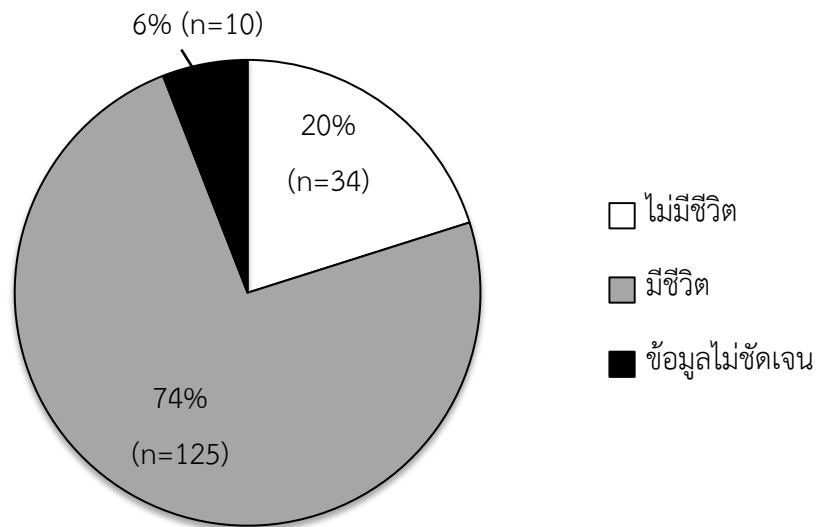


ภาพที่ 4 - 9 พื้นที่การเกยตื้นของเต่ากระ *Eretmochelys imbricata* ในบริเวณอ่าวไทย

ช่วงปี พ.ศ. 2538 - 2561

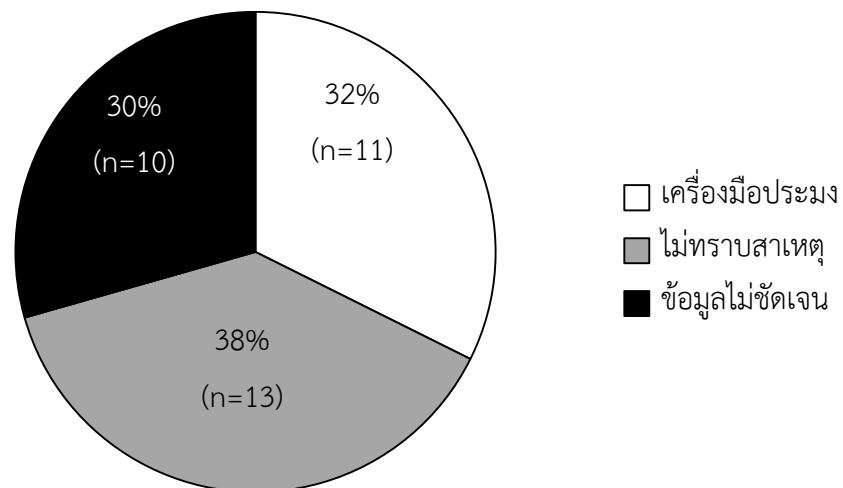
แหล่งข้อมูล: ตารางที่ จ - 1 ลำดับที่ 1 - 15, 17 - 32, 34 - 75, 79 - 82, 84 - 90, 113 - 115 และ 129 - 137

จากข้อมูลการเกยตื้นของเต่ากระจำนวน 169 ตัว สามารถแบ่งออกเป็นการเกยตื้นแบบไม่มีชีวิตจำนวน 34 ตัว การเกยตื้นแบบมีชีวิตจำนวน 125 ตัว และไม่สามารถจำแนกรูปแบบการเกยตื้นได้ 10 ตัว (ภุมเมศ ชุ่มชาติ, 2558) คิดเป็นร้อยละ 74 20 และ 6 ตามลำดับ (ภาพที่ 4 - 10) โดยปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อการเกยตื้นแบบไม่มีชีวิตของเต่ากระจำนวน 13 ตัวหรือร้อยละ 38 ของจำนวนเต่ากระที่เสียชีวิตทั้งหมด (ภาพที่ 4 - 11) ไม่สามารถหาสาเหตุการเสียชีวิตได้ เนื่องจากซากเต่ากระบางตัวสภาพเน่าเปื่อยมากหรือเสียชีวิตแบบไม่มีบาดแผลภายนอกซึ่งต้องอาศัยการชันสูตรซากต่อไป (ภาพที่ 4 - 12) นอกจากนี้ เครื่องมือประมงเป็นอีกสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เต่ากระเสียชีวิตคิดเป็นร้อยละ 32 หรือเต่ากระจำนวน 11 ตัว



ภาพที่ 4 - 10 สัดส่วนการเกยตื้นของเต่ากระ *Eretmochelys imbricata* ในบริเวณอ่าวไทย
ช่วงปี พ.ศ. 2538 - 2561

แหล่งข้อมูล: ตารางที่ จ - 1 ลำดับที่ 1 - 15, 17 - 32, 34 - 75, 79 - 82, 84 - 90, 113 - 115
และ 129 - 137



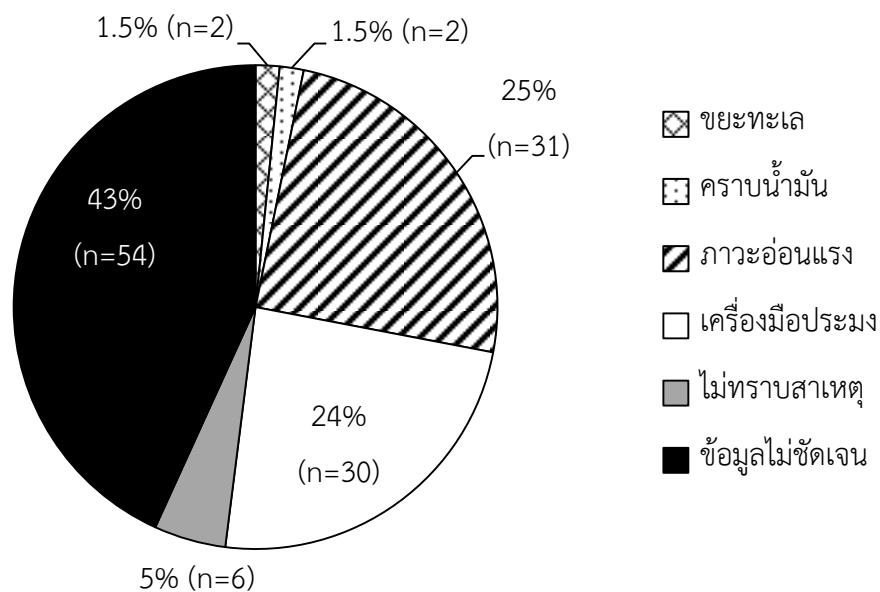
ภาพที่ 4 - 11 สาเหตุการเสียชีวิตของเต่ากระ *Eretmochelys imbricata* ที่พบการเกยตื้นใน
บริเวณอ่าวไทย ช่วงปี พ.ศ. 2538 - 2561

แหล่งข้อมูล: ตารางที่ จ - 1 ลำดับที่ 1 - 12, 17 - 29, 34 - 67, 79 - 81, 84 - 88, 115, 129,
133 และ 136 - 137



ภาพที่ 4 - 12 สภาพการเสียชีวิตของเต่ากระ *Eretmochelys imbricata* (กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง, 2558; กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง, 2560)

สำหรับปัจจัยหรือสาเหตุที่ส่งผลกระทบต่อการเกยตื้นแบบมีชีวิตของเต่ากระในบริเวณอ่าวไทย ส่วนใหญ่เกิดจากการเผชิญมลพิษ ค่ลินซ์ หรือเกิดจากความผิดปกติทางสรีระของเต่ากระ ซึ่งทำให้เกิดภาวะอ่อนแรงว่ายน้ำไม่ไหวและลอยมาเกยตื้นยังบริเวณชายฝั่งจำนวนทั้งสิ้น 31 ตัว คิดเป็นร้อยละ 25 ของเต่ากระที่เกยตื้นแบบมีชีวิตทั้งหมด (ภาพที่ 4 - 13) สาเหตุรองลงมาคือ การบาดเจ็บจากเครื่องประมง เช่น ถูกรวนรัดบริเวณขา เบ็ดพันรอบลำตัว (ภาพที่ 4 - 14) จำนวน 30 ตัวหรือคิดเป็นร้อยละ 24 นอกจากนี้ การติดอยู่ในกองขยะทะเลและการติดอยู่ในคราบน้ำมันทำให้เต่ากระไม่สามารถว่ายน้ำหรือช่วยเหลือตัวเองได้ คิดเป็นอัตราส่วนร้อยละ 1.5 และ 1.5 ตามลำดับ ทั้งนี้ ยังมีข้อมูลบางส่วนที่ไม่สามารถจำแนกสาเหตุการเกยตื้นของเต่ากระแบบไม่มีชีวิตจำนวน 10 ตัวและแบบมีชีวิตจำนวน 54 ตัว (อติชาติ อินทองคำ และคณะ, 2557; ภูมเมศ ชุ่มชาติ, 2558; ธีรวัตร เปรมปรี และคณะ, 2559)



ภาพที่ 4 - 13 สาเหตุการเกยตื้นของเต่ากระ *Eretmochelys imbricata* ในบริเวณอ่าวไทย ช่วงปี พ.ศ. 2538 - 2561

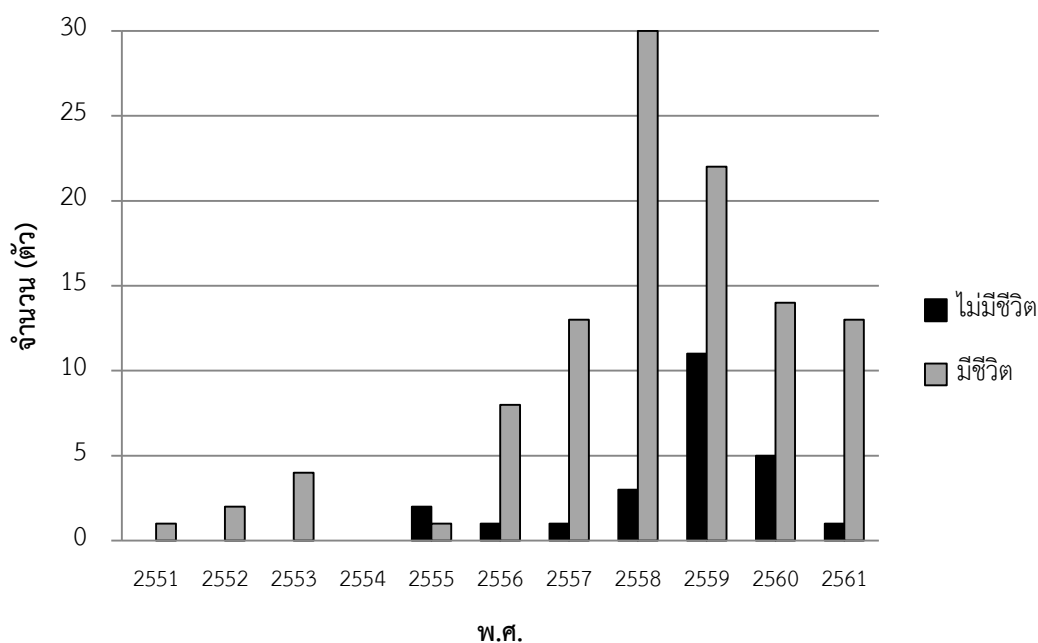
แหล่งข้อมูล: ตารางที่ จ - 1 ลำดับที่ 13 - 15, 25, 30 - 32, 68 - 75, 82, 89 - 90, 113 - 114, 130 - 132 และ 134 - 135



ภาพที่ 4 - 14 สภาพเต่ากระ *Eretmochelys imbricata* ที่ได้รับผลกระทบจากเครื่องมือประมง (กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง, 2558; ศูนย์อนุรักษ์พันธุ์เต่าทะเล กองทัพเรือ, 2559)

จากการสืบค้นและรวบรวมข้อมูลการพบเห็นเต่ากระในบริเวณอ่าวไทยทั้งหมด พบว่า ประชากรของเต่ากระมีแนวโน้มลดลง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในช่วงปี พ.ศ. 2556 - 2561 พบเต่ากระที่ เกยตื้นทั้งแบบไม่มีชีวิตและแบบมีชีวิตเพิ่มมากขึ้นเรื่อย ๆ (ภาพที่ 4 - 15) รวมทั้งสิ้น 122 ตัว หรือ

เฉลี่ยปีละ 20 ตัว โดยอาการบาดเจ็บและเสียชีวิตจากเครื่องมือประมงเป็นปัจจัยหลักที่ส่งผลกระทบต่อเต่ากระมีแนวโน้มลดลง รวมถึงลมมรสุมที่ส่งผลกระทบต่อกรวยน้ำของเต่ากระและทำให้เกิดอาการอ่อนแรงก็เป็นอีกสาเหตุหนึ่งที่ทำให้อัตราการเกยตื้นของเต่ากระเพิ่มขึ้นเช่นกัน



ภาพที่ 4 - 15 แนวโน้มการเกยตื้นของเต่ากระ *Eretmochelys imbricata* ในบริเวณอ่าวไทย ช่วงปี พ.ศ. 2551 – 2561

แหล่งข้อมูล: ตารางที่ จ - 1 ลำดับที่ 1 – 15, 17 – 23, 26 – 32, 34 – 75, 79 – 82, 84 – 90, 113 – 115 และ 129 – 135 และ 137

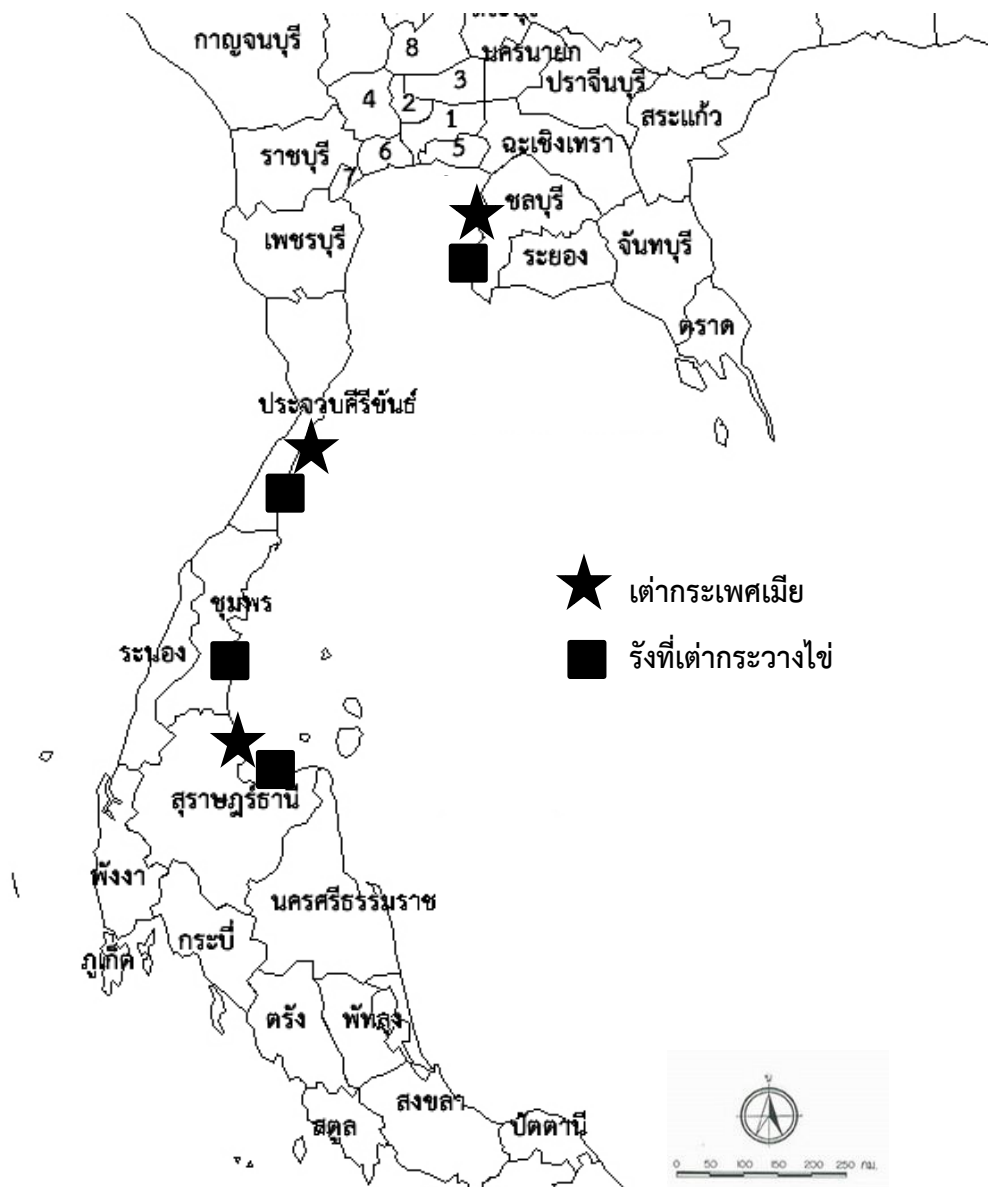
หมายเหตุ ข้อมูลการเกยตื้นของเต่ากระของ อติชาติ อินทองคำ และคณะ (2557) และ ธีรวัตร เปรมปรี และคณะ (2559) รวมทั้งสิ้นจำนวน 61 ตัว มิได้ระบุช่วงปีของการเกยตื้น จึงไม่สามารถนำข้อมูลมารวมได้ (ตารางที่ จ - 1 ลำดับที่ 136 – 137)

ในช่วงปี พ.ศ. 2538 – 2561 พบหลักฐานการขึ้นวางไข่ของเต่ากระเพศเมียรวมทั้งสิ้น 67 ตัว โดยพบที่อ่าวไทยฝั่งตะวันออกบริเวณเกาะคราม จังหวัดชลบุรี จำนวน 59 ตัว (ภาพที่ 4 – 17; ชลาทิพ จันท์ชมพู และคณะ, 2559) บริเวณอ่าวไทยตอนล่างที่เกาะทะลุ จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ จำนวน

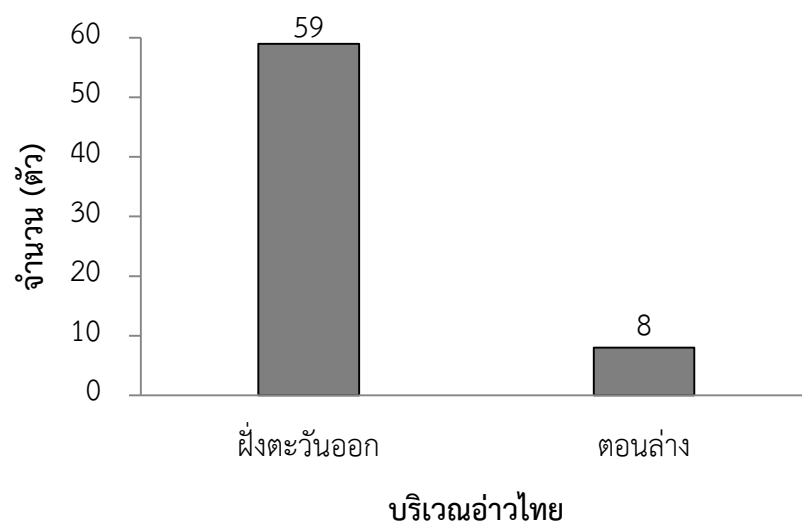
7 ตัว (กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง, 2561; มุลินธิ์พินฟูทรัพยากรทะเลสยาม, 2561) และที่เกาะสมุย จังหวัดสุราษฎร์ธานี จำนวน 1 ตัว (มติชนออนไลน์, 2559)

จากข้อมูลการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอจากลูกเต่ากระ เกาะทะเล จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ในปี พ.ศ. 2557 ที่แสดงให้เห็นว่าเต่ากระเพศเมีย 1 ตัวสามารถวางไข่ได้หลายครั้ง (multiple nesting; หัวข้อ 4.1) โดยข้อมูลการขึ้นวางไข่ของเต่ากระเพศเมียจากมุลินธิ์พินฟูทรัพยากรทะเลสยาม ช่วงปี พ.ศ. 2553 – 2560 (ตารางที่ 2 – 4) แสดงให้เห็นว่าเต่ากระเพศเมีย 1 ตัวสามารถวางไข่ได้เฉลี่ยปีละ 4.35 ไข่ เมื่อนำมาประกอบการประมาณขนาดประชากรเต่ากระเพศเมียด้วยข้อมูลสถิติของการพบรังที่เต่ากระวางไข่ไว้บริเวณอ่าวไทย ช่วงปี พ.ศ. 2538 – 2561 ปีละ 4 – 174 รัง (ภาพที่ 4 – 18) อาจคาดการณ์ได้ว่า ในช่วง 24 ปีที่ผ่านมา มีเต่ากระเพศเมียขึ้นวางไข่ปีละ 1 – 40 ตัว

