

ชื่อโครงการวิจัย ศึกษาทางชีววิทยาของลูกเต่าและไข่เต่าทะเลเพื่อการเพาะเลี้ยงเชิงอนุรักษ์:

มิถุนวิทยาและพยาธิสภาพเนื้อเยื่อและระบบสืบพันธุ์ของลูกเต่าทะเล และโครงสร้าง วิเคราะห์ธาตุ การกระจายตัวของธาตุและการพิสูจน์รูปผลึกสารอินทรีย์ในเปลือกไข่เต่าทะเล

(Biological study on juvenile sea turtles and their eggshells for agricultural conservation:

Histology and histopathology of tissue and reproductive system on juvenile sea turtles, ultrastructure, elemental analysis and distribution, and crystal identification of organic materials in sea turtle eggshells)

บทนำ (Introduction)

ความสำคัญ ที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

อันเนื่องมาจากการที่มนุษย์ได้จับเต่าทะเลเพื่อการบริโภค โดยการวางอวน การลักลอบขุดไข่เต่าทะเล พร้อมทั้งมลภาวะแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไปทำให้เกิดการสูญเสียมแหล่งวางไข่ของเต่าทะเล จนทำให้ประชากรของเต่าทะเลได้ลดลงอย่างต่อเนื่องจนถึงจุดวิกฤต ต่อมาองค์การสนธิสัญญาการค้าสัตว์ที่ใกล้จะสูญพันธุ์ระหว่างประเทศ (Convention of International Trade in Endangered Species, CITES) ได้ประกาศให้เต่าทะเลทุกสายพันธุ์เป็นสัตว์ป่าคุ้มครองในบัญชีที่ 1 (APPENDIX I) (กฎกระทรวง 2546) โดยได้ริเริ่มใช้วิธีต่างๆ เพื่อให้เข้าใจถึงชีววิทยาและนิเวศวิทยาของเต่าทะเล ให้เกิดความเข้าใจที่ถูกต้องและมีประสิทธิภาพที่สุดในการวางมาตรการอนุรักษ์และป้องกันการลดจำนวนลงของเต่าทะเลทั่วโลก ได้มีผลให้ประเทศต่างๆ ตื่นตัวและทำการศึกษชีววิทยาและนิเวศวิทยาของเต่าทะเลอย่างเร่งด่วน เพื่อให้ได้ข้อมูลที่ถูกต้องและมีผลทำให้การอนุรักษ์เต่าทะเลเป็นไปได้อย่างถูกต้องทาง ในประเทศไทยมีโครงการเพื่อการอนุรักษ์เต่าทะเลเช่นกัน โดยศูนย์อนุรักษ์พันธุ์เต่าทะเลกองทัพเรือ จังหวัดชลบุรี ซึ่งเป็นโครงการที่ก่อตั้งขึ้นในปี พ.ศ. 2537 โดยมีหน่วยงานเฉพาะคือ “หน่วยรักษาทรัพยากรธรรมชาติและอนุรักษ์พันธุ์เต่าทะเล (นธต.)” ทำการอนุรักษ์พันธุ์เต่าทะเลไทยที่จะสูญพันธุ์และมีเหลืออยู่เพียง 4 ชนิดคือ เต่าตนุ (*Chelonia mdas*) เต่ากระ (*Eretmochelys iricata*) เต่าหญ้า (*Lepidochelys oivacea*) และเต่ามะเฟือง (*Dermochelys coriacea*) หน่วยงานนี้ได้ทำการอนุรักษ์เต่าทะเล โดยเก็บไข่เต่าทะเลจากชายหาดต่างๆ ของไทยแล้วนำมาเพาะฟักและอนุบาลจนเต่าแข็งแรงและเมื่อเต่าทะเลมีอายุครบ 3-6 เดือน จึงปล่อยกลับคืนสู่ทะเล สุดท้ายเหลือเพียงเปลือกไข่เต่าและมีลูกเต่าจำนวนหนึ่งในขณะที่ทำการอนุบาลได้ตายลงและทาง นธต. มิได้ทำการศึกษาอื่นใด ในการนี้ที่มิวิจัยจึงมีความสนใจ “นำลูกเต่าที่ตายและเปลือกไข่เต่าหลังการเพาะฟักมาศึกษาให้เกิดเป็นข้อมูลทางวิชาการที่มีคุณค่าเพื่อการอนุรักษ์เต่าทะเลของไทย” ซึ่งหลักการอนุรักษ์คือการนำทรัพยากรมาใช้ประโยชน์อย่างชาญฉลาด เพื่อให้เกิดประโยชน์ต่อมหาชนมากที่สุด สูญเสียน้อยที่สุด ใช้ได้ยาวนานและต้องมีการกระจายการใช้ประโยชน์ให้ทั่วถึงกันโดยถูกต้อง สิ่งสำคัญในการอนุรักษ์คือมีข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับชีววิทยาและพฤติกรรมของเต่าทะเล เช่น การวางไข่ของแม่เต่า การอพยพย้ายถิ่น แหล่งหากิน ซึ่งข้อมูลเหล่านี้ได้ทำการศึกษาโดยกองทัพเรือและจัดแสดงพิพิธภัณฑ์เกี่ยวกับชีวิตของเต่าทะเลอยู่แล้ว แต่ยังคงขาดความรู้เรื่องการศึกษาทางมิถุนวิทยาและพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อและระบบสืบพันธุ์พื้นฐาน

วิทยาของลูกเต่าทะเล การศึกษา โครงสร้าง องค์ประกอบธาตุและการวิเคราะห์การกระจายตัวของธาตุ และการพิสูจน์รูปผลึกของเปลือกไข่เต่าทะเลของเปลือกไข่เต่าทะเลในเชิงลึก

ในงานวิจัยนี้มีความสนใจศึกษาสัณฐานวิทยา โครงสร้างและองค์ประกอบธาตุ ทางด้านคุณภาพ และปริมาณและวิเคราะห์การกระจายตัวของธาตุของเปลือกไข่เต่าด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยใช้ หัวตรวจวัด Energy Dispersive X-ray Analysis (EDX) พร้อมโปรแกรม Mapping, Back-scattered electron (BEI) และ Secondary Electron Imaging (SEI) ในการนี้จะศึกษารูปผลึกขององค์ประกอบ สารเคมีที่ประกอบอยู่ในโครงสร้างเปลือกไข่เต่าด้วย X-ray diffraction จะทำให้ได้ข้อมูลพื้นฐานและ ข้อมูลเชิงลึกของธาตุและสารประกอบภายในโครงสร้างเปลือกไข่เต่า สามารถนำข้อมูลเพื่อการจัดจำแนก และจัดทำแม่แบบ (model) ของเปลือกไข่เต่าชนิดต่างๆ ซึ่งเป็นประโยชน์ทางอนุกรมวิธานโดยจะเก็บ ข้อมูลอย่างละเอียดจากเต่าแต่ละสายพันธุ์ที่ชายฝั่งทะเลคือ บริเวณอ่าวไทยและอันดามัน แล้วนำข้อมูล มาทำการวิเคราะห์ทางสถิติเพื่อดูความสัมพันธ์และนำมาเปรียบเทียบกัน ซึ่งข้อมูลองค์ประกอบธาตุและ การวิเคราะห์การกระจายตัวของธาตุ สามารถใช้ประเมินการฟักตัว (hatching) และศักยภาพในการ สืบพันธุ์ของเต่าได้ ซึ่งงานวิจัยเหล่านี้ยังไม่มีการศึกษาในประเทศไทยมาก่อน

มีรายงานว่าองค์ประกอบของเปลือกไข่ ความหนาบางตลอดจนสีของเปลือกไข่สามารถใช้เป็นตัว บ่งชี้สภาพสิ่งแวดล้อม ณ บริเวณหรือสถานที่สัตว์อาศัยอยู่ได้ (Nys และคณะ, 2004) ซึ่งสามารถใช้เป็น หลักฐานทางอนุกรมวิธานในการจำแนกชนิดของเต่าตามองค์ประกอบและข้อมูลของเปลือกไข่ (Panhe'leux และคณะ, 1999; Zelenitsky และคณะ, 2002; Nys และคณะ, 2004; Lam, 2006; Winkler, 2006) ยังมีงานวิจัยที่รายงานถึงความหนาของเปลือกไข่สามารถใช้เป็นข้อบ่งชี้ให้ทราบถึงอายุ (Cusack และคณะ 2003) สุขภาพและโรคที่เกิดกับแม่เต่า เช่นการติดเชื้อของรังไข่และปีกมดลูก (Ridler, 2000) และการทราบถึงธาตุองค์ประกอบในเปลือกไข่ทำให้ทราบถึงโลหะหนักที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมได้ เช่นกัน (Lundholm, 1995; Mora, 2003 และ Sansur, 2006) พร้อมกันนี้คณะผู้วิจัยจะนำลูกเต่าทะเลที่ เสียชีวิตในขณะเพาะเลี้ยงและที่เสียชีวิตโดยการติดเชื้อมาศึกษาพยาธิสภาพเชิงลึกของเนื้อเยื่อและระบบ สืบพันธุ์ ซึ่งจะให้ได้ข้อมูลของเนื้อเยื่อและระบบสืบพันธุ์ที่ปกติและที่ติดเชื้อจุลชีพต่างๆ พร้อมศึกษา ถึงเซลล์สืบพันธุ์โดยใช้เทคนิคทางจุลชีววิทยาศึกษา พร้อมเทคนิคทางกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Light microscopy) ข้อมูลของงานวิจัยนี้สามารถใช้เพื่อเป็นประโยชน์ทางวิชาการในการเพาะเลี้ยงและการ อนุบาลเชิงอนุรักษ์ต่อไป

คำสำคัญ (Keywords) histology, juvenile sea turtle, turtle eggshell, SEM

เนื้อเรื่อง (Main Body)

ทฤษฎี สมมติฐานและกรอบแนวความคิด (Conceptual Framework) ของโครงการวิจัย

ตามธรรมชาติแม่เต่าทะเลจะสะสมแร่ธาตุต่างๆ จากอาหารเพื่อนำไปใช้ในการสร้างเปลือกไข่ ปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่างๆ ที่ส่งผลกระทบต่อ การเปลี่ยนแปลงทางโครงสร้างและทางเคมีของเปลือกไข่เต่า ทะเล เช่น มลพิษต่างๆ ในน้ำ และในดิน ซึ่งอาจมีการปนเปื้อนในอาหารที่เต่าทะเลกิน แหล่งน้ำที่เต่า

ทะเลอาศัย หรือในดินที่แม่เต่าทะเลวางไข่ อุณหภูมิและความชื้นที่เปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็วระหว่างกลางวันและกลางคืน (Du 2003; Tryfonas 2006; Houghton 2007; Lin 2008) อาหารที่แม่เต่าทะเลได้รับมีความสำคัญมากต่อการสร้างไข่ หากอาหารมีการปนเปื้อนจากธาตุโลหะหนักย่อมส่งผลต่อทั้งตัวอ่อนและเปลือกไข่ รวมถึงปริมาณและคุณภาพของอาหารที่มีผลต่อปริมาณไข่ขาว ไข่แดง ความหนาบางของเปลือกไข่ และความสมบูรณ์ของตัวอ่อน ซึ่งสิ่งต่างๆ เหล่านี้ล้วนเป็นปัจจัยที่มีผลต่อผลสำเร็จในการฟักตัว (Clifford, 2002; Wallace และคณะ 2006) สุขภาพร่างกายของแม่เต่าทะเลเองก็มีผลเช่นกัน ถ้าแม่เต่าทะเลมีสุขภาพไม่สมบูรณ์หรือเป็นโรคจะส่งผลให้โครงสร้างและการสะสมแร่ธาตุในเปลือกไข่แตกต่างไปจากปกติ ดังนั้นเปลือกไข่เต่าทะเลจึงน่าจะใช้เป็นดัชนีชี้วัดความสมบูรณ์ของแม่เต่าทะเล สุขภาพ อายุ และโรคภัยต่างๆ ที่เกิดกับเต่าทะเลในช่วงนั้นๆ ทำให้ทราบพฤติกรรมการกินอาหาร สภาพแวดล้อมต่างๆ ทั้งอุณหภูมิและการปนเปื้อนจากมลภาวะทางน้ำและดินและยังมีรายงานของ Aguirre (2006) รายงานว่าพบการปนเปื้อนของแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและลบในเต่าทะเลจากฮาวายและออสเตรเลีย แกรมลบคือ *Aeromonas hydrophila*, *Bacillus* spp., *Chlamydomphila* spp., *Flavobacterium* spp., *Leptospira* spp., *Pseudomonas fluorescens*, *Salmonella* spp., *Vibrio alginolyticus* แกรมบวก ได้แก่ *Mycobacterium* spp. ปรสิต (*Brucella* spp., *Cryptosporidium parvum*, *Entamoeba invadens*, *Entamoeba histolytica*, *Toxoplasma gondii*) โลหะหนักคือแคดเมียมปรอท ตะกั่วและสารประกอบอินทรีย์คือ DDT, PCBs และ Chlordane การปนเปื้อนสารบางชนิดอาจส่งผลต่อสุขภาพของแม่เต่าทะเล อันจะส่งผลต่อการสร้างไข่ ซึ่งอาจมีผลต่อการรอดชีวิตและสุขภาพของลูกเต่าทะเล ซึ่งอาจใช้เปลือกไข่เป็นดัชนีชี้วัดสภาพแวดล้อมในแหล่งที่อยู่อาศัยของเต่าทะเล รวมทั้งอาหารที่เต่าทะเลกินว่ามีการปนเปื้อนหรือไม่

การวิจัยของ Winkler ในปี 2006 ศึกษาการจัดแบ่งกลุ่มตามลำดับวิวัฒนาการของเต่าคอยาว (side-necked turtles) โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเปลือกไข่เป็นเกณฑ์ในการจัดจำแนกสามารถแยกกลุ่มของเต่าคอยาวได้ถึงระดับสกุล (genus) ซึ่งสอดคล้องกับการจำแนกโดยใช้ชุดของยีน 12S rRNA ในไมโทคอนเดรีย

จากทฤษฎีและสมมติฐานที่มีรายงานในต่างประเทศ จะเห็นว่าการศึกษาตัวอย่างเปลือกไข่และลูกเต่าในช่วงเวลาต่างๆ ในจำนวนที่มากพอ จะสามารถใช้เป็นข้อมูลที่บ่งบอกได้ถึงสุขภาพของแม่เต่าทะเล อายุ และโรคภัยต่างๆ ที่เกิดกับเต่าทะเลในช่วงนั้นๆ และเป็นดัชนีชี้วัดสภาพแวดล้อมในแหล่งที่อยู่อาศัยของเต่าทะเล สารปนเปื้อนต่างๆ ในแหล่งที่เต่าอยู่อาศัยได้ และยังใช้สัณฐานวิทยาของเปลือกไข่เต่าช่วยจัดจำแนกกลุ่มได้ แต่รายงานเช่นนี้ในประเทศไทยยังขาดแคลนเป็นอย่างมาก นอกเหนือจากนี้ยังพบรายงานจากชาวต่างชาติที่ทำการศึกษเต่าที่มาเพาะพักในประเทศไทยคือ Chantrapornsy (1993) ทำการศึกษาสถานภาพของเต่าทะเล 4 ชนิดซึ่งได้รับการอนุรักษ์ของไทย ได้แก่ เต่าตนุ เต่ากระ เต่าหญ้าและเต่ามะเฟือง พบว่าเต่าตนุและเต่ากระมีถิ่นที่อยู่อาศัยบริเวณอ่าวไทย เช่น เกาะคราม เกาะอีร้า เป็นต้น ซึ่งมีฤดูวางไข่ระหว่างเดือนพฤษภาคมถึงกรกฎาคม ส่วนเต่าหญ้าและเต่ามะเฟืองพบมากทางชายฝั่งทะเลอันดามัน ได้แก่ เกาะพระทอง เกาะภูเก็ต หมู่เกาะสุรินทร์ หมู่เกาะสิมิลันและหาดท้ายเหมืองมีฤดูวางไข่ระหว่างเดือนพฤศจิกายนถึงมีนาคม จำนวนหลุมไข่ทางทะเลอันดามันจำนวน 360

หลุม (ค.ศ. 1985) ลดลงเหลือ 36 หลุม (ค.ศ. 1995) จำนวนของเต่าตนุและเต่ากระไม่ได้ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ประชากรของเต่าหญ้าและเต่ามะเฟืองกำลังลดลงอย่างมีนัยสำคัญ อันเนื่องมาจากหลายปัจจัย เช่น การล่าเพื่อเป็นอาหาร ทำเครื่องประดับหรือติดเครื่องมือสำหรับการประมงและการสูญเสียแหล่งวางไข่ เป็นต้น และจากการสังเกตการวางไข่ของเต่าทะเลในประเทศไทยในช่วง 10 ปีมานี้ รายงานว่าไม่พบการวางไข่ของเต่าหญ้าที่ฝั่งทะเลอันดามันของไทยเลยและการวางไข่ของเต่ามะเฟืองก็ลดจำนวนลง ผู้วิจัยจึงเห็นว่าควรทำการวิจัยอย่างเร่งด่วนในประเทศไทยก่อนที่จะไม่มีลูกเต่าและเปลือกไข่ให้ทำการศึกษา

การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศ (Information) ที่เกี่ยวข้อง

มีผู้ศึกษาเนื้อเยื่อของเต่า loggerhead turtles และรายงานการวิจัยว่าพบโลหะหนักปนเปื้อนคือ แคดเมียม ตะกั่ว ทองแดง สังกะสี พรอทซีเลเนียม (Maffucci และคณะ 2005; Garcia Fernandes และคณะ 2008) สำหรับในไข่เต่าตนุพบโลหะหนักปนเปื้อนคือตะกั่ว นิเกิลและซีเลเนียม และในเปลือกไข่ยังพบ ซีเลเนียม เงิน สังกะสี พรอท ตะกั่ว ด้วย (James และคณะ 2006) จึงทำให้สามารถใช้เนื้อเยื่อของไข่เต่าและเปลือกไข่เต่าเป็นดัชนีชี้วัดสุขภาพแวดล้อมในแหล่งที่อยู่อาศัยของเต่าทะเลได้ รวมทั้งอาหารที่เต่าทะเลกินจะมีการปนเปื้อนหรือไม่ โดยการปนเปื้อนโลหะหนักบางชนิดส่งผลต่อสุขภาพของแม่เต่าทะเลก็จะส่งผลต่อการสร้างเปลือกไข่และมีผลต่อการรอดชีวิตและสุขภาพของลูกเต่าทะเลด้วย

García-Fernández (2008) พบโลหะหนัก คือแคดเมียม ตะกั่ว ทองแดง สังกะสี ในเนื้อเยื่อ ตับ ไต กล้ามเนื้อขาหน้า สมองและกระดูกสันหลังของเต่าหัวค้อนแถบตะวันตกเฉียงใต้ของทะเลเมดิเตอร์เรเนียน ประเทศสเปน

เต่าทะเลเพศเมียสร้างเซลล์ไข่ที่อยู่ในถุงไข่ที่มีขนาดประมาณ 2-3 มิลลิเมตร และเจริญพัฒนาจนมีขนาด 3-4 เซนติเมตร การพัฒนานี้จะเกิดพร้อมๆ กันหลายร้อยใบอยู่ในรังไข่โดยใช้เวลานับ 10 เดือน เซลล์ไข่ที่พัฒนาเต็มที่แล้วชุดแรกจะเคลื่อนตัวสู่ท่อไข่ จากนั้นจะได้รับการผสมพันธุ์กับน้ำเชื้อเพศผู้ ซึ่งถูกเก็บไว้ในท่อไข่ส่วนอิซมัส (isthmus) (Xiangkun H. และคณะ, 2008) จากนั้นเซลล์ไข่ที่ได้รับการผสมจะมีการเจริญพัฒนาของเซลล์ พร้อมกระตุ้นให้สร้างไข่ขาวชั้นล้อมรอบไข่แดง แล้วจึงสร้างเปลือกไข่หุ้มอีกชั้นหนึ่ง (Alkindi และคณะ, 2006) เต่าหลายชนิดออกไข่ที่มีเปลือกแข็งและเปลือกไข่มีสองชั้น คือชั้น calcium layer และชั้นในคือ membrane layer (Ewert, 1985)

Van Meter และคณะ (2006) ศึกษาผลของสาร PAHs ต่อการรอดชีวิตและเจริญเติบโตของตัวอ่อนเต่าสแนปปิ้ง (*Chelydra serpentina*) สาร PAHs เป็นสารไฮโดรคาร์บอนที่พบในน้ำมันดิบ ซึ่งปนเปื้อนอยู่ในน้ำและดิน ทำการศึกษาไข่ของเต่าสแนปปิ้งจาก สหรัฐอเมริกาและแคนาดา ในช่วงเดือนพฤษภาคมถึงกรกฎาคม 2002 โดยเลือกศึกษา 2 อนุพันธ์ ได้แก่ BaP และ 7, 12- DMBA นำไข่มาเพาะฟักที่อุณหภูมิประมาณ 27 องศาเซลเซียส โดยกำหนดสารปนเปื้อนที่ความเข้มข้นต่างๆ น้ำมันดิบ: 1 ไมโครลิตร, 5 ไมโครลิตร, 10 ไมโครลิตร (ในทราย) BaP: 0.02%, 0.05%, 0.1%, 0.2%, 0.5%, 0.75%, 1.0% (มวลต่อมวล) และ DMBA: 0.02%, 0.05%, 0.1%, 0.2%, 0.5%, 0.75%, 1.0% (มวลต่อมวล) หลังจากลูกเต่าฟักออกจากไข่ 14 วัน ทำการศึกษาความผิดปกติของลูกเต่า พบว่าลูกเต่ามีการเจริญเติบโตผิดปกติ แบ่งความผิดปกติออกเป็น 3 ระดับ คือ ระดับน้อย ปานกลางและมากดังนี้ ในระดับ

น้อยลูกเต๋ามีลักษณะกระดองส่วนหลังผิดภาพ หางกุด นิ้วขาด สีซีดหรือมีลำตัวคล้ายลูกศร ในระดับปานกลางลูกเต๋ามีความผิดปกติ เช่น ตาบอดหรือปากบิด กระดุกสันหลังโค้งงอและมีการเจริญเติบโตช้าและในระดับมาก ลูกเต๋ามีกระเพาะอาหารผิดปกติ ปากบิด มีความผิดปกติของสมอง เช่น น้ำคั่งในโพรงสมอง (hydrocephaly) หรือสมองไม่แบ่งเป็นพู (missing lobes) ลักษณะขากรรไกรผิดภาพ อันเนื่องมาจากขากรรไกรไม่เชื่อมติดกับระบบทางเดินหายใจ ขาดขากรรไกรบนหรือล่าง ไม่มีกระดอง มีความผิดปกติของหัวใจ ตาบอดหรือกระโหลกศีรษะไม่เชื่อมติดกัน

เต่าหลายชนิดออกไข่ที่มีเปลือกแข็งและเปลือกไข่มีสองชั้นหลักๆ ชั้นนอกของเปลือกไข่เรียกว่า calcium layer และชั้นในเรียกว่า membrane layer บางชนิดมี 3 ชั้น คือ cuticle layer, calcium layer และ membrane layer (Ewert 1985) เปลือกไข่เต่าทะเลประกอบด้วยแคลเซียมคาร์บอเนต(CaCO_3) ซึ่งมีการฟอร์มลักษณะโครงสร้างแบบอะราโกไนท์ (aragonite) (Hirsch 1983; Kitimasak 2003) ธาตุองค์ประกอบในไข่แดง ไข่ขาวและเปลือกไข่ ได้แก่ แคลเซียม (Ca) แมกนีเซียม (Mg) ซัลเฟอร์ (S) โพแทสเซียม (K) และฟอสฟอรัส (P) ซึ่งแคลเซียมเป็นสารอนินทรีย์ที่สำคัญยิ่ง พบว่าตัวอ่อนใช้แคลเซียมในการเจริญเติบโต ซึ่ง 40 เปอร์เซ็นต์ มาจากไข่แดงและ 60 เปอร์เซ็นต์มาจากเปลือกไข่ (Sahoo 1998)

การวิจัยของ Lam ในปี 2006 พบสารปนเปื้อน พวกโลหะหนักในเปลือกไข่เต่า เช่น ซีเลเนียม (Se) แคดเมียม (Cd) ตะกั่ว (Pb) นิกเกิล (Ni) และอื่นๆ จากผลงานที่ได้ทำให้สามารถใช้เปลือกไข่เป็นดัชนีชี้วัดสภาพแวดล้อมในแหล่งที่อยู่อาศัยของเต่าทะเล รวมถึงอาหารที่เต่าทะเลกินว่ามีการปนเปื้อนหรือไม่ เนื่องจากการปนเปื้อนสารบางชนิดส่งผลต่อสุขภาพของแม่เต่าทะเลและมีผลต่อการสร้างไขสอดคล้องกับการมีผลต่อการรอดชีวิตและสุขภาพของลูกเต่าทะเล

การพัฒนาอวัยวะต่างๆ ของเต่าทะเลเกิดขึ้นในขณะที่เพาะฟักไข่ในช่วงกลางของการเพาะฟัก พบว่าการพัฒนาของอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้และเพศเมียนั้นขึ้นอยู่กับอุณหภูมิในหลุมไข่ขณะเพาะฟัก โดยที่อุณหภูมิต่ำลูกเต่าที่ฟักจะเป็นเพศผู้จำนวนมากและที่อุณหภูมิสูงลูกเต่าจะเป็นเพศเมียมากกว่า (Zhu และคณะ 2006; Lin และคณะ, 2008) เต่าทะเลเพศผู้มีลักษณะเด่นคือมีหางยาวซึ่งเป็นส่วนที่มีอวัยวะสำหรับการสืบพันธุ์และบริเวณขาหน้ามีเล็บยาวโค้งสำหรับยึดเกาะกระดองเต่าเพศเมียขณะผสมพันธุ์

วิธีการดำเนินการวิจัยและสถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล

สถานที่เก็บตัวอย่างลูกเต่าที่ตายทันทีจากบ่ออนุบาล กองทัพเรือ จังหวัดพังงา และจากศูนย์อนุรักษ์พันธุ์เต่าทะเล กองทัพเรือ อำเภอสัตหีบ จังหวัดชลบุรี

สถานที่เก็บตัวอย่างเปลือกไข่เต่า คือเต่าตนุ เต่ามะเฟืองและเต่ากระ เก็บได้จากอ่าวไทย จังหวัดชลบุรี และที่ฝั่งทะเลอันดามันเก็บได้จากหมู่เกาะสุมาตรา

ผู้วิจัยจึงนำเปลือกไข่เต่าหลังการเพาะฟักและนำลูกเต่าที่เสียชีวิตในขณะเลี้ยงโดยศึกษาสาเหตุการตาย จากนั้นนำตัวอย่างทั้งหมดมาศึกษา โดยถ่ายภาพและจดบันทึกรายละเอียดต่างๆ พร้อมศึกษาโครงสร้างภายนอกในลำดับแรก

1. การเพาะเลี้ยงเชื้อจากอวัยวะลูกเต่าที่ตายแยกบริสุทธิ์แล้วเก็บเป็น Stock culture

ก. เก็บตัวอย่างลูกเต่าทะเล โดยเก็บตัวอย่างลูกเต่าทะเลที่เสียชีวิต โดยได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์อนุรักษ์พันธุ์เต่าทะเล กองทัพเรือ อำเภอชลบุรี จังหวัดสตูล

ข. ทำการตรวจสอบบาดแผลที่ปรากฏทั้งบาดแผลภายในและภายนอก ทำความสะอาดตัวอย่างแล้วใช้กรรไกรปลอดเชื้อตัดชิ้นเนื้อของลูกเต่าที่บริเวณเนื้อเยื่อที่สนใจ

ค. บดให้ละเอียดแล้วเจือจางตัวอย่างโดยใช้สารละลาย 0.9% normal saline จนกระทั่งระดับความเข้มข้น 10^{-4} จากนั้นนำมา spread ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆและบ่มจานเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยสูตรอาหารที่ใช้คือ

- Nutrient agar ที่มี NaCl ร้อยละ 1
- Nutrient agar ที่มี NaCl ร้อยละ 3
- Mannitol Salt Agar (MSA)
- MacConkey Agar (Mac)
- Eosin Methylene blue Agar (EMB)
- Thiosulfate Citrate Bile Salt Sucrose Agar (TCBS)

ง. บันทึกผลการทดลองที่ได้ จากนั้นทำการคำนวณหาจำนวนจุลินทรีย์แต่ละกลุ่มในแต่ละตัวอย่างด้วยเทคนิค colony-forming unit (CFU) โดยแสดงผลเป็นค่า log cfu/ml

2. การศึกษาเปลือกไข่ลูกเต่าทะเล

ก. นำไข่เต่ามาทำความสะอาดเพื่อล้างคราบฝุ่นหรือสิ่งปนเปื้อนออก วัดขนาดของเปลือกไข่จดบันทึก สีเปลือกไข่ แยกตัวอย่างเปลือกไข่ออกเป็น 2 กลุ่ม เก็บเปลือกไข่ไว้ที่ตู้ดูดความชื้นเพื่อทำการศึกษาต่อไป

ข. กลุ่มที่ 1 ศึกษาโครงสร้างและลักษณะรูปร่างทางสัณฐานวิทยาภายในของเปลือกไข่ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด โดยใช้หัวตรวจวัด Secondary Electron Imaging (SEI) และ Back-scattered electron (BEI) เป็นตัวตรวจวัดที่ 20 kV และบันทึกภาพ

ค. กลุ่มที่ 2 ศึกษาและวิเคราะห์ธาตุในเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณที่ประกอบในแต่ละชั้นของเปลือกไข่ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด โดยใช้หัวตรวจวัด Energy Dispersive X-ray Analysis (EDX) เป็นตัวตรวจวัดที่ 20 kV พร้อมบันทึกภาพ พร้อมศึกษาการกระจายตัวของธาตุต่างๆในแต่ละชั้นของเปลือกไข่ด้วยโปรแกรม mapping

ง. วิเคราะห์ผลรวมของข้อมูลทั้งหมด เปรียบเทียบข้อมูลของเปลือกไข่ว่ามีรูปร่างทางสัณฐานวิทยา โดยวิเคราะห์ในหัวข้อของความหนาในแต่ละชั้นของเปลือกไข่ (Shell thickness) พร้อมวิเคราะห์เปรียบเทียบโครงสร้างขององค์ประกอบธาตุในแต่ละชั้นว่าแตกต่างกันหรือไม่อย่างไร

จ. นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติหาความสัมพันธ์และเปรียบเทียบ โดยใช้ One-way ANOVA ศึกษาและแบ่งกลุ่มโดยใช้ Duncan test วิเคราะห์ข้อมูลโดย SPSS for windows package

3. เพื่อพิสูจน์รูปผลึกสารอินทรีย์ในเปลือกไข่เต่าทะเลด้วย X-ray diffraction

ทำการแยกแต่ละชั้นของเปลือกไข่ออกจากกันโดยใช้มีดบางๆ โดยทำภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง แล้วนำเปลือกไข่ที่แยกได้แต่ละชั้นไปทำให้เป็นผงละเอียด จากนั้นจึงพิสูจน์รูปผลึกสารอินทรีย์ในเปลือกไข่เต่าทะเลด้วยเครื่อง X-ray diffraction ต่อไป

4. ศึกษาพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อและระบบสืบพันธุ์ของลูกเต่าทะเล

ศึกษาพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อและระบบสืบพันธุ์ของลูกเต่าทะเลที่ตายโดยทันที ซึ่งอาจเป็นลูกเต่าที่ไม่พบบาดแผลหรือที่มีบาดแผลในลูกเต่าระยะต่างๆ ที่สามารถเก็บตัวอย่างได้ และถ้าพบจุลชีพหรือความผิดปกติ ก็จะศึกษาว่าการติดเชื้อนี้เกิดจากจุลชีพใด สันฐานวิทยาและรายละเอียดของจุลชีพเป็นอย่างไร การศึกษาอาจใช้เทคนิคทางภูมิพยาธิวิทยา วิธีใดวิธีหนึ่งหรือใช้ร่วมกันแล้วแต่กรณีเพื่อให้ได้ผลสำเร็จของงานที่ดีที่สุด โดยเทคนิคที่ใช้มีดังต่อไปนี้

4.1 เทคนิคทางกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Light microscope: LM) มีวิธีการคือ

ก. เตรียมเนื้อเยื่อ อวัยวะและระบบสืบพันธุ์ของลูกเต่าทะเลที่เสียชีวิตโดยตัดเป็นชิ้นขนาด

5-10 มิลลิเมตร

ข. ล้างตัวอย่างด้วย 0.1 Phosphate buffer pH 7.2 จากนั้นแช่ตัวอย่างในน้ำยารักษาสภาพด้วยน้ำยารักษาสภาพเนื้อเยื่อโดยใช้น้ำยาบลูแองนาน 24 ชั่วโมง ครบเวลาตึงน้ำออกจากเนื้อเยื่อด้วยเอทานอลที่ระดับความเข้มข้น 70, 80, 90, 95 เปอร์เซ็นต์ และเอทานอล 100 เปอร์เซ็นต์ ทำ 2 ครั้งๆ ละ 10 นาที แล้วทำตัวอย่างให้ใส (clearing) ด้วยไซลีน แล้วนำชิ้นตัวอย่างไปฝัง (embedding) ในพาราฟิน โดยพาราฟินจะแทรกซึมเข้าไปอยู่ในชิ้นตัวอย่าง แล้วเมื่อชิ้นตัวอย่างแข็งจึงนำไปตัดตัวอย่างด้วยเครื่องมือโครโตมให้บางประมาณ 5 ถึง 10 ไมโครเมตร

ค. นำตัวอย่างที่ตัดบางวางบนสไลด์กระจก แล้วต้องนำเนื้อเยื่อตัวอย่างให้รับน้ำเข้า (re-hydration) โดยผ่านเนื้อเยื่อตัวอย่างในแอลกอฮอล์ (ความเข้มข้นจาก 100, 95, 80, และ 70 เอทานอล เปอร์เซ็นต์) แล้วย้อมตัวอย่างที่ตัดบางซึ่งวางบนแผ่นสไลด์กระจก ไปย้อมสี Hematoxylin และ Eosin แล้วหยด DPX แล้วปิดด้วย cover slide จึงนำเนื้อเยื่อตัวอย่างไปศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงพร้อมบันทึกภาพ

ผลการวิจัยและวิจารณ์ (Result and Comment)

1. การเพาะเลี้ยงเชื้อจากอวัยวะลูกเต่าที่ตายด้วยวิธีทางจุลชีววิทยา

ผลการตรวจสอบพยาธิสภาพของซากลูกเต่า 2 ตัว ที่เสียชีวิตด้วยวิธีทางจุลชีววิทยา พบว่าลูกเต่าตัวที่ 1 เมื่อศึกษาลักษณะจากภายนอก พบว่าบริเวณปากไม่มีสิ่งผิดปกติเกิดขึ้น บริเวณหัวใจ ปอด ตับ มีสีแดงสด ส่วนลำไส้ไม่พบลักษณะสีดำจำนวนมาก ที่อาจจะเป็นอุจจาระที่ค้างอยู่ภายใน ลูกเต่าตัวที่ 2 ตัวอย่างลูกเต่ามีขนาดใหญ่และมีความสดกว่าตัวแรกเล็กน้อย เมื่อดูจากภายนอกพบว่าไม่มีสิ่งผิดปกติเกิดขึ้นที่ในปาก บริเวณหัวใจ ปอด ตับ มีสีแดงสด ส่วนลำไส้ ไม่พบลักษณะสีดำจำนวนมากที่อาจจะเป็นอุจจาระที่ค้างอยู่ภายใน

ผลการตรวจสอบกลุ่มและปริมาณของเชื้อแบคทีเรียแต่ละกลุ่มโดยพิจารณาตัวอย่างชั้นเนื้อ
อวัยวะจากลูกเต่าที่เสียชีวิตทำการตรวจสอบปริมาณเชื้อแบคทีเรียจากเนื้อเยื่ออวัยวะ 2 ชนิด คือไตและ
ลำไส้แสดงผลเป็น logcfu/g เป็นดังต่อไปนี้ พบว่าจำนวน heterotrophic marine bacteria อยู่ในอวัยวะ
ทั้ง 2 ชนิดที่เจริญอยู่บนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA+1% NaCl และ NA+3% NaCl โดยลำไส้พบจำนวนเชื้อ
5.109-6.428 logcfu/g และไตพบ 5.397- 5.822 logcfu/g

การตรวจสอบแบคทีเรียแกรมลบซึ่งมักปรากฏในน้ำทะเลทั่วๆ ไปบนอาหาร Mac พบเชื้อ
แบคทีเรียในอวัยวะทั้ง 2 ชนิดโดยจำนวนเชื้ออยู่ในช่วง 4.583- 6.445 logcfu/ ผลการตรวจพบแบคทีเรีย
แกรมลบในเนื้อเยื่อตัวอย่างคิดเป็นร้อยละ 100 (พบในทุกตัวอย่างที่ศึกษา)

การตรวจสอบแบคทีเรียกลุ่ม *Staphylococcus* spp. บนอาหาร MSA พบจำนวนเชื้อในอวัยวะ
ทั้ง 2 ชนิดอยู่ที่ 4.195-5.09 logcfu/g เมื่อพิจารณาในภาพรวมพบว่าปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ติดเชื้อมีใน
เนื้อเยื่อมีแนวโน้มในทิศทางที่ใกล้เคียงกัน

การตรวจสอบเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม Enterobacteria และ coliform บนอาหาร EMB พบจำนวนเชื้อ
ในอวัยวะทั้ง 2 ชนิดอยู่ในช่วง 4.661-5.380 logcfu/g คิดเป็นร้อยละ 100 จากการตรวจสอบทั้งหมด

การตรวจสอบเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *Vibrio* spp. บนอาหาร TCBS พบจำนวนเชื้อในอวัยวะทั้ง 2
ชนิดอยู่ในช่วง <0.01-4.499 logcfu/g คิดเป็นร้อยละ 100 จากการตรวจสอบทั้งหมด 2 อวัยวะ

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ย log cfu (colony forming unit) ของเชื้อแบคทีเรียที่แยกจากตัวอย่างเนื้อเยื่อจากเต่า
ทะเลโดยคำนวณจากอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละกลุ่ม

อวัยวะ	marine bacteria (NA+1% NaCl)	marine bacteria (NA+3% NaCl)	<i>Staphylococcus</i> spp. (MSA)	Gram negative Bacteria (Mac)	Enteric bacteria และ coliform (EMB)	<i>Vibrio</i> spp. (TCBS)
ไต	5.397- 5.822	5.364- 5.457	4.1954.875-	-5.068 5.316	-5.103 5.141	3.546- 4.499
ลำไส้	-5.109 6.428	-5.261 6.254	-4.6075.090	-4.583 6.445	-4.661 5.380	<0.01- 3.983

จากการนี้ได้ตรวจสอบกลุ่มและจำนวนของเชื้อแบคทีเรียที่สุ่มเก็บตัวอย่างในบ่ออนุบาลเต่าทะเล ศูนย์อนุรักษ์พันธุ์เต่าทะเลและตรวจหาปริมาณของเชื้อแบคทีเรียโดยอาหารเลี้ยงเชื้อแบบ selective media และหาปริมาณเชื้อแบคทีเรียแต่ละกลุ่มโดยวิธี plate count เพื่อประมาณค่า cfu/g โดยแสดงผลเป็นค่า log cfu/g ทำการเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่ออวัยวะ 2 ชนิด คือไตและลำไส้

ผลการศึกษาจากตัวอย่างเนื้อเยื่ออวัยวะ 2 ชนิดตัวอย่างเนื้อเยื่อไตพบแบคทีเรีย 4 กลุ่ม ดังนี้ พบแบคทีเรียกลุ่ม Gram negative bacteria (มีจำนวนมากสุด) คือ 5.068-5.316 log cfu/g (รองลงมา คือ Enteric bacteria และ coliform) 5.103-5.141 log cfu/g (*Staphylococcus* spp.) 4.195-4.875 logcfu/g (*Vibrio* spp. (3.546 ถึง 4.499 log cfu/g) ตัวอย่างเนื้อเยื่อลำไส้พบแบคทีเรียทุกกลุ่ม 4) กลุ่ม ดังนี้พบแบคทีเรียกลุ่ม negative bacteria 4.583-6.445 log cfu/g (จำนวนมากสุด รองลงมาคือ กลุ่ม Enteric bacteria และ coliform) 4.661-5.380 log cfu/g (และกลุ่มแบคทีเรียในระดับจีโนมคือ *Staphylococcus* spp.) 4.607-5.090 logcfu/g (จำนวนมากสุด รองลงมาคือ *Vibrio* spp. (<0.01-3.983 log cfu/g)

สาเหตุหนึ่งของการป่วยและเสียชีวิตของลูกเต่าทะเลที่อยู่ในบ่ออนุบาลก็คือการติดเชื้อในเต่า อาจเกิดได้จากหลายสาเหตุได้แก่ เชื้อแบคทีเรีย ไวรัส เชื้อรา ปรสิต และเชื้ออื่นๆ การสังเกตอาการและการวินิจฉัยโรคที่ถูกต้อง ทั้งทางคลินิกและทางห้องปฏิบัติการมีความสำคัญอย่างยิ่งเพื่อให้สามารถนำผลที่ได้มารักษาอย่างถูกต้องเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่พบได้บ่อยในเต่าทะเลได้แก่ *Vibrio* spp., *Aeromonas* spp., *Pseudomonas* spp., *Cryptophaga Flavobacterium*., *Streptococcus* spp., *Salmonella* spp., *Morexella* spp. และเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม Coliform ซึ่งเชื้อหลายชนิดที่กล่าวมานี้เป็นเชื้อฉวยโอกาสที่จะก่อโรคเมื่อสัตว์อ่อนแอ