ข้อมูลการขึ้นทำรังวางไข่ของเต่ากระอย่างต่อเนื่องในช่วง 20 ปีที่ผ่านมา (พ.ศ. 2538 – 2561) เป็นสัญญาณที่ดีของสถานภาพประชากรเต่ากระในประเทศไทย อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาช่วงอายุการเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์ของเต่ากระเพศเมียซึ่งใช้เวลาประมาณ 5 – 20 ปี ขึ้นอยู่กับขนาดตัวและความอุดมสมบูรณ์ของแหล่งที่อยู่อาศัยหรือแหล่งหาอาหาร (Avens and Snover, 2013) อาจแสดงให้เห็นว่า ปัญหาผลกระทบทางสิ่งแวดล้อมในอ่าวไทยยังมีบทบาทสำคัญต่อการอยู่รอดของประชากรเต่ากระจนเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์ได้

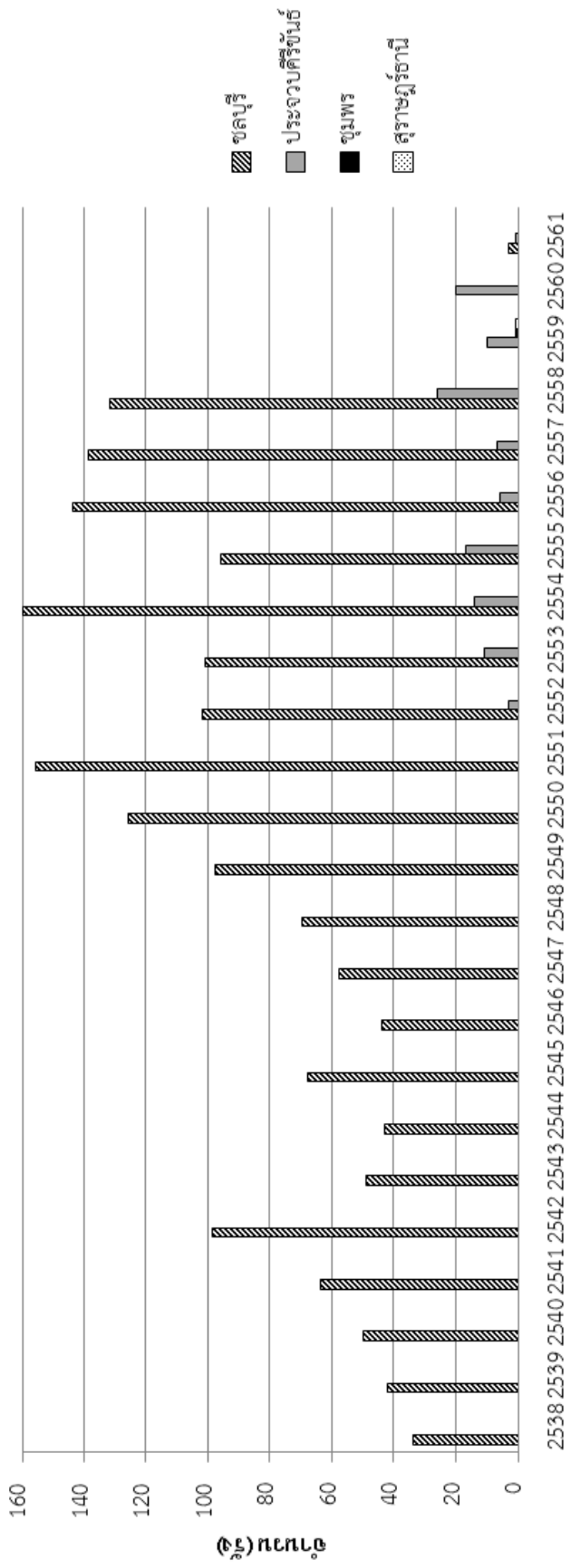


ภาพที่ 4 - 16 บริเวณที่พบเต่ากระ *Eretmochelys imbricata* เพศเมียและรังที่เต่ากระวางไข่
 ในบริเวณอ่าวไทย ช่วงปี พ.ศ. 2538 – 2561 (ดัดแปลงข้อมูลจากศูนย์ข้อมูลประเทศไทย, 2555)
 แหล่งข้อมูล: ตารางที่ จ - 1 ลำดับที่ 16, 33, 76 – 78, 91 – 112, 116 – 117 และ 119 – 128



ภาพที่ 4 - 17 จำนวนเต่ากระ *Eretmochelys imbricata* เพศเมียที่พบในบริเวณอ่าวไทย ช่วงปี พ.ศ. 2538 – 2561
แหล่งข้อมูล: ตารางที่ จ - 1 ลำดับที่ 16, 76, 91, 116 และ 119





ปี พ.ศ.

ภาพที่ 4 - 18 จำนวน รังที่เต่ากระ *Eretmochelys imbricata* วางไข่ในบริเวณอำเภอ่าวไทย ช่วงปี พ.ศ. 2538 - 2561

แหล่งข้อมูล: ตารางที่ จ - 1 ลำดับที่ 33, 77 - 78, 92 - 112, 117 และ 120 - 128

หมายเหตุ 1. ปี พ.ศ. 2538 - 2551 ไม่มีข้อมูลรังที่เต่ากระวางไข่ของจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ชุมพร และ สุราษฎร์ธานี

2. ปี พ.ศ. 2559 - 2560 ไม่มีข้อมูลรังที่เต่ากระวางไข่ของจังหวัดชลบุรี

3. สืบค้นและรวบรวมข้อมูลในช่วงปี พ.ศ. 2538 - พฤษภาคม 2561

จากผลการศึกษาจะเห็นได้ว่ามีหลายปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อประชากรเต่ากระ โดยสาเหตุจากเครื่องมือประมงถือเป็นปัจจัยหลักที่ส่งผลกระทบต่อการเกยตื้นของเต่ากระ เนื่องจากบริเวณอ่าวไทยตอนล่างมีพื้นที่ความหลากหลายของทรัพยากรชายฝั่งและทรัพยากรประมงเป็นแนวยาว ชุมชนที่อาศัยอยู่ตามพื้นที่ชายฝั่งจึงมักประกอบอาชีพประมงเป็นส่วนใหญ่ (ปิยะฉัตร กลับกลาย และคณะ, 2559) ซึ่งวิธีการหรือการใช้เครื่องมือประมงบางประเภท เช่น อวนลอย อวนจม อวนถ่วง มักส่งผลกระทบต่อการเกยตื้นของเต่าทะเลมากที่สุด (วรรณษา เรืองแก้ว และคณะ, 2559) ทั้งอาการบาดเจ็บหรือสูญเสียอวัยวะร่างกายจากการถูกอวนรัด และการติดอยู่ในอวนทำให้ไม่สามารถขึ้นมาหายใจยังบริเวณผิวน้ำอันเป็นสาเหตุของการเสียชีวิตได้

ปัญหาขยะทะเลที่มาจากการประมง กิจกรรมชายฝั่งและการท่องเที่ยวของมนุษย์ ในบริเวณอ่าวไทยฝั่งตะวันออกและอ่าวไทยตอนล่างสามารถส่งผลกระทบต่อการเกยตื้นของประชากรเต่าทะเลเช่นกัน (นวลพรรณ คณานุกรณ์ และ ปัทมา สิงห์รักษ์, 2555; มิถิลา ปรานศิลป์ และคณะ, 2559; สันติ นิลวัฒน์ และคณะ, 2559) โดยปัจจัยหลักเกิดจากการถูกขยะทะเลพันยึดบริเวณภายนอกร่างกายซึ่งส่งผลต่อการว่ายน้ำและการดำน้ำของเต่าทะเล รวมถึงการกินขยะทะเลที่มีองค์ประกอบของพลาสติกหรือการได้รับมลพิษจากขยะทะเลเข้าไปในทางเดินอาหาร ก็อาจส่งผลให้เต่าทะเลป่วยอย่างรุนแรงและอาจเสียชีวิตได้ (พัชรภรณ์ แก้วโม่ง และคณะ, 2559)

นอกจากนี้ การพัฒนาและส่งเสริมการท่องเที่ยวในพื้นที่บริเวณชายฝั่งอ่าวไทยตอนล่าง (ปิยะฉัตร กลับกลาย และคณะ, 2559) ทำให้มีการใช้พื้นที่บริเวณชายฝั่งปลูกสิ่งก่อสร้างเพื่อส่งเสริมธุรกิจการท่องเที่ยวมากขึ้น เช่น รีสอร์ท โรงแรม ส่งผลให้มีพื้นที่บริเวณชายหาดลดลง มีแนวกันคลื่นเพิ่มขึ้น และมีแสงรบกวนจากกิจกรรมของมนุษย์ ทำให้สภาพแวดล้อมบริเวณชายฝั่งเกิดความเสื่อมโทรมและส่งผลกระทบต่อแหล่งที่อยู่อาศัย แหล่งหาอาหารและการขึ้นวางไข่ของเต่าทะเลด้วย

บทที่ 5

สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ

การนำเทคนิคทางชีววิทยาโมเลกุลมาประยุกต์ใช้ในการศึกษาขนาดประชากรของเต่ากระ *Eretmochelys imbricata* ซึ่งเป็นสัตว์ที่มีความเสี่ยงขั้นวิกฤติต่อการสูญพันธุ์ (critically endangered species: CR) ถูกระบุไว้ในบัญชีหมายเลข 1 ของอนุสัญญาว่าด้วยการค้าระหว่างประเทศด้านชนิดสัตว์ป่าและพืชป่าที่ใกล้สูญพันธุ์ (Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora: CITES) และถูกจัดเป็นสัตว์ป่าคุ้มครองประเภทที่ 1 ตามพระราชบัญญัติสงวนและคุ้มครองสัตว์ป่า พ.ศ. 2535 ของประเทศไทย จะช่วยให้สามารถศึกษาได้ครอบคลุมมากยิ่งขึ้นทั้งในกลุ่มประชากรเต่ากระเพศเมียและเต่ากระเพศผู้ รวมถึงสามารถนำข้อมูลไปใช้ประกอบการตัดสินใจสถานภาพการอนุรักษ์และการคุ้มครองเต่ากระได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น ในการศึกษานี้จะนำเทคนิคทางชีววิทยาโมเลกุลมาศึกษาไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอและนิวเคลียร์ดีเอ็นเอของลูกเต่ากระที่เกิดในปี พ.ศ. 2557 เพื่อตรวจสอบรูปแบบพันธุกรรมที่ลูกได้รับจากเต่ากระเพศเมีย (แม่เต่า) และเต่ากระเพศผู้ (พ่อเต่า) และใช้เป็นข้อมูลสำหรับการประเมินขนาดประชากรของเต่ากระวัยเจริญพันธุ์ที่มีแหล่งผสมพันธุ์และแหล่งวางไข่บริเวณเกาะทะลุ จังหวัดประจวบคีรีขันธ์

การศึกษาไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอบริเวณ control region เพื่อประเมินจำนวนเต่ากระเพศเมียหรือแม่เต่าจากตัวอย่างเลือดของลูกเต่ากระโดยใช้ mitochondrial primer จำนวน 1 คู่ คือ คู่ของ LCM15382 กับ H950 สำหรับใช้ตรวจสอบรูปแบบพันธุกรรมของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอซึ่งลูกเต่ากระจะได้รับการถ่ายทอดมาจากเต่ากระเพศเมียหรือแม่เต่าโดยตรงเท่านั้น จากการศึกษาภาวะพหุสัณฐานของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอของลูกเต่ากระจากเกาะทะลุ จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ จำนวน 5 รัง รวมทั้งสิ้น 38 ตัว พบรูปแบบพันธุกรรมเพียง 1 แอสไพโลไทป์ และมีค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมเท่ากับ 0 ในขณะที่เมื่อทดลองใช้ mitochondrial primer ชุดเดียวกันในการศึกษาภาวะพหุสัณฐานของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอของเต่ากระจากเกาะมันใน จังหวัดระยอง จำนวน 31 ตัว พบความหลากหลายของแอสไพโลไทป์เท่ากับ 0.714 ± 0.058 และความหลากหลายของลำดับเบสเท่ากับ 0.0032 โดยมีรูปแบบพันธุกรรมทั้งหมด 9 แอสไพโลไทป์ ซึ่งในจำนวนนี้มีแอสไพโลไทป์ของเกาะทะลุรวมอยู่ด้วย จึงเป็นข้อพิสูจน์ได้ว่า คู่ของ primer LCM15382 กับ H950 ที่ใช้

ในการศึกษามีความเหมาะสมต่อการจำลองและสังเคราะห์สารพันธุกรรม บริเวณ control region เพื่อใช้ตรวจสอบรูปแบบพันธุกรรมในไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอของแต่ละกระ

ข้อมูลจำนวนแฮพโลไทป์ และความหลากหลายทางพันธุกรรมของแต่ละกระที่เกาะทะเล จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ แสดงให้เห็นว่า ลูกแต่ละกระที่เกิดในปี พ.ศ. 2557 เกิดมาจากแต่ละกระเพศเมียตัวเดียวกันหรืออาจเกิดมาจากแต่ละกระเพศเมียหลายตัวที่มีความสัมพันธ์ทางสายเลือดกัน เนื่องจากแต่ละกระเพศเมีย (แม่เต่า) จะส่งผ่านรูปแบบพันธุกรรมแบบเดียวกันให้กับลูกแต่ละกระทุกตัวในรุ่นถัดไป ทำให้ลูกแต่ละกระทุกตัวมีรูปแบบพันธุกรรมที่เหมือนกัน เมื่อนำผลการศึกษามาตรวจสอบร่วมกับบันทึกข้อมูลภาคสนามของมูลนิธิฟื้นฟูทรัพยากรทะเลสยาม พบว่า มีความสอดคล้องของข้อมูล กล่าวคือ ในปี พ.ศ. 2557 พบการขึ้นวางไข่ของแต่ละกระเพศเมียจำนวน 1 ตัว และเมื่อพิจารณานบันทึกข้อมูลวันที่ขึ้นวางไข่ของแต่ละกระเพศเมียในฤดูวางไข่ช่วงเดือน มิถุนายน – กันยายน พ.ศ. 2557 พบว่า แต่ละกระเพศเมียสามารถวางไข่ได้มากกว่า 1 ครั้งในฤดูวางไข่ โดยมีระยะห่างของการขึ้นวางไข่แต่ละครั้งประมาณ 15 วัน

ข้อมูลรูปแบบพันธุกรรมของแต่ละกระ เกาะทะเล จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ สามารถนำไปใช้ศึกษาหาความสัมพันธ์ระหว่างกลุ่มประชากรของแต่ละกระที่พบในพื้นที่อื่นได้ โดยเมื่อนำข้อมูลรูปแบบพันธุกรรมของแต่ละกระ จากเกาะทะเล และ เกาะมันใน ซึ่งถือเป็นตัวแทนแต่ละกระที่พบในบริเวณประเทศไทย มาวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างกลุ่มประชากรแต่ละกระ *Eretmochelys imbricata* ที่พบในประเทศอื่นแถบมหาสมุทรอินเดีย – มหาสมุทรแปซิฟิก ได้แก่ อ่าวเปอร์เซีย ประเทศซาอุดีอาระเบียและประเทศอิหร่าน หมู่เกาะซาลอมอนและหมู่เกาะของประเทศเซเชลส์ ในมหาสมุทรอินเดีย ประเทศมาเลเซีย รัฐควีนส์แลนด์ ประเทศออสเตรเลีย และ หมู่เกาะโซโลมอน พบว่า แต่ละกระประเทศไทยมีความแตกต่างทางพันธุกรรม (F_{st}) จากกลุ่มประชากรแต่ละกระของประเทศอื่นในแถบมหาสมุทรอินเดีย – มหาสมุทรแปซิฟิกที่ $p < 0.0001$ โดยมีความสัมพันธ์ที่ใกล้เคียงกับแต่ละกระในแถบฝั่งตะวันออกของประเทศมาเลเซีย Arnhem ประเทศออสเตรเลีย และ เกาะ Milman รัฐควีนส์แลนด์ ($F_{st} = 0.36 - 0.47$) แสดงให้เห็นว่าแต่ละกระที่พบในบริเวณอ่าวไทยมีการกระจายตัวอย่างกว้างขวาง และมีแนวโน้มการเคลื่อนที่ไปยังแหล่งอาหาร แหล่งผสมพันธุ์ รวมถึงแหล่งวางไข่ที่ยังมีความอุดมสมบูรณ์ตามแนวทะเลและมหาสมุทรของประเทศดังกล่าว จึงแสดงให้เห็นถึงความจำเป็นในการพัฒนาความร่วมมือระหว่างประเทศเพื่อการอนุรักษ์พันธุ์แต่ละกระที่พบแหล่งอาศัยและแหล่งหาอาหารในพื้นที่หลายภูมิภาค

จากพฤติกรรมการจับคู่และสามารถผสมพันธุ์ได้หลายครั้งในช่วงฤดูผสมพันธุ์ของเต่าทะเลเพศเมียและเต่าทะเลเพศผู้ (National Marine Fisheries Service and U.S. Fish and Wildlife Service, 2013) ประกอบกับลักษณะทางกายวิภาคของเต่าทะเลเพศเมียที่มีโครงสร้างสำหรับเก็บสเปิร์มของเต่าเพศผู้เพื่อรอช่วงเวลาที่เหมาะสม (Pearse and Avisa, 2001) ทำให้ในไข่เต่าทะเล 1 รังอาจมีสเปิร์มของเต่าเพศผู้ผสมอยู่มากกว่า 1 ตัว ในการศึกษานี้จึงใช้ microsatellite primer ที่จำเพาะต่อตำแหน่งเครื่องหมายทางพันธุกรรมจำนวน 6 ตำแหน่ง (loci) ได้แก่ Eim8 Eim8 Eim9 Eim17 Eim31 และ Eim41 เพื่อประเมินจำนวนเต่าทะเลเพศผู้หรือพ่อเต่า จากการพิจารณาภาวะพหุสัณฐานของไมโครแซทเทลไลต์ในนิวเคลียร์ดีเอ็นเอของลูกเต่าทะเล 5 รัง (214 ตัว) พบค่าความถี่ของอัลลีล (allele frequency) ระหว่าง 0.002 – 0.995 และเมื่อนำผลการศึกษาภาวะพหุสัณฐานของไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอที่ตรวจสอบพบเต่าทะเลเพศเมีย (แม่เต่า) จำนวน 1 ตัว มาพิจารณา ร่วมกับทฤษฎีการถ่ายทอดข้อมูลทางพันธุกรรมจากรุ่นพ่อ – แม่สู่รุ่นลูกอย่างละ 1 อัลลีล โดยสังเกตจากข้อมูลจีโนไทป์แบบโฮโมไซโกตของลูกเต่าทะเลในทุกรังเพื่อหาจีโนไทป์ของเต่าทะเลเพศเมีย และประเมินจำนวนเต่าทะเลเพศผู้จากข้อมูลอัลลีลที่เหลือของลูกเต่าทะเลในทุกรัง พบว่า มีจำนวนเต่าทะเลเพศผู้ 1 – 4 ตัว (ประมาณการต่ำสุด – สูงสุด) ที่เป็นพ่อของลูกเต่าทะเลที่เกิดในปี พ.ศ. 2557 ณ เกาะทะเล จังหัดประจวบคีรีขันธ์ ทั้งนี้ หากมีข้อมูลทางพันธุกรรมของเต่าทะเลเพศเมีย (แม่เต่า) จะช่วยให้การประเมินขนาดประชากรสามารถทำได้อย่างมีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น

ในการศึกษาภาวะพหุสัณฐานของไมโครแซทเทลไลต์ได้เลือกใช้เครื่องหมายทางพันธุกรรมจำนวน 6 ตำแหน่ง (loci) จากงานวิจัยของ FitzSimmons et al. (1995) และ Miro-Herrans (2008) ซึ่งผ่านการทดสอบว่าอยู่ในสมดุลฮาร์ดี – ไวน์เบิร์ก (Hardy – Weinberg Equilibrium) แล้ว จากผลการศึกษาพบเครื่องหมายทางพันธุกรรมจำนวน 5 ตำแหน่งเบี่ยงเบนจากสมดุลฮาร์ดี – ไวน์เบิร์กที่ P -value < 0.0001 โดยพบการปรากฏของจีโนไทป์แบบเฮเทอโรไซโกตเป็นจำนวนมาก (heterozygous excess) แต่พบอัตราการเกิด inbreeding ต่ำ โดยมีค่า F_{IS} อยู่ระหว่าง -0.3067 ถึง -0.0024 เนื่องจากตัวอย่างกลุ่มประชากรที่นำมาศึกษามีขนาดเล็ก (Balloux, 2004) ซึ่งเกิดจากเต่าทะเลเพศเมียเพียง 1 ตัว และ เต่าทะเลเพศผู้จำนวน 1 – 4 ตัว