2. การศึกษาเปลือกไข่ลูกเต่าทะเล

2.1 ศึกษาทางสัณฐานวิทยาและโครงสร้างอย่างละเอียดของเปลือกไข่เต่าทะเล

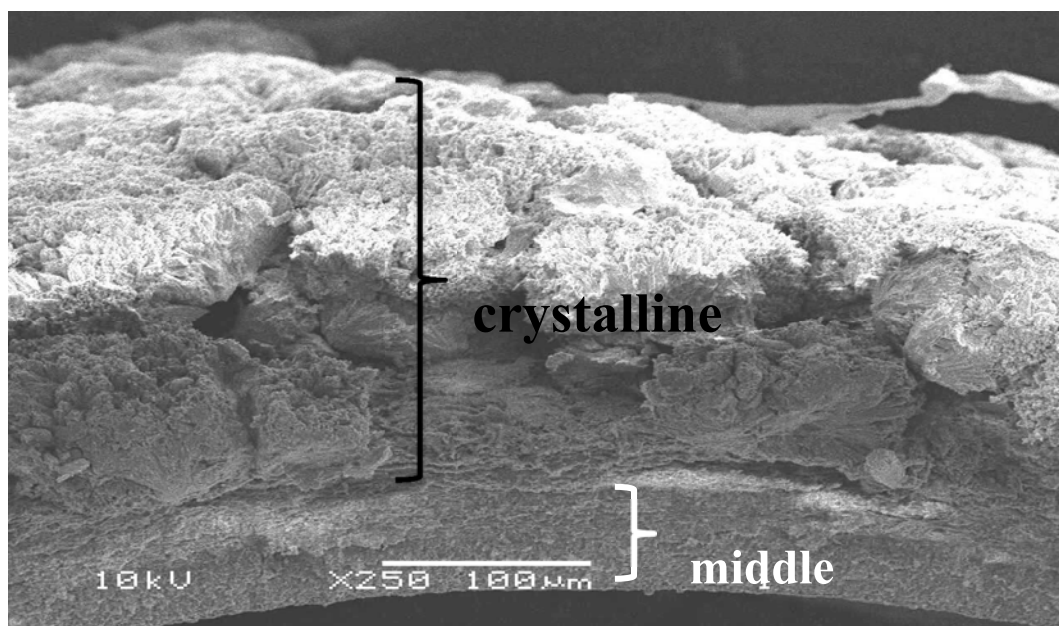
ผลการศึกษาทางสัณฐานวิทยาเปลือกไข่เต่าทะเล 3 ชนิด คือ เต่าตนุ 60 ตัวอย่าง เต่ามะเฟือง 60 ตัวอย่าง และเต่ากระ 12 ตัวอย่าง ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด โดยใช้หัวตรวจวัด SEI พบว่าเปลือกไข่เต่าทะเลประกอบด้วย 3 ชั้น คือชั้นนอก ชั้นกลางและชั้นใน เมื่อศึกษาที่กำลังขยายต่ำกว่า 500 เท่า สามารถแยกได้เพียง 2 ชั้น คือชั้นนอกและชั้นกลาง ส่วนเปลือกไข่ชั้นในจะมองเห็นได้ไม่ชัดเจน (ภาพที่ 1-3)

เปลือกไข่ชั้นนอก เรียกว่า outer calcareous layer หรือ crystalline layer เมื่อสังเกตด้วยตาเปล่าเปลือกไข่ชั้นนอกมีลักษณะเป็นผลึกสีขาว แข็งและหลุดออกได้ง่าย ผิวด้านบนมีลักษณะแตกต่างกันในเต่าทะเลแต่ละชนิด รู้สึกสากมือเมื่อสัมผัสโดยเฉพาะเปลือกไข่ชั้นนอกของเต่ามะเฟืองจะรู้สึกสากมือมากกว่าในเต่าตนุและเต่ากระ เมื่อศึกษาด้านข้างด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดโดย

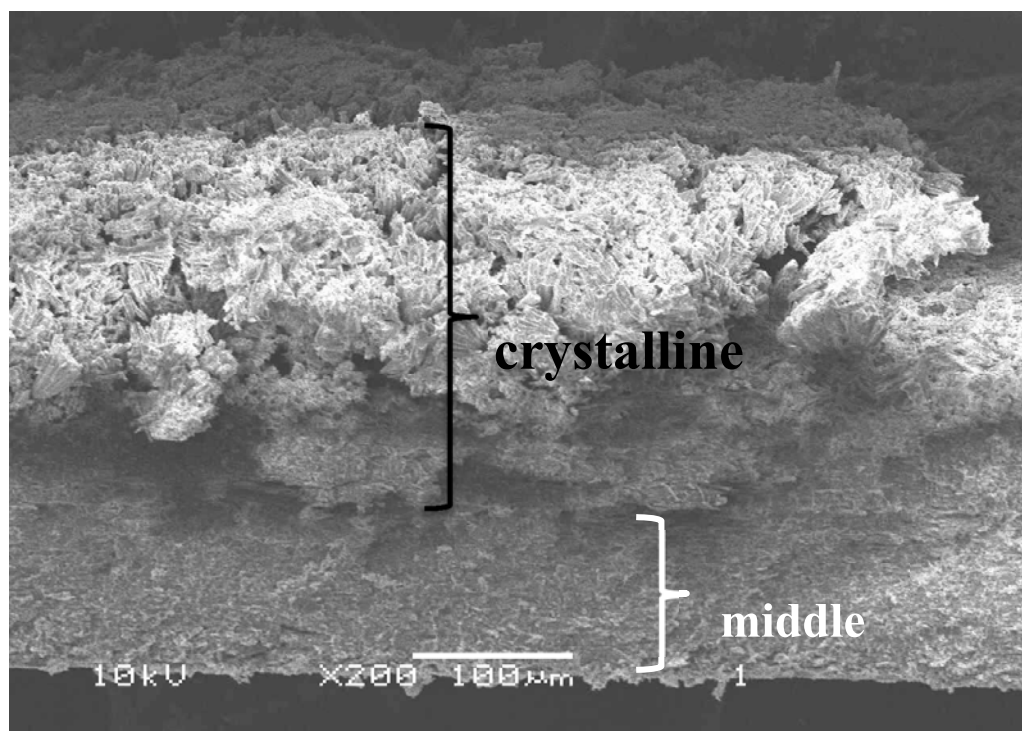
ใช้หัตถตรวจวัด SEI พบว่าเปลือกไข่ชั้นนอกของเต่าทะเลทั้ง 3 ชนิด ประกอบด้วยผลึกหนามแหลมรวมตัวกันเป็นกลุ่มก้อนแผ่รัศมี (ภาพที่ 1-5) โดยเต่าตนุมีขนาดของผลึกรูปแหลมแหลมใหญ่ แต่ในเต่ามะเฟืองมีขนาดของผลึกรูปแหลมแหลมเล็กและเรียวกว่าเต่าตนุ (ภาพที่ 7-9) ซึ่งเปลือกไข่ชั้นนอกของเต่ากระมีขนาดของผลึกรูปแหลมแหลมเล็กกว่าเต่าตนุเช่นเดียวกัน แต่จะมีผลึกรูปทรงกลมที่มีขนาดแตกต่างกันแทรกอยู่ระหว่างผลึกรูปหนามแหลม (ภาพที่ 10-11) เมื่อศึกษาผิวด้านบนของเปลือกไข่ชั้นนอกของเต่าทะเลทั้ง 3 ชนิด ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดโดยใช้หัตถตรวจวัด SEI พบว่าเปลือกไข่ชั้นนอกมีลักษณะเป็นกลุ่มผลึกแหลมแหลมรวมตัวกันเป็นกลุ่มหรือก้อนโดยกลุ่มผลึกแต่ละกลุ่มจะมีการเรียงตัวชิดติดกันแน่นในแนวระนาบ แต่ในบางบริเวณสามารถเห็นกลุ่มผลึกแบ่งเป็นกลุ่มย่อยๆ (ภาพที่ 6-10) จะเห็นได้ว่าผิวด้านบนของเปลือกไข่ชั้นนอกของเต่าตนุมีกลุ่มผลึกเรียงตัวชิดติดกันแน่นในแนวระนาบอย่างสม่ำเสมอมากกว่าในเต่ากระ ส่วนในเต่ามะเฟืองมีกลุ่มผลึกเรียงตัวชิดติดกันแน่นในแนวระนาบอย่างไม่สม่ำเสมอทำให้เห็นผิวด้านบนของเปลือกไข่ชั้นนอกมีความสูงต่ำไม่เท่ากัน (ภาพที่ 8) บริเวณตรงกลางของกลุ่มผลึกยึดติดกับฐานเปลือกไข่ชั้นกลาง อาจมีรู (pore) เดียวหรือหลายรูมีขนาดประมาณ 4-15 ไมโครเมตรในเต่าทั้ง 3 ชนิด ในแต่ละรูเชื่อมต่อกันระหว่างเปลือกไข่ชั้นนอกและเปลือกไข่ชั้นกลาง โดยรูเหล่านี้ทำหน้าที่เป็นช่องทางสำหรับกระบวนการแลกเปลี่ยนก๊าซของเปลือกไข่ (ภาพที่ 12-13) ความหนาของเปลือกไข่ชั้นนอกและชั้นกลางของเต่าทั้ง 3 ชนิด มีความหนาอ่อนข้างใกล้เคียงกัน

เปลือกไข่ชั้นกลาง เรียกว่า middle layer หรือ middle multistrata layer ประกอบไปด้วยโครงสร้างของเส้นใยที่มีขนาดประมาณ 0.5-2.0 ไมโครเมตร (ภาพที่ 14-15) สานกันเป็นร่างแหอัดแน่นทั้งชั้น เมื่อศึกษาเปลือกไข่ชั้นกลางที่กำลังขยายสูงกว่า 2000 เท่า ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดโดยใช้หัตถตรวจวัด SEI จะเห็นช่องว่างระหว่างเส้นใยที่สานกัน มีลักษณะคล้ายกับรูพรุนของปะการังฟองน้ำและเป็นช่องทางสำหรับกระบวนการแลกเปลี่ยนก๊าซระหว่างตัวอ่อนที่อยู่ภายในเปลือกไข่กับสิ่งแวดล้อมภายนอก

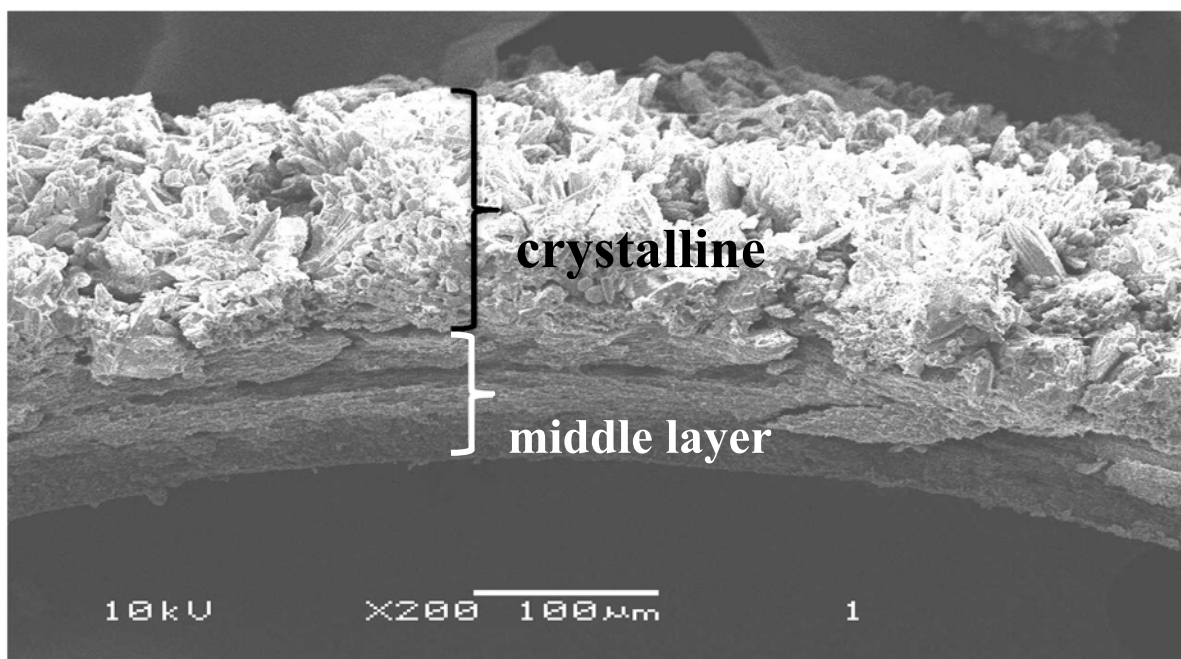
เปลือกไข่ชั้นใน เรียกว่า inner fibrous layer ประกอบด้วยเส้นใยขนาดเล็กมากสานกันแน่นผิวด้านในมีลักษณะเรียบและบางกว่าชั้นอื่นๆ ทำให้เห็นเส้นใยของเปลือกไข่ชั้นกลาง (ภาพที่ 16-21)



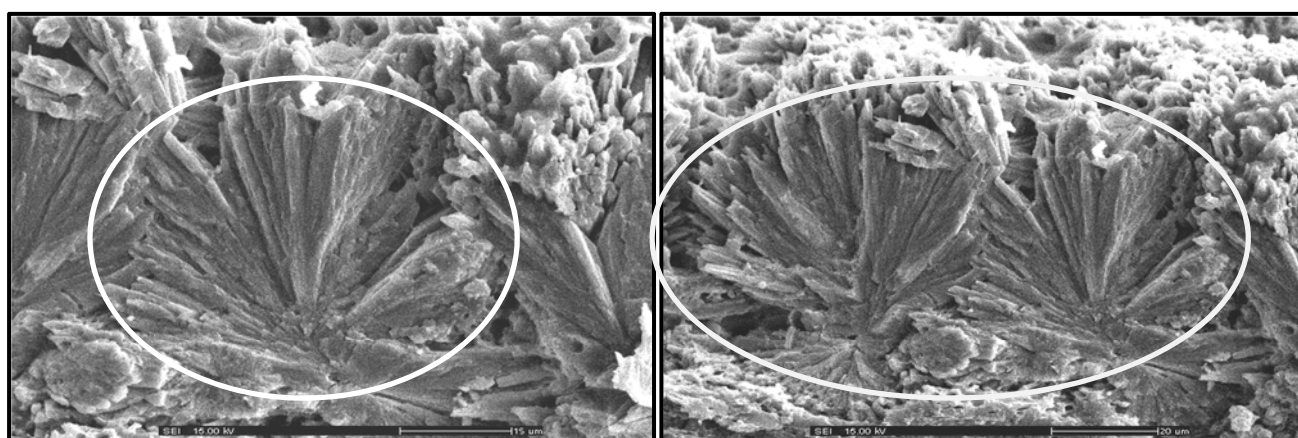
ภาพที่ 1 จาก SEI แสดงสัณฐานวิทยาของเปลือกไข่เต่าตนุ สามารถแยกออกเป็น 2 ชั้น คือชั้นนอก (crystalline layer) มีลักษณะเป็นกลุ่มผลึกหนามแหลมรวมตัวกันเป็นกลุ่มก้อนแผ่รัศมีคล้ายรูปพัด และชั้นกลาง (middle layer) หนาและอัดกันแน่นทั้งชั้น



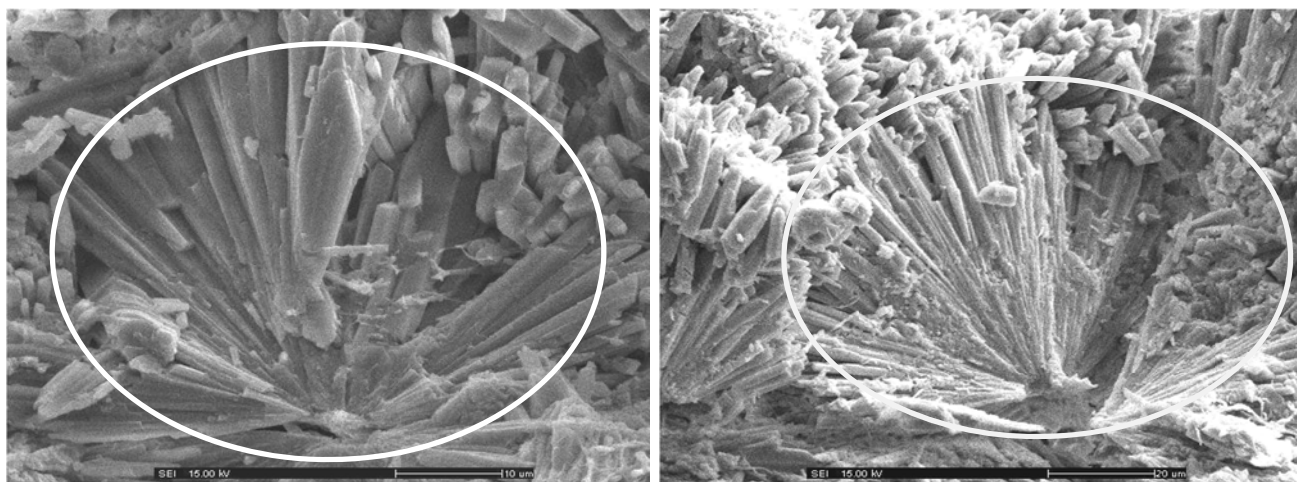
ภาพที่ 2 จาก SEI แสดงสัณฐานวิทยาของเปลือกไข่เต่ามะเฟือง สามารถแยกออกเป็น 2 ชั้น คือชั้นนอก (crystalline layer) มีลักษณะเป็นกลุ่มผลึกหนามแหลมรวมตัวกันเป็นกลุ่มก้อนแผ่รัศมีคล้ายรูปพัด และชั้นกลาง (middle layer) หนาและอัดกันแน่นทั้งชั้น



ภาพที่ 3 SEI แสดงสัณฐานวิทยาของเปลือกไขเต่ากระ สามารถแยกออกเป็น 2 ชั้น คือชั้นนอก (crystalline layer) มีลักษณะเป็นกลุ่มผลึกหนามแหลมรวมตัวกันเป็นกลุ่มก้อนแผ่รัศมีคล้ายรูปพัด และ ชั้นกลาง (middle layer) หนาและแน่นที่บทั้งชั้น



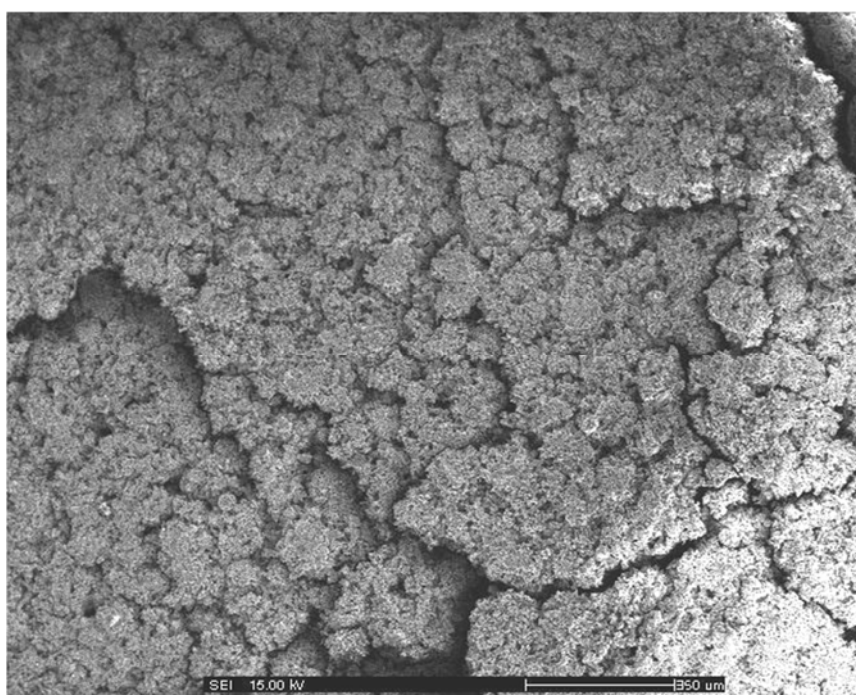
ภาพที่ 4 จาก SEI แสดงสัณฐานวิทยาของเปลือกไขชั้นนอกของเต่าตนุ ที่เป็นผลึกหนามแหลมรวมตัวกันเป็นกลุ่มแผ่รัศมี



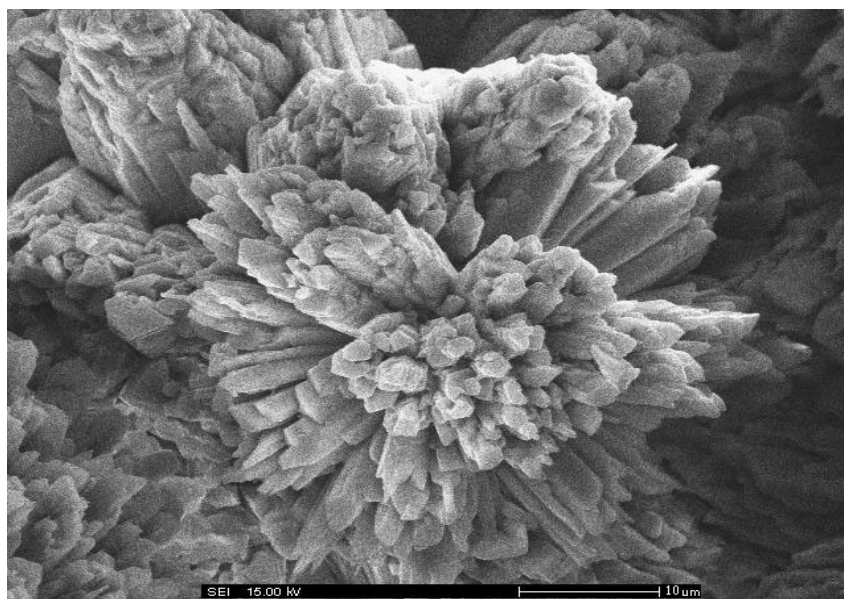
ก

ข

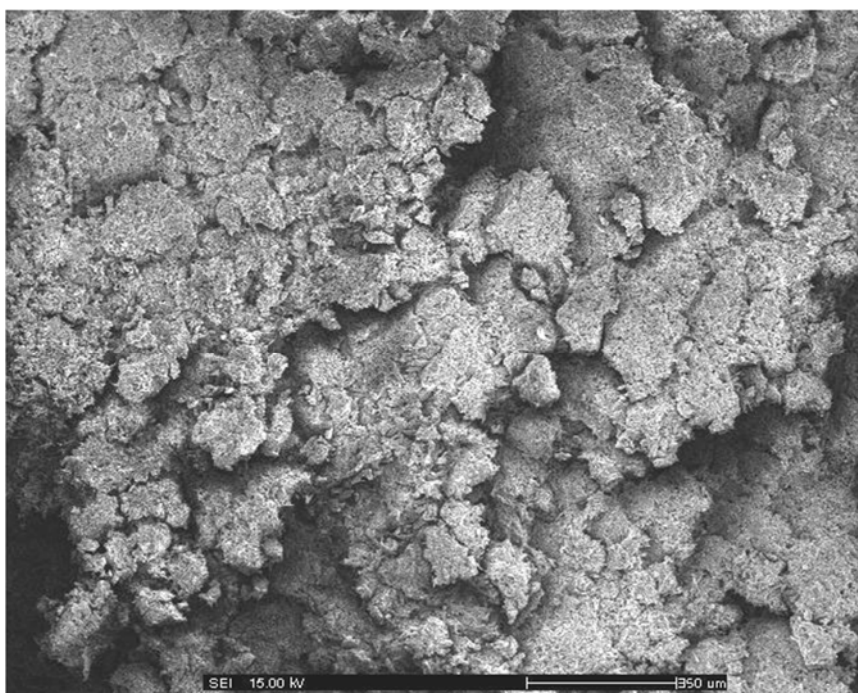
ภาพที่ 5 จาก SEI แสดงสัณฐานวิทยาของเปลือกไข่ชั้นนอกของเต่ามะเฟือง ที่เป็นผลึกหนามแหลม รวมตัวกันเป็นกลุ่มแผ่รัศมี



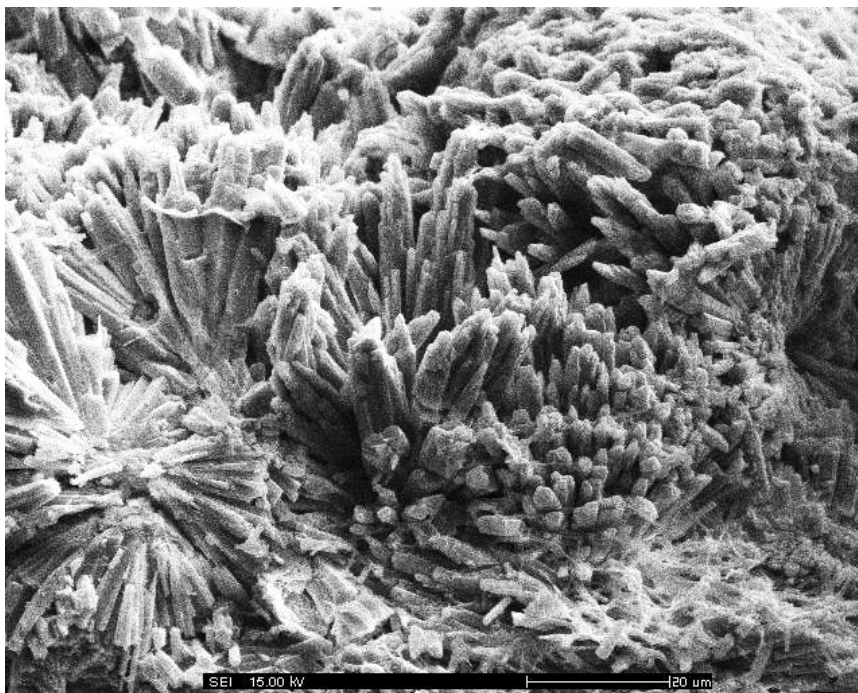
ภาพที่ 6 จาก SEI แสดงสัณฐานวิทยาของเปลือกไข่ชั้นนอกของเต่าตนุ มีลักษณะเป็นกลุ่มผลึกหลายๆ กลุ่มเรียงตัวชิดติดกันแน่นในแนวระนาบ แต่ในบางบริเวณสามารถเห็นผลึกแบ่งเป็นกลุ่มย่อย



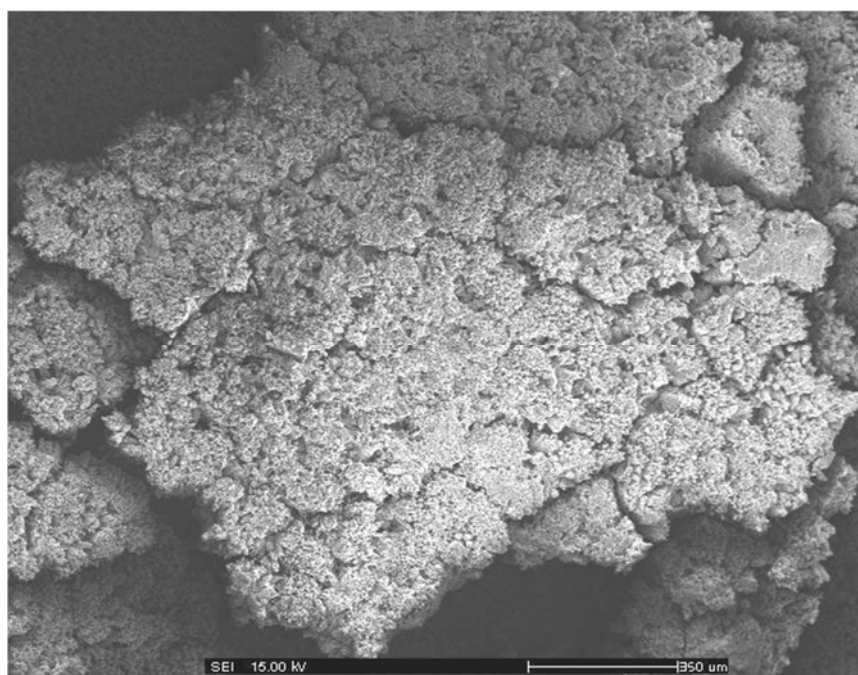
ภาพที่ 7 จาก SEI แสดงสัณฐานวิทยาของเปลือกไข่ชั้นนอกของเต่าตนุเป็นผลิกรูปแท่งรวมตัวกันเป็นกลุ่มก้อนและแผ่รัศมี



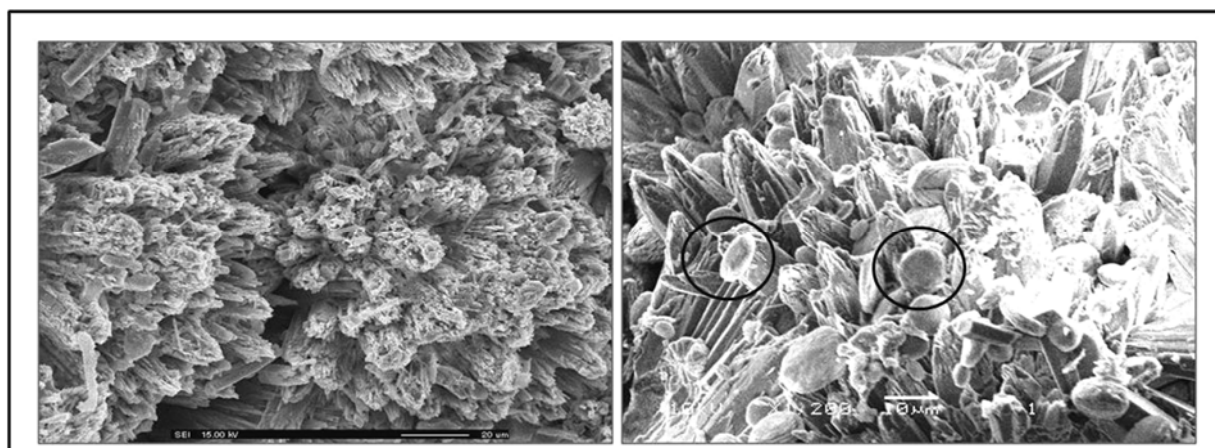
ภาพที่ 8 จาก SEI แสดงสัณฐานวิทยาของเปลือกไข่ชั้นนอกของเต่ามะเฟือง มีลักษณะเป็นกลุ่มผลึกหลายกลุ่มเรียงตัวชิดติดกันแน่นในแนวระนาบอย่างไม่สม่ำเสมอทำให้เห็นผิวด้านบนของเปลือกไข่ชั้นนอกมีความสูงต่ำไม่เท่ากัน



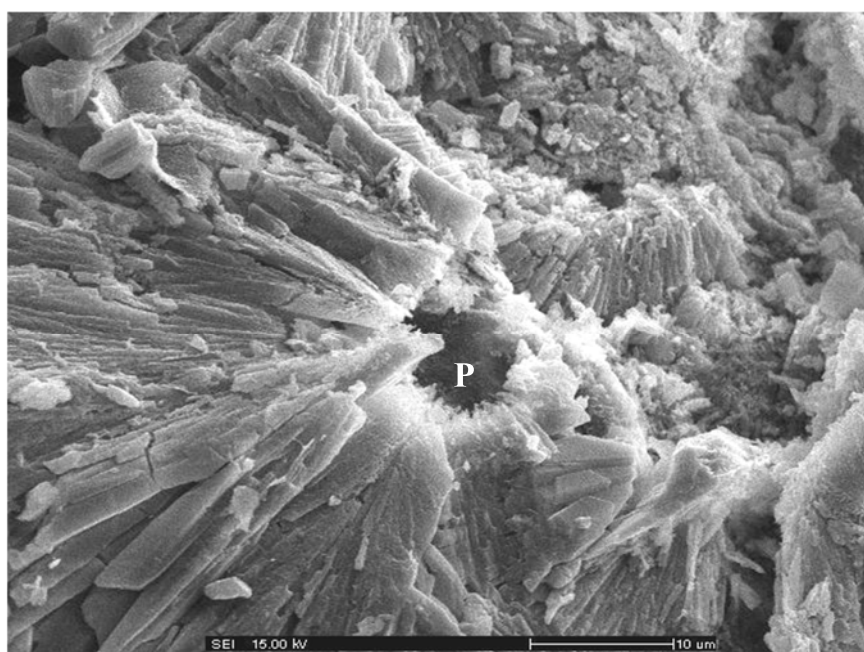
ภาพที่ 9 จาก SEI แสดงสัณฐานวิทยาของเปลือกไขชั้นนอกของเต่ามะเฟือง มีลักษณะเป็นผลึกรูป
หนามแหลมรวมตัวกันเป็นกลุ่มแผ่รัศมี



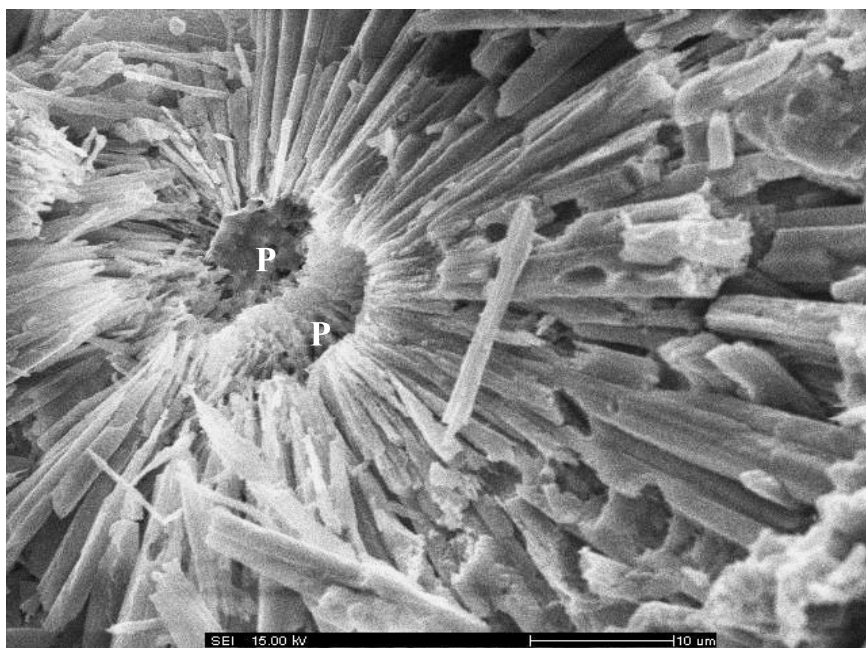
ภาพที่ 10 จาก SEI แสดงสัณฐานวิทยาของเปลือกไขชั้นนอกของเต่ากระ มีลักษณะเป็นกลุ่มผลึกเรียง
ตัวชิดติดกันแน่นในแนวระนาบค่อนข้างสม่ำเสมอ



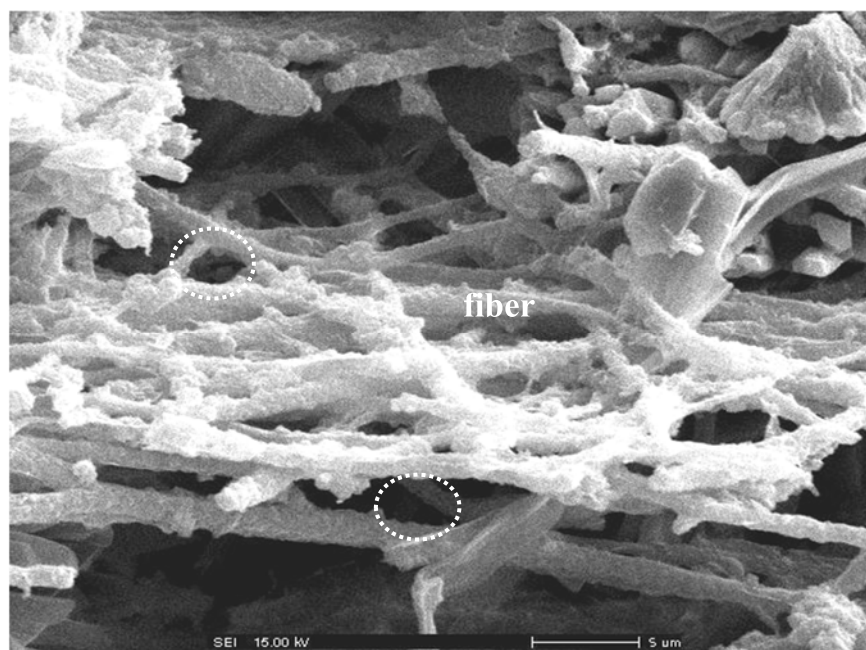
ภาพที่ 11 จาก SEI แสดงสัณฐานวิทยาของเปลือกไข่ชั้นนอกของเต่ากระ มีลักษณะเป็นผลึกรูปแท่งรวมตัวกันเป็นกลุ่มแผ่รัศมีและมีผลึกรูปทรงกลม (ในวงกลม) แทรกอยู่ระหว่างผลึกรูปหนามแหลม



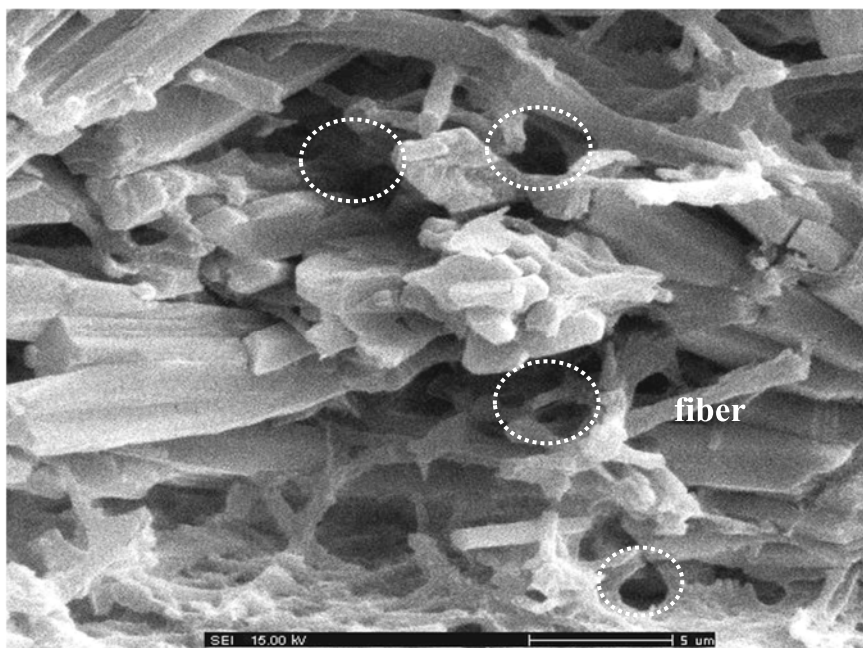
ภาพที่ 12 จาก SEI แสดงลักษณะฐานของกลุ่มผลึกในเปลือกไข่ชั้นนอกของเต่าตนุ มีรู (P=pore) อยู่บริเวณตรงกลางของฐานที่ยึดติดกับเปลือกไข่ชั้นกลาง โดยรูจะเชื่อมต่อระหว่างเปลือกไข่ชั้นนอกและชั้นกลาง ซึ่งรูทำหน้าที่เป็นช่องทางสำหรับกระบวนการแลกเปลี่ยนก๊าซของเปลือกไข่



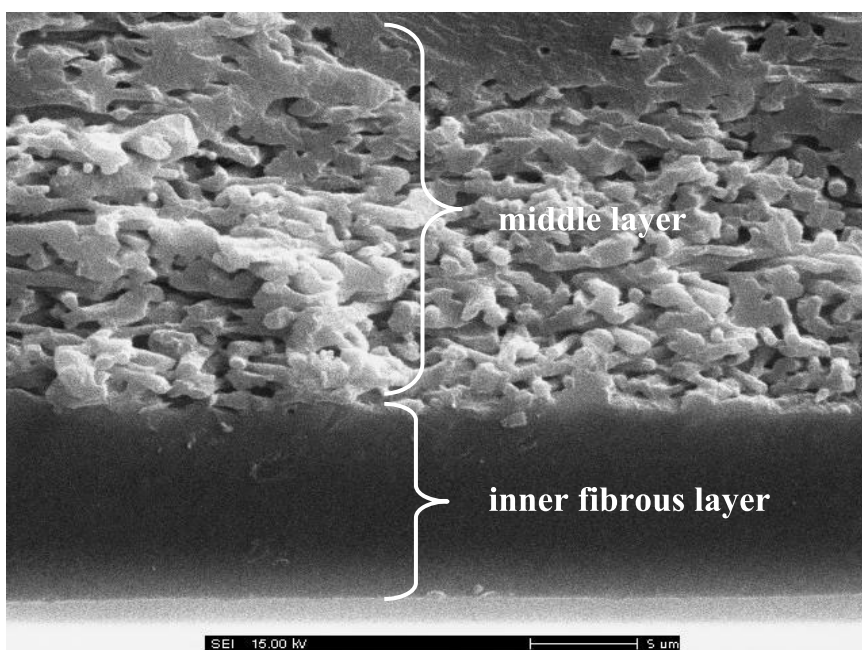
ภาพที่ 13 จาก SEI แสดงลักษณะรูที่ฐานของกลุ่มผลึกในเปลือกไข่ชั้นนอกของเต่ามะเฟือง ซึ่งอยู่ตรงกลางของกลุ่มผลึกที่ยึดติดกับฐาน เปลือกไข่ชั้นกลาง อาจมีรูเดียวหรือหลายรูเชื่อมต่อระหว่างเปลือกไข่ชั้นนอกไปยังเปลือกไข่ชั้นกลาง