จากการประยุกต์ใช้เทคนิคทางชีววิทยาโมเลกุลเพื่อประเมินขนาดประชากรของเต่าทะเล พบว่ามีจำนวนเต่าทะเลเพศเมียและเต่าทะเลเพศผู้ที่มีแหล่งผสมพันธุ์และแหล่งวางไข่บริเวณเกาะทะเลคู่ค่อนข้างน้อย ซึ่งอาจมีสาเหตุหรือปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อประชากรของเต่าทะเล โดยจากการสืบค้น

ข้อมูลการพบเห็นเต่ากระในบริเวณอ่าวไทยย้อนหลังประมาณ 20 ปี (พ.ศ. 2538 – 2561) พบว่า เต่ากระร้อยละ 67 หรือคิดเป็นจำนวน 169 ตัว ถูกพบในรูปแบบการเกยตื้นทั้งแบบไม่มีชีวิตและแบบมีชีวิต โดยปัจจัยหลักที่ส่งผลกระทบต่อ การเกยตื้นของเต่ากระในบริเวณอ่าวไทย คือ การบาดเจ็บหรือ การเสียชีวิตจากเครื่องมือประมง เช่น อวนลอย อวนจม อวนถ่วง ประกอบกับปัญหาขยะทะเลที่มา จากการประมง กิจกรรมชายฝั่งและการท่องเที่ยวของมนุษย์ โดยเต่าทะเลมักถูกขยะทะเลพันยึด บริเวณภายนอกร่างกายซึ่งส่งผลต่อการว่ายน้ำและการดำน้ำของเต่ากระ รวมถึงการกินขยะทะเลที่มี องค์ประกอบของพลาสติกหรือการได้รับมลพิษจากขยะทะเลเข้าไปในร่างกายและทางเดินอาหาร ก็ ส่งผลให้เต่าทะเลป่วยอย่างรุนแรงและอาจเสียชีวิตได้

ในช่วง 10 ปีที่ผ่านมา (พ.ศ. 2551 – 2561) พบแนวโน้มการเกยตื้นของเต่ากระบริเวณอ่าว ไทยเพิ่มสูงขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งในช่วงปี พ.ศ. 2556 – 2561 พบเต่ากระจำนวน 122 ตัวจาก จำนวนทั้งหมด 132 ตัว ได้รับบาดเจ็บและเสียชีวิตจากเครื่องมือประมงเป็นหลัก รวมถึงการ เผชิญหน้ากับลมมรสุมที่ส่งผลกระทบต่อ การว่ายน้ำและอาการอ่อนแรงของเต่ากระก็เป็นอีกสาเหตุ หนึ่งที่ทำให้อัตราการเกยตื้นของเต่ากระในบริเวณอ่าวไทยเพิ่มมากขึ้น แม้จะพบการขึ้นทำรังวางไข่ ของเต่ากระอย่างต่อเนื่องและมีจำนวนมากในช่วง 20 ปีที่ผ่านมา (พ.ศ. 2538 – 2561) แต่กลับมี รายงานการพบเห็นเต่ากระเพศเมียวัยเจริญพันธุ์เพียง 67 ตัวเท่านั้น และเมื่อประมาณการจำนวนเต่า กระเพศเมียด้วยข้อมูลสถิติของรังที่เต่ากระวางไข่ไว้ในบริเวณอ่าวไทยประกอบกับค่าเฉลี่ยการ วางไข่ปีละ 4.35 รังของเต่ากระเพศเมียที่เกาะทะลุ จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ อาจคาดการณ์ได้ว่า ในช่วง 20 ปีที่ผ่านมา มีเต่ากระเพศเมียขึ้นวางไข่ในบริเวณอ่าวไทยปีละ 1 – 40 ตัว เมื่อพิจารณา ร่วมกับช่วงอายุของการเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์ของเต่ากระเพศเมียซึ่งใช้เวลาประมาณ 5 – 20 ปี ขึ้นอยู่กับ ขนาดตัวและความอุดมสมบูรณ์ของแหล่งที่อยู่อาศัยหรือแหล่งหาอาหาร (Avens and Snover, 2013) แสดงให้เห็นว่า ปัญหาผลกระทบทางสิ่งแวดล้อมในอ่าวไทยยังเป็นปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญต่อการ อยู่รอดของประชากรเต่ากระจนเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์ได้

ข้อเสนอแนะด้านการประยุกต์ใช้เทคนิคทางชีววิทยาโมเลกุลในการศึกษาประชากรเต่ากระ *Eretmochelys imbricata*

1. การศึกษาภาวะพหุสัณฐานของไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอสามารถใช้ข้อมูลลำดับเบสหรือจีโนมไทป์ที่มีความยาวมากกว่า 380 base pairs ขึ้นไปจำแนกความแตกต่างลำดับเบสของเต่ากระได้อย่างเหมาะสมและมีประสิทธิภาพ (Abreu-Grobois et al., 2006)
2. การศึกษาภาวะพหุสัณฐานของไมโครแซทเทลไลต์บนนิวเคลียร์ดีเอ็นเอควรรวบรวมใช้เครื่องหมายทางพันธุกรรมอย่างน้อย 5 ตำแหน่ง (loci) เพื่อให้การวิเคราะห์ข้อมูลทางพันธุกรรมของเต่ากระมีความน่าเชื่อถือและมีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น
3. การศึกษาขนาดประชากรของเต่าทะเลจากลูกเต่า ควรมีข้อมูลทางพันธุกรรมของเต่าทะเลเพศใดเพศหนึ่ง ซึ่งจะช่วยให้การประเมินจำนวนประชากรสำหรับประกอบการตัดสินใจสถานภาพของเต่าทะเลสามารถทำได้มีประสิทธิภาพมากขึ้น
4. นอกจากการใช้เทคนิคทางชีววิทยาโมเลกุลเพื่อศึกษาหาจำนวนเต่ากระเพศเมียและเต่ากระเพศผู้จากดีเอ็นเอของลูกเต่าแล้ว ยังสามารถนำมาประยุกต์ใช้ศึกษาในเต่าทะเลที่พบการเกยตื้น เพื่อรวบรวมเป็นฐานข้อมูลของเต่าทะเลในประเทศไทย

ข้อเสนอแนะด้านการจัดการเพื่อการอนุรักษ์เต่ากระในประเทศไทย

1. ควรมีการสร้างแนวทางการอนุรักษ์ร่วมกันระหว่างประเทศ เพื่อให้เกิดความร่วมมือด้านการอนุรักษ์ทรัพยากรธรรมชาติและคุ้มครองพันธุ์เต่ากระ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในพื้นที่น่านน้ำและภูมิภาคที่เต่ากระใช้เป็นแหล่งอาหาร แหล่งผสมพันธุ์และแหล่งวางไข่
2. ควรมีการวางแผนและบังคับใช้ข้อกฎหมายเกี่ยวกับการใช้เครื่องประมงและพื้นที่ในการจับสัตว์น้ำอย่างเคร่งครัด
3. ควรมีมาตรการเพื่อจัดการปัญหาขยะทะเลที่ส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตทุกชนิดในทะเล เพื่ออนุรักษ์และฟื้นฟูทรัพยากรบริเวณชายฝั่งของประเทศไทยต่อไป

รายการอ้างอิง

- กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2558. พบซากเต่ากระ หาดกรวด เกาะทะลุ [ออนไลน์].
แหล่งที่มา: <http://www.dmcr.go.th/detailAll/4537/nws/22/> [15 พฤษภาคม 2561]
- กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2558. ซากเต่ากระขึ้นเกยตื้นหาดสน ประจวบฯ [ออนไลน์].
แหล่งที่มา: <http://www.dmcr.go.th/detailAll/6902/nws/22> [15 พฤษภาคม 2561]
- กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2558. แล้วเจอกันใหม่ ลู๊ ๆ นะแม่เต่า [ออนไลน์].
แหล่งที่มา: <http://www.dmcr.go.th/detailAll/5725/nws/22/> [15 พฤษภาคม 2561]
- กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2558. เครือข่ายแจ้งพบเต่ากระ ยังมีชีวิตทะเลดอนสัก
[ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.dmcr.go.th/detailAll/5536/nws/22/> [15 พฤษภาคม 2561]
- กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2558. ช่วยกัน คุณเต่ากระ ทะเลชุมพร [ออนไลน์].
แหล่งที่มา: <http://www.dmcr.go.th/detailAll/3610/nws/22/> [15 พฤษภาคม 2561]
- กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2558. ช่วยเต่าทะเลกันครับ [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.dmcr.go.th/detailAll/3570/nws/22/> [15 พฤษภาคม 2561]
- กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2558. ข่าวสาร ทช. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.dmcr.go.th/detail.php?WP=M3A0q2yhrR9jxT25qo7o2OOZET1WM2g0Wz3rQujAJ03q09ZxT25Mo7o2OO0ETyWrTZo7o3Q> [15 พฤษภาคม 2561]
- กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2558. ข่าวสาร ทช. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.dmcr.go.th/detail.php?WP=M3A0q2yhrR9jxT25qo7o2OOZET1WM2g0Wz4rQljAJ03q09ZxT25Mo7o2OO0ETyWrTZo7o3Q> [15 พฤษภาคม 2561]
- กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2558. ข่าวสาร ทช. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.dmcr.go.th/detail.php?WP=M3A0q2yhrR9jxT25qo7o2OOZET1WM2g0WzkrQMjAT03q09ZxT25Mo7o2OO0ETyWrTZo7o3Q> [15 พฤษภาคม 2561]
- กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2558. ข่าวสาร ทช. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.dmcr.go.th/detail.php?WP=M3A0q2yhrR9jxT25qo7o2OOZET1WM2g0WzxmrQOjAT03q09ZxT25Mo7o2OO0ETyWrTZo7o3Q> [15 พฤษภาคม 2561]

กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2558. ข่าวสาร ทช. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.dmcr.go.th/detail.php?WP=M3A0q2yhrR9jxT25qo7o2OOZET1WM2g0WzxlRQOjAT03q09ZxT25Mo7o2OO0ETyWrTZo7o3Q> [15 พฤษภาคม 2561]

กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2558. ข่าวสาร ทช. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.dmcr.go.th/detail.php?WP=M3A0q2yhrR9jxT25qo7o2OOZET1WM2g0Wz3rQMjZ203q09ZxT25Mo7o2OO0ETyWrTZo7o3Q> [15 พฤษภาคม 2561]

กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2558. ข่าวสาร ทช. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.dmcr.go.th/detail.php?WP=M3A0q2yhrR9jxT25qo7o2OOZET1WM2g0Wz3rQlJZJ03q09ZxT25Mo7o2OO0ETyWrTZo7o3Q> [15 พฤษภาคม 2561]

กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2558. ข่าวสาร ทช. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.dmcr.go.th/detail.php?WP=M3A0q2yhrR9jxT25qo7o2OOZET1WM2g0WzxlRQOjBJ02q09ZxT25Mo7o2OO0ETyWrTZo7o3Q> [15 พฤษภาคม 2561]

กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2558. ข่าวสาร ทช. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.dmcr.go.th/detail.php?WP=M3A0q2yhrR9jxT25qo7o2OOZET1WM2g0WzxlRQEjBT02q09ZxT25Mo7o2OO0ETyWrTZo7o3Q> [15 พฤษภาคม 2561]

กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2558. ข่าวสาร ทช. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.dmcr.go.th/detail.php?WP=M3A0q2yhrR9jxT25qo7o2OOZET1WM2g0Wz3rQOjAJ02q09ZxT25Mo7o2OO0ETyWrTZo7o3Q> [15 พฤษภาคม 2561]

กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2558. ข่าวสาร ทช. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.dmcr.go.th/detail.php?WP=M3A0q2yhrR9jxT25qo7o2OOZET1WM2g0Wz3rQjZ202q09ZxT25Mo7o2OO0ETyWrTZo7o3Q> [15 พฤษภาคม 2561]

กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. สัมภาษณ์, 5 มกราคม 2559.

กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2559. ข่าวสาร ทช. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.dmcr.go.th/detail.php?WP=oKAaq3EhnH94xUP5orO3ERkWoJgaWaDjnGI4Z3NlOGS3G0lDooya4UERnHy4Ljo7o3Qo7o3Q> [15 พฤษภาคม 2561]

กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2559. ข่าวสาร ทช. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.dmcr.go.th/detail.php?WP=oKAaq3EhnH94xUP5orO3ERkWoJgaWaDjnGI4Z3NlOGS3G0lDooya4UERnHy4Ljo7o3Qo7o3Q>

dmcr.go.th/detail.php?WP=oKAaq3EhnH94xUP5orO3ERkWoJgaWaD3nGS4ZaNL
oGS3G0lDooya4UERnHy4Ljo7o3Qo7o3Q [15 พฤษภาคม 2561]

กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2559. ข่าวสาร ทช. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.dmc.go.th/detail.php?WP=oKAaq3EhnH94xUP5orO3ERkWoJgaWaDknGI4BUNKoGS3G0lDooya4UERnHy4Ljo7o3Qo7o3Q> [15 พฤษภาคม 2561]

dmcr.go.th/detail.php?WP=oKAaq3EhnH94xUP5orO3ERkWoJgaWaDknGI4BUNK
oGS3G0lDooya4UERnHy4Ljo7o3Qo7o3Q [15 พฤษภาคม 2561]

กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2559. ข่าวสาร ทช. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.dmc.go.th/detail.php?WP=oKAaq3EhnH94xUP5orO3ERkWoJgaWaDjnGI4AKNkoGS3G0lDooya4UERnHy4Ljo7o3Qo7o3Q> [15 พฤษภาคม 2561]

dmcr.go.th/detail.php?WP=oKAaq3EhnH94xUP5orO3ERkWoJgaWaDjnGI4AKNko
GS3G0lDooya4UERnHy4Ljo7o3Qo7o3Q [15 พฤษภาคม 2561]

กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2559. ข่าวสาร ทช. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.dmc.go.th/detail.php?WP=oKAaq3EhnH94xUP5orO3ERkWoJgaWaDknGI4A3NjoGS3G0lDooya4UERnHy4Ljo7o3Qo7o3Q> [15 พฤษภาคม 2561]

dmcr.go.th/detail.php?WP=oKAaq3EhnH94xUP5orO3ERkWoJgaWaDknGI4A3Njo
GS3G0lDooya4UERnHy4Ljo7o3Qo7o3Q [15 พฤษภาคม 2561]

กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2559. ข่าวสาร ทช. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.dmc.go.th/detail.php?WP=oKAaq3EhnH94xUP5orO3ERkWoJgaWaDjnGE4A3NjoGS3G0lDooya4UERnHy4Ljo7o3Qo7o3Q> [15 พฤษภาคม 2561]

dmcr.go.th/detail.php?WP=oKAaq3EhnH94xUP5orO3ERkWoJgaWaDjnGE4A3Njo
GS3G0lDooya4UERnHy4Ljo7o3Qo7o3Q [15 พฤษภาคม 2561]

กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2559. ข่าวสาร ทช. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.dmc.go.th/detail.php?WP=oKAaq3EhnH94xUP5orO3ERkWoJgaWaD4nGy4AUNjoGS3G0lDooya4UERnHy4Ljo7o3Qo7o3Q> [15 พฤษภาคม 2561]

dmcr.go.th/detail.php?WP=oKAaq3EhnH94xUP5orO3ERkWoJgaWaD4nGy4AUNj
oGS3G0lDooya4UERnHy4Ljo7o3Qo7o3Q [15 พฤษภาคม 2561]

กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2559. ข่าวสาร ทช. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.dmc.go.th/detail.php?WP=M3A0q2yhrR9jxT25qo7o2OOZET1WM2g0WzxmRqjZJ05q09ZxT25Mo7o2OO0ETyWrTZo7o3Q> [15 พฤษภาคม 2561]

dmcr.go.th/detail.php?WP=M3A0q2yhrR9jxT25qo7o2OOZET1WM2g0WzxmRqj
ZJ05q09ZxT25Mo7o2OO0ETyWrTZo7o3Q [15 พฤษภาคม 2561]

กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2559. ข่าวสาร ทช. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.dmc.go.th/detail.php?WP=M3A0q2yhrR9jxT25qo7o2OOZET1WM2g0Wz5rQqjBT04q09ZxT25Mo7o2OO0ETyWrTZo7o3Q> [15 พฤษภาคม 2561]

dmcr.go.th/detail.php?WP=M3A0q2yhrR9jxT25qo7o2OOZET1WM2g0Wz5rQqjB
T04q09ZxT25Mo7o2OO0ETyWrTZo7o3Q [15 พฤษภาคม 2561]

กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2559. ข่าวสาร ทช. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.dmc.go.th/detail.php?WP=M3A0q2yhrR9jxT25qo7o2OOZET1WM2g0Wz0rQAjBT04q09ZxT25Mo7o2OO0ETyWrTZo7o3Q> [15 พฤษภาคม 2561]

dmcr.go.th/detail.php?WP=M3A0q2yhrR9jxT25qo7o2OOZET1WM2g0Wz0rQAjB
T04q09ZxT25Mo7o2OO0ETyWrTZo7o3Q [15 พฤษภาคม 2561]

กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2559. ข่าวสาร ทช. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.dmc.go.th/detail.php?WP=M3A0q2yhrR9jxT25qo7o2OOZET1WM2g0Wz0rQAjBT04q09ZxT25Mo7o2OO0ETyWrTZo7o3Q> [15 พฤษภาคม 2561]

dmcr.go.th/detail.php?WP=M3A0q2yhrR9jxT25qo7o2OOZET1WM2g0WzxrQEJA
204q09ZxT25Mo7o2OO0ETyWrTZo7o3Q [15 พฤษภาคม 2561]

กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2559. ข่าวสาร ทช. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.dmcr.go.th/detail.php?WP=M3A0q2yhrR9jxT25qo7o2OOZET1WM2g0WzxrQEJA204q09ZxT25Mo7o2OO0ETyWrTZo7o3Q> [15 พฤษภาคม 2561]

กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2559. ข่าวสาร ทช. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.dmcr.go.th/detail.php?WP=M3A0q2yhrR9jxT25qo7o2OOZET1WM2g0WzxrQEJAAT04q09ZxT25Mo7o2OO0ETyWrTZo7o3Q> [15 พฤษภาคม 2561]

กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2559. ข่าวสาร ทช. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.dmcr.go.th/detail.php?WP=M3A0q2yhrR9jxT25qo7o2OOZET1WM2g0WzxrQESJT04q09ZxT25Mo7o2OO0ETyWrTZo7o3Q> [15 พฤษภาคม 2561]

กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2559. ข่าวสาร ทช. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.dmcr.go.th/detail.php?WP=M3A0q2yhrR9jxT25qo7o2OOZET1WM2g0WzxrQEA203q09ZxT25Mo7o2OO0ETyWrTZo7o3Q> [15 พฤษภาคม 2561]

กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2559. ข่าวสาร ทช. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.dmcr.go.th/detail.php?WP=M3A0q2yhrR9jxT25qo7o2OOZET1WM2g0WzxrQMAz03q09ZxT25Mo7o2OO0ETyWrTZo7o3Q> [15 พฤษภาคม 2561]

กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2559. ข่าวสาร ทช. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.dmcr.go.th/detail.php?WP=M3A0q2yhrR9jxT25qo7o2OOZET1WM2g0WzxrQWjAz03q09ZxT25Mo7o2OO0ETyWrTZo7o3Q> [15 พฤษภาคม 2561]

กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2559. ข่าวสาร ทช. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.dmcr.go.th/detail.php?WP=M3A0q2yhrR9jxT25qo7o2OOZET1WM2g0WzxrQSAz03q09ZxT25Mo7o2OO0ETyWrTZo7o3Q> [15 พฤษภาคม 2561]

กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2559. ข่าวสาร ทช. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.dmcr.go.th/detail.php?WP=oKAaq3EhnH94xUP5orO3ERkWoJgaWaDjnGO4A3NkoGS3G0lDooya4UERnHy4Ljo7o3Qo7o3Q> [15 พฤษภาคม 2561]

กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2559. ข่าวสาร ทช. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.dmcr.go.th/detail.php?WP=M3A0q2yhrR9jxT25qo7o2OOZET1WM2g0WzxrQEJA204q09ZxT25Mo7o2OO0ETyWrTZo7o3Q>

dmcr.go.th/detail.php?WP=oKAaq3EhnH94xUP5orO3ERkWoJgaWaDmnGE4ZKNj
oGS3G0lDooya4UERnHy4Ljo7o3Qo7o3Q [15 พฤษภาคม 2561]

กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2559. ข่าวสาร ทช. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.dmcg.go.th/detail.php?WP=M3A0q2yhrR9jxT25qo7o2OOZET1WM2g0Wzx5rQlJZz05q09ZxT25Mo7o2OO0ETyWrTZo7o3Q> [15 พฤษภาคม 2561]

dmcr.go.th/detail.php?WP=M3A0q2yhrR9jxT25qo7o2OOZET1WM2g0Wzx5rQlJZz05q09ZxT25Mo7o2OO0ETyWrTZo7o3Q [15 พฤษภาคม 2561]

กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2559. ข่าวสาร ทช. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.dmcg.go.th/detail.php?WP=M3A0q2yhrR9jxT25qo7o2OOZET1WM2g0WzxrQOjZJ05q09ZxT25Mo7o2OO0ETyWrTZo7o3Q> [15 พฤษภาคม 2561]

dmcr.go.th/detail.php?WP=M3A0q2yhrR9jxT25qo7o2OOZET1WM2g0WzxrQOjZJ05q09ZxT25Mo7o2OO0ETyWrTZo7o3Q [15 พฤษภาคม 2561]

กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2559. ข่าวสาร ทช. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.dmcg.go.th/detail.php?WP=M3A0q2yhrR9jxT25qo7o2OOZET1WM2g0Wzx5rQAjZz04q09ZxT25Mo7o2OO0ETyWrTZo7o3Q> [15 พฤษภาคม 2561]

dmcr.go.th/detail.php?WP=M3A0q2yhrR9jxT25qo7o2OOZET1WM2g0Wzx5rQAjZz04q09ZxT25Mo7o2OO0ETyWrTZo7o3Q [15 พฤษภาคม 2561]

กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2559. ข่าวสาร ทช. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.dmcg.go.th/detail.php?WP=M3A0q2yhrR9jxT25qo7o2OOZET1WM2g0WzxrQWjBJ03q09ZxT25Mo7o2OO0ETyWrTZo7o3Q> [15 พฤษภาคม 2561]

dmcr.go.th/detail.php?WP=M3A0q2yhrR9jxT25qo7o2OOZET1WM2g0WzxrQWjBJ03q09ZxT25Mo7o2OO0ETyWrTZo7o3Q [15 พฤษภาคม 2561]

กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2559. ข่าวสาร ทช. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.dmcg.go.th/detail.php?WP=M3A0q2yhrR9jxT25qo7o2OOZET1WM2g0WzxrQOjA203q09ZxT25Mo7o2OO0ETyWrTZo7o3Q> [15 พฤษภาคม 2561]

dmcr.go.th/detail.php?WP=M3A0q2yhrR9jxT25qo7o2OOZET1WM2g0WzxrQOjA203q09ZxT25Mo7o2OO0ETyWrTZo7o3Q [15 พฤษภาคม 2561]

กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2559. ข่าวสาร ทช. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.dmcg.go.th/detail.php?WP=M3A0q2yhrR9jxT25qo7o2OOZET1WM2g0Wzx3rQWjAz03q09ZxT25Mo7o2OO0ETyWrTZo7o3Q> [15 พฤษภาคม 2561]

dmcr.go.th/detail.php?WP=M3A0q2yhrR9jxT25qo7o2OOZET1WM2g0Wzx3rQWjAz03q09ZxT25Mo7o2OO0ETyWrTZo7o3Q [15 พฤษภาคม 2561]

กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2559. ข่าวสาร ทช. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.dmcg.go.th/detail.php?WP=M3A0q2yhrR9jxT25qo7o2OOZET1WM2g0WzxrQWjZT05q09ZxT25Mo7o2OO0ETyWrTZo7o3Q> [15 พฤษภาคม 2561]

dmcr.go.th/detail.php?WP=M3A0q2yhrR9jxT25qo7o2OOZET1WM2g0WzxrQWjZT05q09ZxT25Mo7o2OO0ETyWrTZo7o3Q [15 พฤษภาคม 2561]

กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2559. ข่าวสาร ทช. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.dmcg.go.th/detail.php?WP=M3A0q2yhrR9jxT25qo7o2OOZET1WM2g0Wzx0rQOjZ205q09ZxT25Mo7o2OO0ETyWrTZo7o3Q> [15 พฤษภาคม 2561]

dmcr.go.th/detail.php?WP=M3A0q2yhrR9jxT25qo7o2OOZET1WM2g0Wzx0rQOjZ205q09ZxT25Mo7o2OO0ETyWrTZo7o3Q [15 พฤษภาคม 2561]

- กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2560. พบซากเต่ากระขนาดใหญ่ บ้านหาดทรายรี [ออนไลน์].
แหล่งที่มา: <http://www.dmcg.go.th/detailAll/14195/nws/22/> [15 พฤษภาคม 2561]
- กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2560. ขอบคุณหัวหน้าอุทยานฯ นำส่งเต่าป่วยจากเสม็ด
[ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.dmcg.go.th/detailAll/15865/nws/22/> [15
พฤษภาคม 2561]
- กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2560. เต่ากระติดอวนลอยที่บางปูใหม่ ยังว่ายน้ำได้ดี
[ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.dmcg.go.th/detailAll/16024/nws/22/> [15
พฤษภาคม 2561]
- กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2560. เร่งช่วยชีวิตเต่าทะเลเกยตื้น หาดพยุหะ [ออนไลน์].
แหล่งที่มา: <http://www.dmcg.go.th/detailAll/16729/nws/22/> [15 พฤษภาคม 2561]
- กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2560. ศวทบ. ได้รับแจ้งพบเต่าลอยติดแปลงหอยเกษตรกร จ.
เพชรบุรี [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.dmcg.go.th/detailAll/17472/nws/22/>
[15 พฤษภาคม 2561]
- กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2560. ศูนย์วิจัยฯ ฝั่งตะวันออก ช่วยเต่ากระเกยตื้นชายหาด
เกาะช้าง จ.ตราด [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: [http://www.dmcg.go.th/detailAll/18097/
nws/22/](http://www.dmcg.go.th/detailAll/18097/nws/22/) [15 พฤษภาคม 2561]
- กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2560. ขอบคุณเครือข่าย ทช. ช่วยเต่ากระ ทะเลสงขลา
[ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.dmcg.go.th/detailAll/18358/nws/22/> [15
พฤษภาคม 2561]
- กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2560. ช่วยกัน เต่ากระมาเกยตื้นบ้านบางปูใหม่ [ออนไลน์].
แหล่งที่มา: <http://www.dmcg.go.th/detailAll/18933/nws/22/> [15 พฤษภาคม 2561]
- กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2560. เต่าทะเลเกยตื้น บริเวณตำบลบางปูใหม่ [ออนไลน์].
แหล่งที่มา: <https://www.dmcg.go.th/detailAll/16310/nws/17> [15 พฤษภาคม 2561]
- กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2560. เต่าทะเลติดอวน [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: [http://www.
dmcg.go.th/detailAll/16309/nws/17/](http://www.dmcg.go.th/detailAll/16309/nws/17/) [15 พฤษภาคม 2561]
- กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2560. ข่าวสาร ทช. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.dmcg.go.th/>

dmcr.go.th/detail.php?WP=oKAaq3EhnH94xUP5orO3ERkWoJgaWaD4nGA4AaN
moGS3G0lDooya4UERnHy4Ljo7o3Qo7o3Q [15 พฤษภาคม 2561]

กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2560. ข่าวสาร ทช. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.dmcr.go.th/detail.php?WP=oKAaq3EhnH94xUP5orO3ERkWoJgaWaD2nGM4AaNl oGS3G0lDooya4UERnHy4Ljo7o3Qo7o3Q> [15 พฤษภาคม 2561]

กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2561. ศูนย์วิจัยฯ ฝั่งตะวันออก รับแจ้งพบเต่าทะเลเกยตื้นเสียชีวิตเกาะจิก จันทบุรี [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.dmcr.go.th/detailAll/21149/nws/17/> [15 พฤษภาคม 2561]

กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2561. เครือข่ายช่วยเต่าทะเลกลางทะเลมหาชัย [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.dmcr.go.th/detailAll/21328/nws/22/> [15 พฤษภาคม 2561]

กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2561. เครือข่ายแจ้งมา ช่วยเขาได้เต่าทะเลชุมพร [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.dmcr.go.th/detailAll/20562/nws/22/> [15 พฤษภาคม 2561]

กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2561. เครือข่ายช่วยชีวิตสัตว์ทะเลหายากพบเต่าทะเลลอยน้ำห่างจากชายฝั่ง 6 กิโลเมตร [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.dmcr.go.th/detailAll/20445/nws/17/> [15 พฤษภาคม 2561]

กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2561. เครือข่ายรักษ์อ่าวไทยตอนบน แจ้งพบเต่าทะเลลอยคอที่บางปู [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.dmcr.go.th/detailAll/20044/nws/22/> [15 พฤษภาคม 2561]

กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2561. ช่วยเต่าอ่อนแรงเกยตื้น ริมเลสิงหนคร [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.dmcr.go.th/detailAll/19444/nws/22/> [15 พฤษภาคม 2561]

กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2561. เต่าทะเลพร้อมใจเกยตื้น เครือข่ายใจดีช่วยดูแลแจ้งเหตุ [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.dmcr.go.th/detailAll/19362/nws/22/> [15 พฤษภาคม 2561]

กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2561. เต่าทะเลขึ้นมาวางไข่บริเวณเกาะคราม จ.ชลบุรี [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.dmcr.go.th/detailAll/21071/nws/22/> [15 พฤษภาคม 2561]

- กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2561. ข่าวสาร ทช. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.dmcr.go.th/detail.php?WP=oKAaq3EhnH94xUP5orO3ERkWoJgaWaD1nGM4ZKNLoGW3G0lDooya4UERnHy4Ljo7o3Qo7o3Q21149/nws/17/> [15 พฤษภาคม 2561]
- กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2561. ข่าวสาร ทช. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.dmcr.go.th/detail.php?WP=oKAaq3EhnH94xUP5orO3ERkWoJgaWaD2nGW4BKlkoGW3G0lDooya4UERnHy4Ljo7o3Qo7o3Q> [15 พฤษภาคม 2561]
- กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2561. ข่าวสาร ทช. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.dmcr.go.th/detail.php?WP=oKAaq3EhnH94xUP5orO3ERkWoJgaWaD4nGq4ZUNloGW3G0lDooya4UERnHy4Ljo7o3Qo7o3Q> [15 พฤษภาคม 2561]
- กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช. 2538. การอนุรักษ์ทรัพยากรธรรมชาติทางทะเล [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.rspg.or.th/articles/anurak/anurak10.htm> [13 มกราคม 2559]
- กลไกการเผยแพร่ข้อมูลข่าวสารความหลากหลายทางชีวภาพ. 2550. เกาะพระทอง ระบบนิเวศและความหลากหลายทางชีวภาพ [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://chmthai.onep.go.th/CHM/Prathong/reptile_info.aspx?reptile_currentPage=19 [1 มีนาคม 2559]
- ข่าวสด. 2560. คลิปนาฬิกาทองเที่ยวช่วยชีวิต ดึงเชือกในล่อนออกจากปากเต่ากระ [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: https://www.khaosod.co.th/around-thailand/news_588159 [15 พฤษภาคม 2561]
- จิรากรณ์ คชเสนี และ นันทนา คชเสนี. 2558. นิเวศวิทยาเพื่อสิ่งแวดล้อม. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ชลาทิพ จันท์ชมภู. นักวิชาการประมงชำนาญการ หัวหน้ากลุ่มสัตว์ทะเลหายาก ศูนย์วิจัยและพัฒนาทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่งอ่าวไทยฝั่งตะวันออก. สัมภาษณ์, 18 มกราคม 2559.
- ชลาทิพ จันท์ชมภู, ชาดิชาย เพ็ญเพียร, ศักดา อิงเอนู และ สุภิสรา จิตเส็ง. 2559. สถานภาพประชากรแม่พันธุ์เต่าทะเลและสถิติการวางไข่ บริเวณเกาะคราม จังหวัดชลบุรี. ประมวลบทความการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์ทางทะเล ครั้งที่ 5, หน้า 210-220. กรุงเทพฯ, ประเทศไทย.
- เดลินิวส์. 2555. รวบพ่อเต่าชายเต่าทะเลสตัฟฟายใหญ่ [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <https://www>.

dailynews.co.th/regional/118824 [19 มกราคม 2559]

เดลินิวส์. 2556. พบเต่าทะเลยักษ์เกยตื้นหาดมะขามป้อม [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://chm-thai.onep.go.th/chm/MarineBio/News/2556/dailynews_20130303.png [19 มกราคม 2559]

เดลินิวส์. 2557. พบซากเต่ากระตายลอยติดชายหาด [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <https://www.dailynews.co.th/regional/235289> [19 มกราคม 2559]

เดลินิวส์. 2557. "เต่ากระ" สภาพืดโรยหลงติดอวนประมง-ส่งพักฟื้นศูนย์วิจัย [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <https://www.dailynews.co.th/regional/227833> [19 มกราคม 2559]

เดลินิวส์. 2558. คลื่นซัดก้อนน้ำมันปริศนา ลอยเกยตื้นหาดเมืองคอน [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <https://www.dailynews.co.th/regional/367937> [19 มกราคม 2559]

เต่าเกยฝั่งคอหวยแห่ตัวเลขเด็ด 15. 29 กุมภาพันธ์ 2555. บ้านเมือง: 6.

เต่ายักษ์เกยตื้นที่ชลบุรี. 15 พฤษภาคม 2556. มติชน: 5.

ไทยรัฐออนไลน์. 2557. จ่อ นำ ลูกวาฬบรูด้า ผ่าพิสูจน์หลังพบเกยหาดชุมพร ตายอีก [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <https://www.thairath.co.th/content/471745> [19 มกราคม 2559]

ไทยรัฐออนไลน์. 2557. มรสุมกระหน่ำ! 'เต่ากระ' เกยหาดแหลมสน จ.ชุมพร [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <https://www.thairath.co.th/content/471009> [19 มกราคม 2559]

ไทยรัฐออนไลน์. 2558. แซร์กันหรือยัง? เรื่องสุดเศร้า เต่าทะเลไทยใกล้สูญพันธุ์? [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.thairath.co.th/content/477245> [19 มกราคม 2559]

ไทยรัฐออนไลน์. 2558. หตู่! วันเดียว พบซากโลมาปากขวด-เต่ากระ'ลอยติดหาดเกาะช้าง [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <https://www.thairath.co.th/content/521801> [19 มกราคม 2559]

ไทยรัฐออนไลน์. 2558. นำห้วง! เต่ากระเกยหาดชุมพร ตัวที่ 3 ในรอบสัปดาห์ [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <https://www.thairath.co.th/content/474510> [19 มกราคม 2559]

ไทยรัฐออนไลน์. 2559. ซากเต่ากระ เน่าเกยหาดเกาะช้าง คัดติดอวนเรือประมง [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <https://www.thairath.co.th/content/722998> [11 พฤษภาคม 2561]

- ไทยรัฐออนไลน์. 2559. ทร. ช่วยรักษาเต่ากระ 2 ตัวบาดเจ็บ หลังมีผู้พบลอยทะเลสดหีบ-บางปู
[ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <https://www.thairath.co.th/content/591294> [11 พฤษภาคม 2561]
- ไทยรัฐออนไลน์. 2561. ทีมอนุรักษ์ช่วย 2 เต่ากระป่วย-บาดเจ็บ คลื่นซัดมาเกยหาดเกาะหมาก
[ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <https://www.thairath.co.th/content/1257082> [11 พฤษภาคม 2561]
- ธีรวัตร เปรมปรี, สุระชัย ภาสตา และ เผ่าเทพ เชิดสุขใจ. 2559. 13 ปี การเกยตื้นของสัตว์ทะเลหายากบริเวณอ่าวไทยตอนบน [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.dmcr.go.th/detailLibrary.php?WP=oH93xRL5orOaL3DznGy4ZaN2oGW3G0lDooya4UERnHy4Ljo7o3Qo7o3Q> [11 พฤษภาคม 2561]
- นวลพรรณ คณานุรักษ์ และ ปัทมา สิงห์รักษ์. 2555. ประเภทและแหล่งที่มาของขยะทะเลบริเวณหาดบางแสน จังหวัดชลบุรี. ประมวลบทความการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์ทางทะเล 2555, หน้า 491-501. กรุงเทพฯ, ประเทศไทย.
- ปรีดา เจริญพักตร์. ประธานมูลนิธิฟื้นฟูทรัพยากรทะเลสยาม และผู้บริหารเกาะทะเล ภูเก็ต รีสอร์ท. สัมภาษณ์, 11 ตุลาคม 2557.
- ปิยะณัฐ กลับกลาย, จิราภัส อัจฉิมานุกร, อุไรรัตน์ เนตรหาญ, ศันสนีย์ หวังวรลักษณ์ และ มณฑิ นิศาศ์ ศรีสมวงศ์. 2559. โครงสร้างทางสังคมและปัญหาของชุมชนประมงในพื้นที่ชายฝั่งจังหวัดประจวบคีรีขันธ์. ประมวลบทความการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์ทางทะเล ครั้งที่ 5, หน้า 229-238. กรุงเทพฯ, ประเทศไทย.
- ผู้จัดการออนไลน์. 2555. เต่ากระขนาดใหญ่ตายลอยเกยชายหาดสยามบีช [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://chm-thai.onep.go.th/chm/MarineBio/News/2555/manager_20121113_3.png [15 พฤษภาคม 2561]
- ผู้จัดการออนไลน์. 2556. พบเต่ากระเพศผู้หนัก 60 กก. ตายเกยริมชายหาดระยอง [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://chm-thai.onep.go.th/chm/MarineBio/News/2556/manager_20130703.png [15 พฤษภาคม 2561]
- พระราชบัญญัติสงวนและคุ้มครองสัตว์ป่า พ.ศ. 2535. ราชกิจจานุเบกษา 47. 1-16.

- พัชรารภรณ์ แก้วม่วง, ราชาวดี จันทรา, ชวีญญา เจียกวธัญญ, หิรัญ กังแฮ และ ก้องเกียรติ กิตติวัฒนา
วงศ์. 2559. ผลกระทบของขยะทะเลต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมทางทะเลและเต่าทะเลใน
ประเทศไทย. ประมวลบทความการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์ทางทะเล ครั้งที่ 5, หน้า
265-277. กรุงเทพฯ, ประเทศไทย.
- กรมเมต ชุ่มชาติ. 2558. สถิติและสาเหตุการเกยตื้นของสัตว์ทะเลหายากในพื้นที่อ่าวไทยฝั่ง
ตะวันออกในช่วงตุลาคม 2557-มิถุนายน 2558 [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.dmcg.go.th/attachment/cms/download.php?WP=๐JA3pRkCoMOahKGtnJg4WaN2๐GM3ARjloH9axUF5nrO4MNo7๐3Q๐7๐3Q> [15 พฤษภาคม 2561]
- มติชนออนไลน์. 2559. ข่าวดี! ทช. พบเต่ากระวางไข่ 129 ฟองบนเกาะสมุย [ออนไลน์].
แหล่งที่มา: https://www.matichon.co.th/local/news_182249 [15 พฤษภาคม 2561]
- มติชนออนไลน์. 2560. สืบ 2 ทลายโกดังย่านบางบัวทอง ยึดไม้หวงห้าม-ซากเต่ากระ [ออนไลน์].
แหล่งที่มา: https://www.matichon.co.th/local/crime/news_414031 [15 พฤษภาคม 2561]
- เมเนเจอร์ออนไลน์. 2559. พบซากเต่ากระตายเกยหาดกองเรือ [ออนไลน์]. แหล่งที่มา:
<https://mgronline.com/local/detail/9590000094040> [15 พฤษภาคม 2561]
- เมเนเจอร์ออนไลน์. 2559. พบ “เต่ากระ” ตายเกยหาดบางแสน คาดอาจขาดอากาศหายใจจาก
แพลงก์ตอนบลูม [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <https://mgronline.com/local/detail/9590000065902> [15 พฤษภาคม 2561]
- เมเนเจอร์ออนไลน์. 2559. ชาวประมงระยองพบซากเต่าตนุตาย 3 ตัวซ้อนโดยไม่ทราบสาเหตุ
[ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <https://mgronline.com/local/detail/9590000052592> [15
พฤษภาคม 2561]
- เมเนเจอร์ออนไลน์. 2560. พบซาก “เต่ากระ” หัวขาด ลอยเกยหาดจอมเทียน จ.ชลบุรี [ออนไลน์].
แหล่งที่มา: <https://mgronline.com/local/detail/9600000088126> [15 พฤษภาคม 2561]
- มิถิลา ปราณศิลป์, อิศรา อาศรินันต์, อัญชลี จันทรงค์, และ ชลาทิพ จันท์ชมภู. 2559. ปริมาณและ
ประเภทขยะทะเลบริเวณหาดแหลมแม่พิมพ์ จังหวัดระยอง ปี 2557-2558. ประมวล

บทความการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์ทางทะเล ครั้งที่ 5, หน้า 588-596. กรุงเทพฯ, ประเทศไทย.