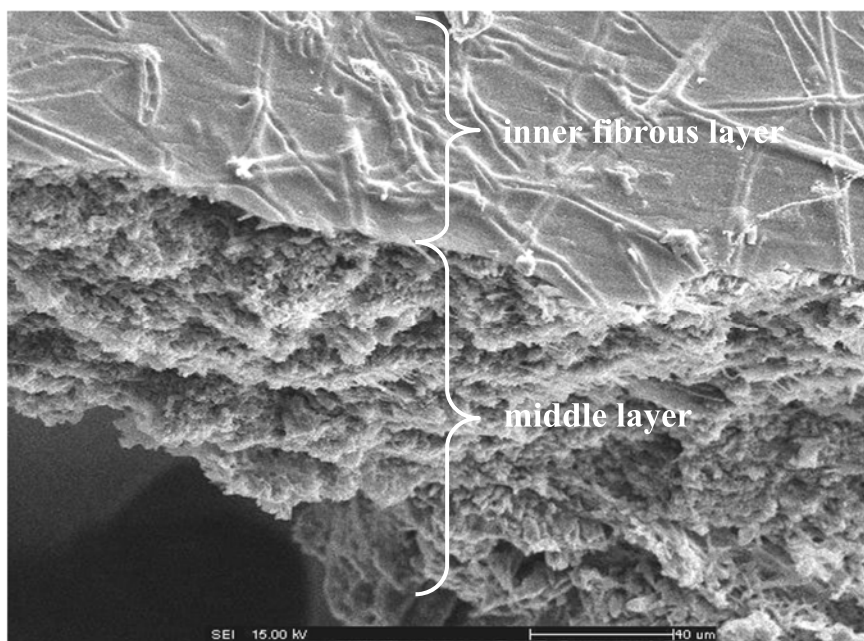
ภาพที่ 14 จาก SEI แสดงเส้นใยที่สานกันเป็นร่างแหและช่องว่างเชื่อมต่อกันระหว่างเส้นใย (○) ของเปลือกไข่ชั้นกลางในเต่าตนุ



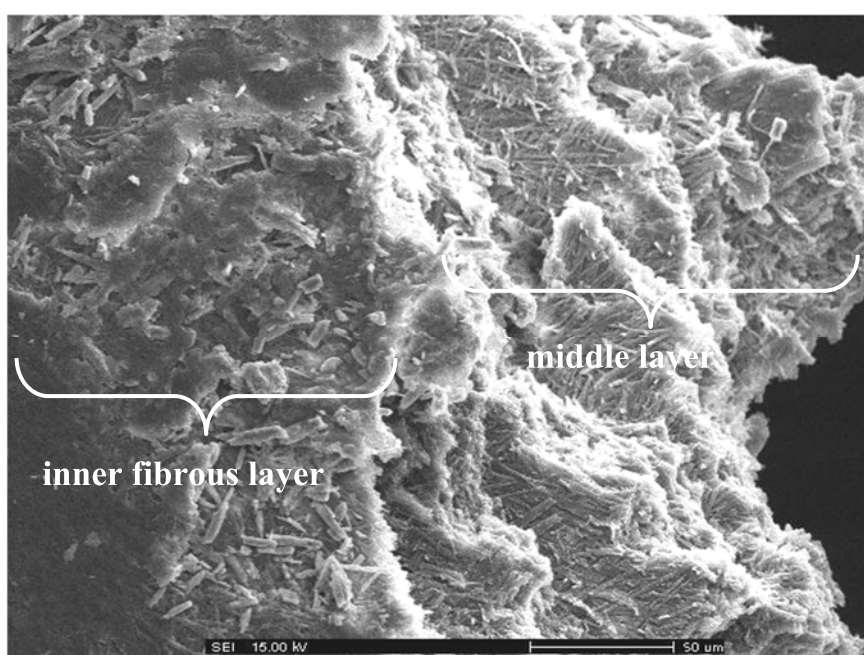
ภาพที่ 15 จาก SEI แสดงลักษณะเส้นใย (fiber) ที่เรียงตัวสานกันแน่นและช่องว่างเชื่อมต่อกันระหว่างเส้นใย (○) ของเปลือกไข่ชั้นกลางในเต่ามะเฟือง



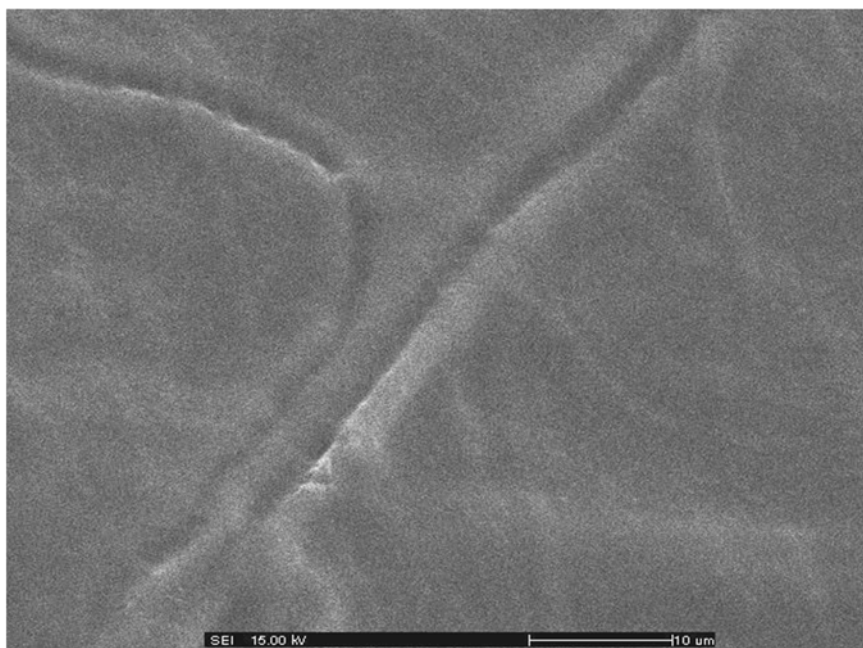
ภาพที่ 16 จาก SEI แสดงลักษณะสัณฐานวิทยาเปลือกไข่ชั้นกลางและชั้นใน ที่ถ่ายจากผิวด้านข้างของเต่าตนุ



ภาพที่ 17 จาก SEI แสดงลักษณะเปลือกไขชั้นในที่ถ่ายจากผิวด้านในของเตาตะกั่ว ผิวด้านในมีลักษณะบางเรียบทำให้เห็นเส้นใยที่สานกันแน่นทั้งชั้นของเปลือกไขชั้น



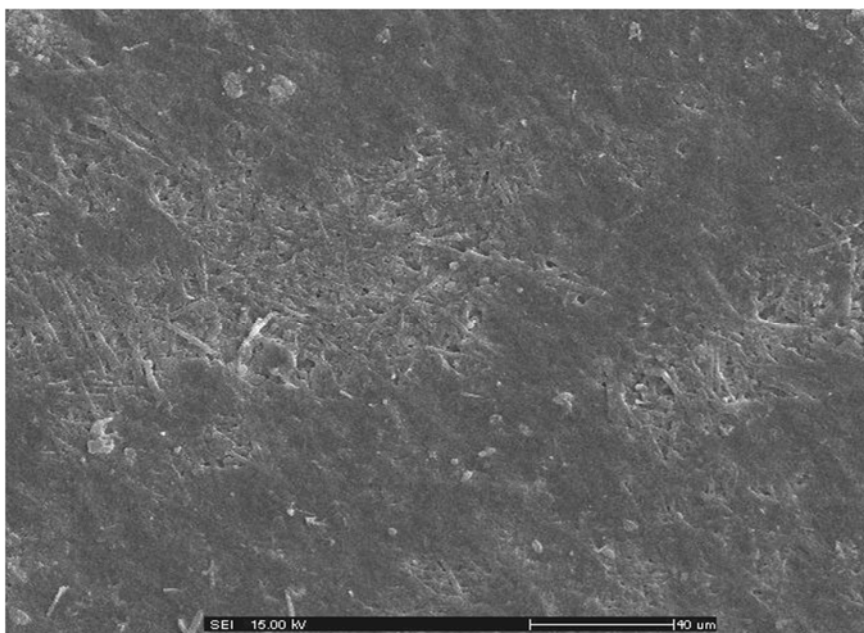
ภาพที่ 18 จาก SEI แสดงลักษณะเปลือกไขชั้นในที่ถ่ายจากผิวด้านในของเตาตะกั่ว ผิวด้านในมีลักษณะบางเรียบทำให้เห็นเส้นใยที่สานกันแน่นทั้งชั้นของเปลือกไขชั้นกลาง



ภาพที่ 19 จาก SEI แสดงลักษณะเปลือกไขชั้นในของเตาตุนุ่ที่ถ่ายจากผิวด้านใน พบว่าผิวด้านในเรียบและบาง ทำให้เห็นเส้นใยที่สานกันของเปลือกไขชั้นกลาง



ภาพที่ 20 จาก SEI แสดงลักษณะเปลือกไขชั้นในที่ถ่ายจากผิวด้านในของเต้ามะเฟือง พบเส้นใยผิวด้านในมีลักษณะเรียบและบาง ของเส้นใยของเปลือกไขชั้นใน



ภาพที่ 21 จาก SEI แสดงลักษณะเปลือกไซชั้นในที่ถ่ายจากผิวด้านใน ของเต่ากระ พบเส้นใยสานกันแน่นทั้งชั้น ผิวด้านในมีลักษณะเรียบและบาง ซึ่งมีบางส่วนที่เปลือกไซชั้นในหลุดลอกไปทำให้เห็นเส้นใยของเปลือกไซชั้นกลาง

2.2 ศึกษาความหนาของชั้นเปลือกไซเต่าทะเล

ก. เปลือกไซชั้นนอก

ผลการวัดความหนาของชั้นนอกของเต่าตนุ 60 ตัวอย่าง เต่ามะเฟือง 60 ตัวอย่าง และเต่ากระ 12 ตัวอย่าง ได้เท่ากับ 92.10 ± 30.73 , 120.42 ± 25.14 และ 122.08 ± 30.82 ไมโครเมตร ตามลำดับ ซึ่งจากการวิเคราะห์ทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ความหนาของเปลือกไซชั้นนอกของเต่ามะเฟืองและเต่ากระมากกว่าเต่าตนุอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 แสดงความหนาของเปลือกไซชั้นนอกของเต่าตนุ เต่ามะเฟืองและเต่ากระ

ชนิดเต่าทะเล	N	ความหนา (Mean $\pm$ S.D.; ไมโครเมตร)
เต่าตนุ	60	92.10 ± 30.73^a
เต่ามะเฟือง	60	120.42 ± 25.14^b
เต่ากระ	12	122.08 ± 30.82^b

*a และ b แบ่งกลุ่มความแตกต่างจากน้อยไปมากโดยใช้ Duncan's test ($P < 0.05$)

ข. เปลือกไข่ชั้นกลาง

จากการวัดความหนาของชั้นกลางของเต้าตนุ 60 ตัวอย่าง เต้ามะเฟือง 60 ตัวอย่าง และเต้ากระ 12 ตัวอย่าง ได้เท่ากับ 105.49 ± 14.97 , 110.82 ± 28.92 และ 131.48 ± 24.14 ไมโครเมตร ตามลำดับ ซึ่งจากการวิเคราะห์ทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ความหนาของเปลือกไข่ชั้นกลางของเต้าตนุและเต้ากระน้อยกว่าเต้ามะเฟืองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 แสดงความหนาของเปลือกไข่ชั้นกลางของเต้าตนุ เต้ามะเฟืองและเต้ากระ

ชนิดเต้าทะเล	N	ความหนา (Mean $\pm$ S.D.; ไมโครเมตร)
เต้าตนุ	60	105.49 ± 14.97^a
เต้ามะเฟือง	60	131.48 ± 24.14^b
เต้ากระ	12	110.82 ± 28.92^a

*a และ b แบ่งกลุ่มความแตกต่างจากน้อยไปมากโดยใช้ Duncan's test ($P < 0.05$)

ค. เปลือกไข่ชั้นใน

จากการวัดความหนาของชั้นในของเต้าตนุ 60 ตัวอย่าง เต้ามะเฟือง 60 ตัวอย่าง และเต้ากระ 12 ตัวอย่าง ได้เท่ากับ 5.90 ± 1.98 , 7.09 ± 2.65 และ 8.78 ± 2.28 ไมโครเมตร ตามลำดับ ซึ่งจากการวิเคราะห์ทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ความหนาของเปลือกไข่ชั้นในของเต้าตนุและเต้ากระน้อยกว่าเต้ามะเฟืองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 แสดงความหนาของเปลือกไข่ชั้นในของเต้าตนุ เต้ามะเฟืองและเต้ากระ

ชนิดเต้าทะเล	N	ความหนา (Mean $\pm$ S.D.; ไมโครเมตร)
เต้าตนุ	60	5.90 ± 1.98^a
เต้ามะเฟือง	60	8.78 ± 2.28^b
เต้ากระ	12	7.09 ± 2.65^a

*a และ b แบ่งกลุ่มความแตกต่างจากน้อยไปมากโดยใช้ Duncan's test ($P < 0.05$)

ง. ความหนาของเปลือกไข่เต่าทะเลรวมทั้ง 3 ชั้น

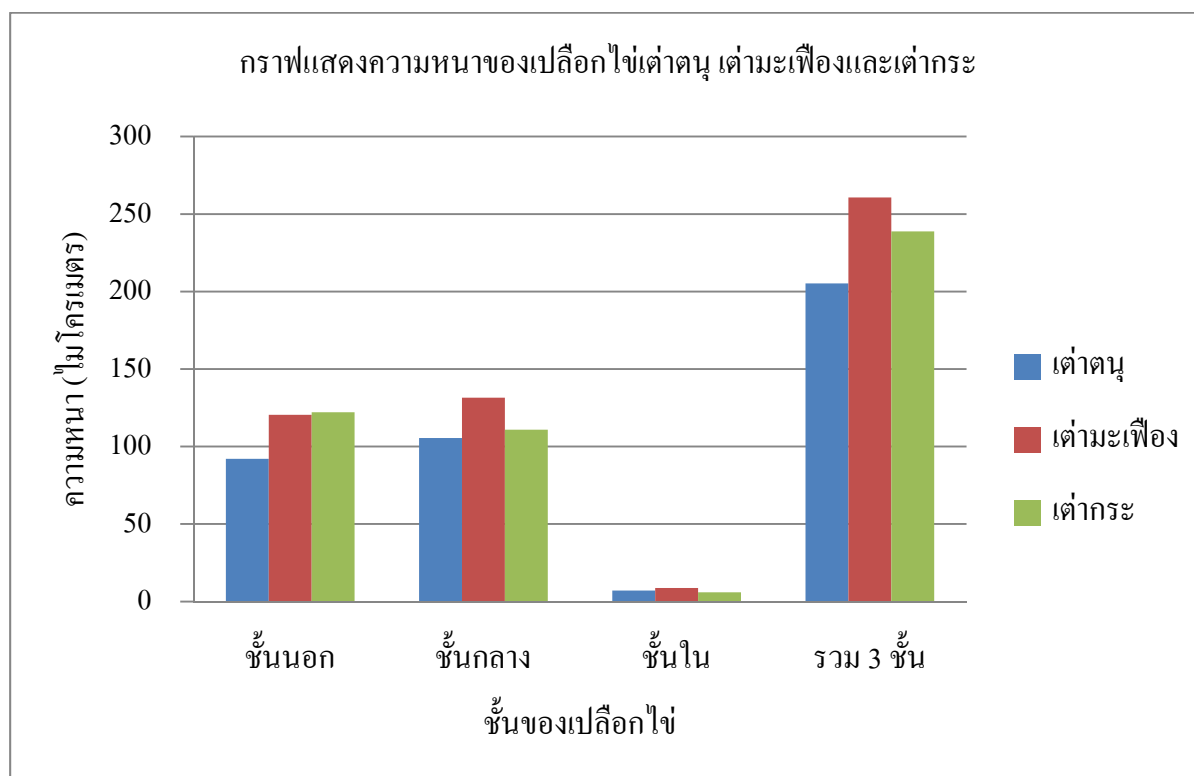
จากการวัดความหนาของเปลือกไข่เต่าทะเลรวมทั้ง 3 ชั้นของเต่าตนุ 60 ตัวอย่าง เต่ามะเฟือง 60 ตัวอย่าง และเต่ากระ 12 ตัวอย่าง ได้เท่ากับ 205.23 ± 40.35 , 260.67 ± 43.65 และ 238.80 ± 45.81 ไมโครเมตร ตามลำดับ ซึ่งจากการวิเคราะห์ทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ความหนาของเปลือกไข่เต่าทะเลรวมทั้ง 3 ชั้นของเต่าตนุน้อยกว่าเต่ามะเฟืองและเต่ากระอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 แสดงความหนาของเปลือกไข่ของเต่าตนุ เต่ามะเฟืองและเต่ากระ

ชนิดเต่าทะเล	N	ความหนา (Mean $\pm$ S.D.; ไมโครเมตร)
เต่าตนุ	60	205.23 ± 40.35^a
เต่ามะเฟือง	60	260.67 ± 43.65^b
เต่ากระ	12	238.80 ± 45.81^b

*a และ b แบ่งกลุ่มความแตกต่างจากน้อยไปมากโดยใช้ Duncan's test ($P < 0.05$)

กราฟที่ 1 แสดงความหนาของเปลือกไข่เต่าตนุ เต่ามะเฟืองและเต่ากระ



*a และ b แบ่งกลุ่มความแตกต่างจากน้อยไปมากโดยใช้ Duncan's test ($P < 0.05$)

2.3 ศึกษาธาตุองค์ประกอบของเปลือกไข่เต่าตนุ มะเฟืองและเต่ากระด้วยหัวตรวจ EDX

ก. เต่าตนุ

จากการวิเคราะห์ธาตุองค์ประกอบเป็นเปอร์เซ็นต์ในเปลือกไข่เต่าตนุจำนวน 5 ฟอง ศึกษาฟองละ 6 ชั้นตัวอย่าง พบว่าประกอบด้วยธาตุเรียงจากมากไปน้อยคือ คาร์บอน ออกซิเจน แคลเซียม กำมะถัน ฟลูออรีน ซิลิกอน ไอโอดีน คลอรีน โซเดียม แมกนีเซียม ฟอสฟอรัส โบรมีน และอะลูมิเนียมตามลำดับ (ตารางที่ 6) โดยธาตุองค์ประกอบหลักของเปลือกไข่เต่าทะเลคือ คาร์บอน ออกซิเจน และแคลเซียม ซึ่งจากการวิเคราะห์พบว่าแคลเซียมมีการสะสมในเปลือกไข่ชั้นนอกและชั้นกลางมากกว่าเปลือกไข่ชั้นในอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) นอกจากนี้ยังพบว่าซิลิกอนและแมกนีเซียมมีการสะสมในเปลือกไข่ชั้นนอกมากกว่าเปลือกไข่ชั้นอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ข. เต่ามะเฟือง

จากการวิเคราะห์ธาตุองค์ประกอบเป็นเปอร์เซ็นต์ในเปลือกไข่เต่ามะเฟืองจำนวน 5 ฟอง ศึกษาฟองละ 6 ชั้นตัวอย่าง พบว่าประกอบด้วยธาตุเรียงจากมากไปน้อยคือ คาร์บอน ออกซิเจน แคลเซียม กำมะถัน โมลิบดีนัม ซิลิกอน โบรมีน โซเดียม ฟลูออรีน อะลูมิเนียม แมกนีเซียม ไอโอดีน คลอรีน ฟอสฟอรัส เหล็กและโพแทสเซียมตามลำดับ (ตารางที่ 7) โดยธาตุองค์ประกอบหลักของเปลือกไข่เต่าทะเลคือ คาร์บอน ออกซิเจน และแคลเซียม ซึ่งจากการวิเคราะห์พบว่าแคลเซียมมีการสะสมในเปลือกไข่ชั้นนอกมากกว่าเปลือกไข่ชั้นอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และพบโลหะหนัก 0.24 เปอร์เซ็นต์ คือ โมลิบดีนัม ซึ่งพบในทุกชั้นของเปลือกไข่

ค. เต่ากระ

จากการวิเคราะห์ธาตุองค์ประกอบเป็นเปอร์เซ็นต์ในเปลือกไข่เต่ามะเฟืองจำนวน 2 ฟอง ศึกษาฟองละ 6 ชั้นตัวอย่าง พบว่าประกอบด้วยธาตุเรียงจากมากไปน้อยคือ คาร์บอน ออกซิเจน แคลเซียม กำมะถัน โบรมีน คลอรีน โมลิบดีนัม ซิลิกอน ฟลูออรีน โซเดียม แมกนีเซียม ไอโอดีน อะลูมิเนียม และฟอสฟอรัสตามลำดับ (ตารางที่ 8) โดยธาตุองค์ประกอบหลักของเปลือกไข่เต่าทะเลคือ คาร์บอน ออกซิเจน และแคลเซียม ซึ่งจากการวิเคราะห์พบว่าแคลเซียมมีการสะสมในเปลือกไข่ชั้นนอกมากกว่าเปลือกไข่ชั้นอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และพบโลหะหนัก 0.20 เปอร์เซ็นต์ คือ โมลิบดีนัม ซึ่งพบในทุกชั้นของเปลือกไข่

ตารางที่ 6 แสดงธาตุองค์ประกอบเป็นเปอร์เซ็นต์ในเปลือกไข่เต่าตนุ

ธาตุ	เปอร์เซ็นต์ธาตุในเปลือกไข่ (mean±S.D.)			
	ชั้นนอก	ชั้นกลาง	ชั้นใน	เฉลี่ย
C	50.76±17.48 ^a	60.88±19.67 ^b	68.18±6.84 ^b	59.94±17.10
O	38.48±14.05 ^b	30.40±12.43 ^a	24.40±7.60 ^a	31.09±12.93
Ca	7.07±8.63 ^b	5.07±9.72 ^b	0.8±1.69 ^a	4.31±7.93
S	2.77±4.65	3.08±3.58	5.51±7.39	3.79±5.52
F	0.09±0.24	0.13±0.26	0.26±0.80	0.16±0.50
Si	0.27±0.58 ^b	0.06±0.78 ^a	0.14±0.21 ^{ab}	0.15±0.37
I	0.12±0.24	0.04±0.07	0.27±1.17	0.15±0.69
Cl	0.08±0.11	0.12±0.21	0.17±0.25	0.12±0.20
Na	0.13±0.17	0.11±0.15	0.06±0.10	0.10±0.14
Mg	0.15±0.28 ^b	0.04±0.09 ^a	0.09±0.13 ^{ab}	0.10±0.19
P	0.03±0.05	0.03±0.05	0.06±0.09	0.04±0.07
Br	0.03±0.06	0.04±0.11	0.03±0.11	0.03±0.10
Al	0.02±0.04	0.02±0.03	0.03±0.08	0.02±0.05

*a, b แบ่งกลุ่มความแตกต่างของเปอร์เซ็นต์ของธาตุในแต่ละชั้นจากน้อยไปมากโดยใช้ Duncan's test (P<0.05)

ตารางที่ 7 แสดงธาตุองค์ประกอบเป็นเปอร์เซ็นต์ในเปลือกไข่เต่ามะเฟือง

ธาตุ	เปอร์เซ็นต์ธาตุในเปลือกไข่ (mean±S.D.)			
	ชั้นนอก	ชั้นกลาง	ชั้นใน	เฉลี่ย
C	34.58±23.40 ^a	60.32±18.64 ^b	67.59±12.91 ^b	54.17±23.43
O	42.82±15.37 ^b	26.94±10.60 ^a	25.23±10.70 ^a	31.66±14.64
Ca	20.16±15.14 ^b	7.86±15.74 ^a	2.03±4.24 ^a	10.02±14.80
S	1.89±2.59 ^a	4.41±3.20 ^b	4.82±3.23 ^b	3.71±3.26
Mo	0.09±0.32	0.26±0.56	0.26±0.56	0.24±0.48
Si	0.26±0.94	0.08±0.10	0.20±0.53	0.18±0.63
Br	0.13±0.20	0.12±0.20	0.11±0.22	0.12±0.20
Na	0.19±0.13 ^b	0.09±0.10 ^a	0.06±0.08 ^a	0.12±0.12
F	0.07±0.14	0.10±0.22	0.12±0.16	0.10±0.17
Al	0.06±0.08	0.1±0.17	0.1±0.16	0.09±0.14
Mg	0.15±0.56	0.04±0.07	0.09±0.28	0.09±0.37
I	0.09±0.14	0.12±0.23	0.06±0.13	0.09±0.17
Cl	0.06±0.09	0.11±0.13	0.08±0.11	0.09±0.11
P	0.03±0.04	0.02±0.05	0.03±0.08	0.03±0.06
Fe	—	0.04±0.15	—	0.01±0.09
K	—	—	0.01±0.06	0.00±0.03

*a, b แบ่งกลุ่มความแตกต่างของเปอร์เซ็นต์ของธาตุในแต่ละชั้นจากน้อยไปมากโดยใช้ Duncan's test (P<0.05)

ตารางที่ 8 แสดงธาตุองค์ประกอบเป็นเปอร์เซ็นต์ในเปลือกไข่เต่ากระ

ธาตุ	เปอร์เซ็นต์ธาตุในเปลือกไข่ (mean±S.D.)			
	ชั้นนอก	ชั้นกลาง	ชั้นใน	เฉลี่ย
C	28.91±16.36 ^a	41.52±18.91 ^a	67.11±12.12 ^b	45.85±22.40
O	43.75±11.29 ^b	41.32±17.09 ^b	27.82±9.40 ^a	37.63±14.47
Ca	25.84±17.79 ^b	13.94±17.20 ^{ab}	1.53±4.16 ^a	13.77±17.27
S	0.79±1.11	2.94±4.26	3.55±2.94	2.42±3.20
Br	0.23±0.36	0.29±0.57	0.22±0.27	0.25±0.41
Cl	0.08±0.11	0.14±0.21	0.42±0.63	0.21±0.41
Mo	0.27±0.45	0.16±0.23	0.17±0.35	0.20±0.35
Si	0.31±0.36 ^b	0.04±0.06 ^a	0.04±0.03 ^a	0.13±0.24
F	0.14±0.29	0.15±0.20	0.05±0.13	0.12±0.22
Na	0.18±0.12 ^b	0.11±0.10 ^{ab}	0.04±0.06 ^a	0.11±0.11
Mg	0.2±0.30 ^b	0.06±0.06 ^{ab}	0.03±0.03 ^a	0.10±0.19
I	0.06±0.07	0.18±0.37	0.05±0.09	0.10±0.23
Al	0.14±19	0.12±0.22	0.03±0.05	0.09±0.17
P	0.04±0.07	0.02±0.05	0.04±0.14	0.03±0.09

*a, b แบ่งกลุ่มความแตกต่างของเปอร์เซ็นต์ของธาตุในแต่ละชั้นจากน้อยไปมากโดยใช้ Duncan's test (P<0.05)

2.3 ศึกษาองค์ประกอบธาตุในแต่ละชั้นของเปลือกไข่เต่าตนุ มะเฟืองและเต่ากระโดยใช้
หัตถรจวัด BEI และการทำแผนที่ธาตุ (Mapping)

ก. เต่าตนุ

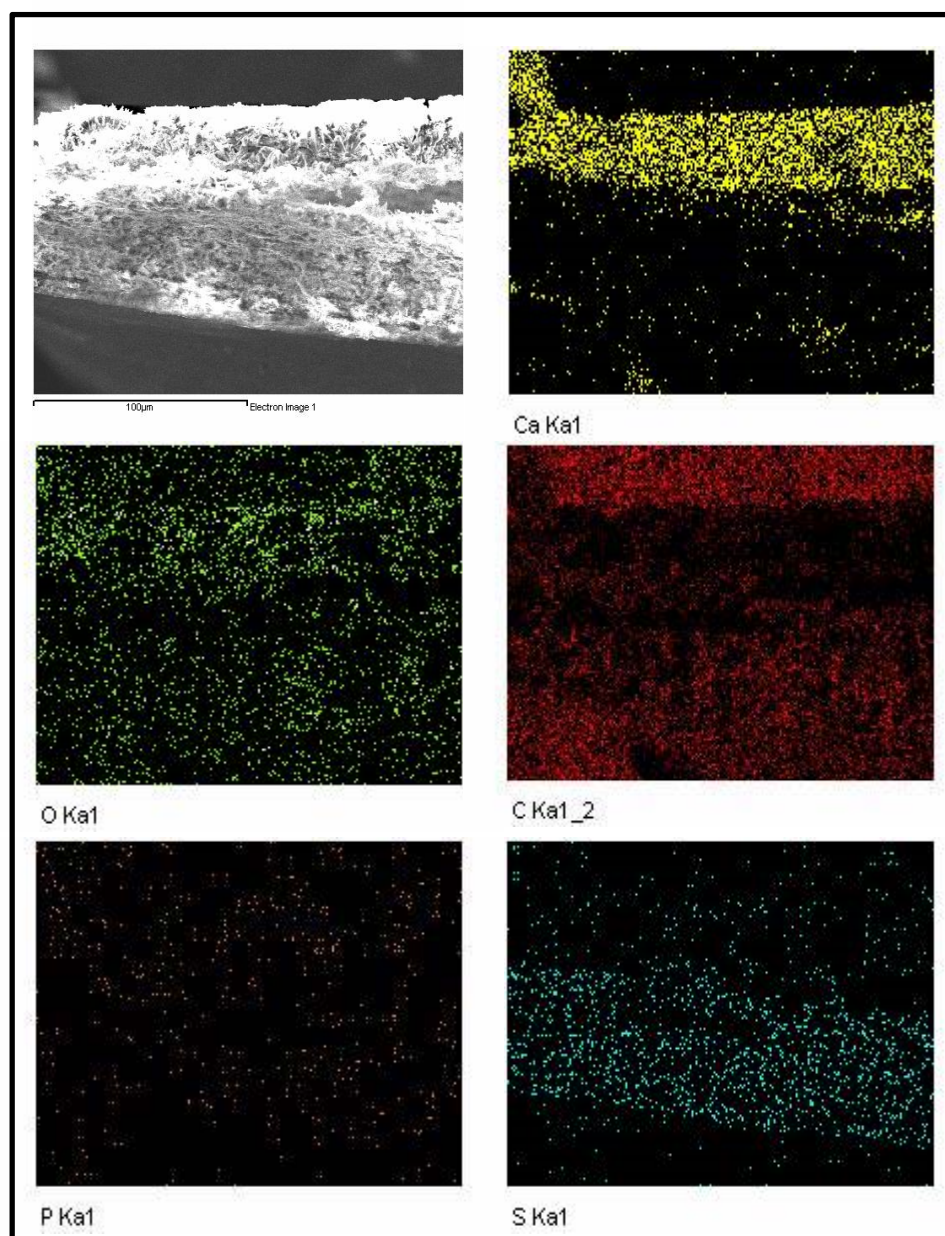
ผลจากการทำแผนที่ธาตุพบว่ากลุ่มผลึกในเปลือกไข่ชั้นนอกคือธาตุคาร์บอน และเปลือกไข่เต่าตนุมีธาตุองค์ประกอบหลักคือ คาร์บอน ออกซิเจน และแคลเซียมอยู่ในรูปของสารประกอบแคลเซียมคาร์บอเนต ส่วนใหญ่พบการกระจายตัวของแคลเซียมอยู่ในเปลือกไข่ชั้นนอก ส่วนคาร์บอน ออกซิเจน ฟอสฟอรัส และธาตุอื่นๆ พบว่ามีการกระจายอยู่ทั่วไปในทุกชั้นของเปลือกไข่เต่า (ภาพที่ 22)

ข. เต่ามะเฟือง

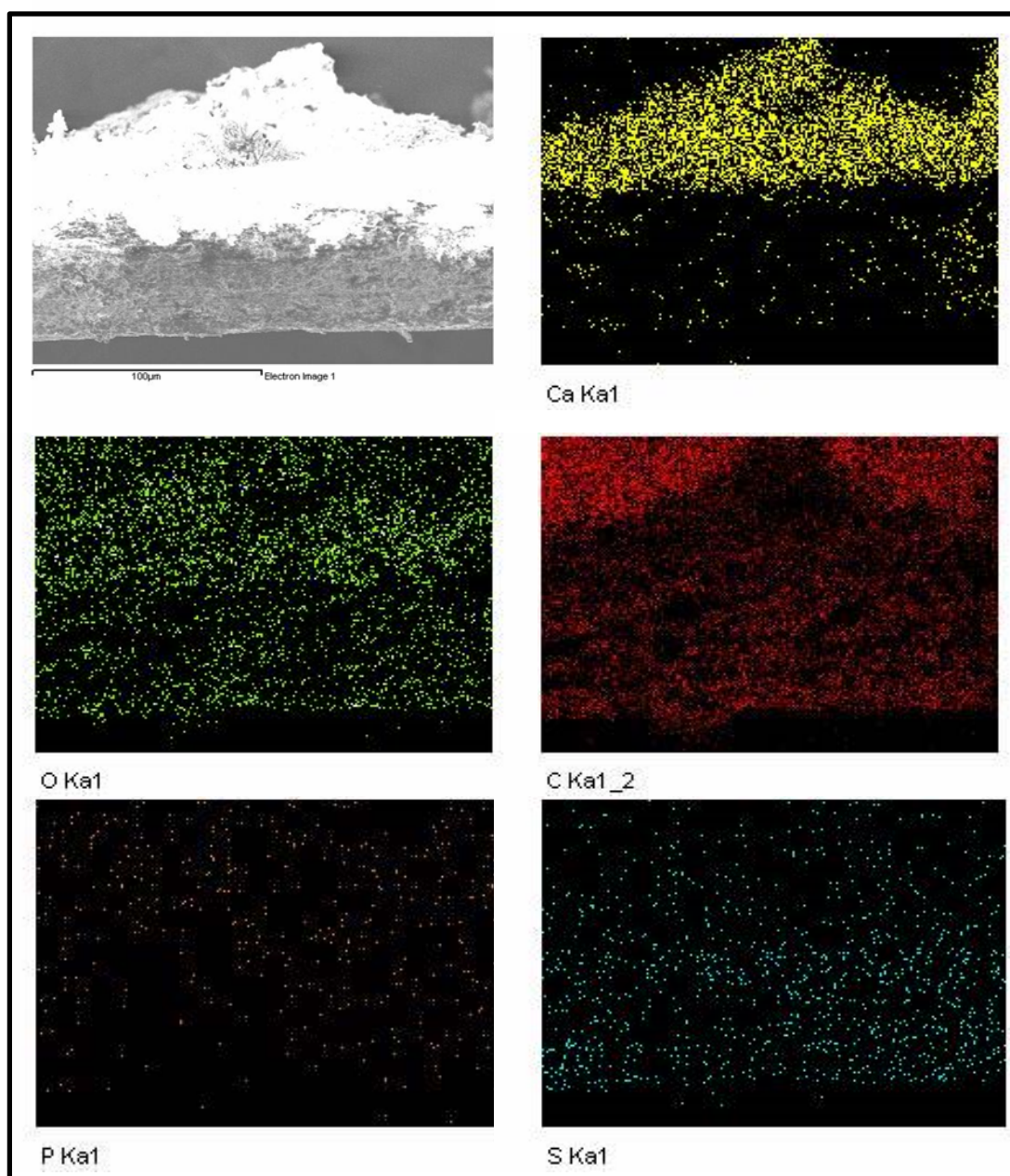
ผลจากการทำแผนที่ธาตุพบว่าเปลือกไข่เต่ามะเฟืองประกอบด้วยธาตุคาร์บอน ออกซิเจน และแคลเซียมอยู่ในรูปของสารประกอบแคลเซียมคาร์บอเนต ส่วนใหญ่พบการกระจายตัวของแคลเซียมอยู่ในเปลือกไข่ชั้นนอก ส่วนคาร์บอน ออกซิเจน ฟอสฟอรัส กำมะถัน และธาตุอื่นๆ พบว่ามีการกระจายอยู่ทั่วไปในเปลือกไข่ทุกชั้น (ภาพที่ 23)

ค. เต่ากระ

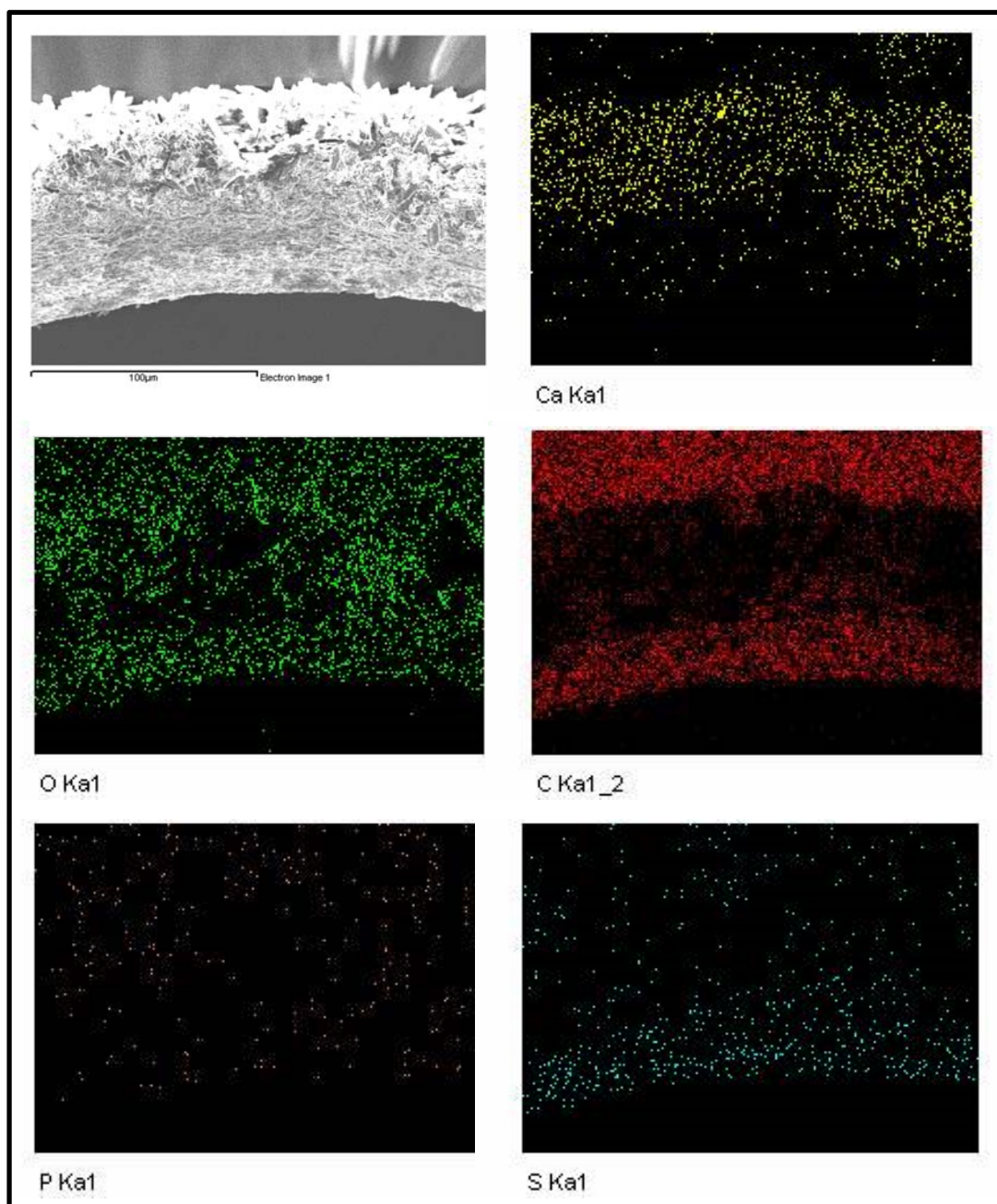
ผลจากการทำแผนที่ธาตุพบว่าเปลือกไข่เต่ากระประกอบด้วยธาตุคาร์บอน ออกซิเจน และแคลเซียมอยู่ในรูปของสารประกอบแคลเซียมคาร์บอเนต ส่วนธาตุคาร์บอน ออกซิเจน และฟอสฟอรัส และธาตุอื่นๆ พบว่ามีการกระจายอยู่ทั่วไปในเปลือกไข่ทุกชั้น ส่วนใหญ่กำมะถันมีการสะสมอยู่ในเปลือกไข่ชั้นใน (ภาพที่ 24)



ภาพที่ 22 แสดงผลของการทำแผนที่ธาตุองค์ประกอบของเปลือกไข่เต่าตนุ พบคาร์บอน ออกซิเจนและ ฟอสฟอรัสกระจายอยู่ทั่วไปในเปลือกไข่ทุกชั้นและส่วนใหญ่ก้ามะถันมีการสะสมอยู่ในเปลือกไข่ ชั้นกลางและชั้นใน ส่วนแคลเซียมส่วนใหญ่สะสมอยู่มากในเปลือกไข่ชั้นนอก



ภาพที่ 23 แสดงผลของการทำแผนที่ธาตุองค์ประกอบของเปลือกไข่เต่ามะเฟือง พบคาร์บอน ออกซิเจน ฟอสฟอรัสและกำมะถันกระจายอยู่ทั่วไปในเปลือกไข่ทุกชั้น ส่วนแคลเซียมส่วนใหญ่สะสมอยู่ที่เปลือกไข่ชั้นนอก



ภาพที่ 24 แสดงผลของการทำแผนที่ธาตุองค์ประกอบของเปลือกไข่เต่ากระ พบคาร์บอน ออกซิเจนและฟอสฟอรัสกระจายอยู่ทั่วไปในเปลือกไข่ทุกชั้น ส่วนใหญ่กำมะถันมีการสะสมอยู่ในเปลือกไข่ชั้นใน ส่วนแคลเซียมส่วนใหญ่สะสมอยู่มากในเปลือกไข่ชั้นนอก

3. การศึกษารูปผลึกในแต่ละชั้นของเปลือกไข่เต่าทะเลด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ (XRD)

ก. เปลือกไข่ชั้นนอก

จากผลการวิเคราะห์รูปผลึกของเปลือกไข่ชั้นนอกของเต่าตนุ 3 ตัวอย่าง เต่ามะเฟือง 3 ตัวอย่าง และเต่ากระ 1 ตัวอย่าง โดยพิจารณาจากรูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ พบว่าเปลือกไข่ชั้นนอกประกอบด้วยแคลเซียมคาร์บอเนต ส่วนใหญ่มีโครงสร้างเป็นอะราโกไนต์ 98.54, 98.77 และ 98.52 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก (w/w) ในเต่าตนุ เต่ามะเฟืองและเต่ากระ ตามลำดับ และมีโครงสร้างเป็นแคลไซต์ 1.46, 1.23 และ 1.48 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ซึ่งปะปนอยู่เล็กน้อย (ตารางที่ 8) เมื่อเปรียบเทียบกับข้อมูลมาตรฐาน จากรูปแบบการเลี้ยวเบนรังสีเอ็กซ์ของอะราโกไนต์และแคลไซต์ พบว่ารูปแบบการเลี้ยวเบนรังสีเอ็กซ์ของอะราโกไนต์ มีค่าความเข้มของรังสีเอ็กซ์ (intensity) สูงและแคลไซต์มีค่าความเข้มของรังสีเอ็กซ์ต่ำ แสดงให้เห็นว่าเปลือกไข่ชั้นนอกประกอบด้วยผลึกอะราโกไนต์ที่มีความเป็นผลึกสูงและผลึกแคลไซต์ที่มีความเป็นผลึกต่ำ ซึ่งพบพีคที่มุมการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ (2-Theta) อยู่ในช่วง 15-80 องศา (กราฟที่ 2-4)

ข. เปลือกไข่ชั้นกลาง

จากผลการวิเคราะห์รูปผลึกของเปลือกไข่ชั้นกลางของเต่าตนุ 2 ตัวอย่าง เต่ามะเฟือง 2 ตัวอย่าง โดยพิจารณาจากรูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ พบว่าเปลือกไข่ชั้นกลางประกอบด้วยโครงสร้างของเส้นใยสานกันเป็นร่างแห ซึ่งมีโครงสร้างอื่นๆ ที่ไม่ทราบรูปผลึก 96.19 และ 96.25 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักในเต่าตนุและเต่ามะเฟือง ตามลำดับ แต่อย่างไรก็ตามยังคงพบโครงสร้างแคลเซียมคาร์บอเนตเป็นอะราโกไนต์ 3.81 และ 3.75 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักในเต่าตนุและเต่ามะเฟืองตามลำดับ (ตารางที่ 10) โดยรูปแบบการเลี้ยวเบนรังสีเอ็กซ์ของอะราโกไนต์ มีค่าความเข้มของรังสีเอ็กซ์ (intensity) ต่ำมาก โดยพบพีคที่มุมการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ (2-Theta) อยู่ในช่วง 15-80 องศา (กราฟที่ 5-6)

ค. เปลือกไข่ชั้นใน

จากผลการวิเคราะห์รูปผลึกของเปลือกไข่ชั้นในของเต่าตนุ 2 ตัวอย่างและเต่ามะเฟือง 2 ตัวอย่าง โดยพิจารณาจากรูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ เปลือกไข่ชั้นในประกอบด้วยลักษณะเป็นเส้นใย ซึ่งพบว่าในเปลือกไข่ชั้นในของเต่าตนุและเต่ามะเฟืองมีโครงสร้างของผลึกอยู่ 3 รูป คือโครงสร้างเป็นอะราโกไนต์ 0.42 และ 0.11 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก (กราฟที่ 7, 9) โครงสร้างเป็น

อสัณฐาน (amorphous) 33.33 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักในเต้าทั้ง 2 ชนิด (กราฟที่ 8, 10) และเป็นโครงสร้างอื่นๆ 62.20 และ 66.56 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักในเต้าตนุและเต้ามะเฟือง ตามลำดับ (ตารางที่ 9-11)

ตารางที่ 9 แสดงค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก (w/w) ในเปลือกไขชั้นนอกของเต้าทะเลทั้ง 3 ชนิด (Mean±S.D.)