มูลนิธิฟื้นฟูทรัพยากรทะเลสยาม. สัมภาษณ์, 5 มิถุนายน 2558.

มูลนิธิฟื้นฟูทรัพยากรทะเลสยาม. สัมภาษณ์, 16 พฤษภาคม 2561.

ระบบฐานข้อมูลกลางและมาตรฐานข้อมูลทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2556. เต่าทะเล

[ออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://marinegiscenter.dmcg.go.th/km/seaturtle_doc11/#.VpUp3PmLRxA [10 มกราคม 2559]

วรรณษา เรืองแก้ว, สิตากาญจน์ ทวีสุวรรณ, ชินกร ทองไชย, พัชรารณ เยาวสุต, ยุทธพงษ์ พงษ์อักษร และ รำข้าวดี จันทรา. 2559. การใช้ประโยชน์ทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่งบริเวณเกาะ ยาวน้อย-เกาะยาวใหญ่. ประมวลบทความการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์ทางทะเล ครั้งที่ 5, หน้า 247-255. กรุงเทพฯ, ประเทศไทย.

วิกิพีเดีย สารานุกรมเสรี. 2554. ไฟล์: Thailand location map [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: https://hu.wikipedia.org/wiki/F%C3%A1jl:Thailand_location_map.svg [5 กรกฎาคม 2561]

วินัย กล่อมอินทร์. 2545. แหล่งวางไข่เต่าตนุ (Chelonia mydas) เกาะหุยง: ชีววิทยาและการอนุรักษ์. กรุงเทพมหานคร: วิทยาลัยการทัพเรือ สถาบันวิชาการทหารเรือชั้นสูง. (อัดสำเนา)

ศูนย์ข้อมูลประเทศไทย. 2555. ประเทศไทย [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://thailand.kapook.com/> [20 พฤษภาคม 2561]

ศูนย์อนุรักษ์พันธุ์เต่าทะเล กองทัพเรือ. 2559. ทำความรู้จักกับเต่าทะเล [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.turtles.navy.mi.th/knowledge/lifecycle.html> [12 มกราคม 2559]

ศูนย์อนุรักษ์พันธุ์เต่าทะเล กองทัพเรือ. 2559. ข่าวกิจกรรมเรื่องที่ 272 [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://www.turtles.navy.mi.th/topic2_old.php?page=272 [12 มกราคม 2559]

ศูนย์อนุรักษ์พันธุ์เต่าทะเล กองทัพเรือ. 2561. facebook ศูนย์อนุรักษ์พันธุ์เต่าทะเล กองทัพเรือ [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: https://www.facebook.com/SeaTurtlesRTA/?hc_ref=ARTfHabBdMdZpeQsW3kxsRCgpcX_Va5hPSXglr9-kcP2EAG1Q4DcYm20SCzLaL-cCvs [15 พฤษภาคม 2561]

ศูนย์อนุรักษ์พันธุ์เต่าทะเล กองทัพเรือ. 2561. ข่าวสารจาก facebook [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.turtles.navy.mi.th/knowledge/lifecycle.html> [15 พฤษภาคม 2561]

- ศูนย์อนุรักษ์พันธุ์เต่าทะเล กองทัพเรือ. 2561. ข่าวสารจาก facebook [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: https://www.facebook.com/SeaTurtlesRTA/?hc_ref=ARTfHabBdMdZpeQsW3kx sRCgpcX_Va5hPSXglr9-kcP2EAG1Q4DcYm20SCzLaL-cCvs [15 พฤษภาคม 2561]
- ศูนย์อนุรักษ์พันธุ์เต่าทะเล กองทัพเรือ. 2561. ข่าวสารจาก facebook [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: https://www.facebook.com/SeaTurtlesRTA/?hc_ref=ARTfHabBdMdZpeQsW3kx sRCgpcX_Va5hPSXglr9-kcP2EAG1Q4DcYm20SCzLaL-cCvs [15 พฤษภาคม 2561]
- สันติ นิลวัฒน์, อรุณ น้อยไฉน และ ชวนนท์ กัลยา. 2559. ขยะทะเลบริเวณแนวปะการังหมู่เกาะกระ จังหวัดนครศรีธรรมราช. ประมวลบทความการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์ทางทะเล ครั้งที่ 5, หน้า 200-209. กรุงเทพฯ, ประเทศไทย.
- สุทัศน์ ดวงจิตร์. 2554. ไมโครคอนเตรียลตีเอ็นเอและการประยุกต์ใช้ในงานนิติวิทยาศาสตร์. วารสารนิติเวชศาสตร์ 4: 53-65.
- สุพจน์ จันทราภรณ์ศิลป์. 2554. ชีววิทยาและการอนุรักษ์เต่าทะเลไทย. สถาบันวิจัยและพัฒนาทรัพยากรทางทะเล ชายฝั่งทะเล และป่าชายเลน จังหวัดภูเก็ต.
- สุพจน์ จันทราภรณ์ศิลป์. 2556. เต่าทะเลไทย: ชนิด ชีววิทยา การศึกษาและการอนุรักษ์. ศูนย์วิจัยทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่งอ่าวไทยตอนล่าง จังหวัดสงขลา.
- สุรีพร เกตุงาม. 2546. เครื่องหมายดีเอ็นเอในงานปรับปรุงพันธุ์พืช. วารสารวิชาการมหาวิทยาลัย อุบลราชธานี 5: 37-59.
- สำนักข่าว กรมประชาสัมพันธ์. 2560. ทช. พบซากเต่าทะเลเกยตื้นบริเวณเขาแหลมหญ้า จ.ระยอง คาดสาเหตุการตายเกิดจากถูกของแข็งกระแทกหรือติดเครื่องมือประมง [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://thainews.prd.go.th/website_th/news/news_detail/WNEVN6012300020002 [15 พฤษภาคม 2561]
- สำนักอนุรักษ์ทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2557. คัมภีร์ทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่งของไทย เอกสารเผยแพร่สำนักอนุรักษ์ทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง ฉบับที่ 67. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย.
- อดิชาติ อินทองคำ. นักวิชาการประมงชำนาญการ ศูนย์วิจัยและพัฒนาทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่งอ่าวไทยตอนกลาง. สัมภาษณ์, 12 มกราคม 2559.

- อติชาติ อินทองคำ, จักรพงษ์ ฐานสันโตษ, พีรศักดิ์ พิทักษ์วาที และชัยยะ ดาวตุ่น. 2557. สถานการณ์การเกยตื้นในรอบ 10 ปี ของสัตว์ทะเลหายาก บริเวณอ่าวไทยตอนกลาง. การประชุมวิทยาศาสตร์ทางทะเล ครั้งที่ 4, หน้า 429-438. กรุงเทพฯ, ประเทศไทย.
- Abreu-Grobois, A., Horrocks, J., Formia, A., Dutton, P., LeRoux, R., VélezZuazo, X., Soares, L. and Meylan, P. 2006. New mtDNA D-loop primers which work for a variety of marine turtle species may increase the resolution of mixed stock analyses. In, Abstracts of the 26th Annual Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation, pp. 179. Island of Crete, Greece.
- Allen, Z. C., Shah, N. J., Grant, A., Derand, G. D. and Bell, D. 2010. Hawksbill turtle monitoring in Cousin Island Special Reserve, Seychelles: An eight-fold increase in annual nesting numbers. Endangered Species Research 11: 195-200.
- Avens, L. and Snover, M.L. 2013. Age and Age Estimation in Sea Turtles. In Wyneken, J., Lohman, K. J. and Musick, J. A. (eds). The Biology of Sea Turtles Volume III. Boca Raton, FL: CRC Press. pp. 97-134.
- Balloux, F. 2004. Heterozygote excess in small populations and the heterozygote-excess effective population size. Evolution 58: 1891-1900.
- Bennett, P. and Bennett, K. U. 1992. Fibropapillomatosis [Online]. Available from: <https://en.wikipedia.org/wiki/Fibropapillomatosis#/media/File:Turtlewithftpumors0149026.jpg> [2018, June 1]
- Campbell, W. T. 2015. Exotic Animal Hematology and Cytology. 4th ed. Singapore: Wiley-Blackwell.
- Carreras, C., Godley, B. J., León, Y. M., Hawkes, L. A., Revuelta, O., Raga, J. A. and Tomás, J. 2013. Contextualising the last survivors: Population structure of marine turtles in the Dominican Republic. PLoS One 8: e66037.
- Carreras, C., Pont, S., Maffucci, F., Pascual, M., Barceló, A., Bentivegna, F., Cardona, L., Alegre, F., SanFélix, M., Fernández, G. and Aguilar, A. 2006. Genetic structuring of immature loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) in the

- Mediterranean Sea reflects water circulation patterns. Marine Biology 149: 1269-1279.
- CITES. 2013. Hawksbill Turtle [Online]. Available from: https://www.cites.org/eng/gallery/species/reptile/hawksbill_turtle.html [2016, January 14]
- Donnelly, M., Eckert, K. L., Bjorndal, K. A. and Abreu-Grobois, F. A. 1999. Population identification. Marine Turtle Specialist Group Publication 4: 1-8.
- Douwma, G. 2002. Hawksbill turtle (*Eretmochelys imbricata*) [Online]. Available from: <http://www.arkive.org/hawksbill-turtle/eretmochelys-imbricata/image-G2418.html> [2016, February 20]
- Duran, N., Dunbar, S. G., Escobar, R. A. and Standish, T. G. 2015. High frequency of multiple paternity in a solitary population of olive ridley sea turtles in Honduras. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 463: 63-71.
- Ekanayake, E. M. L., Kapurusinghe, T., Saman, M. M., Rathnakumara, D. S., Samaraweera, P., Ranawana, K. and Rajakaruna, R. S. 2013. Paternity of green turtle (*Chelonia mydas*) clutches laid at Kosgoda, Sri Lanka. Herpetological Conservation and Biology 8: 27-37.
- Encalada, S. E., Lahanas, P. N., Bjorndal, K. A., Bolten, A. B., Miyamoto, M. M. and Bowen, B. W. 1996. Phylogeography and population structure of the Atlantic and Mediterranean green turtle *Chelonia mydas*: A mitochondrial DNA control region sequence assessment. Molecular Ecology 5: 473-483.
- Figgenger, C., Chacón-Chaverri, D., Jensen, M. P. and Feldhaar, H. 2016. Paternity revisited in a recovering population of Caribbean leatherback turtles (*Dermochelys coriacea*). Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 475: 114-123.
- FitzSimmons, N. N., Moritz, C. and Moore, S. S. 1995. Conservation and dynamics of microsatellite loci over 300 million years of marine turtle evolution. Molecular Biology and Evolution 12(3): 432-440.

- Freeland, J. R., Kirk, H. and Petersen, S. D. 2011. Molecular Ecology. 2nd ed. Singapore: Wiley-Blackwell.
- Google Maps. 2018. เกาะทะลุ [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <https://www.google.com/maps/place/%E0%B9%80%E0%B8%81%E0%B8%B2%E0%B8%B0%E0%B8%97%E0%B8%B0%E0%B8%A5%E0%B8%B8/@11.0759506,99.5501953,3281m/data=!3m1!1e3!4m5!3m4!1s0x30ff189804abb44d:0x8bd9237c3abceeeb!8m2!3d11.0762275!4d99.560394> [5 กรกฎาคม 2561]
- Google Maps. 2018. เกาะมันใน [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <https://www.google.com/maps/place/%E0%B9%80%E0%B8%81%E0%B8%B2%E0%B8%B0%E0%B8%A1%E0%B8%B1%E0%B8%99%E0%B9%83%E0%B8%99/@12.6124693,101.6839291,1630m/data=!3m2!1e3!4b1!4m5!3m4!1s0x31030b3ee82b802d:0xb1a9b52eb9b85ba7!8m2!3d12.6112537!4d101.6876165> [5 กรกฎาคม 2561]
- Great Barrier Reef Marine Park Authority. 2018. Marine Turtles [Online]. Available from: <http://www.gbrmpa.gov.au/about-the-reef/animals/marine-turtles> [2018, June 1]
- Hoekert, W. E., Neufeglise, H., Schouten, A. D. and Menken, S. B. 2002. Multiple paternity and female-biased mutation at a microsatellite locus in the olive ridley sea turtle (*Lepidochelys olivacea*). Heredity (Edinb) 89: 107-113.
- International Union for Conservation of Nature. 2012. IUCN Red List Categories and Criteria: Version 3.1. 2nd ed. Gland, Switzerland: Colchester Print Group.
- Inter-American Convention for the Protection and Conservation of Sea Turtles (IAC). 2006. Sea Turtle and Fisheries [Online]. Available from: <http://www.iacseaturtle.org/eng-docs/publicaciones/Pesquerias-FINAL-ENG.pdf> [2018, April 30]
- Joseph, J. and Shaw, P. W. 2010. Multiple paternity in egg clutches of hawksbill turtles (*Eretmochelys imbricata*). Conservation Genetics 12: 601-605.
- Kocher, T. D., Thomas, W. K., Meyer, A., Edwards, S. V., Paabo, S., Villablanca, F. X. and Wilson, A. C. 1989. Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals:

- Amplification and sequencing with conserved primers. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 86: 6196-6200.
- Lutz, L. P., Musick, A. J. and Wyneken, J. 1996. The Biology of Sea Turtles. Boca Raton, FL: CRC Press.
- Miro-Herrans, A. T., Velez-Zuazo, X., Acevedo, J. P. and McMillan, W. O. 2008. Isolation and characterization of novel microsatellites from the critically endangered hawksbill sea turtle (*Eretmochelys imbricata*). Molecular Ecology Resources 8: 1098-1101.
- Moore, M. K. and Ball, R. M. 2002. Multiple paternity in loggerhead turtle (*Caretta caretta*) nests on Melbourne Beach, Florida: A microsatellite analysis. Molecular Ecology 11: 281-288.
- Mortimer, J. A. and Donnelly, M. 2008. *Eretmochelys imbricata* [Online]. Available from: <http://www.iucnredlist.org/details/8005/0> [2015, October 5]
- National Marine Fisheries Service and U.S. Fish and Wildlife Service. 2013. Hawksbill Sea Turtle (*Eretmochelys imbricata*) 5-year Review: Summary and Evaluation [Online]. Available from: http://www.nmfs.noaa.gov/pr/pdfs/species/hawksbill_seaturtle2013_5yearreview.pdf [2016, January 14]
- National Oceanic and Atmospheric Administration. 2014. Protected Resources: Sea Turtles [Online]. Available from: <http://www.nmfs.noaa.gov/pr/species/turtles/hawksbill.htm#status> [2016, January 14]
- Network for Endangered Sea Turtles. 1995. Turtle Facts [Online]. Available from: <http://www.nestonline.org/HawksbillSeaTurtle.htm> [2016, January 13]
- Nishizawa, H., Joseph, J. and Chong, Y. K. 2016. Spatio-temporal patterns of mitochondrial DNA variation in hawksbill turtles (*Eretmochelys imbricata*) in Southeast Asia. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 474: 164-170.

- OKnation. 2555. เปิดแผนที่ไทยแลนด์รีเวียร์- Royal Coast :ระวังต่างชาติเตรียมอุบที่ชายฝั่งทะเล
ซ้ารอย [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: [http://oknation.nationtv.tv/blog/print.php?id=791](http://oknation.nationtv.tv/blog/print.php?id=791177)
 177 [20 กุมภาพันธ์ 2561]
- Outline Worlds Map Images. 2009. White-transparent Political World Map [Online].
 Available from: <http://www.outline-world-map.com/white-transparent-political-world-map-b5a> [2016, May 20]
- Pearse, D. E. and Avise, J. C. 2001. Turtle mating systems: Behavior, sperm storage, and genetic paternity. Journal of Heredity 92: 206-211.
- Phillips, K. P., Jorgensen, T. H., Jolliffe, K. G., Jolliffe, S. M., Henwood, J. and Richardson, D. S. 2013. Reconstructing paternal genotypes to infer patterns of sperm storage and sexual selection in the hawksbill turtle. Molecular Ecology 22: 2301-2312.
- Sea Turtle Conservancy. 2017. Threats to Sea Turtles [Online]. Available from: <https://conserveturtles.org/information-sea-turtles-threats-sea-turtles/> [2018, April 30]
- Shanker, K., Ramadevi, J., Choudhury, B. C., Singh, L. and Aggarwal, R. K. 2004. Phylogeography of olive ridley turtles (*Lepidochelys olivacea*) on the east coast of India: Implications for conservation theory. Molecular Ecology 13: 1899-1909.
- Vargas, S. M., Jensen, M. P., Ho, S. Y., Mobaraki, A., Broderick, D., Mortimer, J. A., Whiting, S. D., Miller, J., Prince, R. I., Bell, I. P., Hoenner, X., Limpus, C. J., Santos, F. R. and FitzSimmons, N. N. 2015. Phylogeography, genetic diversity, and management units of hawksbill turtles in the Indo-Pacific. Journal of Heredity 107: 199-213.
- Zolgharnein, H., Salari-Aliabadi, D. M. A., Mohammad Foroumand, A. and Roshani, S. 2011. Genetic population structure of Hawksbill turtle (*Eretmochelys*

imbricata) using microsatellite analysis. Iranian Journal of Biotechnology 9: 56-62.





ภาคผนวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ภาคผนวก ก.
 เกณฑ์การประเมินสถานภาพสิ่งมีชีวิต
 ของ International Union for Conservation of Nature (IUCN)



Critically Endangered (CR)

This assessment measures changes in populations based on the number of mature individuals (International Union for Conservation of Nature, 2012), specifically changes in the annual number of nesting females.

A. Reduction in population size based on any of the following:

1. An observed, estimated, inferred or suspected population size reduction of $\geq 90\%$ over the last 10 years or three generations, whichever is the longer, where the causes of the reduction are clearly reversible AND understood AND ceased, based on (and specifying) any of the following:

- (a) direct observation
- (b) an index of abundance appropriate to the taxon
- (c) a decline in area of occupancy, extent of occurrence and/or quality of habitat
- (d) actual or potential levels of exploitation
- (e) the effects of introduced taxa, hybridization, pathogens, pollutants, competitors or parasites.

2. An observed, estimated, inferred or suspected population size reduction of $\geq 80\%$ over the last 10 years or three generations, whichever is the longer, where the reduction or its causes may not have ceased OR may not be understood OR may not be reversible, based on (and specifying) any of (a) to (e) under A1.
 3. A population size reduction of $\geq 80\%$, projected or suspected to be met within the next 10 years or three generations, whichever is the longer (up to a maximum of 100 years), based on (and specifying) any of (b) to (e) under A1.
 4. An observed, estimated, inferred, projected or suspected population size reduction of $\geq 80\%$ over any 10 year or three generation period, whichever is longer (up to a maximum of 100 years in the future), where the time period must include both the past and the future, and where the reduction or its causes may not have ceased OR may not be understood OR may not be reversible, based on (and specifying) any of (a) to (e) under A1.
- B. Geographic range in the form of either B1 (extent of occurrence) OR B2 (area of occupancy) OR both:
1. Extent of occurrence estimated to be less than 100 km², and estimates indicating at least two of a-c:
 - a. Severely fragmented or known to exist at only a single location.
 - b. Continuing decline, observed, inferred or projected, in any of the following:
 - (i) extent of occurrence
 - (ii) area of occupancy
 - (iii) area, extent and/or quality of habitat
 - (iv) number of locations or subpopulations
 - (v) number of mature individuals.
 - c. Extreme fluctuations in any of the following:
 - (i) extent of occurrence
 - (ii) area of occupancy

(iii) number of locations or subpopulations

(iv) number of mature individuals.

2. Area of occupancy estimated to be less than 10 km², and estimate indicating at least two of a-c:

a. Severely fragmented or known to exist at only a single location.

b. Continuing decline, observed, inferred or projected, in any of the following:

(i) extent of occurrence

(ii) area of occupancy

(iii) area, extent and/or quality of habitat

(iv) number of locations or subpopulations

(v) number of mature individuals.

c. Extreme fluctuations in any of the following:

(i) extent of occurrence

(ii) area of occupancy

(iii) number of locations or subpopulations

(iv) number of mature individuals.

C. Population size estimated to number fewer than 250 mature individuals and either:

1. An estimated continuing decline of at least 25% within three years or one generation, whichever is longer, (up to a maximum of 100 years in the future) OR

2. A continuing decline, observed, projected, or inferred, in numbers of mature individuals AND at least one of the following (a-b):

a. Population structure in the form of one of the following:

(i) no subpopulation estimated to contain more than 50 mature individuals,

OR

(ii) at least 90% of mature individuals in one subpopulation.

- b. Extreme fluctuations in number of mature individuals.
- D. Population size estimated to number fewer than 50 mature individuals.
- E. Quantitative analysis showing the probability of extinction in the wild is at least 50% within 10 years or three generations, whichever is the longer (up to a maximum of 100 years).



ภาคผนวก ข.

ข้อมูลเต่ากระ

ตารางที่ ข - 1 ข้อมูลทางสัณฐานวิทยาของลูกเต่ากระที่เกิดในปี พ.ศ. 2557 ณ เกาะทะลุ จังหวัด
ประจวบคีรีขันธ์

Clutch no.	Sample no.	Weight (g)	Carapace L (cm)		Carapace W (cm)		mtDNA	nuDNA
			Curve	Straight	Curve	Straight		
1	EITL 001	650	22	20.5	20	15.5		✓
1	EITL 002	895	21	20	18	15.5		✓
1	EITL 003	1110	22	22	20	16		
1	EITL 004	845	20	19	18	15.5		✓
1	EITL 005	1160	23	21	20	16		✓
1	EITL 006	955	21	19	19	15		
1	EITL 007	1155	22	21	20	16		
1	EITL 008	1035	22	20	19.5	16		✓
1	EITL 009	855	20.5	19	18	14.5		
1	EITL 010	885	21	20	18	15	✓	✓
1	EITL 011	1150	22	21.5	20	17		
1	EITL 012	1010	22	20.5	19	15.5		✓
1	EITL 013	815	21	20	18	15		
1	EITL 014	1310	22.5	21	21	16.5		✓
1	EITL 015	1215	23	21	20	16.5		✓
1	EITL 016	895	21	19	19	15.5		
1	EITL 017	990	22	19	19	15		✓
1	EITL 018	855	21	20	18	15		
1	EITL 019	910	22	20	19	16		✓
1	EITL 020	815	20	20	18	16		
1	EITL 021	1095	22	21	20	15.5		✓

Clutch no.	Sample no.	Weight (g)	Carapace L (cm)		Carapace W (cm)		mtDNA	nuDNA
			Curve	Straight	Curve	Straight		
1	EITL 022	1125	22	20.5	21	16		
1	EITL 023	950	20	19.5	18	15		
1	EITL 024	750	19.5	18	17	14	✓	✓
1	EITL 025	910	20.5	19	19	15		✓
1	EITL 026	650	17	16	15.5	13		
1	EITL 027	450	18	17	16	13		✓
1	EITL 028	655	16	15	14.5	11.5		
1	EITL 029	845	20	19	18	15		
1	EITL 030	1000	21	20	19	16		✓
1	EITL 031	690	18.5	18	17	13.5		
1	EITL 032	690	18.5	18	17	14		
1	EITL 033	670	18	17.5	16.5	13.5		✓
1	EITL 034	795	19	18	17	14		✓
1	EITL 035	585	17	16	15.5	12		
1	EITL 036	745	19	18	17	14	✓	✓
1	EITL 037	760	19.5	18	17.5	14		
1	EITL 038	630	18	17.5	16.5	13		
1	EITL 039	825	19	18	18	14.5		✓
1	EITL 040	1050	22	20.5	19.5	16		
1	EITL 041	665	18	17.5	16.5	13.5		
1	EITL 042	655	18	17.5	16	13		✓
1	EITL 043	660	18.5	17	16.5	13		
1	EITL 044	790	19	18	18	14.5		✓
1	EITL 045	995	21	20	19	15		
1	EITL 046	1080	21	20	20.5	15.5		✓
1	EITL 047	725	19.5	18	17	14		✓

Clutch no.	Sample no.	Weight (g)	Carapace L (cm)		Carapace W (cm)		mtDNA	nuDNA
			Curve	Straight	Curve	Straight		
1	EITL 048	775	19	18	17	14	✓	✓
1	EITL 049	845	20	19.5	18	15		
1	EITL 050	840	19.5	18	17.5	14	✓	✓
1	EITL 051	605	17.5	16.5	15.5	13		
1	EITL 052	785	19	18	17.5	13.5		✓
1	EITL 053	495	16	15.5	15.5	12		
1	EITL 054	755	19.5	18	17	14		
1	EITL 055	805	20	18	18.5	14		
1	EITL 056	680	19	18	16.5	13.5		✓
1	EITL 057	580	18	17.5	16	13		
1	EITL 058	845	19.5	18.5	18	15		✓
1	EITL 059	855	20.5	19	18.5	15		
1	EITL 060	875	20	19	18	15		✓
1	EITL 061	935	20.5	19	18	15		
1	EITL 062	795	19.5	18.5	17	13		
1	EITL 063	550	17.5	17	15.5	13.5		
1	EITL 064	725	19	18.5	16.5	13.5		✓
1	EITL 065	580	18	16.5	16.5	13.5		
1	EITL 066	1025	21	19	18.5	15		
1	EITL 067	840	20.5	18.5	18	15	✓	✓
1	EITL 068	995	20.5	20	19	15		
1	EITL 069	925	20	19	18.5	15		✓
1	EITL 070	925	21	20	19	15.5		
1	EITL 071	985	21	20	19	16		✓
1	EITL 072	675	18	17.5	16.5	13.5		
1	EITL 073	735	20	19.5	17.5	15.5		✓

Clutch no.	Sample no.	Weight (g)	Carapace L (cm)		Carapace W (cm)		mtDNA	nuDNA
			Curve	Straight	Curve	Straight		
1	EITL 074	635	18	17	16	12.5		
1	EITL 075	680	19	18	17	15		✓
1	EITL 076	675	18.5	18	16.5	13.5		
1	EITL 077	720	19	18.5	17	14		✓
1	EITL 078	595	18	17	16	13.5		
1	EITL 079	705	19	18	16.5	13.5		✓
1	EITL 080	755	19	18	16.5	13.5		
1	EITL 081	735	19	18	17	14.5		
1	EITL 082	1050	21	20	19	16		
1	EITL 083	630	18.5	18	16	13.5		✓
1	EITL 084	705	19	18	16.5	14		
1	EITL 085	805	20.5	19	18	15		
1	EITL 086	950	21	20	18.5	15.5		✓
1	EITL 087	860	20	19	18	15.5		
1	EITL 088	565	17	16	15	13		
1	EITL 089	1020	22	20.5	20.5	17	✓	✓
1	EITL 090	705	19	18	17	14	✓	✓
1	EITL 091	965	21	19.5	18.5	16.5		
1	EITL 092	655	19	18	16.5	13.5		
1	EITL 093	935	20.5	19	19	16		
1	EITL 094	860	20.5	19	18	15.5		✓
1	EITL 095	965	21	19.5	18.5	15.5		
1	EITL 096	870	20	19	17.5	15		
1	EITL 097	485	16.5	16	15	13		
1	EITL 098	955	21	19	18.5	15.5		✓
1	EITL 099	990	21	20	19	16		

Clutch no.	Sample no.	Weight (g)	Carapace L (cm)		Carapace W (cm)		mtDNA	nuDNA
			Curve	Straight	Curve	Straight		
1	EITL 100	615	17	16.5	15.5	13		✓
1	EITL 101	920	21	20	18.5	15.5		
1	EITL 102	885	20.5	19.5	18	15	✓	✓
1	EITL 103	755	19	18	17	14		✓
1	EITL 104	700	18.5	17.5	17	14		✓
1	EITL 105	850	19	18.5	18	16		
1	EITL 106	890	20.5	19.5	19	16		
1	EITL 107	775	19.5	18	17	15		✓
1	EITL 108	915	20	19	18.5	15		
1	EITL 109	605	17.5	16	15.5	14		
1	EITL 110	835	20	18.5	18	15		✓
1	EITL 111	605	17.5	16.5	15.5	14		
1	EITL 112	520	17	15.5	15	13.5		✓
1	EITL 113	920	21	20	18.5	16		
3	EITL 114	640	18	17.5	16.5	14		✓
3	EITL 115	735	19	18	17.5	14.5		✓
3	EITL 116	1025	21	20	19	16		
3	EITL 117	835	20	19	18.5	16.5		✓
3	EITL 118	770	18.5	18	17.5	14		
3	EITL 119	900	20	19	18.5	15		✓
3	EITL 120	850	20	19.5	18.5	15		
3	EITL 121	1020	20	19.5	18.5	15.5		✓
3	EITL 122	715	18.5	17.5	17	14.5	✓	✓
3	EITL 123	775	19.5	19	17.5	14.5		✓
3	EITL 124	850	20	19.5	18	15.5		✓
3	EITL 125	815	20	19	17.5	15		✓

Clutch no.	Sample no.	Weight (g)	Carapace L (cm)		Carapace W (cm)		mtDNA	nuDNA
			Curve	Straight	Curve	Straight		
3	EITL 126	640	18	17.5	16.5	14.5		
3	EITL 127	690	18	17.5	16	13		✓
3	EITL 128	800	19.5	19	18.5	15		
3	EITL 129	590	17.5	17	16.5	14		
3	EITL 130	845	20	19	17.5	15		
3	EITL 131	830	19	18.5	17	15		✓
3	EITL 132	825	20	19.5	17.5	15		
3	EITL 133	765	19	18	16.5	14.5		
3	EITL 134	790	19.5	19	17	14	✓	✓
3	EITL 135	860	20	19	18	15.5		
3	EITL 136	915	21	19.5	18	16		
3	EITL 137	750	19	18.5	16.5	14		
3	EITL 138	780	19	18.5	17.5	14.5		
3	EITL 139	580	18	17.5	16.5	14		✓
3	EITL 140	895	20	19	18	15		
3	EITL 141	695	18.5	18	16	13.5		
3	EITL 142	470	16	15	14	12.5		
3	EITL 143	800	20	19.5	18	15		
3	EITL 144	730	18.5	18	17	14.5	✓	✓
3	EITL 145	625	19	18	16.5	14		
3	EITL 146	845	20	19.5	17.5	15		✓
3	EITL 147	745	19	18	17	14.5		✓
3	EITL 148	995	21	20.5	19.5	18		
3	EITL 149	725	19	18	17.5	14		✓
3	EITL 150	865	20.5	20	17.5	16		
3	EITL 151	800	19	18.5	17	14.5		

Clutch no.	Sample no.	Weight (g)	Carapace L (cm)		Carapace W (cm)		mtDNA	nuDNA
			Curve	Straight	Curve	Straight		
3	EITL 152	590	18	17	16	13.5	✓	✓
3	EITL 153	875	20.5	19.75	18	15		
3	EITL 154	1030	20	19	17.5	15	✓	✓
3	EITL 155	725	19	18	16.5	14.5		✓
3	EITL 156	905	20	19.5	18	15		
3	EITL 157	850	20	19	18	15.5		✓
3	EITL 158	910	20.5	20	18.5	16		
3	EITL 159	615	18	17.5	16.25	14		
3	EITL 160	1080	22	20.5	19.5	15.5		✓
3	EITL 161	1070	21	20.5	19.5	16.5		✓
3	EITL 162	725	19	18.5	16	13.5		
3	EITL 163	805	20.5	19	17.75	15		✓
3	EITL 164	740	19	18	17	14.5		
3	EITL 165	640	18	17.5	16	14		✓
3	EITL 166	705	18.5	18	16	14		
3	EITL 167	1030	22	20.5	19	15.5		
3	EITL 168	1070	22	21.5	19.5	16		✓
3	EITL 169	620	18	17.5	16.5	14		
3	EITL 170	1045	21.5	21	19.5	17		
3	EITL 171	680	18	17.5	16.75	14		✓
3	EITL 172	815	20	19.5	18	15		
3	EITL 173	865	20	19.5	18	15		✓
3	EITL 174	630	18	17.5	16	14		
3	EITL 175	570	17	16.75	16	14	✓	✓
3	EITL 176	820	20	19.5	18	15.5		✓
3	EITL 177	950	20.5	20	18.25	15.75		✓

Clutch no.	Sample no.	Weight (g)	Carapace L (cm)		Carapace W (cm)		mtDNA	nuDNA
			Curve	Straight	Curve	Straight		
3	EITL 178	655	19	18	16.5	14		
3	EITL 179	725	18.5	18	17	14.5		✓
3	EITL 180	690	19	18.5	17	14.5		
3	EITL 181	695	19	18	17.25	14.5		
3	EITL 182	835	19.5	19	18	15.5		
3	EITL 183	975	21	20.5	19	16.5		✓
3	EITL 184	760	19	18.5	17	15		
3	EITL 185	680	18.5	17.5	16	13.5	✓	✓
3	EITL 186	1020	21	20	19.5	16.5		
3	EITL 187	710	19	18	16.5	15.5		✓
3	EITL 188	800	19.5	19	17	14.5		✓
3	EITL 189	755	19.5	18.5	17.25	15		
3	EITL 190	975	21	20	19	16.5		
3	EITL 191	640	18	17	16	13.5		✓
3	EITL 192	1050	21.5	21	19.5	16		
3	EITL 193	955	20.5	20	19	16		✓
3	EITL 194	925	20.5	20	18.5	16		✓
3	EITL 195	885	20	19.5	18	16.5		
3	EITL 196	665	18	17.5	16.5	13.75		✓
3	EITL 197	755	19.25	18	17	14.5		✓
3	EITL 198	615	18	17.5	16.25	14		
3	EITL 199	1005	21	20	19	15.5		
3	EITL 200	635	18	17.5	16	13.5		✓
3	EITL 201	725	19	18.5	16.5	14.25		
3	EITL 202	620	18	17.75	15.75	13		✓
3	EITL 203	595	17.75	17	15.5	13.5		

Clutch no.	Sample no.	Weight (g)	Carapace L (cm)		Carapace W (cm)		mtDNA	nuDNA
			Curve	Straight	Curve	Straight		
3	EITL 204	615	17.5	17	15	14		✓
3	EITL 205	280	13	12.5	12	11.5		
3	EITL 206	765	19.25	18.5	17.5	14.5		✓
3	EITL 207	755	19	18	17.5	14.5		
3	EITL 208	600	18	17.5	16	14		
3	EITL 209	645	17	16.5	16	13.5	✓	✓
3	EITL 210	645	18	17	17	15		
3	EITL 211	690	18	17.5	16.75	14		✓
3	EITL 212	885	20.5	19	18.5	15.5		✓
3	EITL 213	390	15.75	15	13.5	12		
3	EITL 214	325	14.5	14	12.25	11		
3	EITL 215	395	15	14.5	13.25	11.25		✓
3	EITL 216	750	18.5	18	17	14.5		✓
3	EITL 217	705	18.5	18	16.75	14.5		
3	EITL 218	575	18	17	16	13.5		✓
3	EITL 219	670	18.5	17.5	16.5	14.5		✓
3	EITL 220	670	18.25	17.5	17.25	14		
3	EITL 221	435	16.75	15.25	14	12.25		✓
3	EITL 222	525	17	15.75	15	13	✓	✓
3	EITL 223	475	16	15.75	14.75	12.75		
5	EITL 282	1025	21	20.5	19	15.5		✓
5	EITL 283	335	14.5	14	13	11		
5	EITL 284	590	17.5	17	16	13		
5	EITL 285	565	17.5	17	15	13	✓	✓
5	EITL 286	665	19	18	16.5	14		
5	EITL 287	535	17	16	15	13		✓

Clutch no.	Sample no.	Weight (g)	Carapace L (cm)		Carapace W (cm)		mtDNA	nuDNA
			Curve	Straight	Curve	Straight		
5	EITL 288	800	19.5	18.5	18	15		
5	EITL 289	850	20.5	20	18	15.5		✓
5	EITL 290	800	20	19	18	15		
5	EITL 291	715	19	18.5	16.5	13.5		
5	EITL 292	735	19	18.5	17	14		
5	EITL 293	755	20	18	17	14.5		
5	EITL 294	585	18	17	15.5	13		✓
5	EITL 295	745	19.5	18.5	17.5	14.5		✓
5	EITL 296	560	17.5	16.5	15.5	12.5		✓
5	EITL 297	450	15	14.5	14	11.5		
5	EITL 298	815	20.5	19.5	18	15.5		
5	EITL 299	780	20.5	20	17.5	14.5	✓	✓
5	EITL 300	755	20	19	17	14		
5	EITL 301	615	18	17.5	16	13.5		✓
5	EITL 302	795	20	19	18	14.5		
5	EITL 303	700	19	18.5	17	14		✓
5	EITL 304	580	18	17	16	13		✓
5	EITL 305	855	20	19.5	17	15		✓
5	EITL 306	580	18	17	15.5	13		
5	EITL 307	585	17.5	17	15.5	12.5		✓
5	EITL 308	815	21	19.5	17.5	14		✓
5	EITL 309	530	18	17	16	13		
5	EITL 310	1080	22.5	21	20.5	15.5	✓	✓
5	EITL 311	860	21	20	18	15		✓
5	EITL 312	730	19.5	18	17	14		
5	EITL 313	795	20.5	20	18	15		✓

Clutch no.	Sample no.	Weight (g)	Carapace L (cm)		Carapace W (cm)		mtDNA	nuDNA
			Curve	Straight	Curve	Straight		
5	EITL 314	800	19.5	18.5	17	14		
5	EITL 315	795	19.5	19	17.5	14		✓
5	EITL 316	620	18	17.5	16	13.5		
5	EITL 317	570	18	17	15.5	13		✓
5	EITL 318	885	21	19.5	18.5	15		
5	EITL 319	905	20	19.5	18	15.5		✓
5	EITL 320	710	18.5	17.5	16.5	13.5		
5	EITL 321	805	20	19.5	18	15		✓
5	EITL 322	710	20	18.5	17	14		✓
5	EITL 323	1015	21	21	19.5	16		
5	EITL 324	950	21	20.5	19	16		
5	EITL 325	735	19	18	16.5	14		✓
5	EITL 326	800	20.5	19	17.5	14.5		✓
5	EITL 327	545	17.5	17	16	13		
5	EITL 328	610	18	17	16	13		
5	EITL 329	930	21.5	20.5	19	15.5	✓	✓
5	EITL 330	715	19	18	16.5	14		
5	EITL 331	460	16	15.5	15	12		✓
5	EITL 332	830	20	19	17	14		
5	EITL 333	490	16.5	15.5	14.5	12		✓
5	EITL 334	715	19	18	17	13.5		
5	EITL 335	425	16.5	15.5	15	12.5	✓	✓
5	EITL 336	575	17.5	16.5	15.5	13		
5	EITL 337	655	18	17.5	16	13		✓
5	EITL 338	790	20.5	19.5	18	14.5		
5	EITL 339	815	20	19	17.5	14.5		✓

Clutch no.	Sample no.	Weight (g)	Carapace L (cm)		Carapace W (cm)		mtDNA	nuDNA
			Curve	Straight	Curve	Straight		
5	EITL 340	745	20	19	17.5	15		
5	EITL 341	940	20	19.5	18.5	15		✓
5	EITL 342	760	19.5	19	17	14	✓	✓
5	EITL 343	640	18	17.5	16.5	14		
5	EITL 344	665	18.5	17.5	16	14		✓
5	EITL 345	1110	22.5	22	19.5	16		✓
5	EITL 346	795	19.5	19	17.5	14.5		
5	EITL 347	505	17	16.5	14.5	13		✓
5	EITL 348	475	17	16.5	15	12.5		✓
5	EITL 349	565	18	17.5	15	13		
5	EITL 350	605	18	18	16	13.5		
5	EITL 351	650	18.5	17.5	16	13		
5	EITL 352	755	19	18	17.5	14.5		
5	EITL 353	595	17.5	17	16	13		✓
5	EITL 354	735	19	18	17.5	14.5		
5	EITL 355	615	18	17.5	16	13.5		
5	EITL 356	630	18	17.5	16	13.5		✓
5	EITL 357	715	18.5	18	16.5	14		
5	EITL 358	780	19.5	18.5	18	14.5		✓
5	EITL 359	675	19	18	16.5	13.5		✓
5	EITL 360	930	20.5	20	18.5	15		
5	EITL 361	580	18	17.5	15.5	13	✓	✓
5	EITL 362	830	20.5	19	17.5	15		✓
5	EITL 363	405	17	16.5	15	13		
5	EITL 364	810	20	19	17.5	15		
5	EITL 365	655	18.5	18	16	13.5		✓