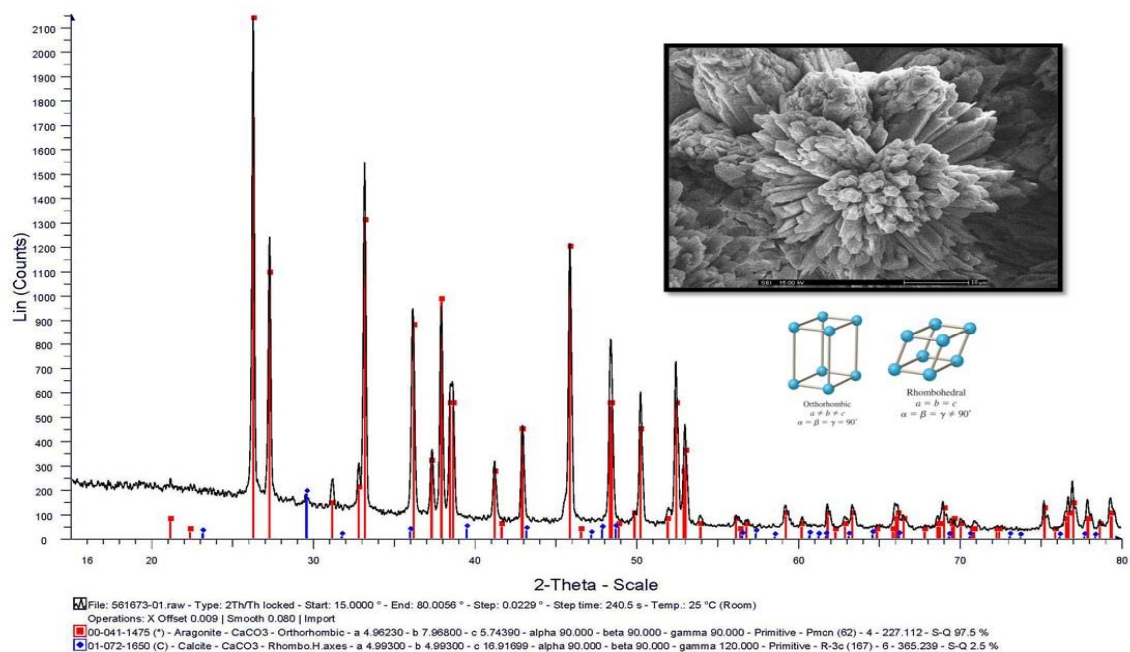
ชนิดเต้าทะเล	N	เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก (w/w)	
		อะราโกไนท์	แคลไซต์
เต้าตนุ	3	98.54±0.43	1.46±0.43
เต้ามะเฟือง	3	98.77±0.10	1.23±0.10
เต้ากระ	1	98.52	1.48

ตารางที่ 10 แสดงค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก (w/w) ในเปลือกไขชั้นกลางของเต้าตนุและเต้ามะเฟือง (Mean±S.D.)

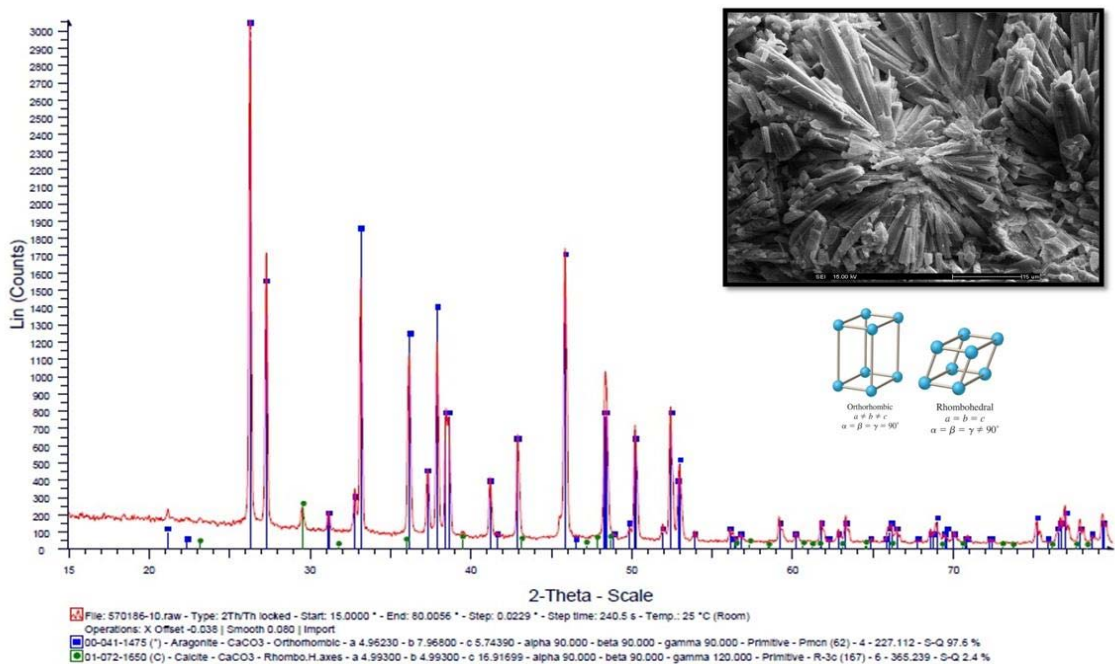
ชนิดเต้าทะเล	N	ค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก (w/w)	
		อะราโกไนท์	อื่นๆ
เต้าตนุ	3	3.81±0.75	96.19±0.75
เต้ามะเฟือง	3	3.75±0.90	96.25±0.90

ตารางที่ 11 แสดงค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก (w/w) ในเปลือกไขชั้นในของเต้าตนุและเต้ามะเฟือง (Mean±S.D.)

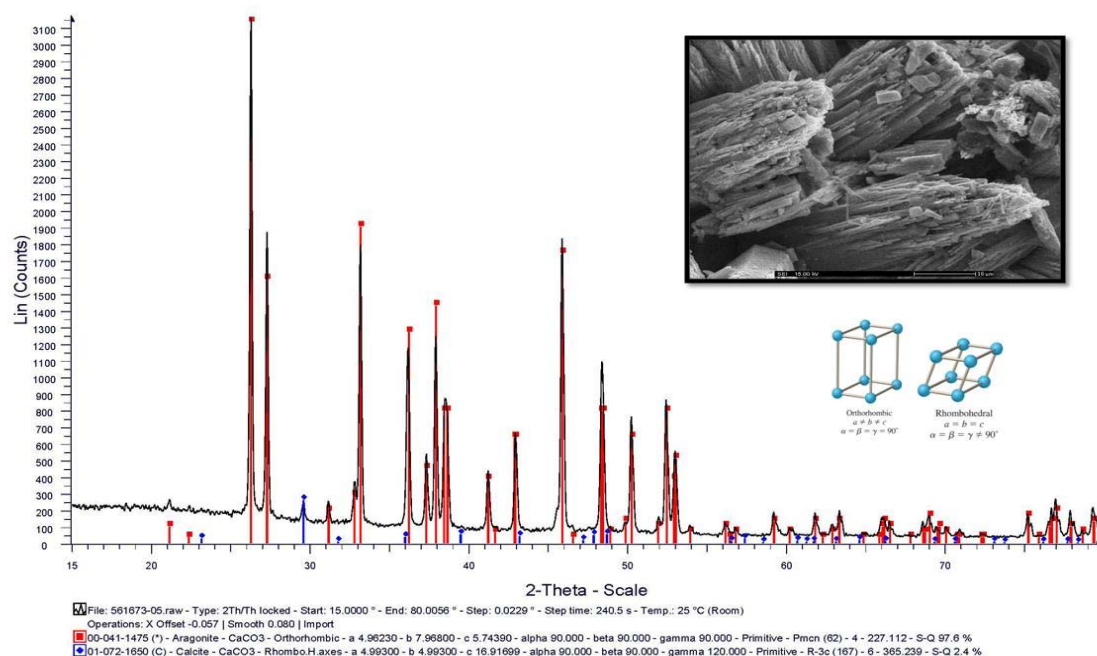
ชนิดเต้าทะเล	N	ค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก (w/w)		
		อะราโกไนท์	อสัณฐาน	อื่นๆ
เต้าตนุ	3	0.46±0.40	33.33±57.74	66.20±46.87
เต้ามะเฟือง	3	0.11±0.10	33.33±57.74	66.56±47.06



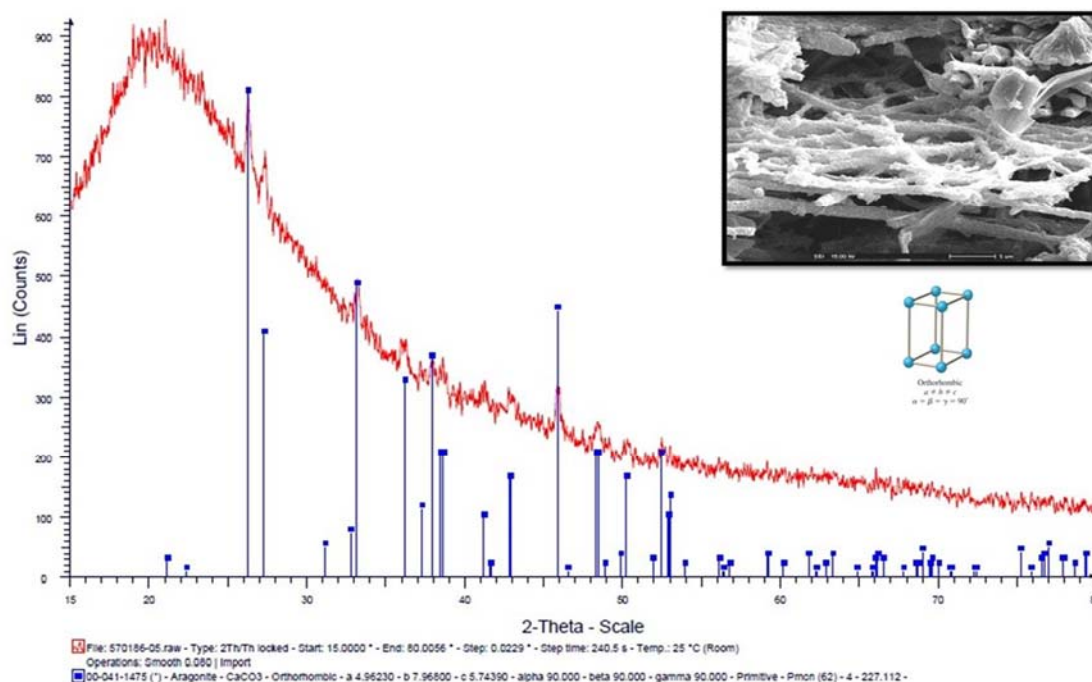
กราฟที่ 2 แสดงรูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ของอะราโกไนท์และแคลไซต์ในเปลือกไขชั้นนอกของเต่าตนุ



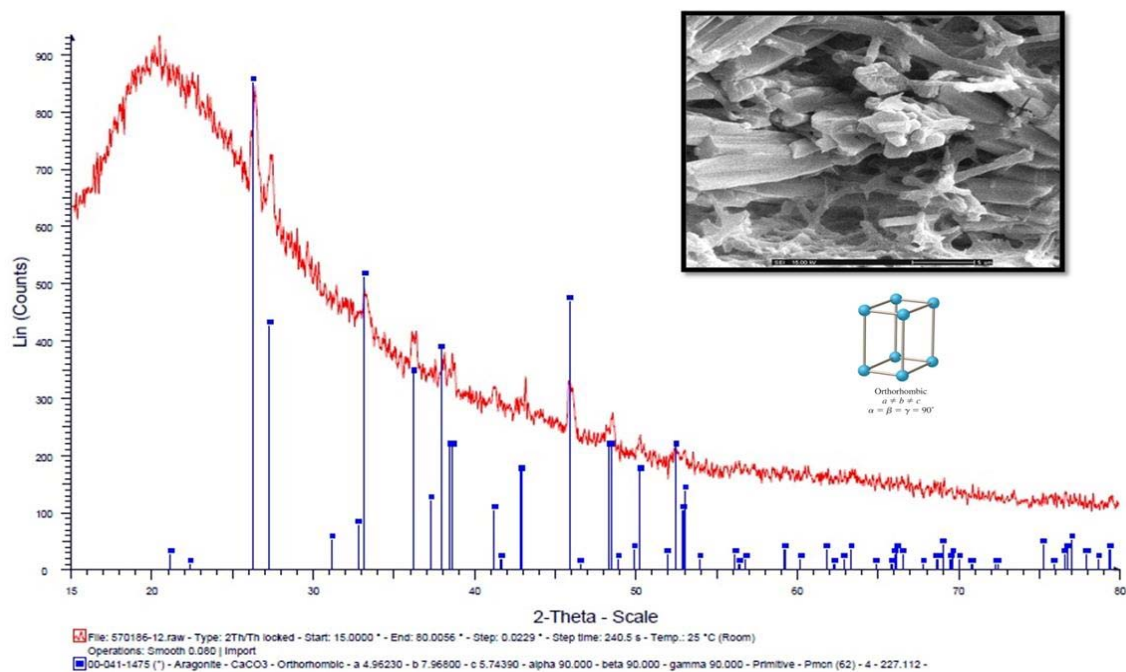
กราฟที่ 3 แสดงรูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ของอะราโกไนต์และแคลไซต์ในเปลือกไขชั้นนอกของเต่ามะเฟือง



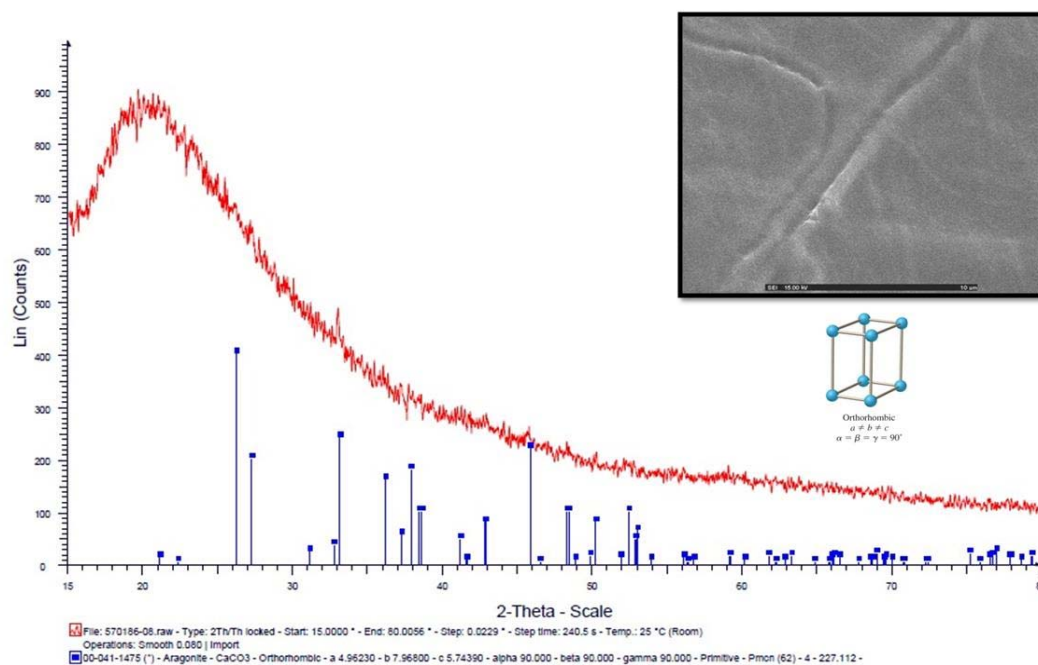
กราฟที่ 4 แสดงรูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ของอะราโกไนต์และแคลไซต์ในเปลือกไขชั้นนอกของเต่ากระ



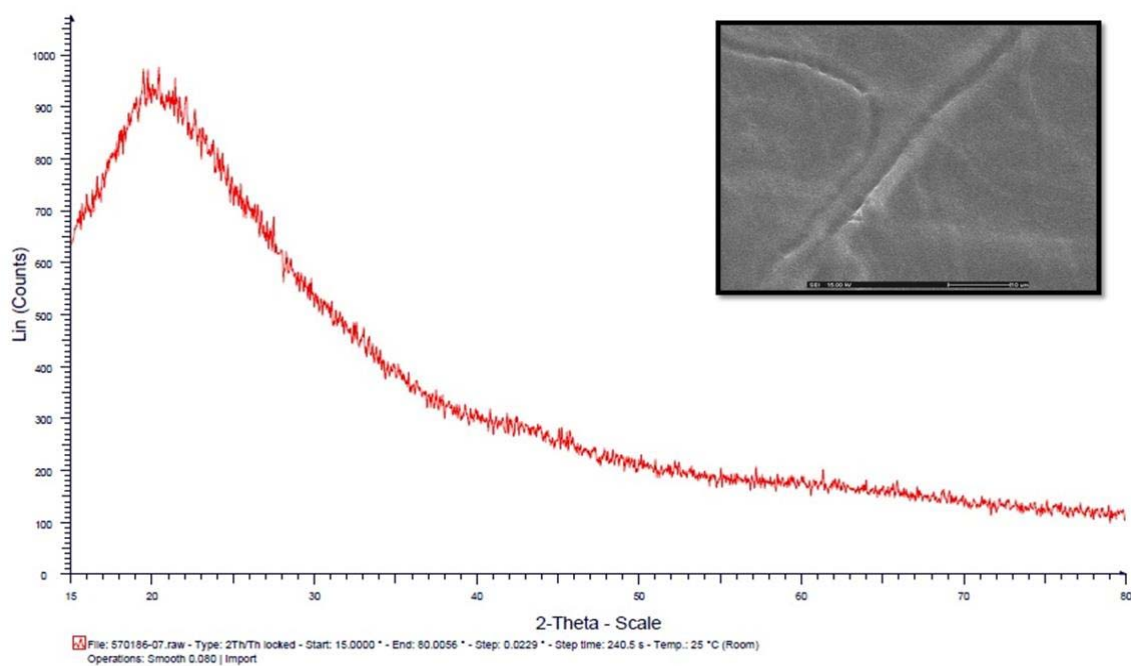
กราฟที่ 5 แสดงรูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ของอะราโกไนท์ในเปลือกไข่ชั้นกลางของเต่าตนุ



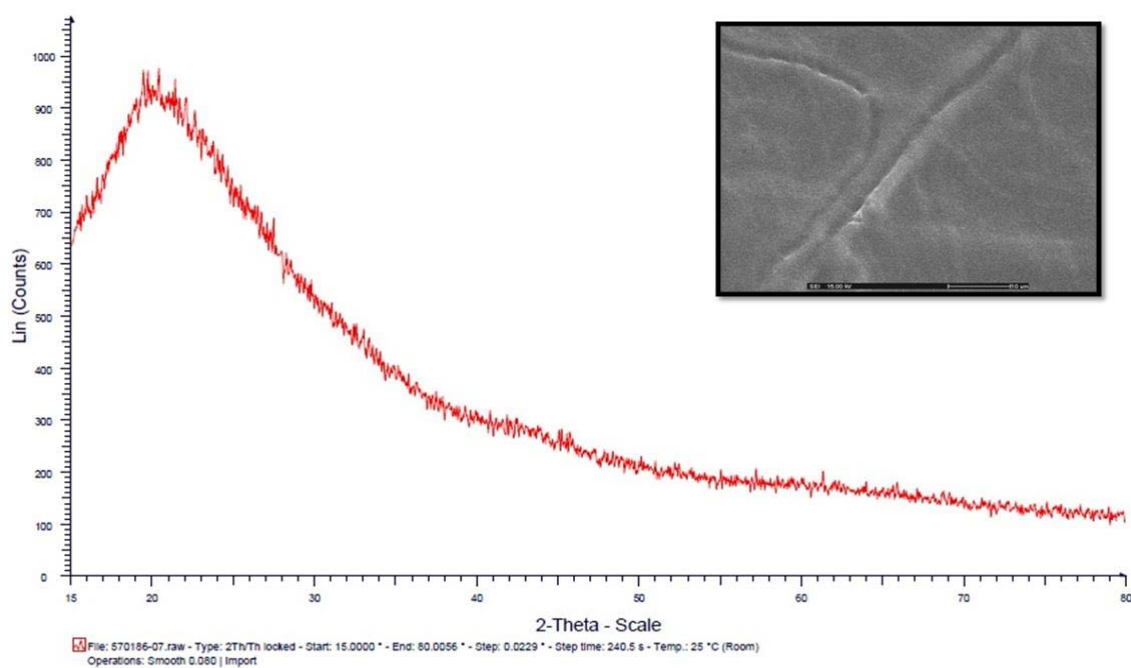
กราฟที่ 6 แสดงรูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ของอะราโกไนท์ในเปลือกไข่ชั้นกลางของเต่ามะเฟือง



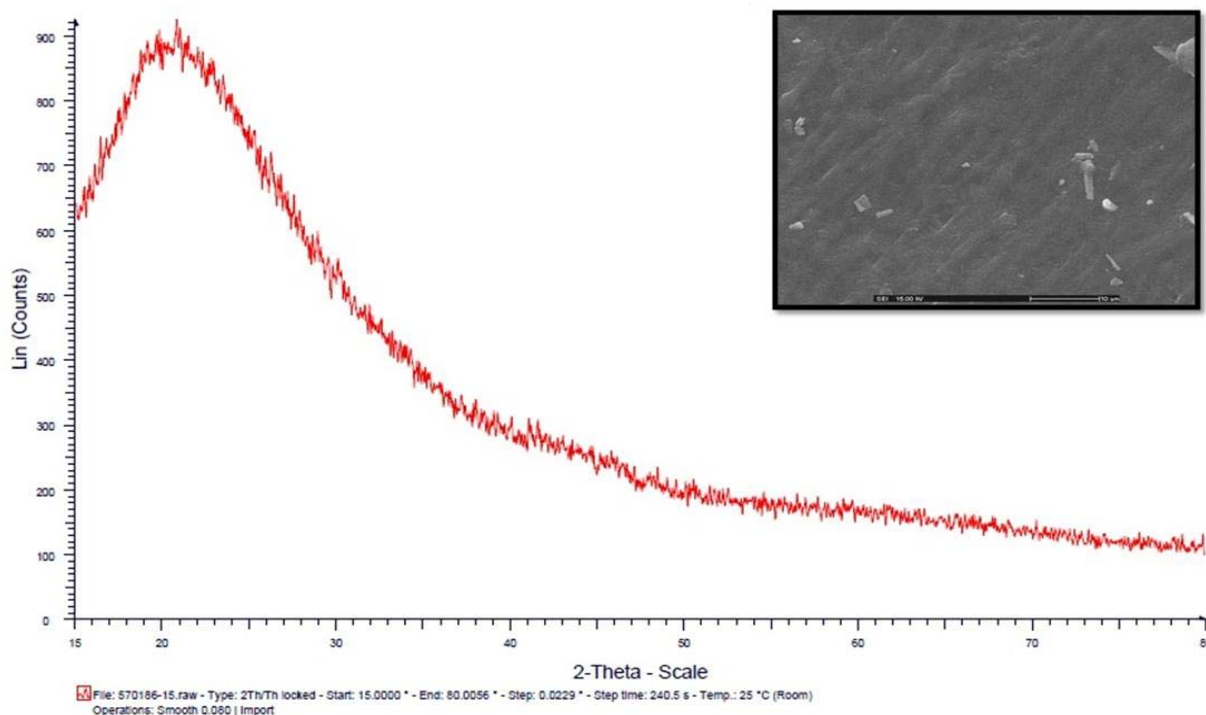
กราฟที่ 7 แสดงรูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ของอะราโกไนท์ในเปลือกไข่ชั้นในของเต่าตนุ



กราฟที่ 8 แสดงรูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ของอสังฐานไนเปือกไข่ชั้นในของเต่าตนุ



กราฟที่ 9 แสดงรูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ของอะราโกไนท์ในเปลือกไข่ชั้นในของเต่ามะเฟือง



กราฟที่ 10 แสดงรูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ของอสังฐานในเปลือกไข่ชั้นในของเต่ามะเฟือง

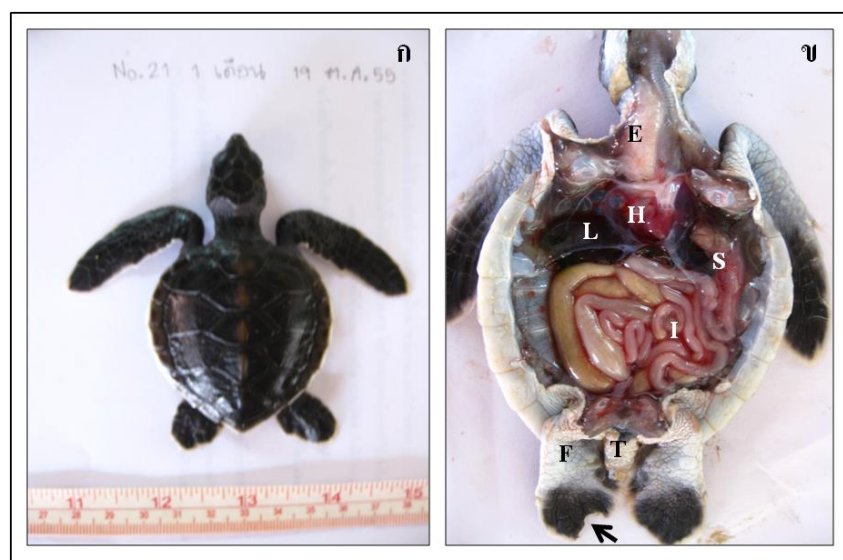
4. ศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาของอวัยวะต่างๆ ของลูกเต่าทะเล

4.1 ลักษณะสัณฐานวิทยาภายนอก

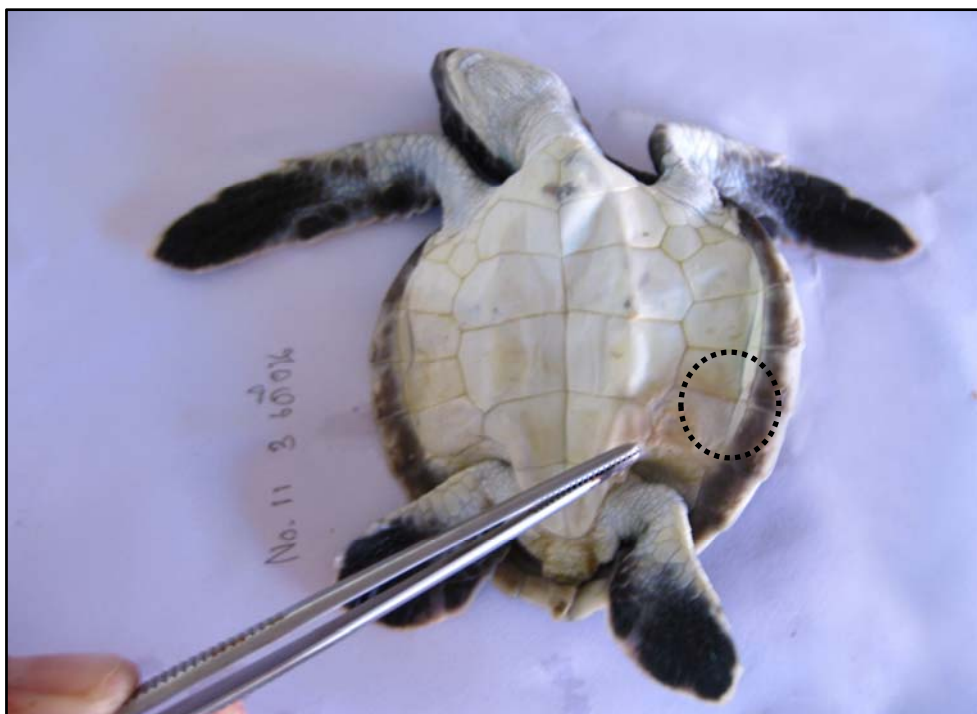
จากการเก็บตัวอย่างลูกเต่าตนุอายุ 1-4 และ 6 เดือน จำนวน 30 ตัว โดยเก็บตัวอย่างลูกเต่าตายที่มีบาดแผลและไม่มีบาดแผลเท่าที่ได้รับการอนุเคราะห์จากบ่ออนุบาลเต่าทะเลฐานทัพเรือพังงา ตั้งอยู่ที่บ้านทับละมุ ตำบลลำแก่น อำเภอท้ายเหมือง จังหวัดพังงา ในช่วงวันที่ 10-15 เดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2555 และวันที่ 16-20 เดือนตุลาคม พ.ศ. 2555 ได้ทำการตรวจสอบบาดแผลทั้งภายนอกและภายในโดยทำการผ่าซากลูกเต่าตนุเพื่อตรวจสอบอวัยวะที่สนใจ (ภาพที่ 25) พบว่าตัวอย่างลูกเต่าตนุทั้งหมดจำนวน 14 ตัว โดยเป็นลูกเต่าตนุที่มีบาดแผลจำนวน 2 ตัว ซึ่งบาดแผลเปื่อยเกิดขึ้นที่บริเวณลำคอ ด้านท้องและบาดแผลที่ขาจากรอยถูกกัด เนื่องจากลูกเต่าด้วยตัวเอง (ภาพที่ 26) ส่วนลูกเต่าตนุที่มีอวัยวะภายในผิดปกติจำนวน 3 ตัว และลูกเต่าตนุที่ไม่มีบาดแผลจำนวน 9 ตัว จากการวัดขนาดตัวและชั่งน้ำหนักตัว พบว่าลูกเต่าตนุอายุ 1-4 เดือน มีน้ำหนักตัวโดยเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 27.50-62.50 กรัม ค่าเฉลี่ยของความยาวและความกว้างของกระดองหลังอยู่ระหว่าง 6.30-8.08 และ 5.75-7.30 เซนติเมตร ส่วนค่าเฉลี่ยของความยาวและความกว้างของกระดองท้องอยู่ระหว่าง 5.20-6.68 และ 4.65-6.08 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 12)

ตารางที่ 12 แสดงรายละเอียดของเต่าตนุอายุ 1-4 และ 6 เดือน ที่ตายในบ่ออนุบาล จำนวน 30 ตัว

อายุ (เดือน)	จำนวน (ตัว)	น้ำหนัก (กรัม)	กระดองหลัง (carapace)		กระดองท้อง (plastron)		หมายเหตุ
			ยาว (เซนติเมตร)	กว้าง (เซนติเมตร)	ยาว (เซนติเมตร)	กว้าง (เซนติเมตร)	
1	12	27.92±4.50	6.14±0.43	5.63±0.33	4.98±0.34	4.63±0.29	1 ตัว มีบาดแผลที่ ลำคอ
2	8	39.75±4.83	6.73±0.50	6.35±0.45	5.54±0.33	5.15±0.27	1 ตัว มีบาดแผลที่ ด้านท้องและขา อีก 1 ตัว ลำไส้เล็กส่วน ต้นมีลักษณะใสๆ
3	4	48.75±4.79	7.43±0.05	6.85±0.35	6.15±0.26	5.40±0.27	1 ใน 3 ตัว กระเพาะ อาหารมีขนาดใหญ่ และตับมีสีดำ
4	4	62.50±8.29	8.08±0.38	7.30±0.62	6.48±0.21	6.08±0.35	1 ตัว ตับมีสีดำ
6	2	209.00±12.73	11.50±0.71	11.00±0.00	12.00±0.00	12.25±0.35	-



ภาพที่ 25 แสดงตัวอย่างลูกเต่าตนุที่ตายในบ่ออนุบาล (ก) ลักษณะภายนอกและ (ข) อวัยวะภายในของลูกเต่าตนุโดยแสดงหลอดอาหาร (E) หัวใจ (H) ปอด (L) กระเพาะอาหาร (S) ลำไส้เล็ก (I) ครีบกาว (F) หาง (T) และลูกศรชี้แสดงบาดแผลถูกกัดของครีบกาว



ภาพที่ 26 แสดงบาดแผลที่พบของลูกเต่าตนุที่ตายในบ่ออนุบาล

4.2 ลักษณะเนื้อเยื่อวิทยา

จากการศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาของอวัยวะต่างๆ ของลูกเต่าตนุอายุ 1-4 และ 6 เดือน ด้วยวิธีการตัดเนื้อเยื่อให้บางด้วยพาราฟิน (paraffin sectioning) ในลูกเต่าจำนวน 14 ตัว ที่มีบาดแผลและไม่มีบาดแผลโดยศึกษาระบบทางเดินอาหารศึกษาจากหลอดอาหาร ท่อพัก กระเพาะอาหาร ลำไส้เล็กส่วนต้น ลำไส้เล็กส่วนปลาย ลำไส้ใหญ่ หลอดลม และปอด หัวใจ ตับ ม้าม ไต ต่อมหมวกไต กระเพาะปัสสาวะ กล้ามเนื้อที่ขา และผิวหนังที่คอ เป็นต้น

ก. หลอดอาหาร (esophagus)

หลอดอาหารเป็นส่วนหนึ่งของทางเดินอาหารที่ต่อจากคอหอยจนสิ้นสุดบริเวณกระเพาะอาหาร มีหน้าที่ส่งผ่านอาหารไปยังกระเพาะอาหาร ทางเดินอาหารตั้งแต่หลอดอาหารเป็นต้นไปมีโครงสร้างเนื้อเยื่อจำนวน 4 ชั้น เป็นองค์ประกอบ คือ mucosa, submucosa, muscularis และ serosa สำหรับหลอดอาหารในลูกเต่าตนุอายุ 1-4 เดือน

จากการศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาของหลอดอาหารพบว่าผนังของเนื้อเยื่อถูกบุด้วยเยื่อบุผิวแบบ stratified squamous epithelium ประกอบด้วยเซลล์บุผิวรูปแบบเรียงซ้อนกันหลายชั้นแทรกด้วย goblet cells จำนวนมาก ไม่มี cilia และพบชั้น lamina propria เป็นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่อยู่ใต้เยื่อบุผิวและยื่นเข้าไปในลูเมน (ภาพที่ 27) ส่วนชั้น muscularis mucosae ที่ค่อนข้างสังเกตุยาก แต่จะมีลักษณะบางๆ อยู่ถัดจากชั้น lamina propria ประกอบด้วยกล้ามเนื้อเรียบอัดไปเป็นชั้น submucosa เป็นเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (loose connective tissue) ที่มีหลอดเลือดแทรก ชั้น muscularis ประกอบด้วยชั้นกล้ามเนื้อเรียบ 2 ชั้น คือ ชั้นในที่เรียงแบบวงกลม (inner circular smooth muscular layer) และชั้นนอกที่เรียงแบบตามความยาว (longitudinal smooth muscular layer) ชั้นนอกสุดคือ serosa ประกอบด้วยเนื้อเยื่อเกี่ยวพันชั้น

บาง ๆ และมีเซลล์รูปแบนบางชั้นเดียว (simple squamous epithelium) อยู่นอกสุด (ภาพที่ 28) ซึ่งลักษณะเนื้อเยื่อของหลอดอาหารทั้งในลูกเต่าที่มีบาดแผลและไม่มีบาดแผลพบว่ามีลักษณะเหมือนกัน และไม่พบความผิดปกติของพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อ แต่ในลูกเต่าอายุ 4 เดือน มีชั้น mucosa ยื่นเข้าไปในลูเมนมากขึ้นและพบเซลล์สร้างเมือกอย่างเห็นได้ชัด

ข. กระเพาะปัสสาวะ (crop)

กระเพาะปัสสาวะ ทำหน้าที่เก็บอาหารก่อนที่จะเข้าสู่กระเพาะอาหาร จากการศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาของกระเพาะปัสสาวะ พบว่าลูกเต่าอายุ 1-4 เดือน มีลักษณะของเนื้อเยื่อชั้น mucosa ประกอบด้วยเยื่อบุผิวแบบ stratified squamous epithelium (ภาพที่ 29) แต่ในลูกเต่าอายุ 4 เดือน มีเซลล์เยื่อเมือก (mucous-secreting cells) อยู่จำนวนมากอย่างเห็นได้ชัด (ภาพที่ 30) ส่วนชั้นอื่นๆ มีลักษณะเนื้อเยื่อเช่นเดียวกับหลอดอาหารโดยลักษณะเนื้อเยื่อของกระเพาะปัสสาวะทั้งในลูกเต่าที่มีบาดแผล และไม่มีบาดแผลพบว่ามีลักษณะเหมือนกันและไม่พบความผิดปกติของพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อ (ภาพที่ 29)

ค. กระเพาะอาหาร

จากการศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาของกระเพาะอาหารในลูกเต่าอายุ 1-4 เดือนพบว่า เยื่อบุผิวเปลี่ยนจาก stratified squamous epithelium เป็นชั้นเดี่ยวรูปทรงสูง (simple columnar epithelium) และพบ gastric gland กระจายตัวอยู่เป็นจำนวนมากและเปิดออกบริเวณ gastric pit (ภาพที่ 33) กระเพาะอาหารประกอบด้วยผนัง 4 ชั้น ได้แก่

(1) ชั้น mucosa มีลักษณะเป็น longitudinal fold ยื่นเข้าไปในลูเมน ผิวของกระเพาะอาหารมี investigation เรียกว่า gastric pit ชั้น mucosa แบ่งออกเป็น 3 ชั้นย่อยๆ (ภาพที่ 31) ดังนี้

(1.1) ชั้น epithelium เยื่อบุผิวชั้นนี้ประกอบด้วยเซลล์รูปแท่งทรงสูงเรียงชั้นเดียว (simple high columnar epithelium)

(1.2) ชั้น lamina propria ประกอบด้วยชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน และพบ gastric gland แทรกอยู่ในชั้นนี้เป็นจำนวนมาก (ภาพที่ 32) หน้าที่ของ gastric gland คือ สร้างเอนไซม์เปปซินोजินและกรดไฮโดรคลอริก

(1.3) ชั้น muscularis mucosae ประกอบด้วยกล้ามเนื้อเรียบชั้นบางๆ ที่แยกจากชั้น submucosa ได้ค่อนข้างยาก

(2) ชั้น submucosa ประกอบด้วยเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่เรียงตัวอย่างหลวมๆ (loose connective tissue) ที่มีเส้นเลือดขนาดเล็กแทรกตัวอยู่

(3) ชั้น muscularis ประกอบด้วยกล้ามเนื้อเรียบ 2 ชั้น ที่เรียงกันในแนววงกลมที่หนาแน่นกว่าแนวตามยาว

(4) ชั้น serosa ประกอบด้วยเนื้อเยื่อเกี่ยวพันบางๆ อยู่นอกสุดและค่อนข้างสังเกตเห็นได้ยาก จากลักษณะเนื้อเยื่อของกระเพาะอาหารทั้งในลูกเต่าที่มีบาดแผลและไม่มีบาดแผลพบว่ามีลักษณะเหมือนกันและไม่พบความผิดปกติของพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อ (ภาพที่ 32)

ง. ลำไส้เล็กส่วนต้น (duodenum)

ลำไส้เล็กเป็นทางเดินอาหารส่วนที่ต่อกับกระเพาะอาหารไปยังลำไส้ใหญ่ จากการศึกษาน้ำเยื่อวิทยาของลำไส้เล็กส่วนต้นในลูกเต่าอายุ 1-4 เดือนพบว่าผนังชั้นในของลำไส้เล็กส่วนต้น มี 4 ชั้น คือ mucosa, submucosa, muscular layer และ serosa เป็นต้น

(1) ชั้น mucosa มีการเพิ่มพื้นที่ผิวโดยยื่นไปเป็น villi จำนวนมาก ซึ่งเยื่อบุผิวเป็นแบบ เซลล์รูปแท่งทรงสูงเรียงชั้นเดียว (simple high columnar epithelium) และพบ goblet cells หรือ mucous secretory cells ซึ่งพบน้อยกว่าเมื่อเทียบกับในลำไส้เล็กส่วนปลาย นอกจากนี้ยังพบ intestinal gland อยู่ในชั้น lamina propria ส่วนชั้น muscularis mucosae ประกอบด้วยกล้ามเนื้อเรียบชั้นบางๆ ที่แยกจากชั้น submucosa ได้ค่อนข้างยาก

(2) ชั้น submucosa ประกอบด้วยเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่เรียงตัวอย่างหลวมๆ (loose connective tissue) ที่มีเส้นเลือดขนาดเล็กแทรกตัวอยู่ และพบ brunner's gland

(3) ชั้น muscularis ประกอบด้วยกล้ามเนื้อเรียบ 2 ชั้น ที่เรียงกันในแนววงกลมที่หนามากกว่าแนวตามยาว

(4) ชั้น serosa ประกอบด้วยเนื้อเยื่อเกี่ยวพันบางๆ อยู่นอกสุดและคลุมอยู่บางส่วน จากลักษณะเนื้อเยื่อของลำไส้เล็กส่วนต้นทั้งในลูกเต่าที่มีบาดแผลและไม่มีบาดแผลพบว่ามีลักษณะเหมือนกันและไม่พบความผิดปกติของพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อ (ภาพที่ 34)

จ. ลำไส้เล็กส่วนปลาย (ileum)

จากการศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาของลำไส้เล็กส่วนปลายในลูกเต่าอายุ 1-4 เดือนพบว่าผนังชั้นในของลำไส้เล็กส่วนปลาย มี 4 ชั้น คือ mucosa, submucosa, muscular layer และ serosa ซึ่งมีลักษณะโครงสร้างเนื้อเยื่อเหมือนกับลำไส้เล็กส่วนต้น แต่ต่างกันที่ชั้น mucosa มีการเพิ่มพื้นที่ผิวโดยยื่นไปเป็น villi จำนวนมากกว่าลำไส้เล็กส่วนต้น จากลักษณะเนื้อเยื่อของลำไส้เล็กส่วนปลายทั้งในลูกเต่าที่มีบาดแผลและไม่มีบาดแผลพบว่ามีลักษณะเหมือนกันและไม่พบความผิดปกติของพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อ (ภาพที่ 35)

ฉ. ลำไส้ใหญ่ (colon)

จากการศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาของลำไส้ใหญ่ ในลูกเต่าอายุ 1-4 เดือนพบว่าลำไส้ใหญ่ แบ่งออกเป็นชั้นๆ คล้ายกับลำไส้เล็กซึ่งมี 4 ชั้น คือ mucosa, submucosa, muscular layer และ serosa โดยชั้น serosa มีเฉพาะลำไส้ใหญ่บางส่วนและจากลักษณะเนื้อเยื่อของลำไส้ใหญ่ทั้งในลูกเต่าที่มีบาดแผลและไม่มีบาดแผลพบว่ามีลักษณะเหมือนกันและไม่พบความผิดปกติของพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อ (ภาพที่ 36)

ช. หลอดลม (trachea)

จากการศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาของหลอดลมในลูกเต่าอายุ 1-4 เดือน ในลูกเต่าที่มีบาดแผลและไม่มีบาดแผล พบว่ามีลักษณะเนื้อเยื่ออยู่ในสภาพปกติ พบเยื่อบุผิวแบบ pseudostratified ciliated columnar epithelium และพบกระดูกอ่อนทั้งแบบ hyaline และ elastic cartilage (ภาพที่ 37)

ซ. ปอด (lung)

จากการศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาของหลอดลมในลูกเต่าอายุ 1-4 เดือน ในลูกเต่าที่มีบาดแผลและไม่
มีบาดแผล พบว่ามีลักษณะเนื้อเยื่ออยู่ในสภาพปกติ แสดงให้เห็นถุงลมเล็กๆ (alveoli) ซึ่งมี alveolar
spaces เป็นช่องว่างที่ล้อมรอบด้วยผนังบางๆ ประกอบด้วย epithelium บุเป็น squamous cell (type I
alveolar cell) บาง และ cuboidal cell (type II alveolar cell) ซึ่งบุเข้าไปในลูเมนของ alveolus วางอยู่
บน basement membrane และผนังที่อยู่ระหว่างถุงลมปอดที่ติดกันเรียกว่า interalveolar septum
(ภาพที่ 38)

ฌ. หัวใจ (heart)

จากการศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาของหัวใจในลูกเต่าอายุ 1-4 เดือน ในลูกเต่าที่ไม่มีบาดแผล พบว่า
ลักษณะเนื้อเยื่ออยู่ในสภาพปกติ หัวใจมีผนังอยู่ 3 ชั้น คือ epicardium, myocardium และ
endocardium เป็นต้น โดยผนังหัวใจชั้น epicardium เป็นชั้นที่อยู่นอกสุด ภายในชั้นนี้มีหลอดเลือดกับ
เส้นประสาทที่เลี้ยงหัวใจและยังมีไขมันแทรกอยู่ด้วยถัดไปเป็นชั้น myocardium เป็นชั้นกลาง
ประกอบด้วยกล้ามเนื้อหัวใจ (cardiac muscle) ซึ่งภายในเซลล์พบนิวเคลียส กล้ามเนื้อหัวใจมีความหนา
บางไม่เท่ากัน นอกจากนี้ยังมีส่วนยื่นนูนทางด้านในของหัวใจ และพบเซลล์เม็ดเลือดแดงจำนวนมากที่
หัวใจกำลังทำหน้าที่สูบฉีดโลหิตไปยังหัวใจห้องต่างๆ (ภาพที่ 39) ส่วนเนื้อเยื่อหัวใจของเต่าที่มีบาดแผล
ไม่ได้แสดงผล เนื่องจากไม่มีตัวอย่างเนื้อเยื่อ

ญ. กล้ามเนื้อลาย (skeleton muscle)

จากการศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาของกล้ามเนื้อลายในลูกเต่าอายุ 1-4 เดือน ในลูกเต่าที่มีบาดแผล
และไม่มีบาดแผล พบว่ามีลักษณะเนื้อเยื่ออยู่ในสภาพปกติ แสดงให้เห็นมัดกล้ามเนื้อลายประกอบด้วย
myofiber และพบเห็นนิวเคลียสกระจายตัวอยู่ในเซลล์กล้ามเนื้อลาย (ภาพที่ 40)

ฎ. ผิวหนัง (skin)

จากการศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาของผิวหนังคอในลูกเต่าอายุ 1-4 เดือน ในลูกเต่าที่มีบาดแผลและ
ไม่มีบาดแผล พบว่ามีลักษณะเนื้อเยื่ออยู่ในสภาพปกติ ผิวหนังมีอยู่ 2 ชั้น คือ ชั้นหนังกำพร้า
(epidermis) เป็นผิวหนังที่อยู่ชั้นบนสุด มีลักษณะบางมาก ประกอบไปด้วยเซลล์เรียงซ้อนกันเป็นชั้นๆ มี
เคราตินและชั้นหนังแท้ (dermis) จะพบเนื้อเยื่อเกี่ยวพันอยู่ในชั้นนี้ด้วย (ภาพที่ 41)

ฏ. ตับ (liver)

จากการศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาของตับในลูกเต่าอายุ 1-4 เดือน ในลูกเต่าที่มีบาดแผลและไม่มี
บาดแผล พบว่ามีลักษณะเนื้อเยื่ออยู่ในสภาพปกติ แสดงให้เห็นส่วนของบริเวณ portal triads
ประกอบด้วยหลอดเลือดดำ (portal vein) ขนาดใหญ่ ผนังบุด้วย endothelium หลอดเลือดแดง (hepatic
artery) และท่อน้ำดี (bile duct) มีศูนย์กลางเป็น central vein โดยสังเกตเห็นแขนงของเส้นเลือดใน
portal triads ผ่านไปยัง sinusoids และเทลงสู่ central vein (ภาพที่ 42)

จ. ม้าม (spleen)

จากการศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาของม้ามในลูกเต่าอายุ 1-4 เดือน ในลูกเต่าที่ไม่มีบาดแผล พบว่ามีลักษณะเนื้อเยื่ออยู่ในสภาพปกติ ม้ามมี connective tissue capsule ล้อมรอบ มีหลอดเลือด (trabecular vessel) แทรกอยู่ภายในที่สามารถสังเกตเห็นได้ เนื้อม้าม ประกอบด้วย red pulp และ white pulp ซึ่งมี central arteriole เห็นได้ชัดเจนหลอดเลือดนี้ยังแตกแขนงเล็กๆ เพื่อไปเลี้ยงส่วน white pulp ด้วย (ภาพที่ 43) ส่วนเนื้อเยื่อม้ามของเต่าที่มีบาดแผลไม่ได้แสดงผล เนื่องจากไม่มีตัวอย่างเนื้อเยื่อ

จ. ต่อมหมวกไต (adrenal gland)

จากการศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาของต่อมหมวกไต ในลูกเต่าอายุ 1-4 เดือน ในลูกเต่าที่มีบาดแผล พบว่าเซลล์เริ่มมีการแยกตัวออกจากกันไม่เกาะกลุ่มกัน เนื่องจากเนื้อเยื่อเกิดการย่อยสลายและพบเห็นนิวเคลียสติดสีม่วงเข้ม (ภาพที่ 44ก-44ข) ส่วนลักษณะเนื้อเยื่อของเต่าที่ไม่มีบาดแผลพบว่ามีลักษณะเนื้อเยื่ออยู่ในสภาพปกติ (ภาพที่ 44ค-44ง) ต่อมหมวกไตมี capsule หุ้ม และมีบางส่วนยื่นเข้าไปในเนื้อต่อมเป็น trabeculae โดยให้เป็นทางผ่านเข้า-ออก ของหลอดเลือด ท่อน้ำเหลือง และเส้นประสาทเพื่อเข้าไปเลี้ยงเนื้อต่อม ต่อมหมวกไตแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ ส่วน adrenal cortex พบอยู่นอกสุด ซึ่งส่วนนี้มีไขมันแทรกอยู่ด้วยและส่วน adrenal medulla อยู่ในชั้นในสุด ประกอบด้วยกลุ่มของ secretory cells ที่เรียงตัวกันแน่น

ฅ. ไต (kidney)

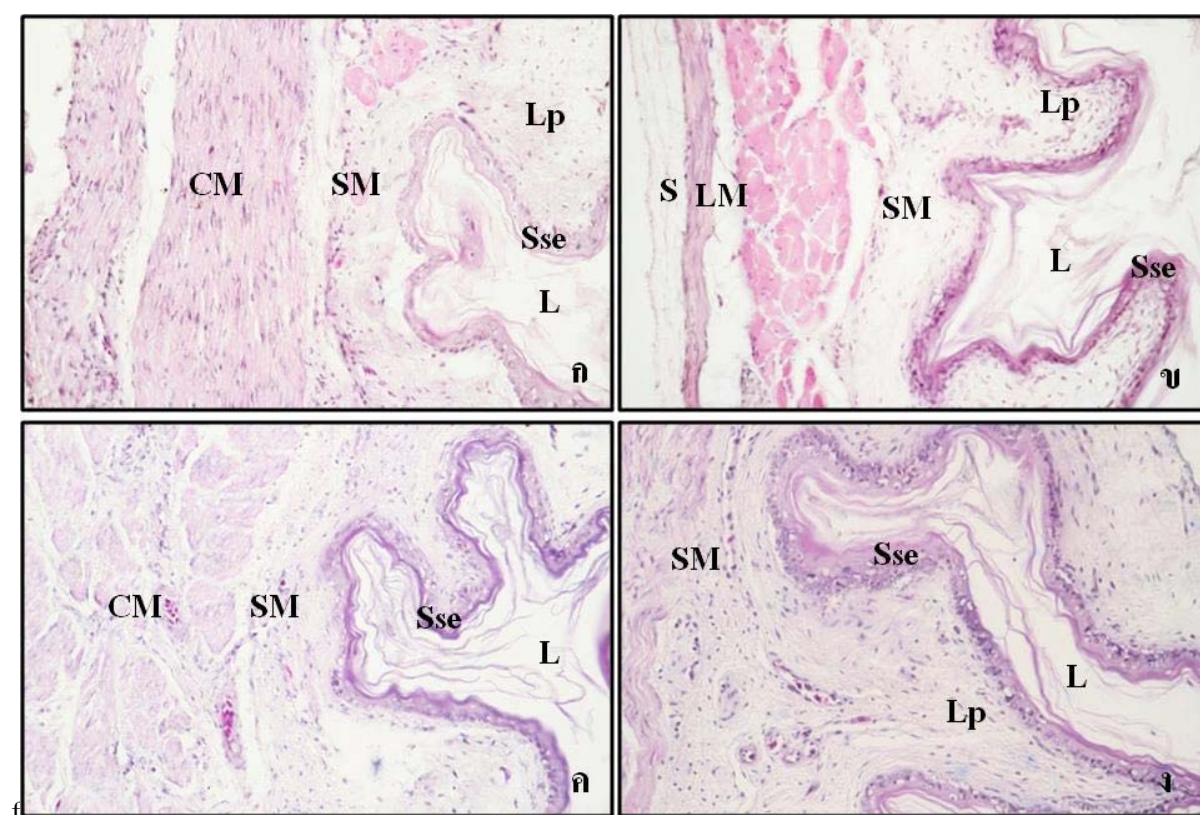
จากการศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาของไตในลูกเต่าอายุ 1-4 เดือน พบว่าในเต่าอายุ 2 เดือน ที่ไม่มีบาดแผลพบว่ามีลักษณะเนื้อเยื่ออยู่ในสภาพปกติ เซลล์เริ่มมีการแยกตัวออกจากกันไม่เกาะกลุ่มกัน เนื่องจากเนื้อเยื่อเกิดการย่อยสลาย โดยเต่าอายุ 2 เดือน ที่ไม่มีบาดแผลมีลักษณะเนื้อเยื่อแตกต่างกันไปจากเต่าที่ไม่มีบาดแผล 3-4 เดือน และเต่าที่มีบาดแผล อายุ 1 เดือน เนื้อเยื่อวิทยาของไตของลูกเต่ายังสังเกตเห็นส่วนของ renal corpuscles ซึ่งประกอบด้วย Glomerulus และ Bowman capsule และมีหลอดเลือด (ภาพที่ 45)

ณ. ต่อมเพศ (gonad)

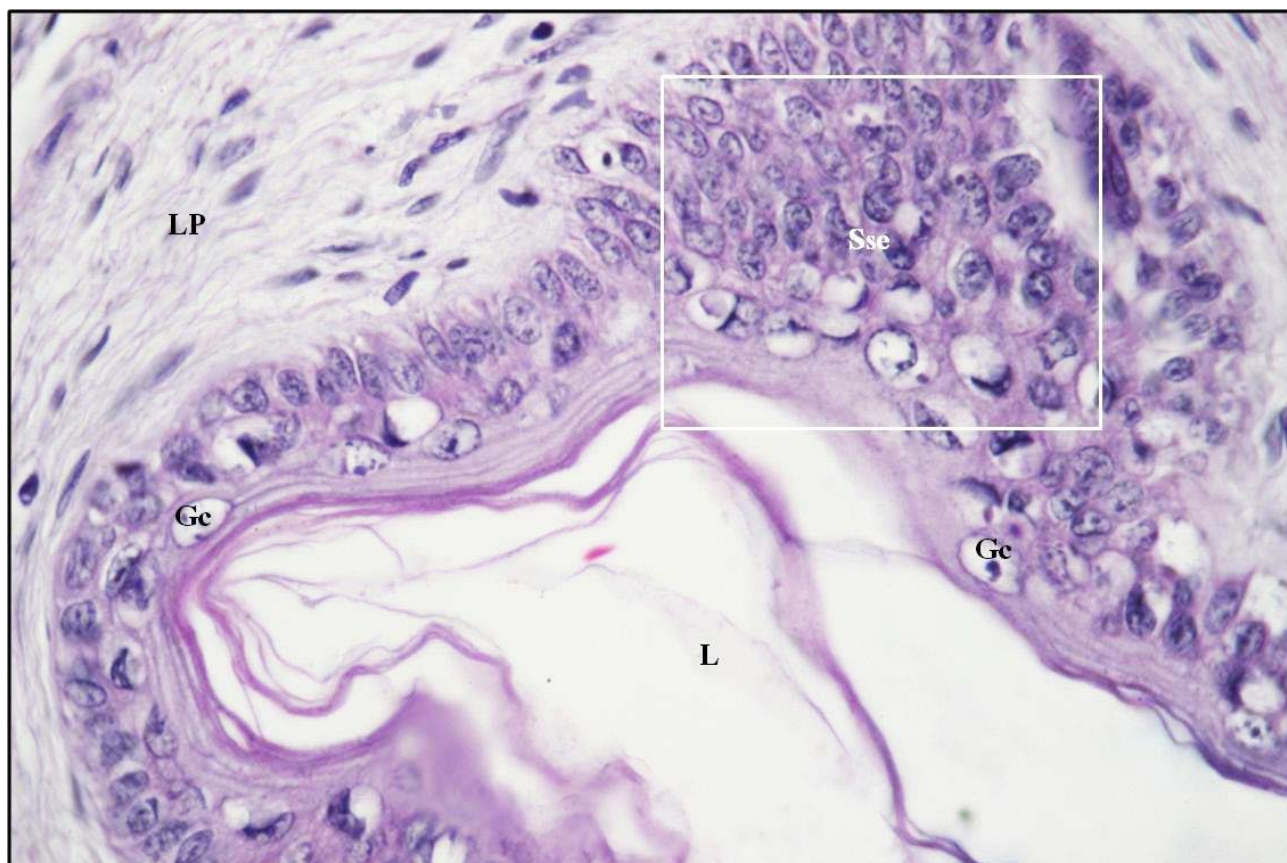
จากการศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาของต่อมบ่งเพศในลูกเต่าอายุ 6 เดือน เพิ่มเติมนั้นพบว่ามีลักษณะเนื้อเยื่ออยู่ในสภาพปกติ โดยต่อมบ่งเพศของลูกเต่าเพศเมียประกอบด้วย รังไข่และท่อนำไข่ (ภาพที่ 46) ซึ่งลักษณะรังไข่มีส่วนคอร์เทกซ์และเมดูลาร์หนาไม่มีท่ออยู่ภายใน ส่วนท่อนำไข่มีรูภายในท่อชัดเจนผนังภายในประกอบด้วยเนื้อเยื่อชนิด columnar epithelium และมีก้านสต็อค (stalk) ที่ยาวพบได้บริเวณด้านข้างของไต (ภาพที่ 47)

ด. กระเพาะปัสสาวะ (urinary bladder)

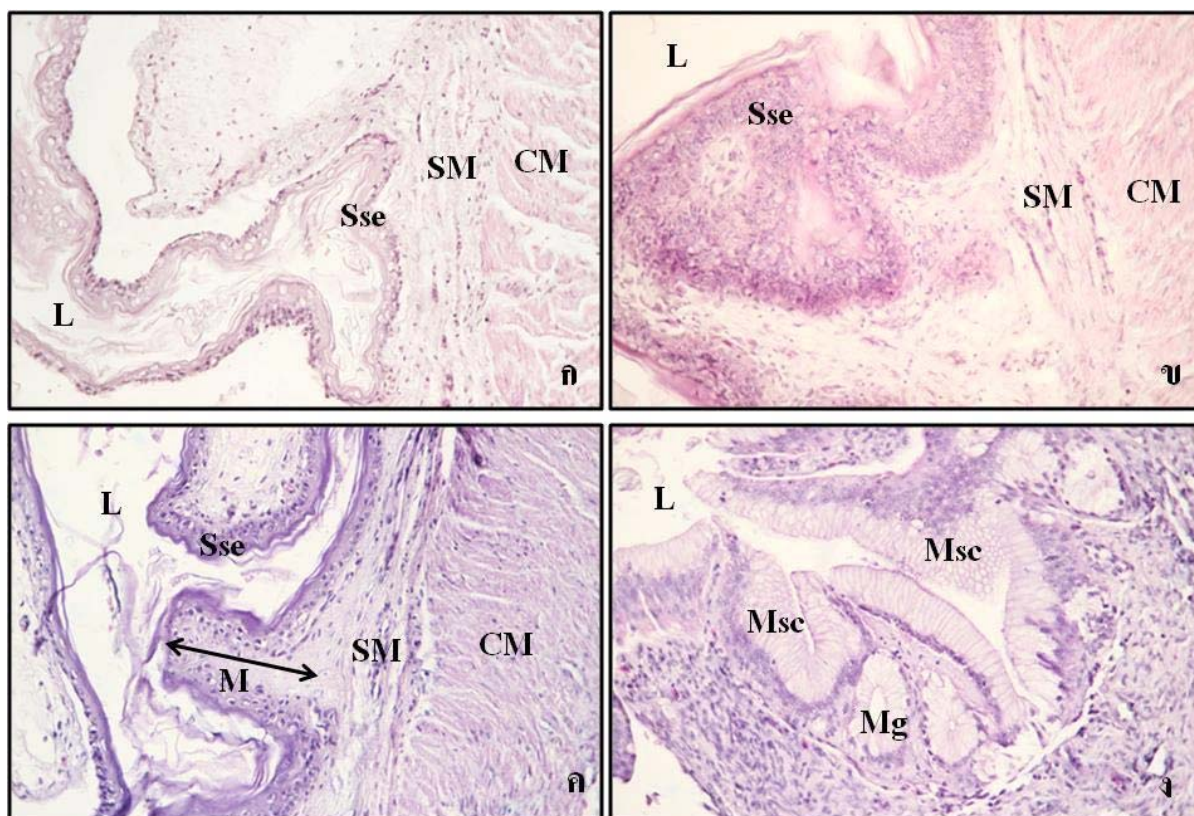
จากการศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาของตับในลูกเต่าอายุ 1-4 เดือน ในลูกเต่าที่มีบาดแผลและไม่มีบาดแผล พบว่ามีลักษณะเนื้อเยื่ออยู่ในสภาพปกติ กระเพาะปัสสาวะมีผนัง 3 ชั้น คือ mucosa, muscular layer และ adventitia ชั้น mucosa ย่นเป็นสันตามยาว มีเยื่อบุผิวเป็นแบบ transitional epithelium ถัดไปเป็น lamina propria ที่มีหลอดเลือดมากมาย ส่วนชั้น muscular layer ประกอบด้วยชั้นกล้ามเนื้อเรียบ 2 ชั้น คือ ชั้นในที่เรียงแบบวงกลมและชั้นนอกที่เรียงแบบตามความยาว และชั้น adventitia เป็นชั้นนอกสุด ชั้นนี้บริเวณตัวกระเพาะปัสสาวะถูกปกคลุมด้านนอกด้วยชั้น mesothelium (simple squamous epithelium) (ภาพที่ 48)



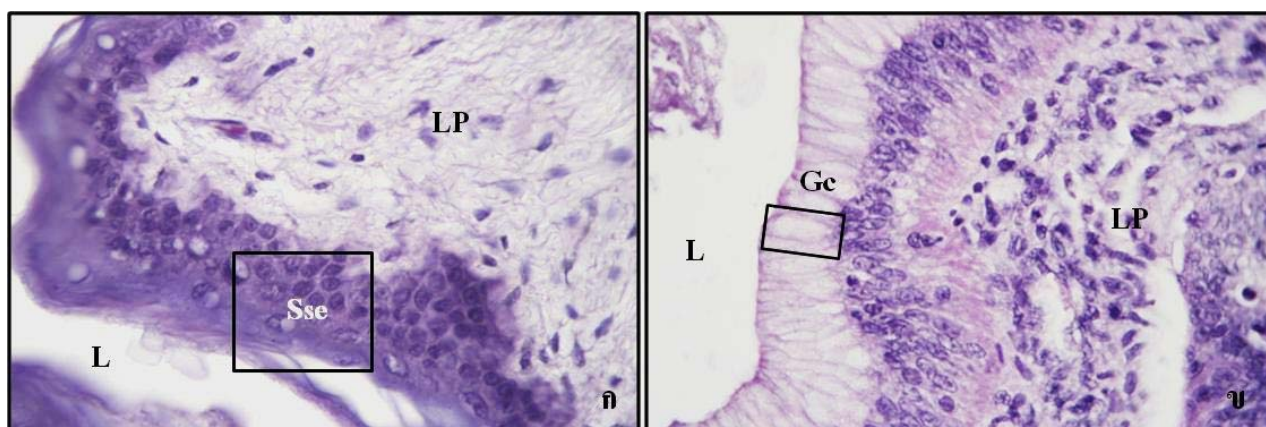
ภาพที่ 27 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (LM) แสดงโครงสร้างเนื้อเยื่อตัดตามขวางของหลอดอาหาร (esophagus) ในลูกเต่าตนุที่มีบาดแผล (ก) อายุ 1 เดือน (ข) อายุ 2 เดือน และลูกเต่าตนุที่ไม่มีบาดแผล (ค) อายุ 3 เดือน และ (ง) 4 เดือน เมื่อย้อมด้วยสีฮีมาทอกซิลินและอีโอซินที่กำลังขยาย 400 เท่า โดยแสดง lumen: L, stratified squamous epithelium: Sse, submucosa: SM, inner circular smooth muscle layer: CM, longitudinal smooth muscle layer: LM, serosa: S



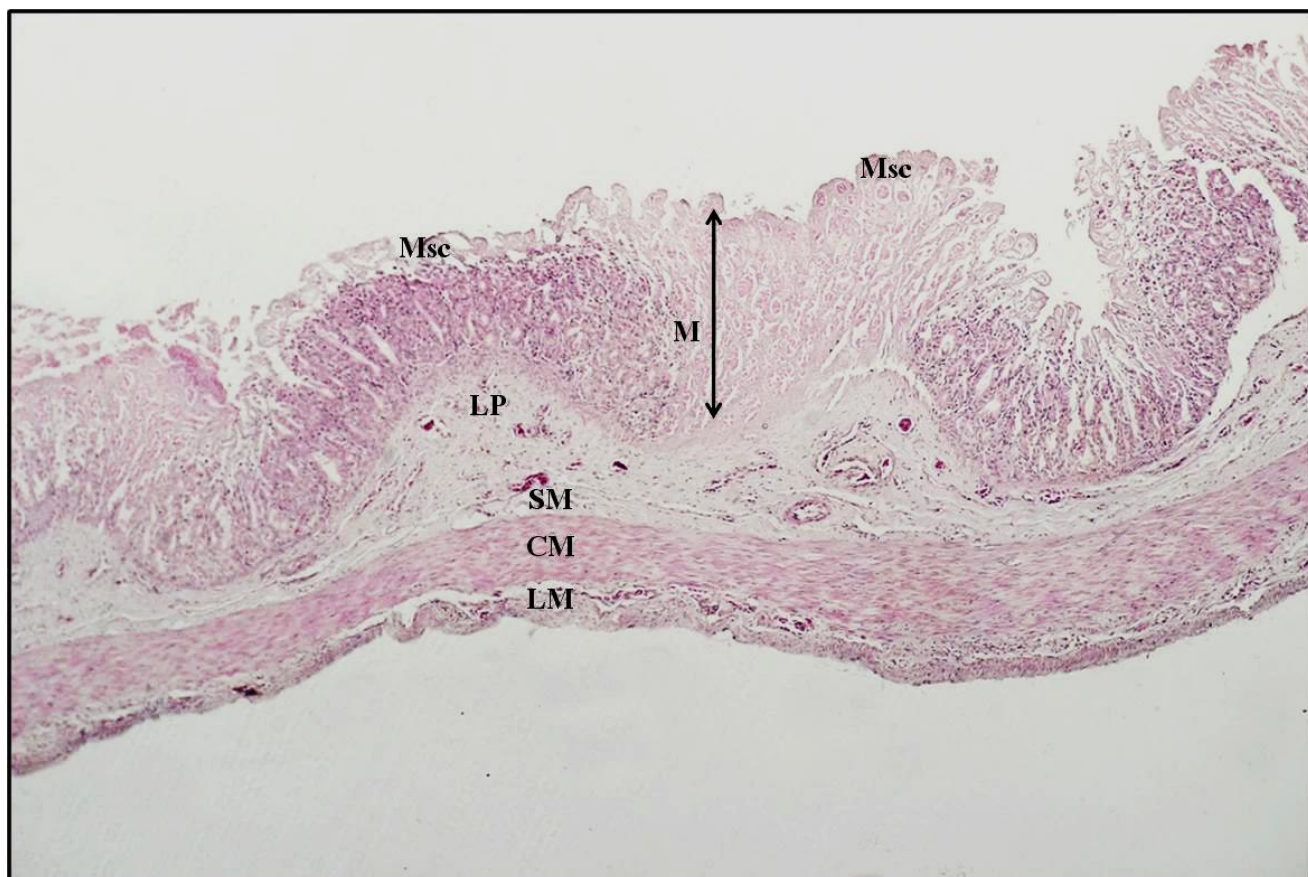
ภาพที่ 28 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (LM) แสดงโครงสร้างเนื้อเยื่อตัดตามขวางของหลอดอาหารในลูกเต่าตนุที่ไม่มีบาดแผลอายุ 4 เดือน เมื่อย้อมด้วย สีฮีมาทอกซีลินและอีโอซินที่กำลังขยาย 1000 เท่า โดยแสดง lumen: L, stratified squamous epithelium: Sse, lamina propria: LP



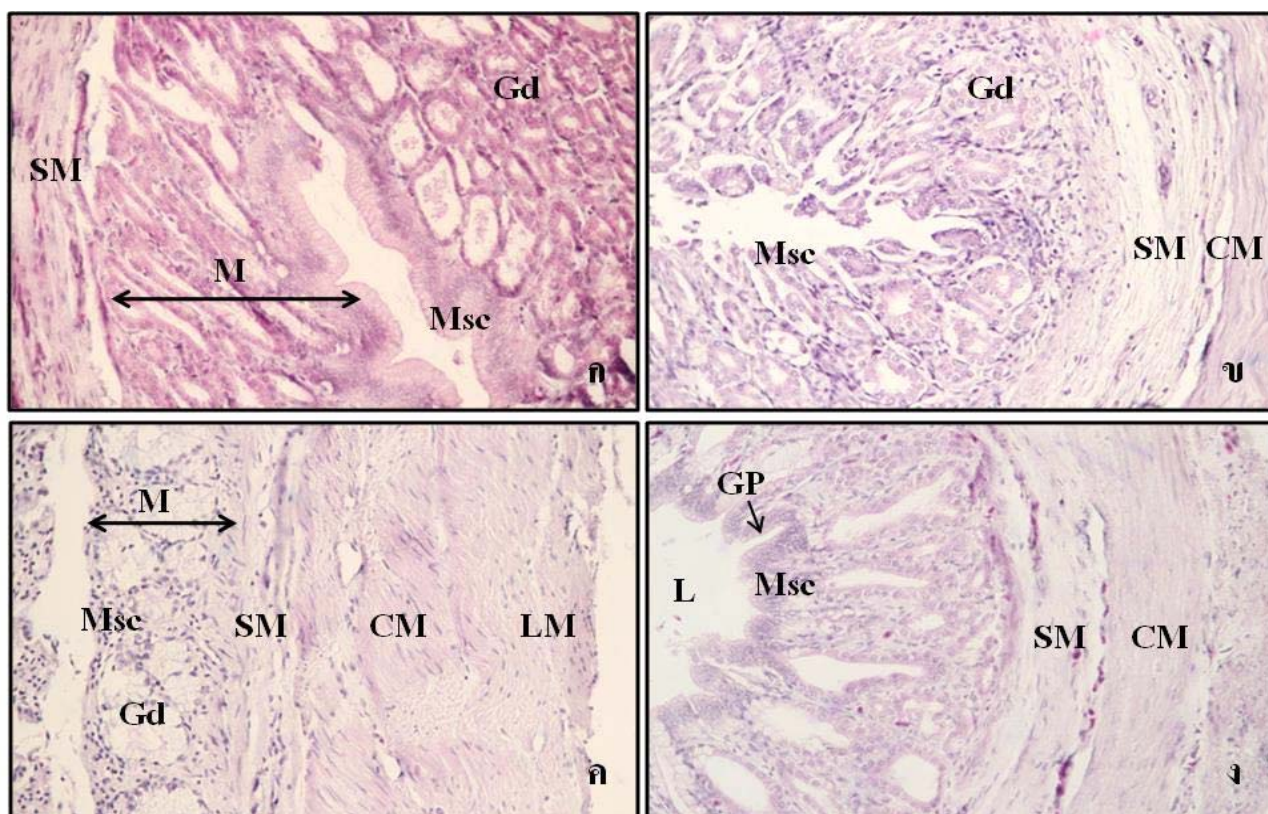
ภาพที่ 29 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (LM) แสดงโครงสร้างเนื้อเยื่อตัดตามขวางของกระเพาะพัก (crop) ในลูกเต่าตุ่นที่มีบาดแผล (ก) อายุ 1 เดือน (ข) อายุ 2 เดือน และลูกเต่าตุ่นที่ไม่มีบาดแผล (ค) อายุ 3 เดือนและ (ง) 4 เดือน เมื่อย้อมด้วยสีฮีมาทอกซีลินและอีโอซินที่กำลังขยาย 400 เท่าโดยแสดง lumen: L, stratified squamous epithelium: Sse, mucous-secreting cells: Msc, mucosa: M, submucosa: SM, inner circular smooth muscle layer: CM, mucous glands: Mg



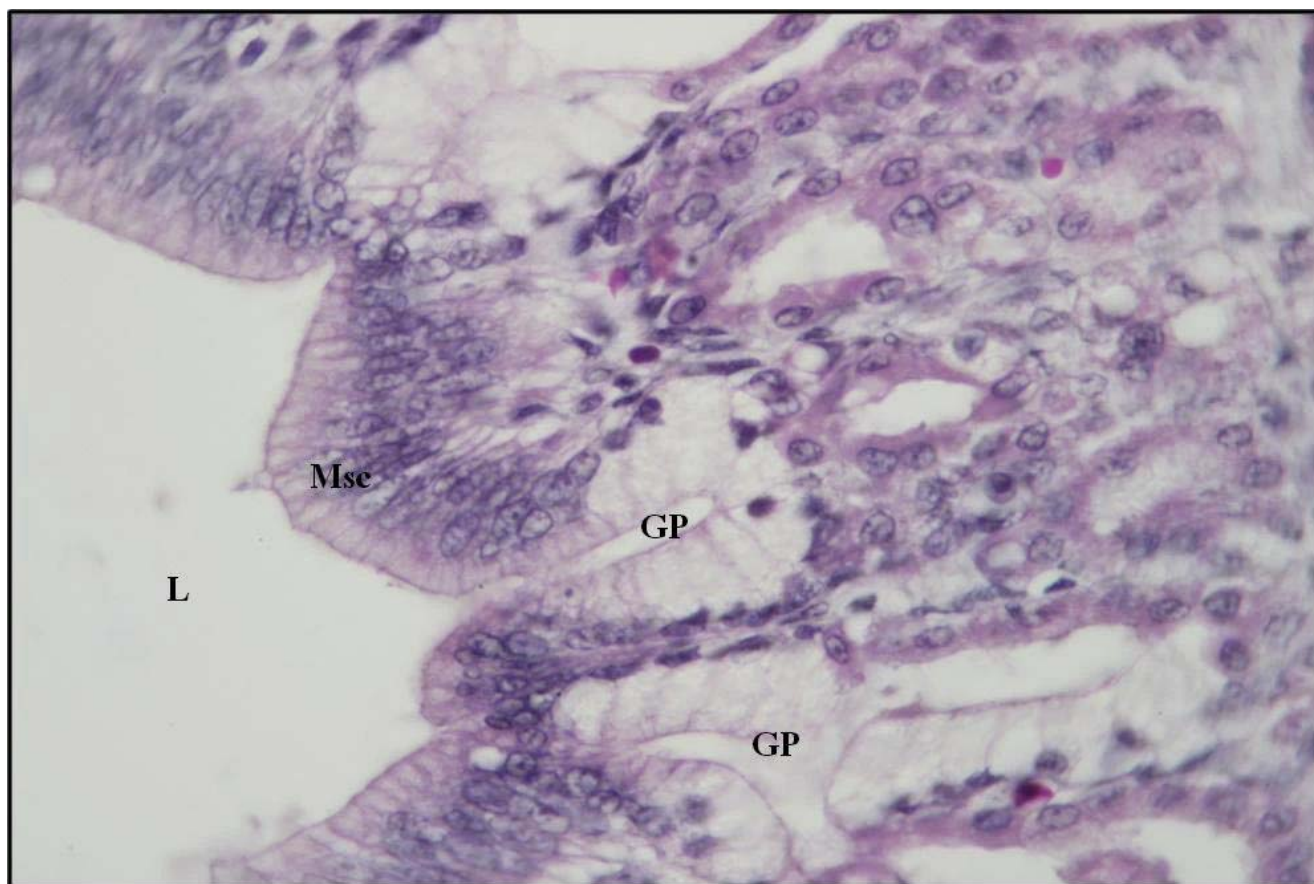
ภาพที่ 30 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (LM) แสดงลักษณะเนื้อเยื่อปกติตัดขวางกระเพาะพักของลูกเต่าตุ่น เมื่อย้อมด้วยสีฮีมาทอกซีลินและอีโอซินที่กำลังขยาย 1000 เท่าโดยแสดง lumen: L, stratified squamous epithelium: Sse, goblet cells: Gc



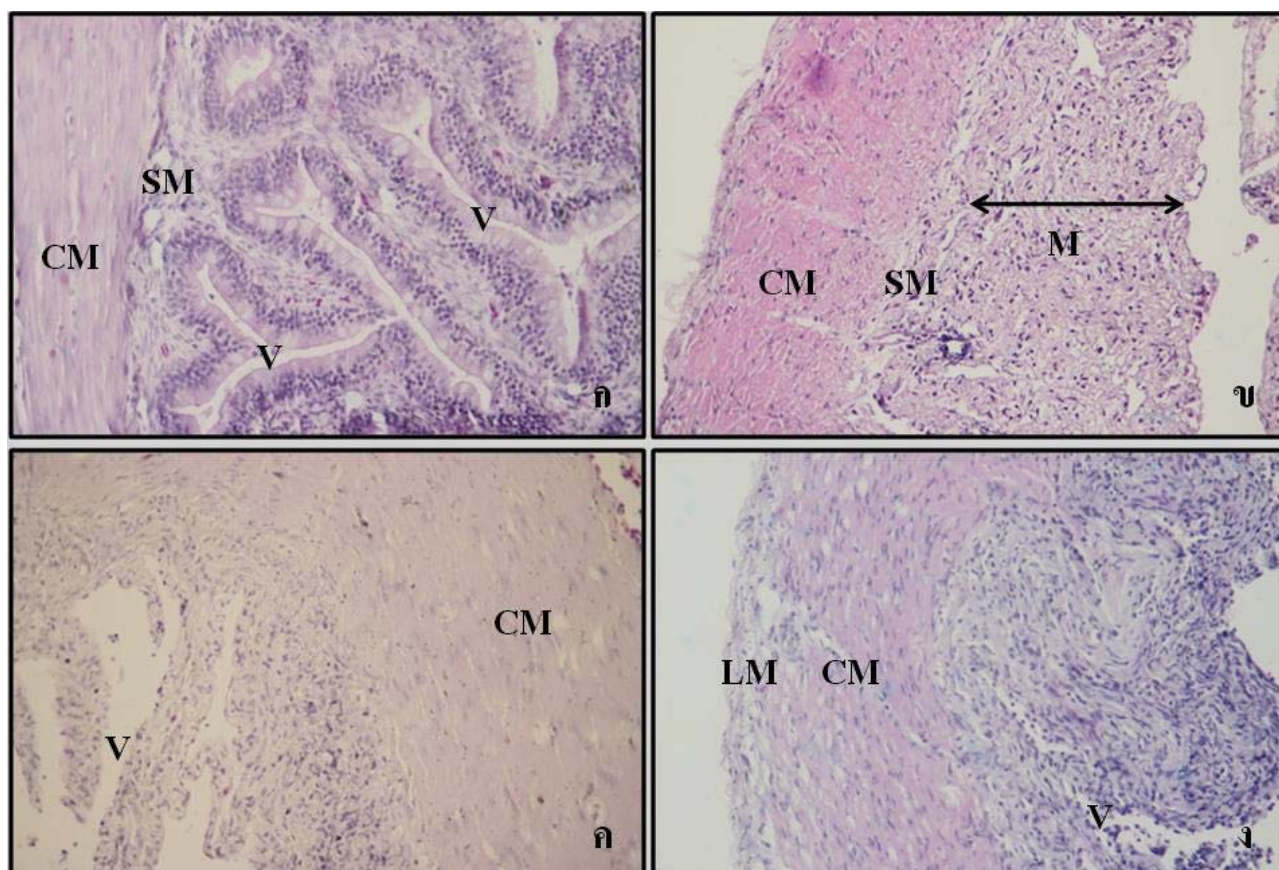
ภาพที่ 31 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (LM) แสดงโครงสร้างเนื้อเยื่อตัดตามขวางกระเพาะอาหาร (stomach) ของลูกเต่าตนุที่มีบาดแผลอายุ 1 เดือน เมื่อย้อมด้วยสีฮีมาทอกซีลินและอีโอซินที่กำลังขยาย 100 เท่า โดยแสดง mucous secretory cells: Msc, mucosa: M, submucosa: SM, inner circular smooth muscle layer: CM, longitudinal smooth muscle layer: LM, lamina propria: LP