Clutch no.	Sample no.	Weight (g)	Carapace L (cm)		Carapace W (cm)		mtDNA	nuDNA
			Curve	Straight	Curve	Straight		
5	EITL 366	660	19	18	17	14		✓
5	EITL 367	610	17.5	17.5	16	13.5		✓
5	EITL 368	660	19	18	16.5	13.5		
5	EITL 369	705	19	18	17	14		✓
5	EITL 370	580	17.5	17	16	13		
5	EITL 371	625	18	17	15.5	12.5		
5	EITL 372	690	18.5	18	16.5	13.5		
5	EITL 373	705	18.5	18.5	17	14		✓
5	EITL 374	610	17.5	17	16	13.5		✓
5	EITL 375	515	16	16	14.5	12	✓	✓
5	EITL 376	810	19.5	19	17.5	14		
5	EITL 377	595	18	18	16	14		✓
5	EITL 378	490	16	15.5	14	11.5		✓
5	EITL 379	480	17	16	15.5	13	✓	
6	EITL 241	680	19	18	17	13.5		✓
6	EITL 242	390	15.5	15	13.5	12		✓
6	EITL 243	470	17	16	15	12.5	✓	✓
6	EITL 244	580	18	17	16	13.5		✓
6	EITL 245	540	17.5	16.5	16	13		✓
6	EITL 246	550	18.5	17.5	16	13	✓	✓
6	EITL 247	530	16.5	16	14	12.5		✓
6	EITL 248	405	16	15	14	11.5		✓
6	EITL 249	670	19	18	17	14.5	✓	✓
6	EITL 250	580	18	17.5	15.5	13		✓
6	EITL 251	650	18	17.5	16	13.5		✓
6	EITL 252	760	19.5	18.5	17.5	14.5		✓

Clutch no.	Sample no.	Weight (g)	Carapace L (cm)		Carapace W (cm)		mtDNA	nuDNA
			Curve	Straight	Curve	Straight		
6	EITL 253	520	17.5	17	15.5	13		✓
6	EITL 254	585	17.5	17	15.5	13		✓
6	EITL 255	680	18	17	16.5	13		✓
6	EITL 256	520	17	16.5	15.5	13	✓	✓
6	EITL 257	600	18.5	17	16	13		✓
6	EITL 258	435	16	15.5	14.5	12.5		✓
6	EITL 259	1095	22	21	19.5	16.5	✓	✓
6	EITL 260	330	14.5	14	13	11		✓
6	EITL 261	650	17.5	17	16.5	13.5		✓
6	EITL 262	675	19.5	18	17	14.5		✓
6	EITL 263	760	19	18	17	14		✓
6	EITL 264	750	19	18.5	17.5	14.5		✓
6	EITL 265	805	20	19	18	15	✓	✓
6	EITL 266	615	18.5	18	16	13.5		✓
6	EITL 267	460	17	16	15	12		✓
6	EITL 268	820	20	19	18	15		✓
6	EITL 269	400	15.5	15	14	11.5		✓
6	EITL 270	470	17	16	15	12.5		✓
6	EITL 271	540	16.5	15.5	15	12.5		✓
6	EITL 272	510	17	16	15	12		✓
6	EITL 273	730	19	18	17	14		✓
6	EITL 274	745	19	18	18	14.5		✓
6	EITL 275	745	19	18.5	17	14	✓	✓
6	EITL 276	650	18	17.5	16	13		✓
6	EITL 277	645	18	17.5	16.5	13.5		✓
6	EITL 278	730	19	18	17	15		✓

Clutch no.	Sample no.	Weight (g)	Carapace L (cm)		Carapace W (cm)		mtDNA	nuDNA
			Curve	Straight	Curve	Straight		
6	EITL 279	865	20.5	19.5	18	15		✓
6	EITL 280	600	18	16.5	15.5	13	✓	✓
6	EITL 281	375	15	14.5	13.5	11.5		✓
7	EITL 224	145	11	10	9.5	8	✓	✓
7	EITL 225	230	13.5	13	12	10.5		✓
7	EITL 226	110	10	9.5	9	8	✓	✓
7	EITL 227	205	12	11.5	11	9.5		✓
7	EITL 228	295	13.5	13.5	12	11		✓
7	EITL 229	165	11	10.5	10	9		✓
7	EITL 230	225	12.5	12	11	10	✓	✓
7	EITL 231	225	13	12	11	10.5		✓
7	EITL 232	380	15	14	13.5	11.5	✓	✓
7	EITL 233	190	12	11.5	10.5	9.5	✓	✓
7	EITL 234	485	16.5	16.5	15	12.5		✓
7	EITL 235	190	12	11	10	8.5	✓	✓
7	EITL 236	475	16	15.5	14.5	12		✓
7	EITL 237	235	13	12	11	9.5		✓
7	EITL 238	165	11.5	11	10.5	9.5	✓	✓
7	EITL 239	195	12	11.5	11	9.5	✓	✓
7	EITL 240	270	14	13	12	10		✓

ตารางที่ ข - 2 ข้อมูลทางสัณฐานวิทยาของเต่ากระ ณ ศูนย์อนุรักษ์พันธุ์เต่าทะเล เกาะมันใน จังหวัดระยอง

Sample no.	Weight (g)	Carapace L (cm)		Carapace W (cm)		mtDNA	nuDNA
		Curve	Straight	Curve	Straight		
MN 01	-	41	39	34	33	✓	
MN 02	-	36	35	30	26	✓	
MN 03	-	41.5	40	36	33	✓	
MN 04	-	32.5	32	29	24	✓	
MN 05	-	46.5	43	40.5	35	✓	
MN 06	-	51	48	43	34	✓	
MN 07	-	51	47	42.5	35	✓	
MN 08	-	45	43	39.5	35	✓	
MN 09	-	36.5	34	30.5	26	✓	
MN 10	-	41.5	40	37.5	31	✓	
MN 11	-	45.5	44	39.5	34	✓	
MN 12	-	38	37	33	28	✓	
MN 13	-	72.5	70	69.5	52	✓	
MN 14	-	70	66	62	50	✓	
MN 15	-	78	74	70.5	53	✓	
MN 16	-	74.5	70	65.5	56	✓	
MN 17	-	75	73	65.5	52	✓	
MN 18	-	57	54	51	42	✓	
MN 19	-	73.5	70	66	55	✓	
MN 20	-	80	78	69	60	✓	
MN 21	-	72.5	69.5	65.5	52	✓	
MN 22	-	69	62	55.5	43	✓	
MN 23	-	85	79	73.5	59	✓	
MN 24	-	49	46	39.5	33	✓	
MN 25	-	51	49	43.5	36	✓	
MN 26	-	43	40	37.5	33	✓	

Sample no.	Weight (g)	Carapace L (cm)		Carapace W (cm)		mtDNA	nuDNA
		Curve	Straight	Curve	Straight		
MN 27	-	47.5	45	43.5	36	✓	
MN 28*	-	-	-	-	-	✓	
MN 29	-	57	54	49.5	39	✓	
MN 30	-	55.5	53	47.5	39	✓	
MN 31	-	56	55	50	44	✓	
MN 32	-	49.5	47	41.5	35	✓	

หมายเหตุ * เก็บได้เฉพาะข้อมูลเลือด



ภาคผนวก ค.

การเตรียมสารเคมี และกระบวนการทำ PCR

ค - 1 การสกัด DNA ด้วย BioFACT™ Genomic DNA Prep Kit

Cell Lysis

1. Add 400 μ l GD2 to prepared 200 μ l Whole blood cell
 - Add 20 μ l Proteinase K (20 mg/ml) → Vortex (1 min.)
 - Incubate the mixture for 10 mins at 56 °C
2. Add 200 μ l GB in step 1 → Inverting (10 – 20 times)

Column Binding

3. Place the spin column into a 2 ml collection tube
 - Add 200 μ l Help B Buffer → Centrifugation at 10,000 rpm for 30 sec → Discard flow-through
4. Transfer solution(supernatants) of step 2 into a spin column
 - Centrifugation at 7,000 rpm for 1 min → Discard flow-through, and re-place the spin column into 2 ml collection tube

Column Washing

5. Add 500 μ l WB (80% Ethanol) to a spin column
 - Centrifugation at 13,000 rpm for 30 sec → Discard flow-through, and re-place the spin column → Repeat above steps for washing
6. Centrifugation at 13,000 rpm for 3 mins to remove residues
 - Discard the collection tube and place the spin column to a new 1.5 ml micro tube (not provided)

DNA Elution

7. Add 50 – 100 μ l DNA Hydration Solution

→ Incubate the mixture for 1 min at RT → Centrifugation at 13,000 rpm for 2 mins → Discard the spin column → Check the concentration and purity of DNA by Electrophoresis or appropriate method → Store at 4 °C or – 20 °C

ค - 2 การเตรียม 10xTBE Buffer ปริมาตร 1 ลิตร

Tris (hydroxymethyl) aminomethane	108 กรัม
Boric acid	55 กรัม
0.5M EDTA (pH 8.0)	40 มิลลิลิตร

ค - 3 การเตรียมสารสำหรับกระบวนการ Gel Electrophoresis

- เตรียม agarose gel ความเข้มข้น 1%

ผง agarose	1.5 กรัม
0.5xTBE buffer	150 มิลลิลิตร
- นำส่วนผสมของ agarose gel ปริมาตร 150 มิลลิลิตร อุ่นในไมโครเวฟ 1.30 นาที จนได้สารละลายใส ตั้งทิ้งไว้ให้สารละลายอุ่น
- เติม RedSafe™ Nucleic Acid Staining Solution 1 ไมโครลิตรลงใน agarose gel และเทสารละลายลงเจลที่เตรียมไว้ ทิ้งให้เจลแข็งตัว
- เท 0.5xTBE buffer ลงในถาดที่มีเจลอยู่
- เชื่อมต่อขั้วไฟฟ้ากับแหล่งกำเนิดไฟฟ้า (power supply) เพื่อให้กระแสไฟฟ้าที่ความต่างศักย์ 90 โวลต์ เป็นเวลา 40 นาที

ค - 4 การเตรียมสารละลายสำหรับทำ PCR ปริมาตร 10 ไมโครลิตร (Master Mix)

น้ำกลั่น Molecular biology grade	4.9 ไมโครลิตร
10x PCR Buffer	1 ไมโครลิตร
dNTP (2.5 mM/each)	1 ไมโครลิตร
Forward primer (10 µM)	0.5 ไมโครลิตร
Reverse primer (10 µM)	0.5 ไมโครลิตร

i-Taq plus DNA polymerase

0.1 ไมโครลิตร

DNA template

2 ไมโครลิตร

ค - 5 โปรแกรมการทำ PCR

ตารางที่ ค - 1 Mitochondrial primer (ขนาด 800-900 base pairs)

Steps	Temp (°C)	Time (mins)
Initial denaturation	94	5
35 cycles of		
Denaturation	94	1
Annealing	53	1
Extension	72	1
Final extension	72	10

ตารางที่ ค - 2 Microsatellite primer

Steps	Eim8/Eim9/Eim17/Eim31/Eim41		Ei8	
	Temp (°C)	Time (mins)	Temp (°C)	Time (mins)
Initial denaturation	94	5	95	2.5
30 cycles of				
Denaturation	94	0.5	95	0.75
Annealing	53	0.5	57	1
Extension	72	1	72	1
Final extension	72	20	72	5

ตารางที่ ค - 3 คู่ mitochondrial primer บริเวณ control region สำหรับใช้ศึกษาในเต่าทะเลจากงานวิจัยที่ผ่านมา

Primer	Annealing Temperature (°C)	Primer sequence (5'-3')	Size range (base pair)	References
TCR5_F	48/50/55	TTGTACATCTACTTATTTACCAC	380	Norman et al., 1994
TCR6_R		GTAGGTAGAAGTAAAAAGTAGGGTATGGC		
LTCM2	55	CGGTCCCCAAAACCGGAATCCTAT	510	Encalada et al., 1996
HDCM2		GCAAGTAAAACCTACCGTATGCCAGGTTA		
HDCM1	50	ACTACCGTATGCCAGGTTA	~400	Shanker et al., 2004
TCR5		TTGTACATCTACTTATTTACCAC		
L71	55	TGCCCCAACAGAAATAATCCATAAT	520-526	Carreras et al., 2006
H599		TGCACGGCCAATCATTTTGAACGTAG		
LCM15382	52	GCTTAACCCCTAAAGCATTGG	740	Carreras et al., 2013
H950		GTCTCGGATTTAGGGGTTT		

ตารางที่ ค - 4 คู่ microsatellites primer สำหรับใช้ศึกษาในเตาทะเลจากงานวิจัยที่ผ่านมา

Locus	Motif	Annealing Temperature (°C)	Primer sequence (5'-3')	Size range (base pair)	References	Fluorescent label
Cm 58	(CA) ₁₃	55	F: GCCTGCAGTACACTCGGTATTAT	124-142	FitzSimmons et al., 1995	
			R: TCAATGAAAGTGACAGGATGTACC			
Cm72	(CA) ₃₃	55	F: CTATAAGGAGAAAAGCGTTAAGACA	231-243	FitzSimmons et al., 1995	
			R: CCAAAATTAGGATTACACAGCCAAC			
Cm84	(CA) ₁₅	55	F: TGTTTTGACATTAGTCCAGGATTG	314-350	FitzSimmons et al., 1995	
			R: ATTGTTATAGCCTATTGTTGAGGA			
Cc117	(CA) ₁₇	55	F: TCTTTAACGTATCTCTGTAGCTC	212-245	FitzSimmons et al., 1995	
			R: CAGTAGTGTGAGTTCATTGTTTCA			
Eim8	(GA) ₁₃	52	F: CACGACGTTGTAAAACGACTCCTTTTTTCAGATACATTTA	250-268	Miro-Herrans et al., 2008	
			R: CACTGCATGATATTGA			FAM
Eim17	(GT) ₁₇	56	F: CACGACGTTGTAAAACGACTGGGAGGGTCAATGGT	266-292	Miro-Herrans et al., 2008	
			R: CCTCCTTACAATGATACATGG			HEX
Eim31	(GT) ₁₇	56	F: ATCTGACTTGGGTGTGCATAC	314-342	Miro-Herrans et al., 2008	TAMRA
			R: CACGACGTTGTAAAACGACATCAGCTCCAGGTGTCCTAA			
Ei8	(CA) ₁₉	55	F: ATATGATTAGGCAAGGCTCTCAAC	194-222	FitzSimmons et al., 1995	FAM
			R: AATCTTGAGATTGGCTTAGAAATC			
Eim9	(CA) ₁₁	48	F: CACGACGTTGTAAAACGACGGGGGTGTCATATGAT	257-293	Miro-Herrans et al., 2008	
			R: CTGTAGAGGATCGGAGTTGTT			HEX
Eim41	(TG) ₉	54	F: CACGACGTTGTAAAACGACGAAGTCTTGGCATGCTT	335-355	Miro-Herrans et al., 2008	
			R: TCCTCAGCGTTGTAGTAGTCC			TAMRA

ค - 8 การทำสารละลายให้มีความบริสุทธิ์ (purification) ด้วย NucleoSpin Gel and PCR Clean-up Kit

1. Adjust DNA binding condition

For very small sample volumes < 30 μ l adjust the volume of the reaction mixture to 50–100 μ l with water. It is not necessary to remove mineral oil. Mix 1 volume of sample with 2 volumes of Buffer NTI (e.g., mix 100 μ l PCR reaction and 200 μ l Buffer NTI).

Note: For removal of small fragments like primer dimers dilutions of Buffer NTI can be used instead of 100 % Buffer NTI.

2. Bind DNA

Place a NucleoSpin® Gel and PCR Clean-up Column into a Collection Tube (2 mL) and load up to 700 μ l sample. Centrifuge for 30 s at 11,000 x g. Discard flow-through and place the column back into the collection tube. Load remaining sample if necessary and repeat the centrifugation step. Load sample 11,000 x g 30 s

3. Wash silica membrane

Add 700 μ l Buffer NT3 to the NucleoSpin® Gel and PCR Clean-up Column. Centrifuge for 30 s at 11,000 x g. Discard flow-through and place the column back into the collection tube. Recommended: Repeat previous washing step to minimize chaotropic salt carry-over and improve A260/A230 values.

4. Dry silica membrane

Centrifuge for 1 min at 11,000 x g to remove Buffer NT3 completely. Make sure the spin column does not come in contact with the flow-through while removing it from the centrifuge and the collection tube.

Note: Residual ethanol from Buffer NT3 might inhibit enzymatic reactions. Total removal of ethanol can be achieved by incubating the columns for 2–5 min at 70 °C prior to elution. 11,000 x g 1 min

5. Elute DNA

Place the NucleoSpin® Gel and PCR Clean-up Column into a new 1.5 mL microcentrifuge tube (not provided). Add 15–30 µl Buffer NE and incubate at room temperature (18–25 °C) for 1 min. Centrifuge for 1 min at 11,000 x g.

Note: DNA recovery of larger fragments (> 1000 bp) can be increased by multiple elution steps with fresh buffer, heating to 70 °C and incubation for 5 min.



ภาคผนวก ง.

ข้อมูลทุติยภูมิของเต่ากระ *Eretmochelys imbricata*

ในบริเวณอ่าวไทย ช่วงปี พ.ศ. 2538 – 2561

ตารางที่ ง - 1 การพบเห็นเต่ากระ *Eretmochelys imbricata* ในบริเวณอ่าวไทย ช่วงปี พ.ศ. 2538 – 2561

ลำดับ	แหล่งข้อมูล	พ.ศ.	จังหวัด	รูปแบบที่พบ	จำนวน	ลักษณะ/อาการ
1	Facebook พช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2561	จันทบุรี	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	สภาพภายนอกอ่อนแรง ผอม มีบาดแผลบริเวณโคนครีบน้ำเงิน
2	Facebook พช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2561	สมุทรปราการ	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	ลักษณะกระดูกหลังไม่สมมาตร สภาพอ่อนแรง ขาดน้ำ
3	Facebook พช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2561	สงขลา	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	ไม่พบบาดแผลภายนอก มีอาการอ่อนแรง ชูคอ
4	Facebook พช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2561	นครศรีธรรมราช	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	ติดมากับเศษเชือกและเศษอวน สภาพภายนอกไม่มีบาดแผล
5	Facebook พช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2560	ระยอง เกาะเสม็ด	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	สภาพอ่อนแรง คอแข็ง ผอม ไม่พบร่องรอยบาดแผล
6	Facebook พช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2560	สมุทรปราการ ปากแม่น้ำเจ้าพระยา	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	สภาพค่อนข้างผอม อ่อนแรง ขาดน้ำ
7	Facebook พช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2560	ระยอง หาดพูน	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	ไม่พบบาดแผล สภาพอ่อนแรง
8	Facebook พช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2560	สงขลา	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	ไม่พบบาดแผล สภาพอ่อนแรง
9	Facebook พช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2560	สมุทรปราการ	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	ติดอยู่ในกองเชือก
10	Facebook พช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2558	สุราษฎร์ธานี หาดแก้ว	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	สภาพอ่อนแรง ผอม ครีบน้ำเงินขาด
11	Facebook พช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2558	ชุมพร ท่าเทียบเรืออ่าวทะเลี	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	สภาพอ่อนแรง
12	Facebook พช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2558	ชุมพร หาดทุ่งมะขาม	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	สภาพอ่อนแรง ไม่สามารถดำน้ำได้
13	Facebook พช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2560	ชุมพร บ้านหาดทรายรี	เกยตื้นแบบไม่มีชีวิต	1	กระดูกอ่อนและแตก
14	Facebook พช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2558	ประจวบคีรีขันธ์ เกาะทะเล หาดกรวด	เกยตื้นแบบไม่มีชีวิต	1	
15	Facebook พช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2558	ประจวบคีรีขันธ์ หาดสน	เกยตื้นแบบไม่มีชีวิต	1	สภาพน่ามาก กระดองหลุดลอก มีรอยเข้าบริเวณหน้าอก
16	Facebook พช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2558	ชลบุรี เกาะคราม หาดโพธิ์	เต่ากระเพศเมีย	1	สำรวจพื้นที่ ยังไม่วางไข่
17	Facebook ศูนย์อนุรักษ์พันธุ์เต่าทะเล กองทัพเรือ	2561	ชลบุรี	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	สภาพอ่อนแรง ติดอวนประมง
18	Facebook ศูนย์อนุรักษ์พันธุ์เต่าทะเล กองทัพเรือ	2561	ตราด เกาะช้าง	เกยตื้นแบบมีชีวิต	2	ติดอวน
19	Facebook ศูนย์อนุรักษ์พันธุ์เต่าทะเล กองทัพเรือ	2560	ชลบุรี	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	สภาพอ่อนแรง
20	Facebook ศูนย์อนุรักษ์พันธุ์เต่าทะเล กองทัพเรือ	2560	ชลบุรี	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	สภาพอ่อนแรง
21	Facebook ศูนย์อนุรักษ์พันธุ์เต่าทะเล กองทัพเรือ	2560	ชลบุรี	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	สภาพอ่อนแรง
22	Facebook ศูนย์อนุรักษ์พันธุ์เต่าทะเล กองทัพเรือ	2560	ชลบุรี	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	ติดเศษอวน
23	Facebook ศูนย์อนุรักษ์พันธุ์เต่าทะเล กองทัพเรือ	2560	ชลบุรี	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	
24	การประชุมวิทยาศาสตร์ทางทะเล ครั้งที่ 4	2547-2556	อ่าวไทยตอนกลาง	เกยตื้นแบบมีชีวิต	27	