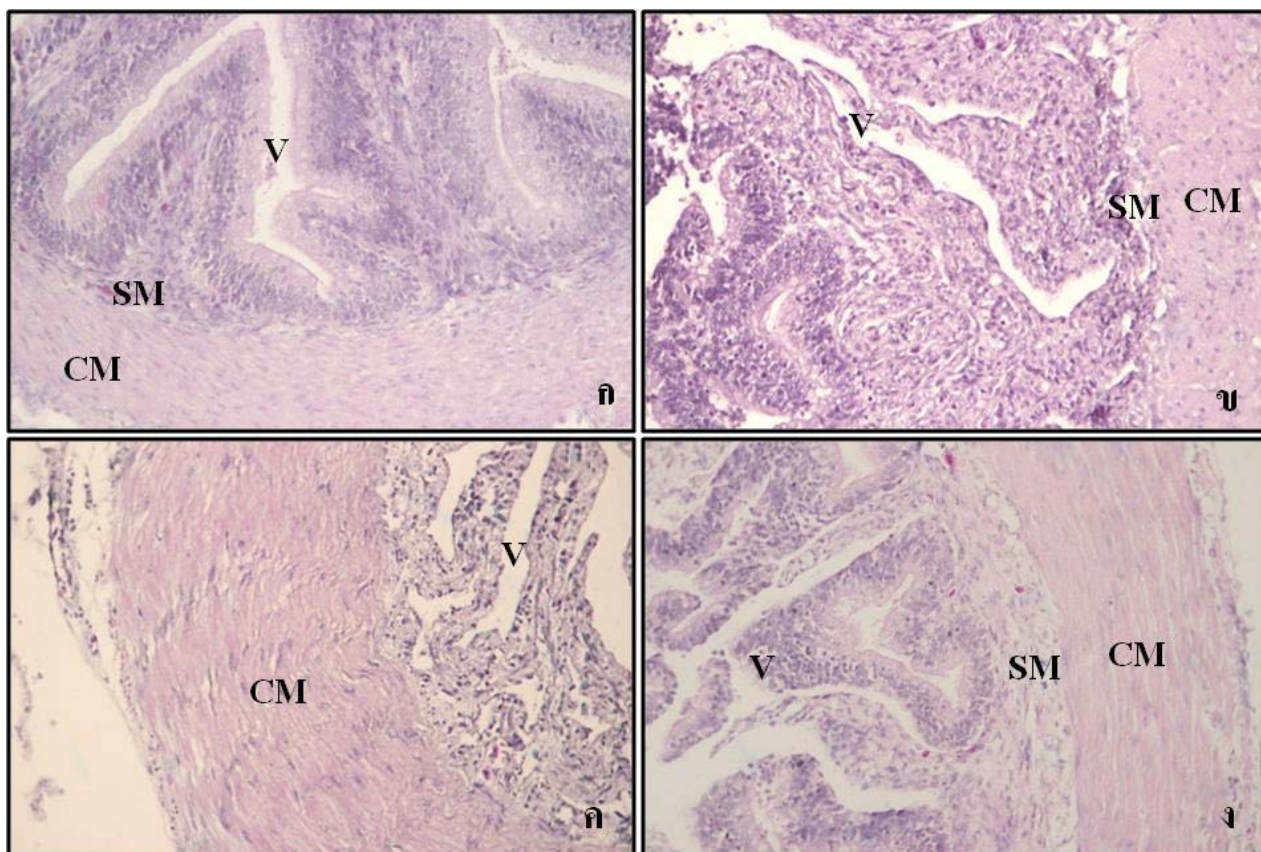
ภาพที่ 32 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (LM) แสดงโครงสร้างเนื้อเยื่อตัดตามขวางกระเพาะอาหาร (stomach) ของลูกเต่าตนุที่ไม่มีบาดแผล (ก) อายุ 1 เดือน (ข) อายุ 2 เดือน (ค) อายุ 3 เดือน และ (ง) 4 เดือน เมื่อย้อมด้วยสีฮีมาทอกซีลีนและอีโอซินที่กำลังขยาย 400 เท่า โดยแสดง lumen: L, mucous-secreting cells: Msc, mucosa: M, submucosa: SM, inner circular smooth muscle layer: CM, longitudinal smooth muscle layer: LM, gastric-glands: Gd



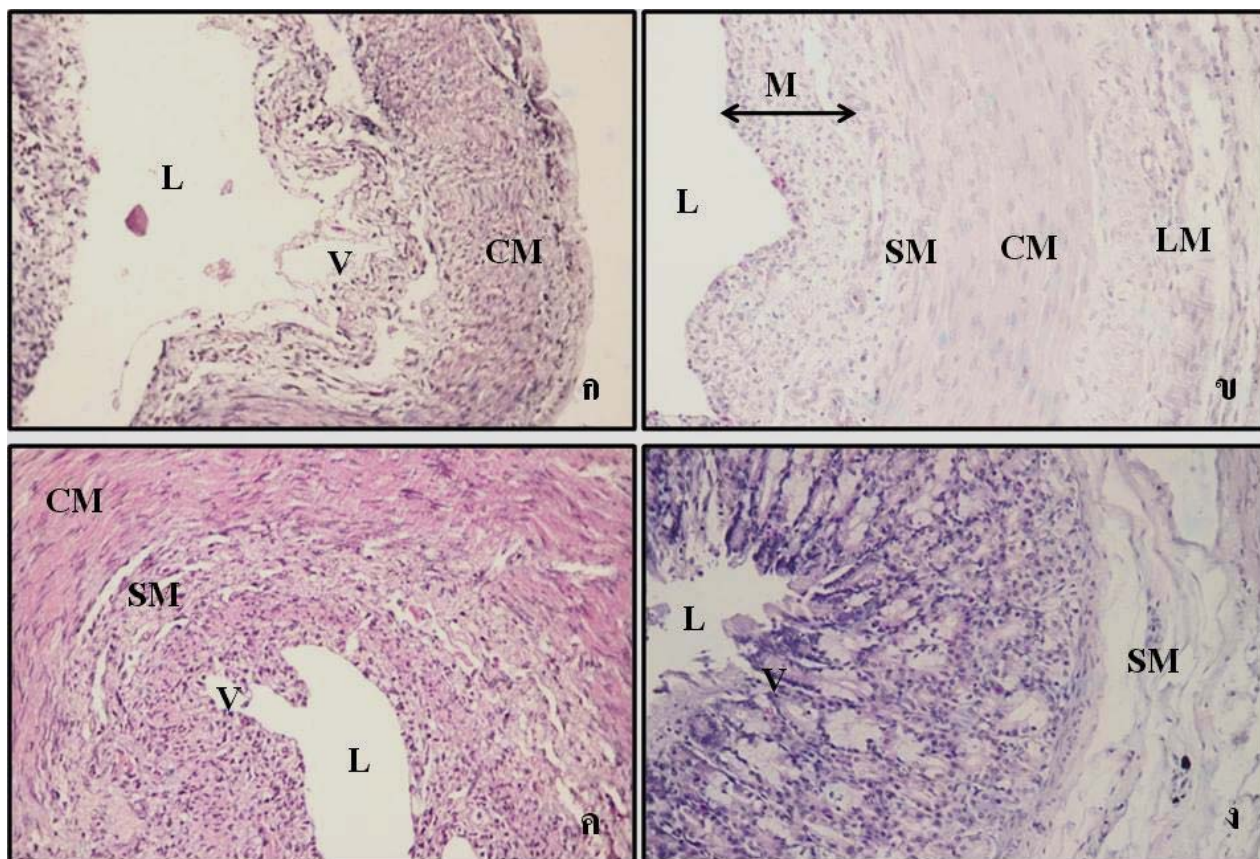
ภาพที่ 33 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (LM) แสดงลักษณะ gastric pits ของกระเพาะอาหารตัดตามขวางในลูกเต่าตนุที่ไม่มีบาดแผลอายุ 4 เดือน เมื่อย้อมด้วย สีฮีมาทอกซีลินและอีโอซินที่กำลังขยาย 1000 เท่า โดยแสดง lumen: L, mucous secretory cells: Msc, gastric pits: GP



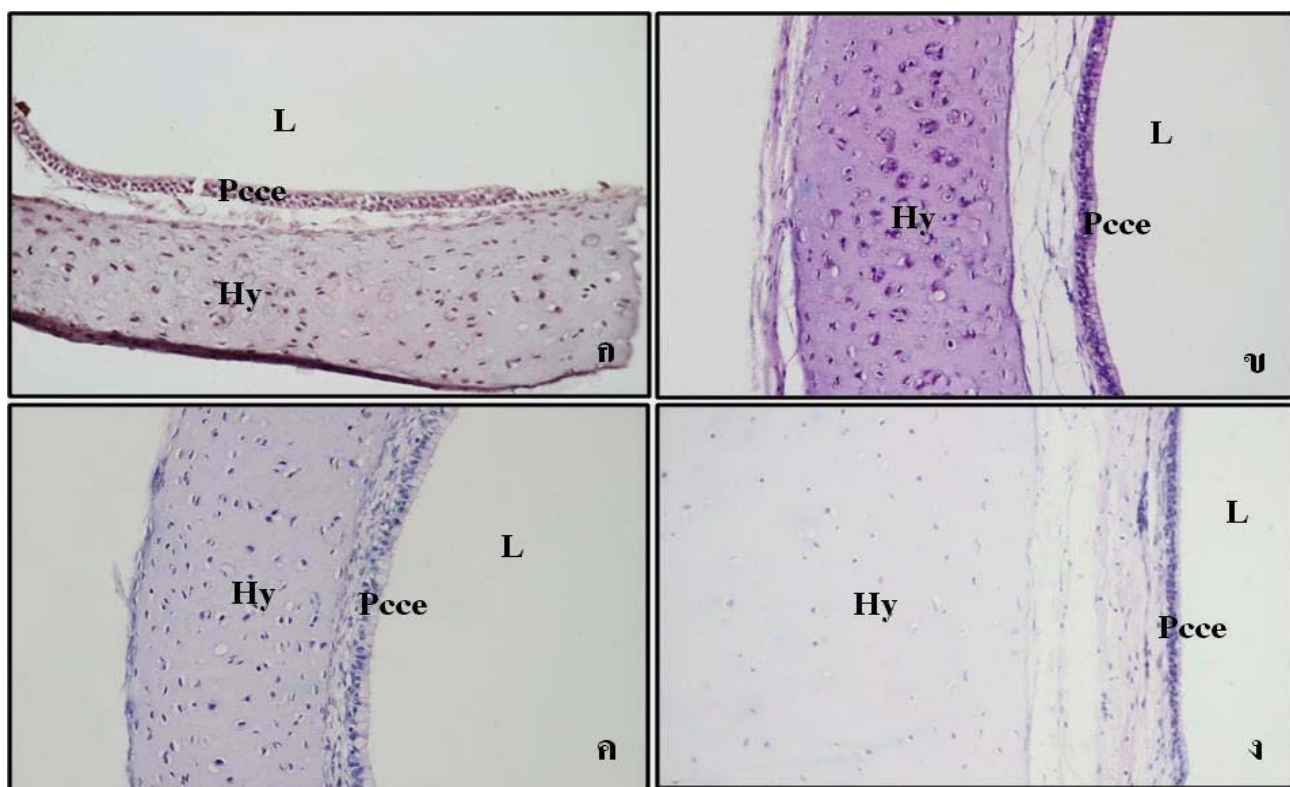
ภาพที่ 34 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (LM) แสดงโครงสร้างเนื้อเยื่อตัดตามขวางของลำไส้เล็กส่วนต้น (duodenum) ในลูกเต่าตนุที่ไม่มีบาดแผล (ก) อายุ 1 เดือน (ค) อายุ 3 เดือน (ง) 4 เดือน และเต่าที่มีบาดแผล (ข) อายุ 2 เดือน เมื่อย้อมด้วยสียีมาทอกซีลินและอีโอซินที่กำลังขยาย 400 เท่า โดยแสดงintestinal villi: V, mucosa: M, submucosa: SM, inner circular smooth muscle layer: CM, longitudinal smooth muscle layer: L



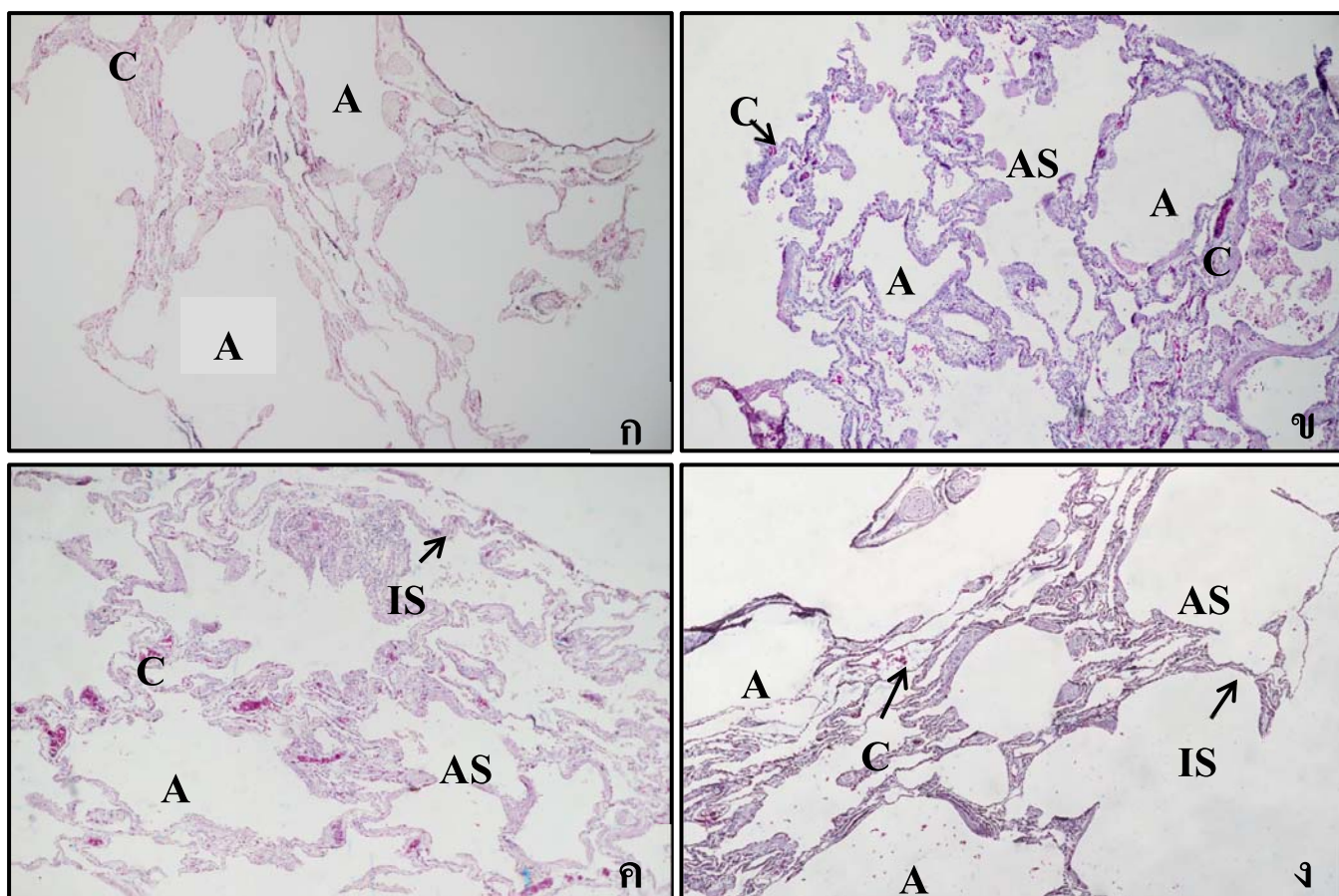
ภาพที่ 35 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (LM) แสดงโครงสร้างเนื้อเยื่อตัดตามขวางของลำไส้เล็กส่วนปลาย (ileum) ในลูกเต่าตุ่นที่ไม่มีบาดแผล (ก) อายุ 1 เดือน (ข) อายุ 2 เดือน (ค) อายุ 3 เดือน และ (ง) 4 เดือน เมื่อย้อมด้วยสีฮีมาทอกซีลินและอีโอซินที่กำลังขยาย 400 เท่า โดยแสดง intestinal villi: V, submucosa: SM, inner circular smooth muscle layer: CM, longitudinal smooth muscle layer: LM



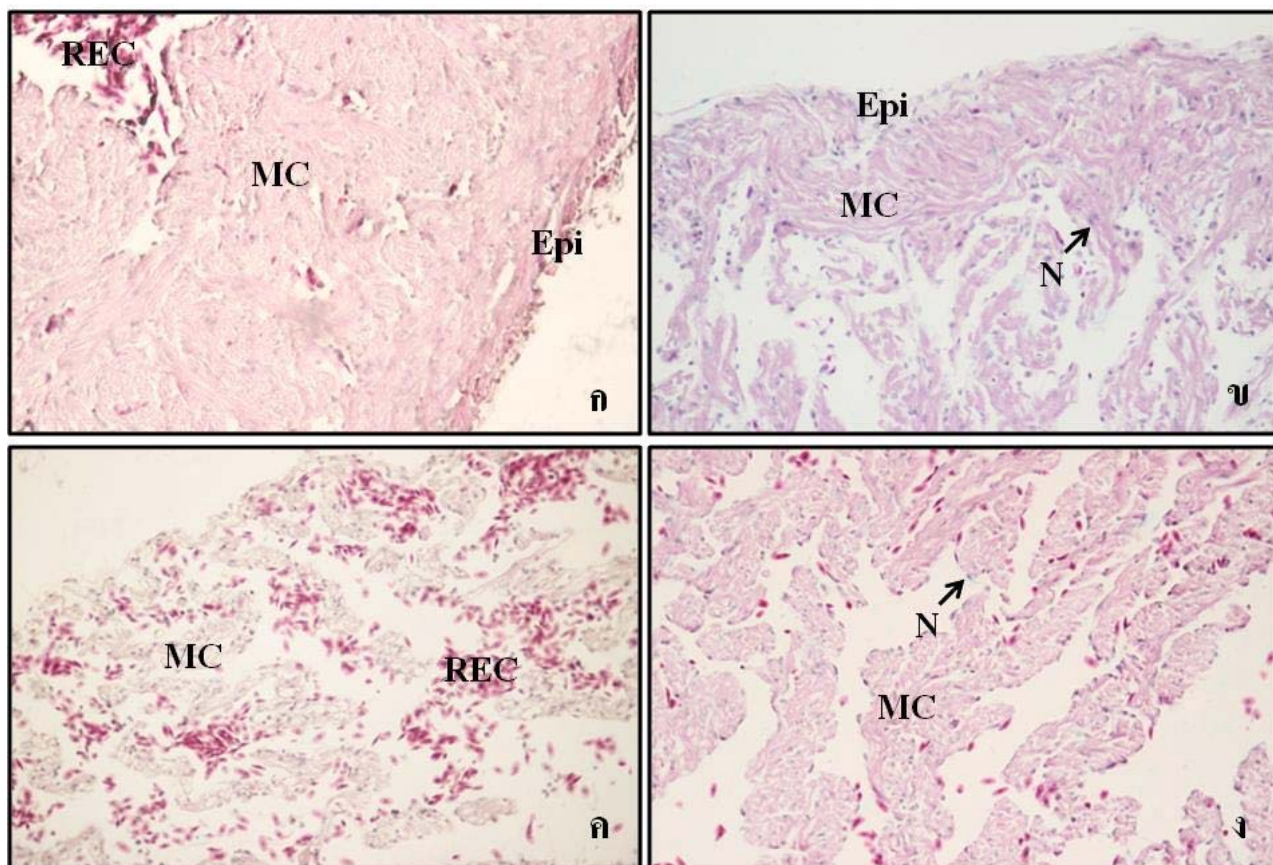
ภาพที่ 36 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (LM) แสดงโครงสร้างเนื้อเยื่อตัดตามขวางของลำไส้ใหญ่ (colon) ในลูกเต่าตนุที่มีบาดแผล (ก) อายุ 1 เดือน และในเต่าที่ไม่มีบาดแผล (ข) อายุ 2 เดือน (ค) อายุ 3 เดือน และ (ง) 4 เดือน ย้อมด้วยสีฮีมาทอกซิลินและอีโอซินที่กำลังขยาย 400 เท่า โดยแสดง lumen: L, intestinal villi: V, mucosa: M, submucosa: SM, inner circular smooth muscle layer: CM, longitudinal smooth muscle layer: LM



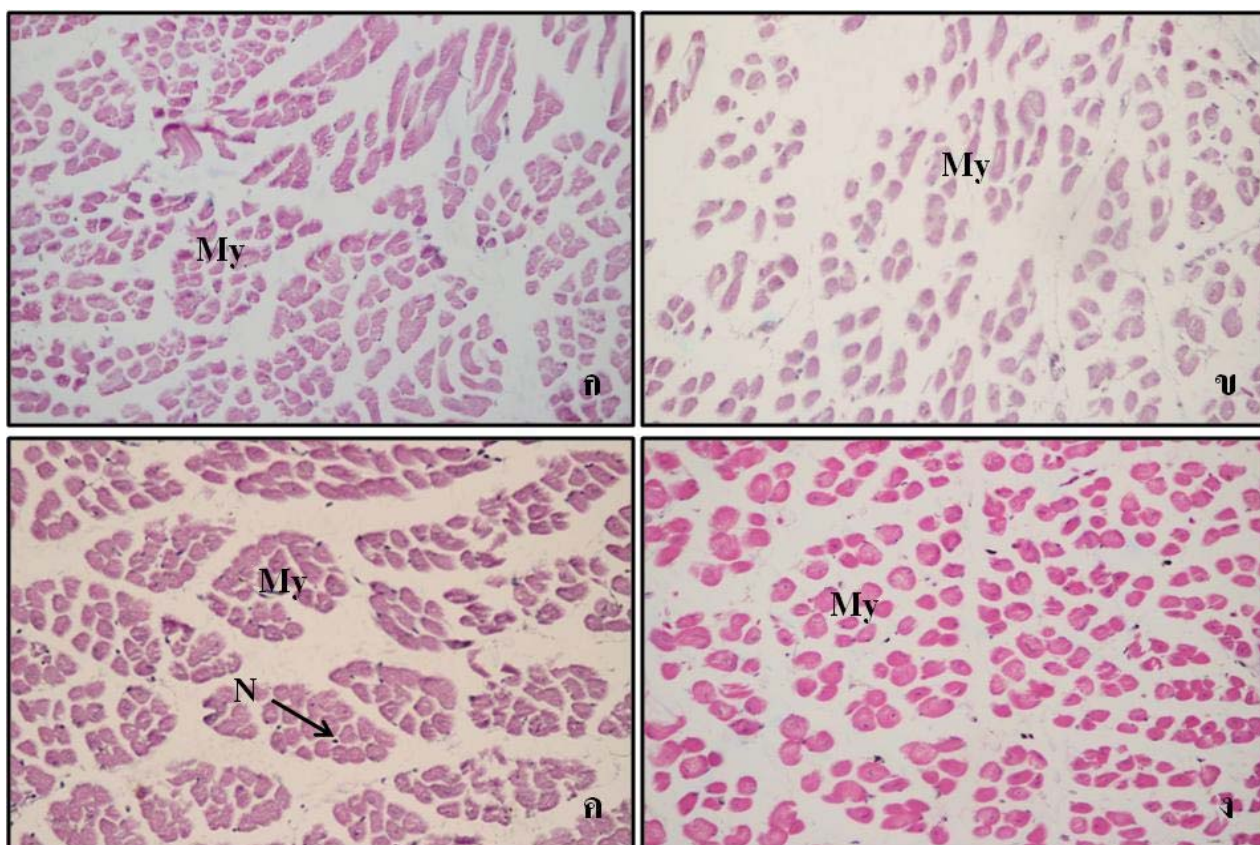
ภาพที่ 37 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (LM) แสดงโครงสร้างเนื้อเยื่อตัดตามขวางของหลอดลม (trachea) ในลูกเต่าตนุในลูกเต่าตนุที่มีบาดแผล (ก) อายุ 1 เดือน (ข) อายุ 2 เดือน และลูกเต่าตนุที่ไม่มีบาดแผล (ค) อายุ 3 เดือน และ (ง) 4 เดือน ย้อมด้วยสีย้อมมาทอกซีลินและอีโอซินที่กำลังขยาย 400 เท่า โดยแสดง lumen: L, hyaline cartilage: Hy, pseudostratified ciliated columnar epithelium: Pcce



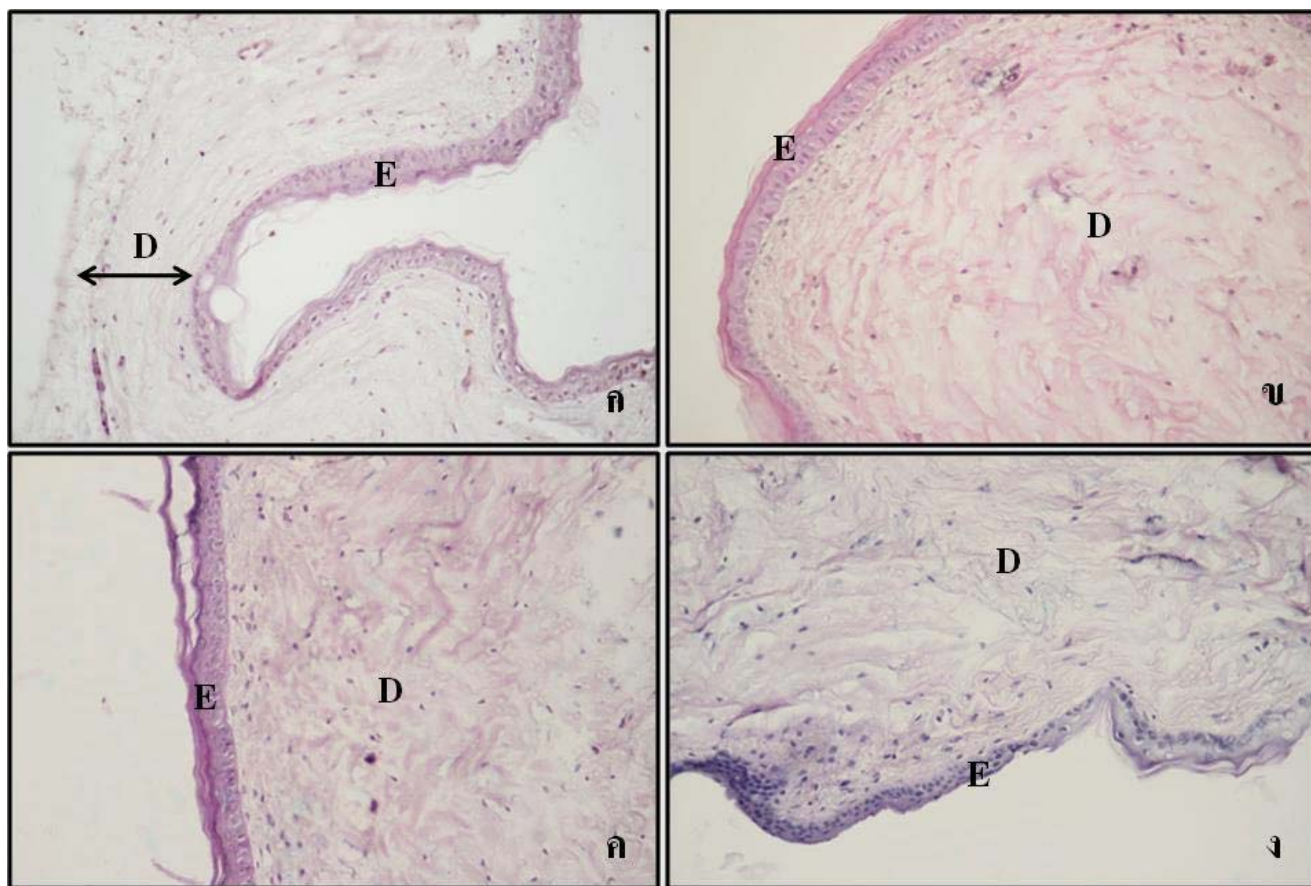
ภาพที่ 38 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (LM) แสดงโครงสร้างเนื้อเยื่อตัดตามขวางของปอด ใน
 ลูกเต่าตนุที่มีบาดแผล (ก) อายุ 1 เดือน และในลูกเต่าตนุที่ไม่มีบาดแผล (ข) อายุ 2 เดือน (ค) อายุ 3
 เดือน และ (ง) อายุ 4 เดือน ย้อมด้วยสีย้อมมาทอกซีลีนและอีโอซินที่กำลังขยาย 400 เท่า โดยแสดงถุง-ลม
 alveolar spaces: AS, alveoli: A, interalveolar septum: IS, capillaries: C



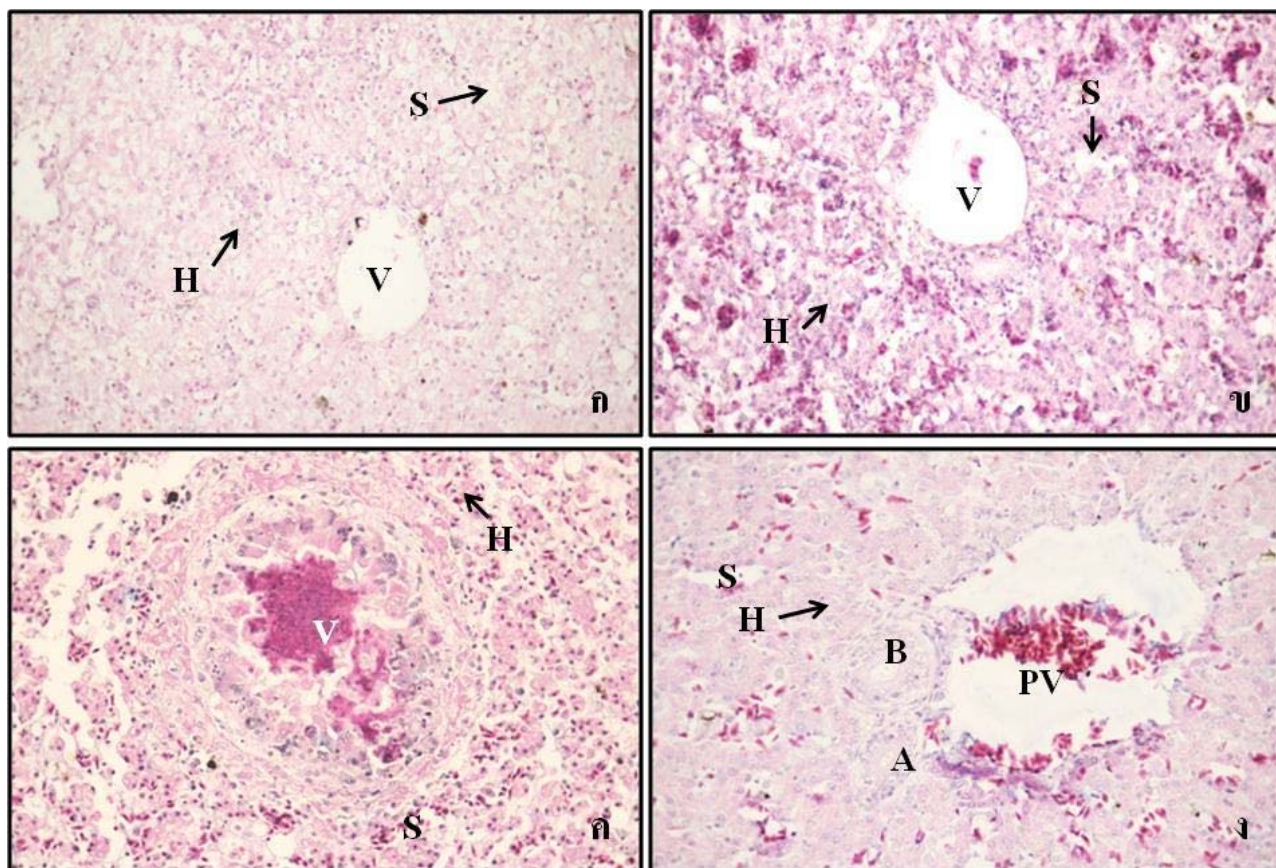
ภาพที่ 39 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (LM) แสดงโครงสร้างเนื้อเยื่อตัดตามขวางของหัวใจในลูกเต่าตนุที่ไม่มีบาดแผล (ก) อายุ 1 เดือน (ข) อายุ 2 เดือน (ค) อายุ 3 เดือน และ (ง) อายุ 4 เดือน ย้อมด้วยสียีมาทอกซีลินและอีโอซินที่กำลังขยาย 400 เท่า โดยแสดง epicardium: Epi, myocardium: MC, nuclei: N, red blood cells: REC



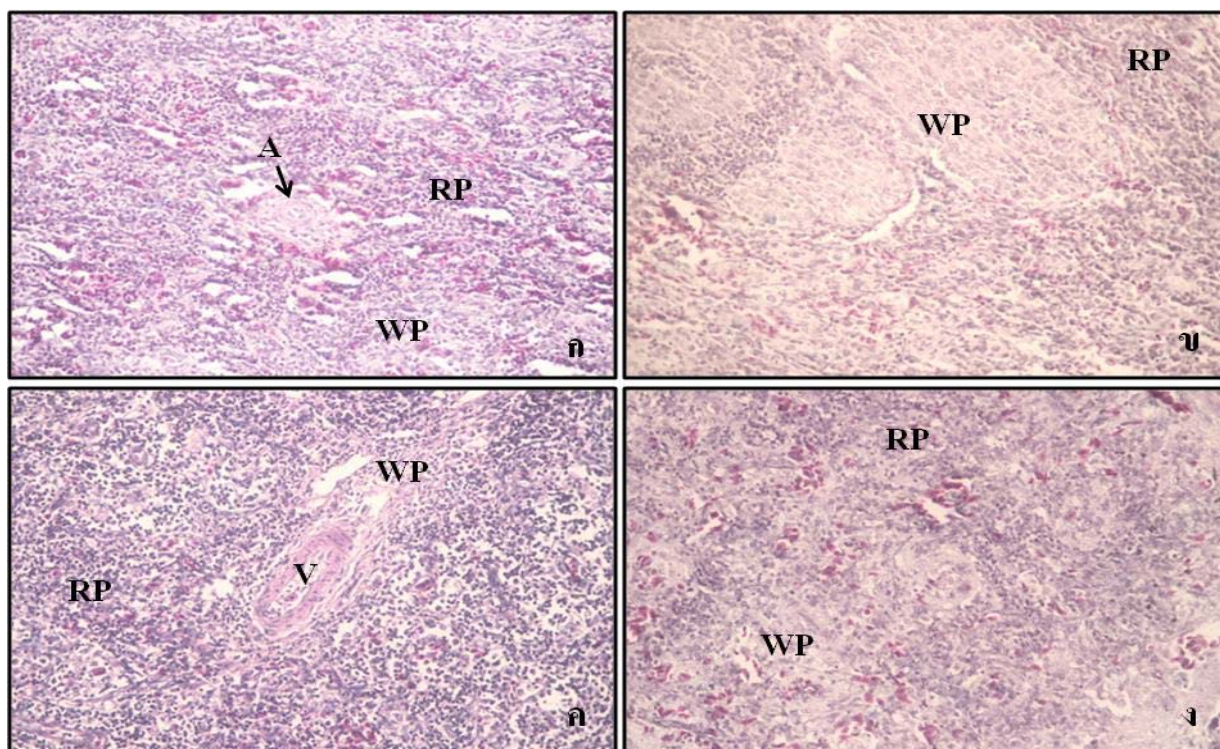
ภาพที่ 40 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (LM) แสดงโครงสร้างเนื้อเยื่อตัดตามขวางของกล้ามเนื้อลาย ในลูกเต่าตนุที่มีบาดแผล (ก) อายุ 1 เดือน (ข) อายุ 2 เดือน และลูกเต่าตนุที่ไม่มีบาดแผล (ค) อายุ 3 เดือน (ง) อายุ 4 เดือน เมื่อย้อมด้วยสียีมาทอกซีลินและอีโอซินที่กำลังขยาย 400 เท่า โดยแสดงให้เห็นมัดกล้ามเนื้อลายประกอบด้วย myofiber: My และ nuclei: N



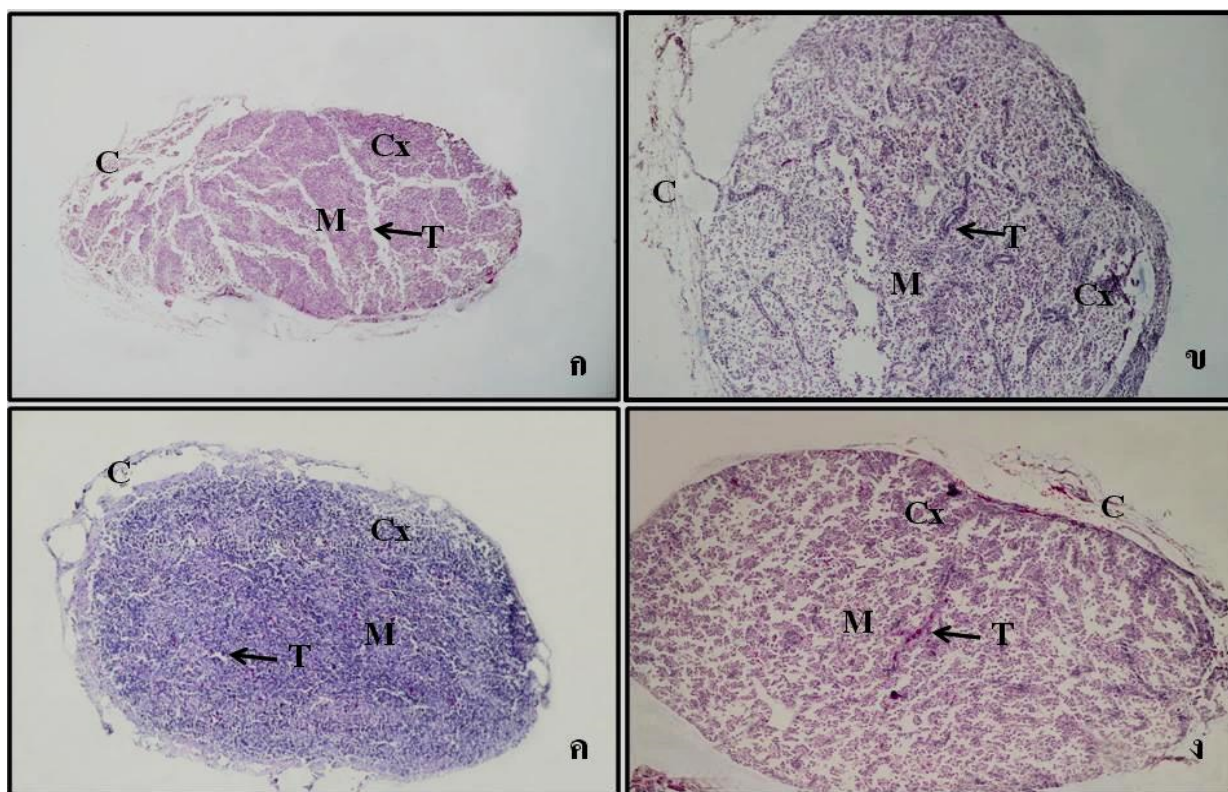
ภาพที่ 41 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (LM) แสดงโครงสร้างเนื้อเยื่อตัดตามขวางของผิวหนังในลูกเต่าตนุที่มีบาดแผล (ก) อายุ 1 เดือน (ข) อายุ 2 เดือน และลูกเต่าตนุที่ไม่มีบาดแผล (ค) อายุ 3 เดือน (ง) อายุ 4 เดือน ย้อมด้วยสีฮีมาทอกซิลินและอีโอซินที่กำลังขยาย 400 เท่า แสดง epidermis: E และ dermis: D