ตารางที่ ๑ – 1 การพบเห็นตำกาะ *Eretmochelys imbricata* ในบริเวณอ่างไทย ช่วงปี พ.ศ. 2538 – 2561 (ต่อ)

ลำดับ	แหล่งข้อมูล	พ.ศ.	จังหวัด	รูปแบบที่พบ	จำนวน	ลักษณะ/อาการ
25	การประมงวิทยาศาสตร์ทะเล ครั้งที่ 4	2547-2556	อ่างไทยตอนกลาง	เกยตื้นแบบไม่มีชีวิต	10	
26	กิจกรรม ทช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2561	สมุทรสาคร กลางทะเล	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	สภาพค่อนข้างดีอม ขาดน้ำ
27	กิจกรรม ทช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2561	ชุมพร บ้านปากหาด	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	ลักษณะหอม อ่อนแรง
28	กิจกรรม ทช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2560	เพชรบุรี	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	สภาพอ่อนแรงเล็กน้อย
29	กิจกรรม ทช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2560	ตราด เกาะช้าง	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	ไม่พบบาดแผล สภาพอ่อนแรง
30	กิจกรรม ทช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2561	จันทบุรี เกาะลิก	เกยตื้นแบบไม่มีชีวิต	1	ไม่มีบาดแผลภายนอก ติดเครื่องเรือประมงประเภททอวนปลากะพง
31	กิจกรรม ทช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2560	นครศรีธรรมราช หาดบ้านปลายทอม	เกยตื้นแบบไม่มีชีวิต	1	ติดอวน
32	กิจกรรม ทช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2560	สมุทรปราการ	เกยตื้นแบบไม่มีชีวิต	1	สภาพชากสด ครีบขวานำขาดแต่แผลสมานแล้ว
33	กิจกรรม ทช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2561	ชลบุรี เกาะคราม	รังไข่	3	
34	ข่าวสด	2560	ประจวบคีรีขันธ์	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	สภาพอ่อนแรง กินปลาพร้อมเศษอวนเข้าไป ได้คอมีสีแดง
35	ข่าวสาร ทช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2561	สมุทรปราการ	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	
36	ข่าวสาร ทช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2561	ชลบุรี	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	ไม่มีบาดแผล อ่อนแรง
37	ข่าวสาร ทช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2560	จันทบุรี	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	สภาพอ่อนแรง บาดเจ็บบริเวณโคนขาหลัง
38	ข่าวสาร ทช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2560	ชุมพร	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	สภาพอ่อนแรง
39	ข่าวสาร ทช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2559	นครศรีธรรมราช	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	ติดอวน สภาพอ่อนแรง
40	ข่าวสาร ทช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2559	ชุมพร	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	สภาพอ่อนแรง
41	ข่าวสาร ทช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2559	ระยอง	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	สภาพอ่อนแรง
42	ข่าวสาร ทช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2559	สงขลา	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	ติดอวน ครีบซ้ายหน้าเกือบขาด
43	ข่าวสาร ทช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2559	ชลบุรี	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	สภาพอ่อนแรง
44	ข่าวสาร ทช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2559	สมุทรสงคราม	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	ป่วย
45	ข่าวสาร ทช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2559	สุราษฎร์ธานี	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	ติดอวน
46	ข่าวสาร ทช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2559	ตราด	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	ไม่สามารถงนมตัวได้
47	ข่าวสาร ทช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2559	สมุทรสาคร	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	สภาพอ่อนแรง
48	ข่าวสาร ทช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2559	ระยอง	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	ไม่สามารถงนมตัวได้

ตารางที่ ๑ – 1 การพบเห็นตำกาะ *Eretmochelys imbricata* ในบริเวณอ่าวไทย ช่วงปี พ.ศ. 2538 – 2561 (ต่อ)

ลำดับ	แหล่งข้อมูล	พ.ศ.	จังหวัด	รูปแบบที่พบ	จำนวน	ลักษณะ/อาการ
49	ชาวสาร ทช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2559	เพชรบุรี	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	ติดอวน
50	ชาวสาร ทช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2559	เพชรบุรี	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	ครีบน้ำหนามีรอยอวนรัด บวมแดง
51	ชาวสาร ทช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2559	ระยอง	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	ติดอวน
52	ชาวสาร ทช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2559	ชุมพร	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	ของมีคมบาดครีบน้ำหนาก
53	ชาวสาร ทช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2559	นครศรีธรรมราช	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	ติดขยะและเศษอวน
54	ชาวสาร ทช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2559	ตราด	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	สภาพอ่อนแรง มีรอยอวนรัดครีบน้ำหนาก
55	ชาวสาร ทช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2559	ระยอง	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	ทรงตัวไม่ได้ มีอาการทรงระบบประสาท
56	ชาวสาร ทช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2559	สงขลา	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	ติดขยะเศษอวน
57	ชาวสาร ทช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2558	นครศรีธรรมราช	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	มีบาดแผลที่ครีบน้ำหนาก 2 ข้าง
58	ชาวสาร ทช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2558	ชุมพร	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	
59	ชาวสาร ทช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2558	นครศรีธรรมราช	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	ติดอวน
60	ชาวสาร ทช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2558	นครศรีธรรมราช	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	ครีบน้ำหนากขาด พบบริเวณที่มีครีบน้ำหนากมีรอยกัด
61	ชาวสาร ทช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2558	นครศรีธรรมราช	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	ติดมากับขยะทะเล ครีบน้ำหนากขาดจากเครื่องมือประมง มีครีบน้ำหนากติดที่ใบหน้าและกระดอง
62	ชาวสาร ทช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2558	สุราษฎร์ธานี	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	
63	ชาวสาร ทช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2558	ชุมพร	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	ติดเศษขยะ ครีบน้ำหนากมีรอยรัดถึงกระดูก
64	ชาวสาร ทช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2558	ชุมพร	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	สภาพอ่อนแรง
65	ชาวสาร ทช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2558	เพชรบุรี และ สมุทรปราการ	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	
66	ชาวสาร ทช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2558	ประจวบคีรีขันธ์	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	สภาพอ่อนแรง
67	ชาวสาร ทช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2558	ประจวบคีรีขันธ์	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	ติดอวน
68	ชาวสาร ทช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2559	นครศรีธรรมราช	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	
69	ชาวสาร ทช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2559	สมุทรสาคร	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	ติดอวน
70	ชาวสาร ทช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2559	ระยอง	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	สภาพน่ามาก
71	ชาวสาร ทช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2559	ระยอง	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	สภาพน่ามาก

ตารางที่ ๑ – 1 การพบเห็นเต่ากระ *Eretmochelys imbricata* ในบริเวณอ่าวไทย ช่วงปี พ.ศ. 2538 – 2561 (ต่อ)

ลำดับ	แหล่งข้อมูล	พ.ศ.	จังหวัด	รูปแบบที่พบ	จำนวน	ลักษณะ/อาการ
72	เขวาสาน พช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2559	นครศรีธรรมราช	เกยตื้นแบบไม่มีชีวิต	1	
73	เขวาสาน พช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2559	ชุมพร	เกยตื้นแบบไม่มีชีวิต	1	สภาพน่า ศีรษะขาด กระดองล่อน
74	เขวาสาน พช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2559	ตราด	เกยตื้นแบบไม่มีชีวิต	1	
75	เขวาสาน พช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2559	ตราด	เกยตื้นแบบไม่มีชีวิต	1	
76	เขวาสาน พช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2559	ชลบุรี เกาะคราม	เต่ากระเพศเมีย	1	
77	เขวาสาน พช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2561	ประจวบคีรีขันธ์ หาดสามร้อยยอด	รังไข่	1	
78	เขวาสาน พช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2559	ชุมพร เกาะกลา	รังไข่	1	
79	เดลินิวส์	2558	นครศรีธรรมราช หาดเกาะเพชร	เกยตื้นแบบมีชีวิต	2	ติดอยู่ในก้อนน้ำมัน
80	เดลินิวส์	2557	ระยอง	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	ติดกองอนของประมง สภาพอ่อนแรง
81	เดลินิวส์	2556	ระยอง อ่าวมะขามป้อม	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	สภาพอ่อนแรง ศรีษะหน้ามีรอยแผลถูกของมีคมบาด
82	เดลินิวส์	2557	ระยอง เกาะเสม็ด อ่าวลุงดำ	เกยตื้นแบบไม่มีชีวิต	1	สภาพน่าเจ็บ
83	เดลินิวส์	2555	ระยอง	สัตว์สภาพ	7	
84	ไทยรัฐออนไลน์	2561	ตราด เกาะกูด อ่าวมะกะธานี	เกยตื้นแบบมีชีวิต	2	ศรีษะหน้าข้างซ้ายขาด
85	ไทยรัฐออนไลน์	2559	สมุทรปราการ อ่าวบางปู	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	ศรีษะหน้าขวาเน่าจนขาด
86	ไทยรัฐออนไลน์	2558	ชุมพร	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	สภาพอ่อนแรง ถูกคลื่นลมรุนแรงพัดสูง 2-3 เมตร ไม่พบบาดแผลภายนอก
87	ไทยรัฐออนไลน์	2557	ชุมพร	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	สภาพอ่อนเพลีย
88	ไทยรัฐออนไลน์	2557	ชุมพร หาดแหลมสน	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	ถูกลมมรสุมพัด ไม่มีบาดแผลภายนอก สภาพอ่อนเพลีย
89	ไทยรัฐออนไลน์	2559	ตราด เกาะช้าง	เกยตื้นแบบไม่มีชีวิต	1	บริเวณกระดองและชิ้นส่วนของเนื้อ เยื่อและขาดหายไปบางส่วน
90	ไทยรัฐออนไลน์	2558	ตราด เกาะช้าง	เกยตื้นแบบไม่มีชีวิต	1	น่าเจ็บ กระดองแตก
91	การประชุมสัตวศาสตร์ทางทะเล ครั้งที่ 5	2538-2558	ชลบุรี เกาะคราม	เต่ากระเพศเมีย	57	
92	การประชุมสัตวศาสตร์ทางทะเล ครั้งที่ 5	2558	ชลบุรี เกาะคราม	รังไข่	132	
93	การประชุมสัตวศาสตร์ทางทะเล ครั้งที่ 5	2557	ชลบุรี เกาะคราม	รังไข่	139	
94	การประชุมสัตวศาสตร์ทางทะเล ครั้งที่ 5	2556	ชลบุรี เกาะคราม	รังไข่	144	
95	การประชุมสัตวศาสตร์ทางทะเล ครั้งที่ 5	2555	ชลบุรี เกาะคราม	รังไข่	96	

ตารางที่ ๑ – 1 การพบเห็นตัวเกาะ *Eretmochelys imbricata* ในบริเวณอ่าวไทย ช่วงปี พ.ศ. 2538 – 2561 (ต่อ)

ลำดับ	แหล่งข้อมูล	พ.ศ.	จังหวัด	รูปแบบที่พบ	จำนวน	ลักษณะ/อาการ
96	การประชุมวิทยาศาสตร์ทางทะเล ครั้งที่ 5	2554	ชลบุรี เกาะคราม	รังไข่	160	
97	การประชุมวิทยาศาสตร์ทางทะเล ครั้งที่ 5	2553	ชลบุรี เกาะคราม	รังไข่	101	
98	การประชุมวิทยาศาสตร์ทางทะเล ครั้งที่ 5	2552	ชลบุรี เกาะคราม	รังไข่	102	
99	การประชุมวิทยาศาสตร์ทางทะเล ครั้งที่ 5	2551	ชลบุรี เกาะคราม	รังไข่	156	
100	การประชุมวิทยาศาสตร์ทางทะเล ครั้งที่ 5	2550	ชลบุรี เกาะคราม	รังไข่	126	
101	การประชุมวิทยาศาสตร์ทางทะเล ครั้งที่ 5	2549	ชลบุรี เกาะคราม	รังไข่	98	
102	การประชุมวิทยาศาสตร์ทางทะเล ครั้งที่ 5	2548	ชลบุรี เกาะคราม	รังไข่	70	
103	การประชุมวิทยาศาสตร์ทางทะเล ครั้งที่ 5	2547	ชลบุรี เกาะคราม	รังไข่	58	
104	การประชุมวิทยาศาสตร์ทางทะเล ครั้งที่ 5	2546	ชลบุรี เกาะคราม	รังไข่	44	
105	การประชุมวิทยาศาสตร์ทางทะเล ครั้งที่ 5	2545	ชลบุรี เกาะคราม	รังไข่	68	
106	การประชุมวิทยาศาสตร์ทางทะเล ครั้งที่ 5	2544	ชลบุรี เกาะคราม	รังไข่	43	
107	การประชุมวิทยาศาสตร์ทางทะเล ครั้งที่ 5	2543	ชลบุรี เกาะคราม	รังไข่	49	
108	การประชุมวิทยาศาสตร์ทางทะเล ครั้งที่ 5	2542	ชลบุรี เกาะคราม	รังไข่	99	
109	การประชุมวิทยาศาสตร์ทางทะเล ครั้งที่ 5	2541	ชลบุรี เกาะคราม	รังไข่	64	
110	การประชุมวิทยาศาสตร์ทางทะเล ครั้งที่ 5	2540	ชลบุรี เกาะคราม	รังไข่	50	
111	การประชุมวิทยาศาสตร์ทางทะเล ครั้งที่ 5	2539	ชลบุรี เกาะคราม	รังไข่	42	
112	การประชุมวิทยาศาสตร์ทางทะเล ครั้งที่ 5	2538	ชลบุรี เกาะคราม	รังไข่	34	
113	ผู้จัดการออนไลน์	2556	ระยอง หาดแสงจันทร์	เกยตื้นแบบไม่มีชีวิต	1	สภาพน่ามาก
114	ผู้จัดการออนไลน์	2555	ตราด เกาะช้าง หาดท่าหน้า	เกยตื้นแบบไม่มีชีวิต	1	สภาพเริ่มเน่าและเปื่อย ไม่มีชีวิตจะ
115	หนังสือพิมพ์มติชน	2556	ชลบุรี	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	ติดร่องน้ำในช่วงน้ำลด
116	มติชนออนไลน์	2559	สุราษฎร์ธานี เกาะสมุย หาดละไม	เต่ากระเพศเมีย	1	ชันมากงไข่
117	มติชนออนไลน์	2559	สุราษฎร์ธานี เกาะสมุย หาดละไม	รังไข่	1	
118	มติชนออนไลน์	2560	นนทบุรี	สัตว์ตาย	7	
119	มูลนิธิฟื้นฟูทรัพยากรทะเลสยาม	2554-2560	ประจวบคีรีขันธ์ เกาะพะลู้	เต่ากระเพศเมีย	7	

ตารางที่ ๑ – 1 การพบเห็นเตากระ *Eretmochelys imbricata* ในบริเวณอ่าวไทย ช่วงปี พ.ศ. 2538 – 2561 (ต่อ)

ลำดับ	แหล่งข้อมูล	พ.ศ.	จังหวัด	รูปแบบที่พบ	จำนวน	ลักษณะ/อาการ
120	มูลนิธิฟื้นฟูทรัพยากรทะเลสยาม	2560	ประจวบคีรีขันธ์ เกาะทะลุ	รังไข่	20	
121	มูลนิธิฟื้นฟูทรัพยากรทะเลสยาม	2559	ประจวบคีรีขันธ์ เกาะทะลุ	รังไข่	10	
122	มูลนิธิฟื้นฟูทรัพยากรทะเลสยาม	2558	ประจวบคีรีขันธ์ เกาะทะลุ	รังไข่	26	
123	มูลนิธิฟื้นฟูทรัพยากรทะเลสยาม	2557	ประจวบคีรีขันธ์ เกาะทะลุ	รังไข่	7	
124	มูลนิธิฟื้นฟูทรัพยากรทะเลสยาม	2556	ประจวบคีรีขันธ์ เกาะทะลุ	รังไข่	6	
125	มูลนิธิฟื้นฟูทรัพยากรทะเลสยาม	2555	ประจวบคีรีขันธ์ เกาะทะลุ	รังไข่	17	
126	มูลนิธิฟื้นฟูทรัพยากรทะเลสยาม	2554	ประจวบคีรีขันธ์ เกาะทะลุ	รังไข่	14	
127	มูลนิธิฟื้นฟูทรัพยากรทะเลสยาม	2553	ประจวบคีรีขันธ์ เกาะทะลุ	รังไข่	11	
128	มูลนิธิฟื้นฟูทรัพยากรทะเลสยาม	2552	ประจวบคีรีขันธ์ เกาะทะลุ	รังไข่	3	
129	เมเนเจอร์ออนไลน์	2559	ระยอง ทาดเมร์ฟ้าง	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	ครีบหน้าขาด
130	เมเนเจอร์ออนไลน์	2560	ชลบุรี ทาดจอมเทียน	เกยตื้นแบบไม่มีชีวิต	1	สภาพไร้หัว ผิวกระดูกเริ่มหลุดร่อน
131	เมเนเจอร์ออนไลน์	2559	ชลบุรี ทาดทองเรือยุทธการ	เกยตื้นแบบไม่มีชีวิต	1	ไม่พบบาดแผลภายนอก
132	เมเนเจอร์ออนไลน์	2559	ชลบุรี ชายหาดบางแสน	เกยตื้นแบบไม่มีชีวิต	1	ไม่พบบาดแผลภายนอก
133	ศูนย์อนุรักษ์พันธุ์เต่าทะเล กองทัพเรือ	2559	ชลบุรี อ่าวทองเรือยุทธการ	เกยตื้นแบบมีชีวิต	1	เบ็ดราวพันรอบกริบหน้าด้านซ้าย จำนวน 10 อัน
134	หนังสือพิมพ์บ้านเมือง	2555	ชลบุรี อ่าวดงตาล	เกยตื้นแบบไม่มีชีวิต	1	สภาพอืดโรยและสิ้นใจขณะเจ้าหน้าที่เดินพามาถึง
135	สำนักข่าว กรมประชาสัมพันธ์	2560	ระยอง อุทยานแห่งชาติเขาแหลมหญ้า	เกยตื้นแบบไม่มีชีวิต	1	สภาพปากเน่ามาก พบการคั่งของเลือดและเข้าบริเวณหน้าอก
136	ห้องสมุดอิเล็กทรอนิกส์ ทช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2546-2558	อ่าวไทยตอนบน	เกยตื้นแบบมีชีวิต	24	
137	ห้องสมุดอิเล็กทรอนิกส์ ทช. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	2557-2558	อ่าวไทยฝั่งตะวันออก	เกยตื้นแบบมีชีวิต	3	

ง - 2 เขตพื้นที่อ่าวไทย (สำนักอนุรักษ์ทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม, 2557)

1. อ่าวไทยฝั่งตะวันออก ได้แก่ ตราด จันทบุรี ระยอง และชลบุรี
2. อ่าวไทยตอนบน ได้แก่ ฉะเชิงเทรา สมุทรปราการ กรุงเทพมหานคร สมุทรสาคร สมุทรสงคราม และเพชรบุรี
3. อ่าวไทยตอนกลาง ได้แก่ ประจวบคีรีขันธ์ ชุมพร และสุราษฎร์ธานี
4. อ่าวไทยตอนล่าง ได้แก่ นครศรีธรรมราช พัทลุง สงขลา ปัตตานี และนราธิวาส



ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวมุกเรขา เชี่ยวชาญชัย เกิดวันที่ 11 มีนาคม พ.ศ. 2532 จบการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย ปี 2549 จากโรงเรียนวัดนวลนรดิศ กรุงเทพมหานคร ต่อมาได้เข้าศึกษาต่อในระดับปริญญาตรีที่ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และศึกษาต่อในระดับปริญญาโทที่หลักสูตรสหสาขาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และจบการศึกษาในปี 2560

โดยมีการนำเสนอผลงานทางวิชาการ ดังรายละเอียดต่อไปนี้

1. นำเสนอผลงานวิชาการประเภทโปสเตอร์ในหัวข้อเรื่อง “Multiple Nesting of Hawksbill Turtle *Eretmochelys imbricata* at Talu Island, the Gulf of Thailand as Revealed by Mitochondrial DNA Analysis” ในงานประชุมวิชาการระดับนานาชาติ Biological Sciences Graduate Congress ครั้งที่ 21 ณ University of Malaya ประเทศมาเลเซีย ระหว่างวันที่ 15-17 ธันวาคม พ.ศ. 2559

2. ตีพิมพ์ผลงานและนำเสนอผลงานวิชาการประเภทบรรยายในหัวข้อเรื่อง “Multiple Nesting of Hawksbill Turtle *Eretmochelys imbricata* at Talu Island, the Gulf of Thailand as Revealed by Mitochondrial DNA Analysis” ในงานประชุมวิชาการระดับนานาชาติ International Conference of Agriculture and Natural Resources ณ โรงแรม Windsor Suites & Convention ประเทศไทย ระหว่างวันที่ 26-28 เมษายน พ.ศ. 2561