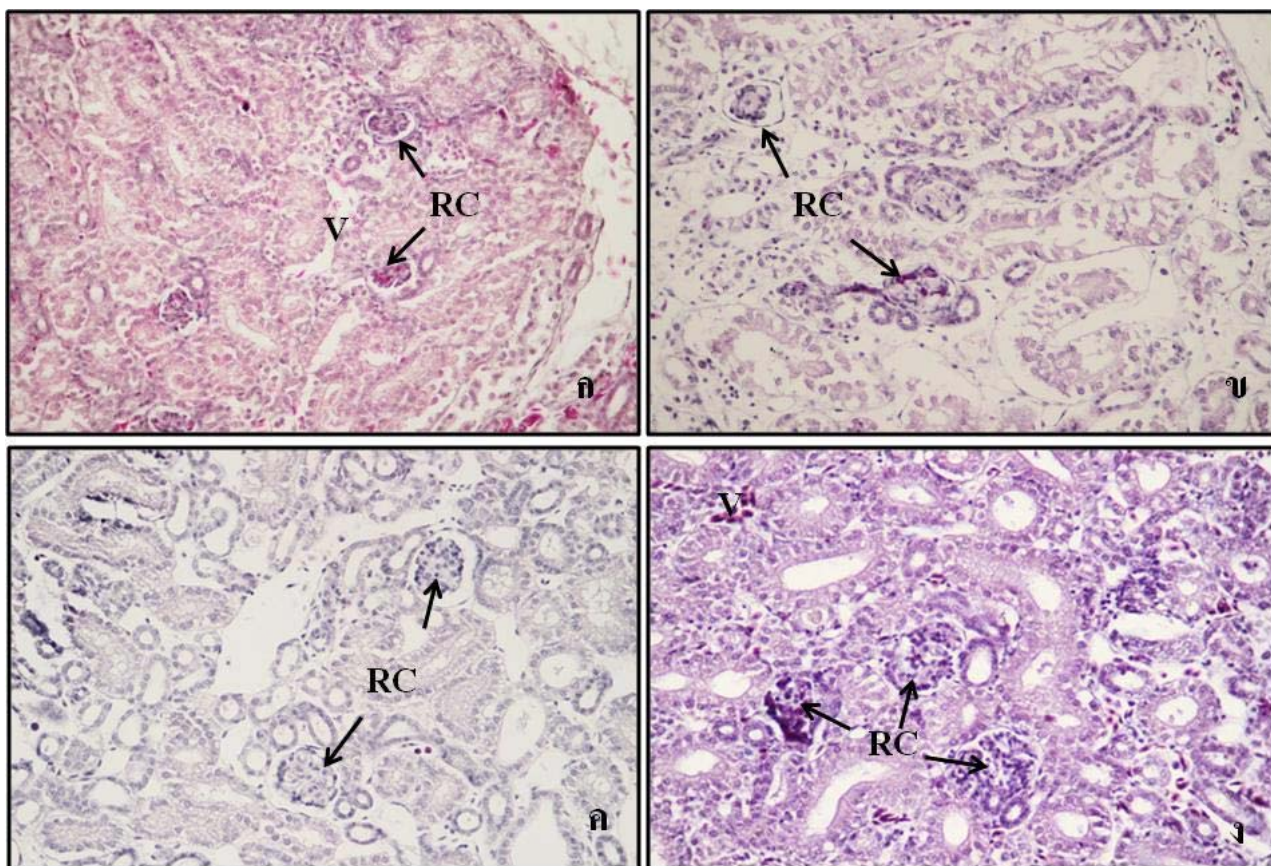
ภาพที่ 42 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (LM) แสดงโครงสร้างเนื้อเยื่อตัดตามขวางของตับ ในลูก
 เต่าตนุที่มีบาดแผล (ก) อายุ 1 เดือน (ข) อายุ 2 เดือน และลูกเต่าตนุที่ไม่มีบาดแผล (ค) อายุ 3 เดือน
 (ง) อายุ 4 เดือน ย้อมด้วยสีย้อมมาทอกซีลินและอีโอซินที่กำลังขยาย 400 เท่า โดยแสดง central vein: V,
 portal vein: PV, hepatocytes: H, sinusoid: S, bile duct: B, hepatic artery: A



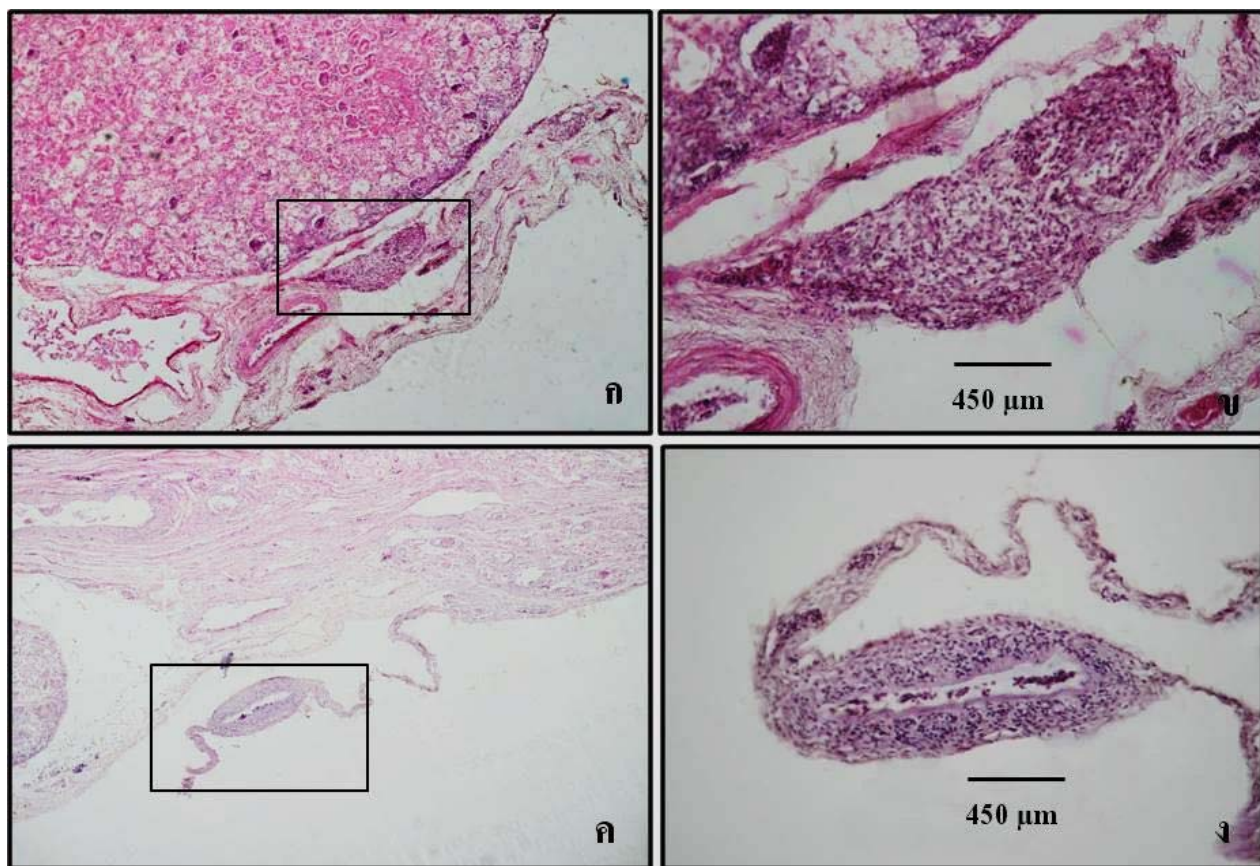
ภาพที่ 43 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (LM) แสดงโครงสร้างเนื้อเยื่อตัดตามขวางของม้ามในลูกเต่าตนุที่ไม่มีบาดแผล (ก) อายุ 1 เดือน (ข) อายุ 2 เดือน (ค) อายุ 3 เดือน และ (ง) อายุ 4 เดือน ย้อมด้วยสีฮีมาทอกซีลินและอีโอซินที่กำลังขยาย 400 เท่า โดยแสดง central arteriole: A, white pulp: WP, red pulp: RP, trabecular vessel: V



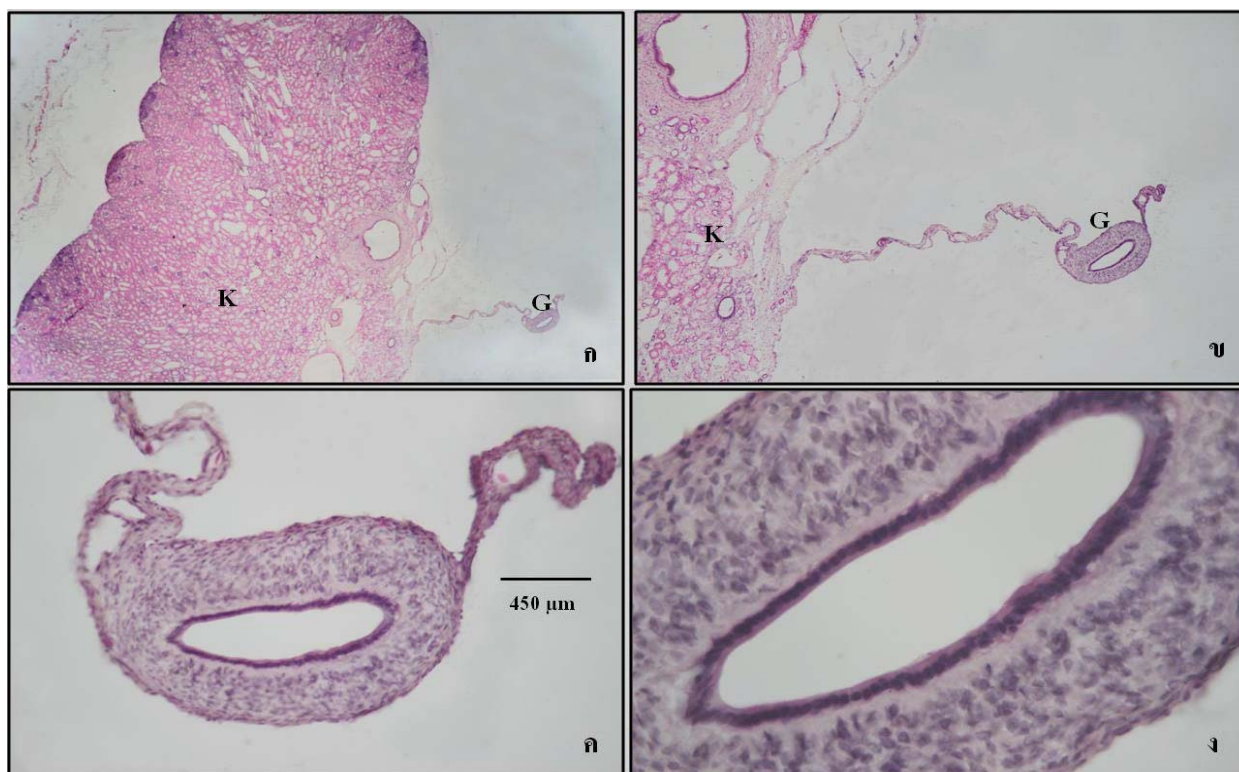
ภาพที่ 44 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (LM) แสดงโครงสร้างเนื้อเยื่อตัดตามขวางของต่อม
 หมวกไต ในลูกเต่าตุ่นที่มีบาดแผล (ก) อายุ 1 เดือน และลูกเต่าตุ่นที่ไม่มีบาดแผล (ข) อายุ 2 เดือน (ค)
 อายุ 3 เดือน (ง) อายุ 4 เดือน ย้อมด้วยสีย้อมมาทอกซีลินและอีโอซินที่กำลังขยาย 100 เท่าโดยแสดง
 capsule: C, trabeculae: T, cortex: Cx, medulla: M



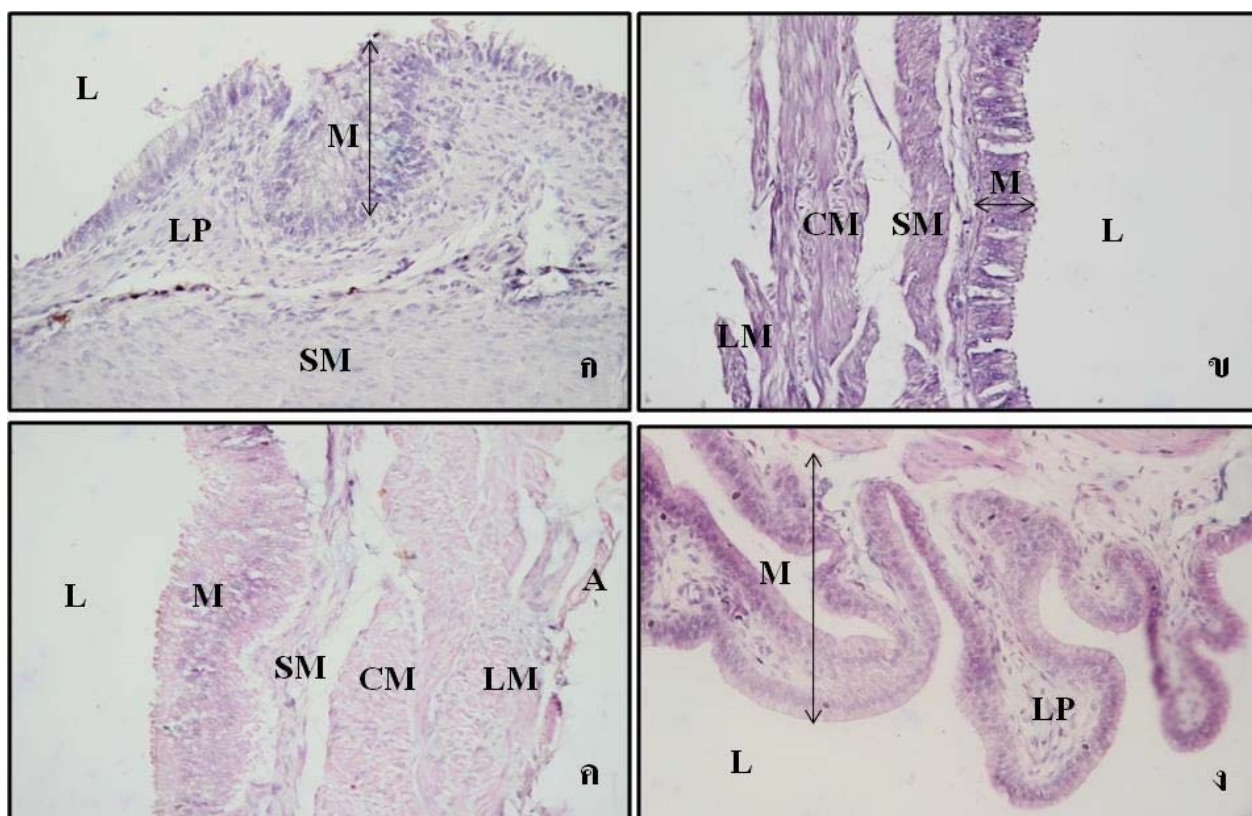
ภาพที่ 45 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (LM) แสดงโครงสร้างเนื้อเยื่อตัดตามขวางของไตในลูกเต่าตนุที่มีบาดแผล (ก) อายุ 1 เดือน และลูกเต่าตนุที่ไม่มีบาดแผล (ข) อายุ 2 เดือน (ค) อายุ 3 เดือน และ (ง) อายุ 4 เดือน ย้อมด้วยสีฮีมาทอกซีลินและอีโอซินที่กำลังขยาย 400 เท่า โดยแสดงให้เห็น renal corpuscles: RC และ vessels: V



ภาพที่ 46 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (LM) แสดงเนื้อเยื่อตัดตามขวางของต่อมบ่งเพศในลูก
 เต่าตนุอายุ 6 เดือนโดยแสดงลักษณะของรังไข่ของเพศเมีย (ก) กำลังขยาย 40 เท่า (ข) กำลังขยาย 100
 เท่า และลักษณะของท่อนำไข่ (ค) กำลังขยาย 400 เท่า (ง) กำลังขยาย 1000 เท่า ย้อมด้วยสีฮีมาทอกซี
 ลินและอีโอซิน



ภาพที่ 47 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (LM) แสดงโครงสร้างเนื้อเยื่อตัดตามขวางของต่อมบ่งเพศในลูกเต่าตนุอายุ 6 เดือน (ก) กำลังขยาย 40 เท่า (ข) กำลังขยาย 100 เท่า (ค) กำลังขยาย 400 เท่า และ (ง) กำลังขยาย 1000 เท่า ย้อมด้วยสีฮีมาทอกซิลินและอีโอซิน แสดงท่อนำไข่มีรูภายในท่อชัดเจนผนังภายในประกอบด้วยเนื้อเยื่อชนิด columnar epithelium และมีก้านสต็อค (stalk) ที่ยาวพบได้บริเวณด้านข้างของไต (kidney: K, gonad: G)



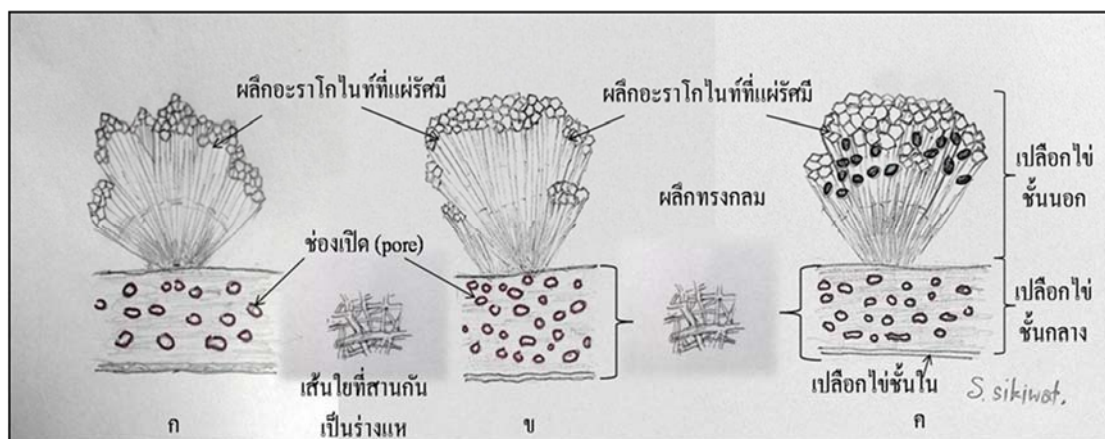
ภาพที่ 48 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (LM) แสดงโครงสร้างเนื้อเยื่อตัดตามขวางของกระเพาะปัสสาวะลูกเต่าตนุที่ไม่มีบาดแผล (ก) อายุ 1 เดือน (ข) อายุ 2 เดือน (ค) อายุ 3 เดือน ที่กำลังขยาย 400 เท่า และ (ง) 4 เดือน ที่กำลังขยาย 1000 เท่า ย้อมด้วยสีฮีมาทอกซีลินและอีโอซิน แสดง lumen: L, transitional epithelium, submucosa: SM, inner circular smooth muscle layer: CM, longitudinal smooth muscle layer: LM, lamina propria: LP, adventitia: A

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ (Conclusion and Recommendation)

1. ศึกษาสัณฐานวิทยาและโครงสร้างของเปลือกไข่เต่าตนุ เต่ามะเฟืองและเต่ากระ

1.1 ชั้นของเปลือกไข่เต่าทะเล

การศึกษาสัณฐานวิทยาและโครงสร้างอย่างละเอียดของเปลือกไข่เต่าตนุ เต่ามะเฟืองและเต่ากระด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดโดยใช้หัวตรวจวัด SEI พบว่าเปลือกไข่เต่าทะเลประกอบด้วย 3 ชั้น คือ ชั้นนอก ชั้นกลางและชั้นใน ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของสุรัสวดี (2552) ที่ศึกษาเปลือกไข่ทะเล 3 ชนิด คือ ไข่เต่าตนุ เต่ามะเฟืองและเต่ากระด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดโดยใช้หัวตรวจวัด SEI พบว่าเปลือกไข่เต่าทะเลประกอบด้วย 3 ชั้น คือ ชั้นนอก ชั้นกลาง และชั้นใน ชั้นนอกมีลักษณะเป็นผลึกหนามแหลมรวมตัวกันเป็นกลุ่มแผ่รัศมี เมื่อศึกษาด้านข้างของเปลือกไข่พบว่า มีลักษณะคล้ายรูปพัด ในแต่ละกลุ่มผลึกของเต่าแต่ละชนิด มีลักษณะที่แตกต่างกันโดยเต่าตนุและเต่ามะเฟืองมีกลุ่มผลึกที่มีผลึกหนามแหลมรวมตัวกันเป็นกลุ่มรัศมี ซึ่งในเต่ามะเฟืองจะมีผลึกหนามแหลมที่เรียวเล็กกว่าของเต่าตนุ ส่วนในเต่ากระ มีผลึกทรงกลมแทรกอยู่ระหว่างผลึกหนามแหลมที่เรียวตัวชิดติดกันแน่น เมื่อศึกษาผิวด้านบนของเปลือกไข่ชั้นนอกของเต่าตนุมีกลุ่มผลึกเรียวตัวชิดติดกันแน่นในแนวระนาบอย่างสม่ำเสมอมากกว่าในเต่ากระ ส่วนในเต่ามะเฟืองมีกลุ่มผลึกเรียวตัวชิดติดกันแน่นในแนวระนาบอย่างไม่สม่ำเสมอทำให้เห็นผิวด้านบนของเปลือกไข่ชั้นนอกมีความสูงต่ำไม่เท่ากัน บริเวณตรงกลางของกลุ่มผลึกยึดติดกับฐานเปลือกไข่ชั้นกลาง (Mitrus, 2003) อาจมีรูเดี่ยวหรือหลายรูมีขนาดประมาณ 4-15 ไมโครเมตร ในเต่าทั้ง 3 ชนิด ในแต่ละรูเชื่อมต่อกันระหว่างเปลือกไข่ชั้นนอกและเปลือกไข่ชั้นกลาง ความหนาของเปลือกไข่ชั้นนอกและชั้นกลางของเต่าทั้ง 3 ชนิด มีความหนาค่อนข้างใกล้เคียงกัน เปลือกไข่ชั้นกลางประกอบด้วยโครงสร้างของเส้นใยสานกันเป็นร่างแหแน่นและมีช่องว่างระหว่างเส้นใยที่สานกัน มีลักษณะคล้ายกับรูพรุนและเป็นช่องทางสำหรับกระบวนการแลกเปลี่ยนก๊าซระหว่างตัวอ่อนที่อยู่ภายในเปลือกไข่กับสิ่งแวดล้อมภายนอก (Al-Bahry และคณะ, 2011) ส่วนเปลือกไข่ชั้นในมีลักษณะเป็นโครงสร้างเส้นใยสานกันเป็นร่างแหอัดแน่นทั้งชั้น ซึ่งเส้นใยสานกันแน่นกว่าเปลือกไข่ชั้นกลางมาก (สุรัสวดี, 2552; ศันสรียา, 2540; Sahoo และคณะ, 2009; Al-Bahry และคณะ, 2009) ลักษณะเปลือกไข่ชั้นนอกของเต่าทั้ง 3 ชนิด มีความแตกต่างกัน สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการจำแนกชนิดเต่าทะเลในเบื้องต้นได้ โดยได้รูปแบบ (model) ของเปลือกไข่เต่าทะเลทั้ง 3 ชนิด ดังนี้



แสดงรูปแบบ (model) ของเปลือกไข่เต่าทะเล (ก) เปลือกไข่เต่าตนุ (ข) เต่ามะเฟืองและ (ค) เปลือกไข่เต่ากระ โดยเปลือกไข่เต่าทะเลประกอบด้วย 3 ชั้น คือ ชั้นนอก ชั้นกลาง และชั้นใน ชั้นนอกมีลักษณะเป็นผลึกหยาบแหลมรวมตัวกันเป็นกลุ่มแผ่รัศมี เมื่อศึกษาด้านข้างของเปลือกไข่พบว่า มีลักษณะคล้ายรูปพัด ในแต่ละกลุ่มผลึกชั้นนอกของเต่าแต่ละชนิดมีลักษณะที่ต่างกันอย่างเห็นได้ชัดสามารถนำมาใช้ประกอบในการแยกชนิดของเต่าทะเลได้ โดยเต่าตนุและเต่ามะเฟืองมีกลุ่มผลึกที่เป็นผลึกหยาบแหลมรวมตัวกันเป็นกลุ่มแผ่รัศมี ซึ่งในเต่ามะเฟืองจะมีผลึกหยาบแหลมที่เรียวเล็กกว่าผลึกของเต่าตนุ ในเต่ากระมีผลึกรูปทรงกลมแทรกอยู่ระหว่างผลึกหยาบแหลมที่เรียงตัวชิดติดกันแน่น ส่วนเปลือกไข่ชั้นกลางและชั้นในจะเหมือนกันทั้ง 3 ชนิด โดยชั้นกลางเป็นเส้นใยสานเป็นร่างแหอัดแน่นทั้งชั้น และชั้นในเป็นร่างแหที่สานกันบางๆ

1.2 ความหนาของชั้นเปลือกไข่เต่าทะเล

ผลจากการวัดความหนาของเปลือกไข่เต่าทะเลรวมทั้ง 3 ชั้นของเต่าตนุ เต่ามะเฟืองและเต่ากระ พบว่าเปลือกไข่เต่ามะเฟืองและเต่ากระหนากว่าเต่าตนุอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ความหนาของเปลือกไข่เต่าตนุ เต่ากระและเต่ามะเฟืองเท่ากับ 205.23 ± 40.35 ไมโครเมตร 238.80 ± 45.81 ไมโครเมตรและ 260.67 ± 43.65 ไมโครเมตร ตามลำดับ ความหนาของชั้นนอกของเต่าตนุ เต่ามะเฟืองและเต่ากระเท่ากับ 92.10 ± 30.73 ไมโครเมตร 120.42 ± 25.14 ไมโครเมตรและ 122.08 ± 30.82 ไมโครเมตร ตามลำดับ ความหนาของชั้นกลางของเต่าตนุ เต่ากระและเต่ามะเฟืองเท่ากับ 105.49 ± 14.97 ไมโครเมตร 110.82 ± 28.92 ไมโครเมตร และ 131.48 ± 24.14 ไมโครเมตร ตามลำดับ ความหนาของชั้นในของเต่ากระ เต่าตนุและเต่ามะเฟืองเท่ากับ 5.90 ± 1.98 ไมโครเมตร 7.09 ± 2.65 ไมโครเมตรและ 8.78 ± 2.28 ไมโครเมตร ตามลำดับ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Al-Bahry และคณะ (2009) ศึกษาเปลือกไข่เต่าตนุก่อนเพาะฟัก เปลือกไข่ชั้นนอกมีความหนาประมาณ 200.00 ถึง 263.90 ไมโครเมตรซึ่งมีลักษณะเป็นผลึกก้อนกลม มีรูปร่างและขนาดแตกต่างกันและผลึกหยาบแหลม

รวมตัวเป็นกลุ่มก้อน ส่วนชั้นกลาง มีความหนาประมาณ 106.20 ถึง 131.10 ไมโครเมตร มีลักษณะเป็นเส้นใยที่สานระหว่างกันอัดแน่นทั้งชั้น และชั้นในมีความหนาประมาณ 2.90 ถึง 3.90 ไมโครเมตร ซึ่งประกอบไปด้วยเส้นใยที่สานเป็นร่างแห มีรูเปิดของโครงร่างเส้นใยระหว่างชั้นกลางและชั้นใน ซึ่งต่างกับงานวิจัยของสุรัสวดี (2552) ศึกษาเปลือกไข่เต่าทะเลของเต่าตนุ เต่ามะเฟืองและเต่ากระ พบว่าเปลือกไข่เต่ามะเฟืองและเต่ากระบางกว่าเต่าตนุอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ความหนาของเปลือกไข่เต่าเต่าตนุ เต่ามะเฟืองและเต่ากระ เท่ากับ 251.92 ± 40.86 ไมโครเมตร 236.94 ± 19.28 ไมโครเมตร และ 237.57 ± 18.32 ไมโครเมตร ตามลำดับ แต่อย่างไรก็ตามยังมีผลสอดคล้องเกี่ยวกับความหนาของเปลือกไข่ของเต่าทะเลทั้ง 3 ชนิด เปลือกไข่ชั้นนอกมีความหนาประมาณ 83.67 ถึง 129.88 ไมโครเมตร เปลือกไข่ชั้นกลางมีความหนาประมาณ 108.06 ถึง 144.20 ไมโครเมตร และเปลือกไข่ชั้นในมีความหนาประมาณ 3.82 ถึง 11.38 ไมโครเมตร จากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าเปลือกไข่ชั้นในของเต่าทั้ง 3 ชนิด บางกว่าเปลือกไข่ชั้นนอกและชั้นกลางอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เปลือกไข่ของเต่ามะเฟืองและเต่ากระมีความหนาของเปลือกไข่ชั้นนอกมากกว่าเต่าตนุอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ส่วนในเปลือกไข่ชั้นกลางของเต่ามะเฟืองมีความหนามากกว่าเปลือกไข่ชั้นกลางของเต่าตนุและเต่ากระอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) แต่ความหนาของเปลือกไข่ชั้นในของเต่าตนุและเต่ากระบางกว่าเต่ามะเฟืองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ความหนาของเปลือกไข่เต่าทะเลทั้ง 3 ชนิด ในแต่ละชั้นมีความแตกต่างกัน

2. ศึกษาธาตุองค์ประกอบของเปลือกไข่เต่าตนุ เต่ามะเฟืองและเต่ากระด้วยหัวตรวจวัด EDX

ผลจากการศึกษาพบว่าเปลือกไข่เต่าตนุประกอบด้วยธาตุจากมากไปน้อยดังนี้ คาร์บอน (50.76 ถึง 68.18 เปอร์เซ็นต์) ออกซิเจน (24.40 ถึง 38.48 เปอร์เซ็นต์) แคลเซียม (0.80 ถึง 7.07 เปอร์เซ็นต์) กำมะถัน (2.77 ถึง 5.51 เปอร์เซ็นต์) ฟลูออรีน (0.09 ถึง 0.26 เปอร์เซ็นต์) ซิลิกอน (0.06 ถึง 0.27 เปอร์เซ็นต์) ไอโอดีน (0.04 ถึง 0.27 เปอร์เซ็นต์) คลอรีน (0.08 ถึง 0.17 เปอร์เซ็นต์) โซเดียม (0.06 ถึง 0.13 เปอร์เซ็นต์) แมกนีเซียม (0.04 ถึง 0.15 เปอร์เซ็นต์) ฟอสฟอรัส (0.03 ถึง 0.06 เปอร์เซ็นต์) โบรมีน (0.03 ถึง 0.04 เปอร์เซ็นต์) และอะลูมิเนียม (0.02 ถึง 0.03 เปอร์เซ็นต์) ตามลำดับ คล้ายกับงานวิจัยของ สุรัสวดี, 2552; Mitrus, 2003; Sahoo และคณะ, 2009; Al-Bahry และคณะ, 2009 โดยมี คาร์บอน ออกซิเจน และแคลเซียม เป็นธาตุองค์ประกอบหลักของเปลือกไข่เต่าทะเลสอดคล้องกับงานวิจัยของ Al-Bahry และคณะ (2009) ทำการศึกษาองค์ประกอบธาตุของเต่าตนุด้วย EDX พบว่าเปลือกไข่เต่าตนุประกอบด้วยธาตุคาร์บอน ออกซิเจน และแคลเซียมและมีธาตุอื่นๆ ในปริมาณน้อยมากในเปลือกไข่ทั้งก่อนและหลังเพาะฟัก พบว่ามีปริมาณแคลเซียมในเปลือกไข่หลังเพาะฟักในเปลือกไข่ชั้นนอกและชั้นกลางลดลงอย่างมีนัยสำคัญ และสอดคล้องกับงานวิจัยของสุรัสวดี (2552) ศึกษา

องค์ประกอบธาตุของเปลือกไข่เต่าทะเลทั้ง 3 ชนิด ด้วย EDX โดยเปลือกไข่เต่าตื้นพบว่าคาร์บอน (48.32 ถึง 63.35 เปอร์เซ็นต์) ออกซิเจน (33.09 ถึง 43.36 เปอร์เซ็นต์) แคลเซียม (0.36 ถึง 5.72 เปอร์เซ็นต์) และมีธาตุอื่นๆ ในปริมาณน้อยเช่น กำมะถัน โซเดียม คลอรีน ซิลิกอน แมกนีเซียมและอื่นๆ

เปลือกไข่เต่ามะเฟืองประกอบด้วยธาตุจากมากไปน้อยดังนี้ คาร์บอน (34.58 ถึง 67.59 เปอร์เซ็นต์) ออกซิเจน (25.23 ถึง 42.82 เปอร์เซ็นต์) แคลเซียม (2.03 ถึง 20.16 เปอร์เซ็นต์) กำมะถัน (1.89 ถึง 4.82 เปอร์เซ็นต์) โมลิบดีนัม (0.09 ถึง 0.26 เปอร์เซ็นต์) ซิลิกอน (0.08 ถึง 0.26 เปอร์เซ็นต์) โบรมีน (0.11 ถึง 0.13 เปอร์เซ็นต์) โซเดียม (0.06 ถึง 0.19 เปอร์เซ็นต์) ฟลูออรีน (0.07 ถึง 0.12 เปอร์เซ็นต์) อะลูมิเนียม (0.06 ถึง 0.10 เปอร์เซ็นต์) แมกนีเซียม (0.04 ถึง 0.15 เปอร์เซ็นต์) ไอโอดีน (0.06 ถึง 0.12 เปอร์เซ็นต์) คลอรีน (0.06 ถึง 0.11 เปอร์เซ็นต์) ฟอสฟอรัส (0.02 ถึง 0.03 เปอร์เซ็นต์) เหล็ก (0.04 เปอร์เซ็นต์) และโพแทสเซียม (0.01 เปอร์เซ็นต์) ตามลำดับ (สุรัสวดี, 2552; Solomon และ Watt, 1985; Sahoo และคณะ, 2010)

เปลือกไข่เต่ากระประกอบด้วยธาตุจากมากไปน้อยดังนี้ คาร์บอน (28.91 ถึง 67.11 เปอร์เซ็นต์) ออกซิเจน (27.82 ถึง 43.75 เปอร์เซ็นต์) แคลเซียม (1.53 ถึง 25.84 เปอร์เซ็นต์) กำมะถัน (0.79 ถึง 3.55 เปอร์เซ็นต์) โบรมีน (0.22 ถึง 0.29 เปอร์เซ็นต์) คลอรีน (0.08 ถึง 0.42 เปอร์เซ็นต์) โมลิบดีนัม (0.16 ถึง 0.27 เปอร์เซ็นต์) ซิลิกอน (0.04 ถึง 0.31 เปอร์เซ็นต์) ฟลูออรีน (0.05 ถึง 0.15 เปอร์เซ็นต์) โซเดียม (0.04 ถึง 0.18 เปอร์เซ็นต์) แมกนีเซียม (0.02 ถึง 0.06 เปอร์เซ็นต์) ไอโอดีน (0.05 ถึง 0.18 เปอร์เซ็นต์) อะลูมิเนียม (0.03 ถึง 0.14 เปอร์เซ็นต์) และฟอสฟอรัส (0.02 ถึง 0.04 เปอร์เซ็นต์) ตามลำดับ (สุรัสวดี, 2552; Sahoo และคณะ, 1998; Kitimasak และคณะ, 2003 Mitrus, 2003; Sahoo และคณะ, 2009; Al-Bahry และคณะ, 2009; 2011)

ผลจากวิเคราะห์ธาตุองค์ประกอบของเปลือกไข่ในแต่ละชั้นของเต่าทั้ง 3 ชนิด สอดคล้องกับแผน ที่ธาตุโดยการเปรียบเทียบเปลือกไข่ชั้น 3 ชั้นพบว่าเปลือกไข่มีการกระจายตัวของคาร์บอน ออกซิเจน และแคลเซียม ซึ่งเป็นสารประกอบของแคลเซียมคาร์บอเนตที่ประกอบด้วยกลุ่มผลึกหยาบแหลมรวมตัว กันแผ่รัศมีในเปลือกไข่ชั้นนอก โดยเปอร์เซ็นต์ของแคลเซียมส่วนใหญ่มีการสะสมในเปลือกไข่ชั้นนอก มากกว่าเปลือกไข่ชั้นอื่นๆ แต่เปอร์เซ็นต์ของคาร์บอนและออกซิเจนในเปลือกไข่ชั้นนอกน้อยที่สุดอย่างมี นัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ส่วนคาร์บอน ออกซิเจน โซเดียม คลอรีน อะลูมิเนียม กำมะถัน แมกนีเซียม ฟอสฟอรัส มีการกระจายตัวอยู่ทั่วไปในเปลือกไข่ทั้ง 3 ชั้น พบการปนเปื้อนของธาตุโลหะ หนักคือ โมลิบดีนัม ซึ่งพบในทุกชั้นของเปลือกไข่ ปริมาณ 0.09 ถึง 0.27 เปอร์เซ็นต์ ในเปลือกไข่เต่า มะเฟืองและเต่ากระ สอดคล้องกับงานวิจัยของสุรัสวดี (2552) ที่ศึกษาโดยใช้แผน ที่ธาตุพบว่าธาตุ แคลเซียมส่วนใหญ่มีการสะสมในเปลือกไข่ชั้นนอก ส่วนคาร์บอน ออกซิเจน โซเดียม คลอรีน และธาตุ

อื่นๆ มีการกระจายตัวอยู่ทั่วไปในเปลือกไข่ทั้ง 3 ชั้น และพบการปนเปื้อนของโลหะหนัก คือ ตะกั่ว พาลาเดียมและโมลิบดีนัม ปริมาณ 0.1 ถึง 0.5 เปอร์เซ็นต์ ในเปลือกไข่เต่าตนุ เต่ามะเฟืองและเต่ากระ

แคลเซียมจัดเป็นธาตุที่มีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของตัวอ่อนซึ่งพบมากในเปลือกไข่ ชั้นนอกสอดคล้องกับงานวิจัยของ Sahoo และคณะ (1998) กล่าวว่าเปลือกไข่ชั้นนอกมีส่วนประกอบหลักเป็นแคลเซียมคาร์บอเนต และทำหน้าที่แหล่งสะสมแคลเซียมไว้สำหรับการพัฒนาของตัวอ่อน ซึ่งแคลเซียมในเปลือกไข่ถูกนำไปในช่วงที่มีการพัฒนาของตัวอ่อน

โลหะหนักมาจากแม่เต่าเอง ซึ่งเกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการสร้างเปลือกไข่เนื่องจากสภาพแวดล้อมบริเวณแหล่งที่อยู่อาศัยและแหล่งอาหาร เช่น มีการปนเปื้อนมากับสารเคมีจากอุตสาหกรรมต่างๆซึ่งปล่อยลงสู่ทะเล เต่าทะเลมีโอกาสที่จะได้รับโลหะหนักเข้าสู่ร่างกายโดยเข้าไปสะสมในเนื้อเยื่อ เมื่อมีกระบวนการสร้างเปลือกไข่จะมีความต้องการใช้ธาตุซึ่งอาจมีการปะปนของโลหะหนัก รวมอยู่ด้วย สอดคล้องกับงานวิจัยของ Lam และคณะ (2006) ศึกษาการปนเปื้อนโลหะหนักของเปลือกไข่เต่าตนุในฮ่องกง พบว่าความเข้มข้นของ ซิลเวอร์ ซิลิเนียม สังกะสี พรอทและตะกั่วที่ปนเปื้อนอยู่ในเปลือกไข่มีค่าสูงกว่ารายงานในการศึกษาอื่นๆ และสอดคล้องงานวิจัยของ Franzellitti และคณะ (2004) ศึกษาโลหะหนักในเนื้อเยื่อของเต่าหัวม้อน พบว่าแคดเมียม ทองแดง และเหล็กส่วนใหญ่สะสมในระดับ (8.9, 23.7 และ 1180 mg/kg มวลแห้ง (d.w.) ตามลำดับ แมงกานีสสะสมในปอด (29.5 mg/kg d.w.) พบนิกเกิลในเซลล์ไขมันมีระดับสูงกว่าเนื้อเยื่ออื่นๆ (22 mg/kg d.w.) และมีการสะสมของเหล็กในกล้ามเนื้อที่มีความเข้มข้นสูง (140 mg/kg d.w.) เช่นเดียวกัน แต่ยังไม่พบความแตกต่างของโลหะหนักที่สะสมในเนื้อเยื่อของเต่าเพศผู้และเพศเมีย สถาบันกำหนดความเข้มข้นที่ไม่ส่งผลต่อสิ่งมีชีวิต (the predicted no effect concentrations; PNEC) ได้กำหนดความเข้มข้นของโลหะที่สามารถยอมรับได้และไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อไข่เต่าตนุดังนี้ ตะกั่ว (1000 นาโนกรัมต่อน้ำหนักตัว) ซิลิเนียม (340 ถึง 6000 นาโนกรัมต่อน้ำหนักตัว) และนิกเกิล (17 นาโนกรัมต่อน้ำหนักตัว) โดยประเมินจากค่าความเสี่ยง (Hazard Quotient, HQ) ซิลิเนียม (HQs: 0.2–24.5) และนิกเกิล (HQs: 4.0–26.4) อาจก่อให้เกิดอันตรายบางอย่างกับเต่าได้และสอดคล้องงานวิจัยของ Storelli และ Marcotrigiano (2003) ใช้ไข่แดงของเต่าทะเลเป็นดัชนีชี้วัดสภาพแวดล้อมในแหล่งที่อยู่อาศัย การกินอาหารจากแหล่งที่มีสิ่งปนเปื้อนเข้าไปและเข้าไปสะสมในเนื้อเยื่อของเต่า

3. การศึกษารูปผลึกในแต่ละชั้นของเปลือกไข่เต่าทะเลด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์

จากผลการวิเคราะห์รูปผลึกของเปลือกไข่ชั้นนอกของเต่าตนุ เต่ามะเฟืองและเต่ากระด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ พบว่าเปลือกไข่ชั้นนอกประกอบด้วยแคลเซียมคาร์บอเนต (สุรสวัสดิ์,

2552; Sahoo และคณะ, 2009) มีโครงสร้างของผลึกอยู่ 2 รูป คือ อะราโกไนท์ และแคลไซต์ประกอบกันเป็นผลึกหนามแหลมรวมตัวกันเป็นกลุ่มแผ่รัศมี ส่วนใหญ่มีโครงสร้างเป็นอะราโกไนท์เท่ากับ 98.54, 98.77 และ 98.52 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก (w/w) และมีโครงสร้างเป็นแคลไซต์เท่ากับ 1.46, 1.23 และ 1.48 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักในเตาตุน เต่ามะเฟืองและเต่ากระอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ในเปลือกไข่ชั้นกลางและชั้นในของเตาตุนและเต่ามะเฟือง มีโครงสร้างของผลึกอยู่ 2 รูป คือ อะราโกไนท์และอสัณฐาน (amorphous) ซึ่งเปลือกไข่ชั้นกลางของเตาตุนและเต่ามะเฟือง ส่วนใหญ่มีโครงสร้างเป็นเท่ากับ 96.19 และ 96.25 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก และโครงสร้างเป็นอะราโกไนท์เท่ากับ 3.81 และ 3.75 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ส่วนเปลือกไข่ชั้นในของเตาตุนและเต่ามะเฟืองมีโครงสร้างเป็นอสัณฐานเท่ากับ 99.54 และ 99.89 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักและมีโครงสร้างเป็นอะราโกไนท์เท่ากับ 0.42 และ 0.11 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) จะเห็นได้ว่าเปลือกไข่มีโครงสร้างของผลึกเป็นอะราโกไนท์อยู่ในเปลือกไข่ชั้นนอกในปริมาณมาก แต่พบในเปลือกไข่ชั้นกลางและชั้นในเพียงเล็กน้อย และพบแคลไซต์เล็กน้อยอยู่ในเปลือกไข่ชั้นนอกเท่านั้น สอดคล้องกับผลการศึกษาด้วย SEM และการวิเคราะห์ธาตุองค์ประกอบพบว่าเปลือกไข่ชั้นนอกประกอบด้วยผลึกแคลเซียมคาร์บอเนต มีลักษณะเป็นผลึกหนามแหลมรวมตัวกันเป็นกลุ่มแผ่รัศมี ส่วนในเปลือกไข่ชั้นกลางและชั้นในพบโครงสร้างอะราโกไนท์เล็กน้อยปะปนอยู่กับโครงสร้างที่เป็นอสัณฐานเกือบ 99 เปอร์เซ็นต์ (Al-Bahry และคณะ, 2011) อาจมาจากโครงสร้างของเปลือกไข่ชั้นกลางและชั้นในประกอบด้วยโครงสร้างของเส้นใยสานกันเป็นร่างแหอัดแน่นกันทั้งชั้น สอดคล้องกับงานวิจัยของ Al-Bahry และคณะ (2009) ศึกษาโครงสร้างของผลึกในเปลือกไข่เตาตุนพบว่าเปลือกไข่ชั้นนอกประกอบด้วยแคลเซียมคาร์บอเนต มีโครงสร้างเป็นอะราโกไนท์ 91 เปอร์เซ็นต์ แคลไซต์ 6 เปอร์เซ็นต์ แต่ขัดแย้งกับงานวิจัยของคนเดียวกัน โดยในเปลือกไข่ชั้นนอกพบโครงสร้างที่เป็นวาทิไรท์ 3 เปอร์เซ็นต์ เปลือกไข่ชั้นกลางประกอบด้วยอะราโกไนท์ 89 เปอร์เซ็นต์ และแคลไซต์ 11 เปอร์เซ็นต์ และไม่ได้ศึกษาส่วนในเปลือกไข่ชั้นใน จากการพิสูจน์รูปผลึกในเปลือกไข่เต่าทะเลด้วยเทคนิคการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการจำแนกของชนิดเต่าทะเลในเบื้องต้น และประกอบกับข้อมูลที่เคยมีผู้ศึกษามาก่อนหน้านี้ เพื่อเป็นแหล่งความรู้แก่เยาวชนและเป็นประโยชน์ต่อบุคคลที่เกี่ยวข้องในอนาคตต่อไปได้

4. ศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาของอวัยวะต่างๆ ของลูกเต่าทะเล

4.1 ลักษณะสัณฐานวิทยาภายนอก

ปัจจุบันเต่าตุนในประเทศไทยมีจำนวนลดน้อยลงอย่างเห็นได้ชัด (Phasuk, 1981) ซึ่งเกิดจากหลายสาเหตุด้วยกัน แต่โดยส่วนใหญ่เกิดจากการกระทำของมนุษย์ อาทิเช่น นำเนื้อและไข่ของเต่ามา

บริโภคเป็นอาหาร (บุญเลิศ, 2524) ส่วนของกระดองและหนังจะถูกนำไปเป็นเครื่องประดับตกแต่ง และสาเหตุที่สำคัญอีกอย่างหนึ่งคือ การจับถูกล่าด้วยเครื่องมือการทำประมง เช่น อวนลาก และเครื่องมือการทำประมงชนิดอื่นๆ (ชุมเจตน์, 2539) ผู้วิจัยและคณะจึงมีความกังวลว่าในอนาคตเต่าตนุอาจจะสูญพันธุ์ไปจากประเทศไทย จึงมีความสนใจในการศึกษาด้านสัณฐานวิทยาและเนื้อเยื่อวิทยา โดยใช้วิธี Paraffin sectioning ในการศึกษาเนื้อเยื่ออวัยวะส่วนต่างๆ ของลูกเต่าตนุอายุ 1-4 เดือน ทั้งตายที่มีบาดแผลและไม่มีบาดแผลโดยได้รับการอนุเคราะห์จากบ่ออนุบาลเต่าทะเลฐานทัพเรือพังงา ตั้งอยู่ที่บ้านทับละมุ ตำบลลำแก่น อำเภอท้ายเหมือง จังหวัดพังงา ในช่วงเดือนพฤษภาคมและเดือนตุลาคม พ.ศ. 2555 พบว่าตัวอย่างลูกเต่าตนุทั้งหมดจำนวน 14 ตัว เป็นลูกเต่าตนุที่มีบาดแผลจำนวน 2 ตัว พบบาดแผลเปื่อยเกิดขึ้นที่บริเวณลำคอ ด้านท้องและบาดแผลที่ขา สาเหตุอาจมาจากรอยถูกกัดของลูกเต่าด้วยกันเอง พบลูกเต่าตนุที่มีอวัยวะภายในผิดปกติจำนวน 3 ตัว และลูกเต่าตนุที่ไม่มีบาดแผลจำนวน 9 ตัว ผลจากการวัดขนาดตัวและชั่งน้ำหนักตัว พบว่าลูกเต่าตนุอายุ 1-4 เดือน มีน้ำหนักตัวโดยเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 27.50-62.50 กรัม ค่าเฉลี่ยของความยาวและความกว้างของกระดองหลังอยู่ระหว่าง 6.30-8.08 และ 5.75-7.30 เซนติเมตร ส่วนค่าเฉลี่ยของความยาวและความกว้างของกระดองท้องอยู่ระหว่าง 5.20-6.68 และ 4.65-6.08 เซนติเมตร ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าค่าเฉลี่ยของความยาวและความกว้างของกระดองหลังมีค่ามากกว่าค่าเฉลี่ยของความยาวและความกว้างของกระดองท้องอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (Lazar และ Grac'an, 2011; วรรณษา, 2555; วรรณษาและภัณฑารักษ์, 2548)

ผลจากการศึกษาเนื้อเยื่ออวัยวะส่วนต่างๆ ของลูกเต่าตนุอายุ 1-4 เดือน ศึกษาในหลอดอาหาร ท่อพัก กระเพาะอาหาร ลำไส้เล็กส่วนต้น ลำไส้เล็กส่วนปลาย ลำไส้ใหญ่ หลอดลม ปอด หัวใจ ตับ ม้าม ไต ต่อมหมวกไต กระเพาะปัสสาวะ กล้ามเนื้อ และผิวหนัง เป็นต้น จากนั้นได้ศึกษาเพิ่มเติมจากต่อมบ่งเพศ ของลูกเต่าตนุอายุ 6 เดือน

ผลจากการศึกษาเนื้อเยื่อระบบทางเดินอาหารตั้งแต่หลอดอาหาร ท่อพัก กระเพาะอาหาร ลำไส้เล็กส่วนต้น ลำไส้เล็กส่วนปลาย และลำไส้ใหญ่พบว่ามีโครงสร้างเนื้อเยื่อจำนวน 4 ชั้น เป็นองค์ประกอบคือ mucosa, submucosa, muscularis และ serosa เมื่อศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาของหลอดอาหารพบว่าในลูกเต่าอายุ 4 เดือน มีชั้น mucosa ยื่นเข้าไปในลูเมนมากขึ้นและพบเซลล์สร้างเมือกอย่างเห็นได้ชัดผนังของเนื้อเยื่อถูกบุด้วยเยื่อบุผิวแบบ stratified squamous epithelium ประกอบด้วยเซลล์บุผิวรูปแบบเรียงซ้อนกันหลายชั้นแทรกด้วย goblet cells จำนวนมากไม่มี cilia (Thompson, 1980) ลักษณะเนื้อเยื่อวิทยาของกระเพาะพบว่ามีลักษณะเนื้อเยื่อของชั้น mucosa ประกอบด้วยเยื่อบุผิวแบบ stratified squamous epithelium ส่วนลักษณะเนื้อเยื่อวิทยาของกระเพาะอาหารพบว่าเยื่อบุผิวเปลี่ยนจาก stratified squamous epithelium เป็นชั้นเดียวรูปทรงสูง (simple columnar epithelium) และพบ gastric gland กระจายตัวอยู่เป็นจำนวนมากและเปิดออกบริเวณ gastric pit ในลำไส้เล็กส่วนต้นพบว่าในชั้น mucosa มีการเพิ่มพื้นที่ผิวโดยยื่นไปเป็น villi จำนวนมาก ซึ่งเยื่อบุผิวเป็นแบบ เซลล์รูปแท่งทรงสูงเรียงชั้นเดียว (simple high columnar epithelium) และพบ goblet cells หรือ mucous secretory cells ซึ่งพบน้อยกว่าเมื่อเทียบกับในลำไส้เล็กส่วนปลาย ซึ่งลักษณะเนื้อเยื่อของลำไส้เล็กส่วนปลาย

พบว่าผนังด้านในของลำไส้เล็กส่วนปลายมีลักษณะโครงสร้างเนื้อเยื่อเหมือนกับลำไส้เล็กส่วนต้น แต่ต่างกันที่ชั้น mucosa มีการเพิ่มพื้นที่ผิวโดยยื่นไปเป็น villi จำนวนมากกว่าลำไส้เล็กส่วนต้น ส่วนลักษณะเนื้อเยื่อวิทยาของลำไส้ใหญ่ แบ่งออกเป็นชั้นๆ คล้ายกับลำไส้เล็ก แต่ชั้น serosa มีเฉพาะลำไส้ใหญ่บางส่วนเท่านั้น (Wyneken, 2001) จะเห็นว่าลักษณะเนื้อเยื่อวิทยาในระบบทางเดินอาหารที่ได้กล่าวมาในข้างต้นของลูกเต่าตนาอายุ 1-4 เดือน ทั้งในลูกเต่าที่มีบาดแผลและไม่มีบาดแผล พบว่ามีลักษณะของเนื้อเยื่อปกติและยังไม่พบความผิดปกติของพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อ (Oros และคณะ, 2004)

ผลจากการศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาของหลอดลมพบว่าลักษณะเนื้อเยื่ออยู่ในสภาพปกติ มีเยื่อบุผิวแบบ pseudostratified ciliated columnar epithelium และพบกระดูกอ่อนทั้งแบบ hyaline และ elastic cartilage และลักษณะเนื้อเยื่อของปอด พบว่าลักษณะเนื้อเยื่ออยู่ในสภาพปกติ มีถุงลมเล็กๆ ซึ่งมี alveolar spaces เป็นช่องว่างที่ล้อมรอบด้วยผนังบางๆ ประกอบด้วย epithelium บุเป็น squamous cell (type I alveolar cell) แบบบาง และ cuboidal cell (type II alveolar cell) ส่วนลักษณะเนื้อเยื่อของหัวใจ พบว่าลักษณะเนื้อเยื่ออยู่ในสภาพปกติคือหัวใจมีผนังอยู่ 3 ชั้น คือ epicardium, myocardium และ endocardium เป็นต้น (Flint และคณะ, 2009)

ผลการศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาของกล้ามเนื้อลาย พบว่ามีลักษณะเนื้อเยื่ออยู่ในสภาพปกติ แสดงให้เห็นมัดกล้ามเนื้อลายประกอบด้วย myofiber และพบเห็นนิวเคลียสกระจายตัวอยู่ในเซลล์กล้ามเนื้อลาย และลักษณะเนื้อเยื่อวิทยาของผิวหนังคอ พบว่ามีลักษณะเนื้อเยื่ออยู่ในสภาพปกติ ผิวหนังมีอยู่ 2 ชั้น คือ ชั้นหนังกำพร้าและชั้นหนังแท้ (Flint และคณะ, 2009; Jacobson และคณะ, 1991)

ผลจากการศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาของตับ พบว่ามีลักษณะเนื้อเยื่ออยู่ในสภาพปกติ ส่วนของบริเวณ portal triads ประกอบด้วยหลอดเลือดดำขนาดใหญ่ ผนังบุด้วย endothelium หลอดเลือดแดง (hepatic artery) และท่อน้ำดี (bile duct) มีศูนย์กลางเป็น central vein โดยสังเกตเห็นแขนงของเส้นเลือดใน portal triads ผ่านไปยัง sinusoids และเทลงสู่ central vein (Stacy และ Pessier, 2007; Dodd และ Kenneth, 1988)

ผลจากการศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาของม้ามพบว่าเนื้อเยื่ออยู่ในสภาพปกติ ม้ามมี connective tissue capsule ล้อมรอบเนื้อม้ามประกอบด้วย red pulp และ white pulp ซึ่งมี central arteriole เห็นได้ชัดเจนหลอดเลือดนี้ยังแตกแขนงเล็กๆ เพื่อไปเลี้ยงส่วน white pulp ด้วย (Flint และคณะ, 2009) ต่อมาหมวกไตของเต่าที่มีบาดแผลพบว่า เซลล์เริ่มมีการแยกตัวออกจากกันไม่เกาะกลุ่มกัน เนื่องจากเนื้อเยื่อเกิดการย่อยสลายและพบเห็นนิวเคลียสติดสีม่วงเข้ม ส่วนลักษณะเนื้อเยื่อของเต่าไม่มีบาดแผลพบว่ามีลักษณะเนื้อเยื่ออยู่ในสภาพปกติ ต่อมาหมวกไตมี capsule หุ้ม (Flint และคณะ, 2009)

ผลจากการศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาของไต พบว่าในเต่าอายุ 2 เดือน ที่ไม่มีบาดแผลพบว่ามีลักษณะเนื้อเยื่ออยู่ในสภาพผิดปกติ โดยเต่าอายุ 2 เดือน ที่ไม่มีบาดแผลมีลักษณะเนื้อเยื่อแตกต่างไปจากเต่าที่ไม่มีบาดแผล 3-4 เดือน และเต่าที่มีบาดแผลอายุ 1 เดือน เนื้อเยื่อวิทยาของไตของลูกเต่าสังเกตเห็น renal corpuscles ซึ่งประกอบด้วย glomerulus และ bowmann capsule และมีหลอดเลือด (Dodd และ Kenneth, 1988) และได้ทำการศึกษาต่อมบ่งเพศในลูกเต่าอายุ 6 เดือนเพิ่มเติม เพื่อใช้ในการบ่งชี้เพศของลูกเต่าได้ การจำแนกเพศของลูกเต่าแรกเกิดนั้นทำได้ยาก เนื่องจากลูกเต่าอายุ 1-4

เดือนทำงานศึกษานั้น ไม่สามารถมองเห็นต่อมบ่งเพศได้ และจากการศึกษาของ Ceriania และ Wyneken (2007) พบว่าความแตกต่างของลักษณะภายนอกที่ใช้ในการจำแนกเพศนั้นยังไม่ค่อยชัดเจน โดยมากต้องรอจนกว่าจะเข้าสู่ระยะเต็มวัยจึงสามารถระบุเพศได้ (Vitt และ Caldwell, 2009) ผลจากการศึกษาในครั้งนี้ได้ตัวอย่างลูกเต่าตนุอายุ 6 เดือน จำนวน 2 ตัว พบว่าต่อมบ่งเพศมีลักษณะเนื้อเยื่ออยู่ในสภาพปกติ จากลักษณะเนื้อเยื่อของต่อมบ่งเพศน่าจะเป็นของลูกเต่าเพศเมีย โดยต่อมบ่งเพศของลูกเต่าประกอบด้วย รังไข่และท่อนำไข่ ซึ่งลักษณะรังไข่มีส่วนคอร์เทกซ์และเมดูลาร์หนาไม่มีท่ออยู่ภายใน ส่วนท่อนำไข่มีรูภายในท่อชัดเจนผนังภายในประกอบด้วยเนื้อเยื่อชนิด columnar epithelium และมีก้านสโตคที่ยาวพบได้บริเวณด้านข้างของไต (Ikonomopoulou และคณะ, 2012; Dodd และ Kenneth, 1988; Lazar และคณะ, 2006) สอดคล้องกับงานวิจัยของวรรณษา (2555) ศึกษาการแยกเพศลูกเต่าตนุจากสัญญาณวิทยาทายนอกและเนื้อเยื่อวิทยาจากลูกเต่าตนุที่ตายตั้งแต่เริ่มเลื้อยจนถึงอายุ 3 เดือน ในระหว่างอนุบาลจากเกาะหุยงในหมู่เกาะสิมิลัน จังหวัดพังงา ระหว่างปี 2552-2554 สามารถจำแนกจากลูกเต่าตนุจำนวน 135 ตัว เป็นเพศผู้จำนวน 25 ตัว และเพศเมียจำนวน 110 ตัว โดยเปรียบเทียบสัดส่วนระหว่างขนาดของสัญญาณวิทยาทายนอกกับความกว้างหัว พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เพศผู้มีขนาดใหญ่กว่าเพศเมีย ผลจากการศึกษาเนื้อเยื่อของต่อมบ่งเพศ และส่วนที่จะเจริญไปเป็นท่อนำไข่พบว่าลักษณะของรังไข่ประกอบไปด้วยชั้นคอร์เทกซ์หนากว่าในเพศผู้ ส่วนที่ชั้นเมดูลาร์ไม่ปรากฏลักษณะเป็นท่อและมีท่อนิกออัลบูลิเนียหนา ลักษณะของอวัยวะพบว่ามีชั้นคอร์เทกซ์ของเพศผู้บางกว่าส่วนชั้นคอร์เทกซ์ในรังไข่ของเพศเมีย จากการย้อมด้วยสีย้อมมาทอกซีลีน พบว่าเพศเมียพบท่อนำไข่ที่สมบูรณ์ ผนังท่อภายในเป็นเนื้อเยื่อประเภทคอลัมน์นาร์ มีก้านสโตลค์ยาวส่วนอวัยวะที่จะพัฒนาไปเป็นท่อนำไข่ในเพศผู้ไม่พบรูภายในท่อซึ่งเนื้อเยื่อผนังในท่อยังไม่พัฒนาและมีก้านสโตลค์สั้นกว่าในเพศเมีย แต่อย่างไรก็ตามการศึกษาในครั้งนี้ได้ทำศึกษาลักษณะเนื้อเยื่อวิทยาจากลูกเต่าอายุ 1-4 เดือน จำนวน 27 ตัว ทั้งเต่าตายโดยมีบาดแผลและไม่มียาบาดแผลก็ไม่พบต่อมบ่งเพศอยู่เลย แต่มาพบการเจริญพัฒนาของอวัยวะสืบพันธุ์ในอายุ 6 เดือน อาจเป็นส่วนหนึ่งของอวัยวะสืบพันธุ์ยังมีการเจริญพัฒนายังไม่สมบูรณ์และสังเกตค่อนข้างยากในลูกเต่าที่อายุน้อย นอกจากนี้การใช้การผ่าตัดเพื่อศึกษาจากอวัยวะนี้อาจไม่ประสบความสำเร็จเสมอไป ซึ่งปัญหาที่พบจากการเก็บตัวอย่างที่ผ่านการแช่น้ำยารักษาสภาพมาแล้วเป็นเวลานาน ส่งผลให้เกิดการเหี่ยวของเนื้อเยื่อได้ (วรรณษา, 2555) ดังนั้นการศึกษาลักษณะเนื้อเยื่อวิทยาของอวัยวะสืบพันธุ์น่าจะให้ผลในการระบุเพศได้ค่อนข้างแม่นยำมากกว่าการใช้วิธีผ่าตัดเพียงอย่างเดียว ประกอบกับการพิจารณาสังเกตจากลักษณะสัญญาณวิทยาทายนอกของลูกเต่าทะเลด้วย (Mrosovsky, 1994)

ส่วนผลจากการศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาของกระเพาะปัสสาวะในลูกเต่าอายุ 1-4 เดือนในลูกเต่าที่มีบาดแผลและไม่มียาบาดแผล พบว่าเนื้อเยื่ออยู่ในสภาพปกติ กระเพาะปัสสาวะมีผนัง 3 ชั้น คือ mucosa,

muscular layer และ adventitia โดยชั้น mucosa มีเยื่อบุผิวเป็นแบบ transitional epithelium (Mader, 2006) ซึ่งลักษณะแตกต่างจากเนื้อเยื่อทางระบบทางเดินอาหารที่มีผนัง 4 ชั้น

จากการศึกษาในครั้งนี้โดยศึกษาลักษณะเนื้อเยื่อวิทยาจากลูกเต่าอายุ 1-4 เดือน จำนวน 12 ตัว ทั้งเต่าตายโดยมีบาดแผลและไม่มีบาดแผลพบว่าอวัยวะต่างๆ ที่สนใจศึกษาส่วนใหญ่มีลักษณะเนื้อเยื่ออยู่ในสภาพปกติ เว้นแต่ในต่อมหมวกไตและไตที่พบความผิดปกติของเนื้อเยื่อ ในต่อมหมวกไตของเต่าที่มีบาดแผลและไตในเต่าที่ไม่มีบาดแผล เนื่องจากเซลล์เริ่มมีการแยกตัวออกจากกันไม่เกาะกลุ่มกันเกิดจากการย่อยสลายของเนื้อเยื่อเอง ทำให้ทราบได้ว่าการตายของลูกเต่าอายุ 1-4 เดือนในบ่ออนุบาลที่มีบาดแผลและไม่มีบาดแผลในครั้งนี้มีอวัยวะต่างๆ ที่สนใจศึกษามีลักษณะเนื้อเยื่ออยู่ในสภาพปกติ ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างลูกเต่าที่มีบาดแผลและไม่มีบาดแผล แต่ไม่ได้นำมาศึกษาด้านจุลชีววิทยาเพื่อสำรวจโรคที่อาจเกิดขึ้นในลูกเต่าทะเลได้ซึ่งอาจมาจากหลายสาเหตุ เช่น ลูกเต่าแรกเกิดมีระบบภูมิคุ้มกันต่ำ อาจได้รับเชื้อโรคจากจุลชีพที่อยู่ในบ่ออนุบาล

ผลการศึกษาจากตัวอย่างเนื้อเยื่ออวัยวะลูกเต่ากระและเต่าที่ตายในบ่ออนุบาล พบว่าเนื้อเยื่อไตพบแบคทีเรีย 4 กลุ่ม ดังนี้ พบแบคทีเรียกลุ่ม Gram negative bacteria (มีจำนวนมากสุด) คือ 5.068-5.316 log cfu/g (รองลงมา คือ Enteric bacteria และ coliform) 5.103-5.141 log cfu/g (*Staphylococcus* spp.) 4.195-4.875 logcfu/g *Vibrio* spp. (3.546 ถึง 4.499 log cfu/g) ตัวอย่างเนื้อเยื่อลำไส้พบแบคทีเรียทุกกลุ่ม พบแบคทีเรียกลุ่ม negative bacteria 4.583-6.445 log cfu/g (จำนวนมากสุด รองลงมาคือ กลุ่มEnteric bacteria และ coliform) 4.661-5.380 log cfu/g (และกลุ่มแบคทีเรียในระดับจีสคือ *Staphylococcus* spp.) 4.607-5.090 logcfu/g (จำนวนมากสุด รองลงมาคือ *Vibrio* spp. (<0.01-3.983 log cfu/g) และสาเหตุหนึ่งของการป่วยและเสียชีวิตของลูกเต่าทะเลที่อยู่ในบ่ออนุบาลคือการติดเชื้อในเต่าอาจเกิดได้จากหลายสาเหตุได้แก่ เชื้อแบคทีเรีย ไวรัส เชื้อรา ปรสิต และเชื้ออื่นๆ การสังเกตอาการและการวินิจฉัยโรคที่ถูกต้อง ทั้งทางคลินิกและทางห้องปฏิบัติการมีความสำคัญอย่างยิ่งเพื่อให้สามารถนำผลที่ได้มารักษาอย่างถูกต้องเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่พบได้บ่อยในเต่าทะเลได้แก่ *Vibrio* spp., *Aeromonas* spp., *Pseudomonas* spp., *CryptophagaFlavobacterium*., *Streptococcus* spp., *Salmonella* spp., *Moraxella* spp.และเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม Coliformซึ่งเชื้อหลายชนิดที่กล่าวมานี้เป็นเชื้อฉวยโอกาสที่จะก่อโรคเมื่อสัตว์อ่อนแอ ซึ่งสอดคล้องกับวิจัยของ Chuen-Im และคณะ (2010) ทำการศึกษาสำรวจโรคและลักษณะของจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับโรคในเต่า 2 ชนิด คือ เต่าตนุและเต่ากระ พบบาดแผลและอาการผิดปกติทางคลินิกทั้งอวัยวะภายนอก เช่น กระดอง รยางค์ บริเวณผิวหนัง หาง และกัน และอวัยวะภายในร่างกายของลูกเต่าทะเล เช่น หัวใจ ตับ กระเพาะอาหาร ลำไส้ ไต เป็นต้น ไม่พบลักษณะการติดเชื้อพยาธิ ปรสิต หรือไข่ของพยาธิหรือปรสิต เมื่อศึกษาเนื้อเยื่อจากบาดแผลด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดและการย้อมเนื้อเยื่อด้วยสีย้อมฮีมาทอกซิลินและอีโอซิน พบว่าอวัยวะต่างๆ เหล่านี้มีการติดเชื้อของแบคทีเรียรูปร่างต่างๆ ได้แก่ แบบกลม (coccus) แบบแท่ง (rod) และแบบแท่งโค้ง (curved rod) ซึ่งพบว่าเชื้อแบคทีเรียเป็นสาเหตุสำคัญของการโรคและการเสียชีวิตของเต่าตนุและเต่ากระ ในปี 2005 พบแผลเปื่อยและแผลอักเสบของเยื่อเมือกในช่องปาก 65 เปอร์เซ็นต์ ตัวอีกเสบ 35 เปอร์เซ็นต์ ในปี 2006 ได้รายงานว่ามีโรคที่เกิดที่ซับซ้อนของบาดแผลโรคผิวหนัง

กระเพาะอาหารที่อักเสบมีอาการบวมพอง และในปี 2007 แสดงให้เห็นว่าข้อมูลของรอยโรคหลักๆ มาจากแผลเปื่อยและแผลอักเสบของเยื่อบุเมือกในช่องปาก 32.14 เปอร์เซ็นต์ และตับอักเสบ 46.43 เปอร์เซ็นต์ จากงานวิจัยของ Santoro และคณะ (2006) แสดงให้เห็นถึงการแพร่กระจายของแบคทีเรียของเต่าตนุบริเวณรังของเต่าทะเลในอุทยานแห่งชาติ Tortuguero พบว่าไม่ปรากฏลักษณะของเนื้อเยื่อที่จากสาเหตุของโรคดังกล่าวในลูกเต่าตนุ ซึ่งมันมีความเป็นไปได้ว่าสาเหตุของการตายของลูกเต่าตนุในการศึกษาในครั้งนี้สาเหตุส่วนใหญ่อาจมาจากปัจจัยอื่น ๆ เช่น สภาพแวดล้อมในบ่ออนุบาล สามารถใช้เป็นข้อมูลในการศึกษาในอนาคตต่อไปได้ และการศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาของอวัยวะต่างๆ ของลูกเต่าตนุที่มีอายุ 1-4 เดือน สามารถนำความรู้ที่ได้ใช้เป็นข้อมูลเทียบเคียงกับข้อมูลที่เคยมีผู้ศึกษามาก่อนและใช้ในงานอนุรักษ์พันธุ์เต่าทะเลไทย

บรรณานุกรม (bibliography)

- กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. 2546. กฎกระทรวง กำหนดให้สัตว์ป่าบางชนิดเป็นสัตว์ป่าคุ้มครอง. ราชกิจจานุเบกษา. เล่มที่ 120 ตอนที่ 74ก.
- ก้องเกียรติ กิตติวัฒนาวงศ์. เต่าทะเล ชีววิทยาและการอนุรักษ์. เอกสารเผยแพร่สถาบันวิจัยและพัฒนาทรัพยากรทางทะเล ชายฝั่งทะเลและป่าชายเลน: ห้างหุ้นส่วนจำกัด เวลด์ออฟเซ็ท, 2551.
- ชุมเจตน์ กาญจนเกษร. 2539. กฎหมายคุ้มครองและอนุรักษ์พันธุ์เต่าทะเลในประเทศไทย. เอกสารเผยแพร่ กองอนุรักษ์ทรัพยากรประมง กรมประมง, 37 หน้า.
- บุญเลิศ ผาสุก. 2524. เต่าทะเลและการอนุรักษ์ วารสารการประมง ฉบับที่ 34 (3): 253-265.
- วรรณษา เรืองแก้ว. 2555. การแยกเพศลูกเต่าตนุ Green turtle, *Chelonia mydas* ด้วยสัณฐานวิทยาภายนอก วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต. วิทยาศาสตร์ (สัตววิทยา) มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. บัณฑิตวิทยาลัย.
- คันสรียา วังกลางกูร. 2540. การศึกษาเปรียบเทียบปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมของแหล่งวางไข่และสัณฐานวิทยา ของเปลือกไข่เต่าหญ้า (*Lepidochelys olivacea*) จากธรรมชาติและจากปอเลี้ยง. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต. วิทยาศาสตร์ (สัตววิทยา) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. บัณฑิตวิทยาลัย.
- สุรัสวดี นวมสุคนธ์. 2552. ต้นแบบเปลือกไข่เต่าทะเลไทย: วิเคราะห์โครงสร้างสัณฐานวิทยาและองค์ประกอบธาตุเพื่อการอนุรักษ์ ปริญญามหาบัณฑิต. สาขาวิชาชีววิทยา ภาควิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยศิลปากร. นครปฐม, 109 หน้า.
- Al-Bahry, S. N., Mahmoud, I. Y., Melgheit, K. O. and Al-Amri, I .S. 2011. Analysis of Elemental Composition of the Eggshell before and after Incubation in the Loggerhead Turtle. Microsc. Microanal. 17: 452-460
- Alkindi A.Y.A., I.Y. Mahmoud, M.J. Woller, J.L. Plude. 2006. Oviductal morphology in relation to hormonal levels in the snapping turtle, *Chelydra serpentina*. Tissue and Cell 38: 19–33.

- Avens L., K.J. Lohmann. 2004. Navigation and seasonal migratory orientation in juvenile sea turtles. *J. Exp. Biol.* 207: 1771-1778.
- Booth D.T. 1998. Incubation of turtle eggs at different temperatures: do embryos compensate for temperature during development. *Physiol. Zool.* 71: 23–26.
- Booth D.T. 2002. Incubation of rigid-shelled turtle eggs: do hydric conditions matter. *J. Comp. Physiol. B* 172: 627-633.
- Bishop C.A., P. Ng, K.E. Pettit, S.W. Kennedy, J.J. Stegeman, R.J. Norstrom, R.J. Brooks. 1998. Environmental contamination and developmental abnormalities in eggs and hatchlings of the common snapping turtle (*Chelydra serpentina serpentina*) from the Great Lakes-St Lawrence River basin (1989-91). *Environ. Pollut.* 101: 143-156.
- Cai Y., T. Zhou, X. Ji. 2007. Embryonic growth and mobilization of energy and material in oviposited eggs of the red-necked keelback snake, *Rhabdophis tigrinus lateralis*. *Comp. Biochem. Physiol. A* 147: 57-63.
- Ceriani, S. A. and Wyneken, J. 2008. Comparative morphology and sex identification of the reproductive system in formalin-preserved sea turtle specimens. *Zoology* 111(3): 179-187.
- Chuen-Im, T., Areeksere, M., Chongthammakun, S. and Graham, S.V. 2010. Aerobic bacterial infections in captive juvenile green (*Chelonia mydas*) and hawksbill (*Eretmochelys imbricata*) sea turtles from Thailand. *Chelonian Conservation and Biology* 9 (1): 135-142. DOI: 10.2744/CCB-0808.1.
- Chantrapornsy S. 1993. Report: Status of marine turtles in Thailand. Phuket Marine Biological Center, Thailand.
- Chantrapornsy S., O. Bhatiyasevi. 1994. Nesting behavior and some biological aspects of Olive Ridley turtle (*Lepidochelys olivacea*) in captivity. *Phuket mar. biol. Cent. Res. Bull.* 59: 27-31.
- Clifford A.H. 2002. Concentrations of chromium, manganese, and lead in air and in avian eggs. *Environ. Pollut.* 120: 201-206.
- Congdon J.D., J.W. Gibbons. 1990. Turtle eggs: their ecology and evolution. In: Gibbons, J.W. (Ed.), *Life History and Ecology of the Slider Turtle*. Smithsonian Institution Press, Washington, D.C.: 109–123.
- Dodd, C. Kenneth, Jr. 1988. Synopsis of the biological data on the Loggerhead Sea Turtle *Caretta caretta* (Linnaeus 1758). U.S. Fish Wildl. Serv., Biol. Rep. 88(14). 110 pp.

- Du W.G. and X. Ji., 2003. The effects of incubation thermal environments on size, locomotor performance and early growth of hatchling soft-shelled turtles, *Pelodiscus sinensis*. J. Therm. Biol. 28: 279-286.
- Ewert M.A. 1985. Embryology of turtles. In: Grans, C., Billertt, F., Maderson, P.F.A. (Eds.), Biology of the Reptilian. Wiley, New York 14: 75-267.
- Flint, M., Patterson-Kane, J.C., Limpus, C.J., Work, T.M., Blair, D. and Mills, P.C. 2009. Postmortem diagnostic investigation of disease in free-ranging marine turtle populations: a review of common pathologic findings and protocols. J VET Diagn Invest 21 (6): 733-759.
- Franzellitti, S., Locatelli, C., Gerosa, G., Vallini, C. and Fabbri, E. 2004. Heavy metals in tissues of loggerhead turtles (*Caretta caretta*) from the northwestern Adriatic Sea. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology 138 (2): 187-194.
- Georges A., M. Adams, W.P. McCord. 2002. Electrophoretic delineation of species boundaries within the genus *Chelodina* (Testudines: Chelidae) of Australia, New Guinea and Indonesia. Zool. J. Linn. Soc. 134: 401-421.
- Georges A., K. Beggs, J.E. Young, J.S. Doody. 2005. Modeling development of reptile embryos under fluctuating temperature regimes. Physiol. Biochem. Zool. 78: 18-30.
- Houghton J.D.R., A.E. Myers, C. Lloyd, R.S. King, C. Isaacs, G.C. Hays. 2007. Protracted rainfall decreases temperature within leatherback turtle (*Dermochelys coriacea*) clutches in Grenada, West Indies: Ecological implications for a species displaying temperature dependent sex determination. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 345: 71-77.
- Ikonomopoulou, M. P., Aland, R. C., Ibrahim, K., Gosden, E. and Whittier, J. M. 2012. Quantitative Sex Identification of Hatchling Green Sea Turtles (*Chelonia mydas*). Journal of Herpetology 46 (3): 331-337.
- Jacobson, E.R., Buergelt, C., Williams, B., Harris, R.K. 1991. Herpesvirus in cutaneous fibropapillomas of the green turtle *Chelonia mydas*. Diseases of aquatic organisms 12: 1-6.
- Kitimasak W., K. Thirakhupt, D.L. Moll. 2003. Eggshell structure of the Siamese Narrow-Headed softshell turtle *Chitra chitra* Nutphand, 1986 (Testudines: Trionychidae). Science Asia 29: 95-98.
- Kittiwattanawong K., S. Chantrapornsyl, W. Sakamoto, N. Arai. 2002. Tracking of green turtles *Chelonia mydas* in the Andaman sea using platform transmitter terminals. Phuket mar. boil. Cent. Res. Bull. 64: 81-87.

- Lam J.C.W. Tanab, S. Chan, S.K.F. Lam, M.H.W. Martin, M., Lam, P.K.S. 2006. Levels of trace elements in green turtle eggs collected from Hong Kong: Evidence of risks due to selenium and nickel. *Environ. Pollut.* 144: 790-801.
- Lazar, B. and Grac̃an, R. 2011. Ingestion of marine debris by loggerhead sea turtles, *Caretta caretta*, in the Adriatic Sea. *Marine Pollution Bulletin* 62: 43–47.
- Lazar, B., Lacković, G., Tvrtković, N. and Tomljenović, A. 2006. Histology of gonads and preliminary sex ratios in juvenile loggerhead sea turtles, *Caretta caretta*, in the eastern Adriatic Sea. In *Proceedings of the Twenty-third Annual Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation*, 118–120. Pilcher, N.J. (ed.). Miami: NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC-536.
- Lin L.H., H. Li, H. An, X.Ji. 2008. Do temperature fluctuations during incubation always play an important role in shaping the phenotype of hatchling reptiles. *Journal of Thermal Biology*.
- Maffucci F., F. Caurant, P. Bustamante, F. Bentivegna. 2005. Trace element (Cd, Cu, Hg, Se, Zn) accumulation and tissue distribution in loggerhead turtles (*Caretta caretta*) from the Western Mediterranean Sea (southern Italy). *Chemosphere* 58: 535-542.
- Mitrus, S. 2003. The calcareous layer eggshell of the turtle *Emys orbicularis*: ultrastructure and composition. *Italian Journal of Zoology* 70 (1): 13-16.
- Mrosovsky, N. and Benabib, M. 1990. An assessment of two methods of sexing hatchling sea turtles. *Copeia*, 589–591.
- Mader, D. R. 2006. Calculi: Urinary In: *Reptile medicine and surgery*, ed. MaderDR, 2nd ed., 763–771.
- Oros, J., Calabuig, P., Deniz, S. 2004. Digestive pathology of sea turtles stranded in the Canary Islands between 1993 and 2001. *The Veterinary Record* 155: 169-174.
- Packard G.C., T.L. Taigen, M.J. Packard, T.J. Boardman. 1981. Changes in mass of eggshell turtles (*Trionyx spiniferus*) incubate under hydric conditions simulating those of natural nests. *J. Zool. A* 193: 81-90.
- Packard M.J., J.B. Iverson, G.C. Packard. 1984. Morphology of shell formation in eggs of the turtle *Kinosternon flavescens*. *J. Morphol.* 181: 21-28.
- Packard M.J., G.C. Packard. 1986. The effect of water balance of eggs on growth and calcium metabolism of embryonic painted turtles (*Chrysemys picta*). *Physiol. Zool.* 59: 398-405.
- Packard M.J., M.J. Packard, G.C. Packard. 1991. Sources of calcium, magnesium and phosphorus for embryonic softshell turtles (*Trionyx piniferus*). *J. Exp. Zool.* 258: 151-157.

- Pina C.I., M. Simoncini, P. Siroski, A. Larriera. 2007. Storage of *Caiman latirostris* (Crocodylia: Alligatoridae) eggs in harvest containers: Effects on hatchability. *Aquaculture* 271: 271-274.
- Phasuk, B. 1981. Sea turtle and conservation. *Thai Fisheries Gazette* 34 (3): 253-267.
- Ramsey M., D. Crews. 2009. Review: Steroid signaling and temperature-dependent sex determination-Reviewing the evidence for early action of estrogen during ovarian determination in turtles. *Seminar in Cell & Developmental Biology* 20: 283-292.
- Sahoo G., R.K. Sahoo, P. Mohanty-Hejmadi. 1998. Calcium metabolism in olive ridley turtle eggs during embryonic development. *Comp. Biochem. Physiol. A* 121: 91-97.
- Sahoo, G., Mohapatra, B. K. and Dutta, S. K. 2010. Chemical Composition and Ultrastructure of Shells of Unfertilized Eggs of Olive Ridley Turtles, *Lepidochelys olivacea*. *Current Herpetology* 29 (1): 37-43.
- Santoro, M., Hernandez, G., Caballero M., and Garica F, 2006. Aerobic bacterial flora of nesting green turtles (*Chelonia mydas*) from tortuguero national park, Costa Rica. *Journal of Zoo Wildlife Medicine* 37, 549-552.
- Stewart, J.R., M.B. Thompson. 2000. Review: Evolution of placentation among squamate reptiles: recent research and future directions. *Comp. Biochem. Physiol. A* 127: 411-431.
- Solomon, S.E., Watt, J.M., 1985. The structure of the egg shell of the latherback turtle (*Dermochelys coriacea*). *Anim. Technol.* 36, 19-27.
- Swaileh, K.M., R. Sansur. 2006. Monitoring urban heavy metal pollution using the House Sparrow (*Passer domesticus*). *Environ. Monit.* 8: 209-213.
- Stacy, B.A., Pessier, A. P. 2007. Host response to infectious agents and identification of pathogens in tissue section In: *Infectious diseases and pathology of reptiles: color atlas and text*, ed. Jacobson ER, 257-297.
- Sahoo, G., Mohapatra, B. K. and Dutta, S. K. 2009. Structural changes in olive ridley turtle eggshells during embryonic development. *The Herpetological Journal*, 19(3): 143-149.
- Chuen-Im, T., Areeksere, M., Chongthammakun, S., and Graham, S.V. 2010. *Aerobic bacterial infections in captive juvenile green turtles (Chelonia mydas) and hawksbill turtles (Eretmochelys imbricata) from Thailand*. *Chelonian Conservation and Biology*, 9 (1). pp. 135-142. ISSN 1071-8443 (doi:10.2744/CCB-0808.1)
- Thompson, S.M. 1980. A comparative study of the anatomy and histology of the oral cavity and alimentary canal of two sea turtles: The herbivorous green turtle *Chelonia mydas* and

- the carnivorous loggerhead turtle *Caretta caretta* In: Faculty of science, p. 430. James Cook University, Townsville, Australia.
- Thompson, M.B. and B.K. Speake. 2003. Review: Energy and nutrient utilization by embryonic reptiles. *Comp. Biochem. Physiol. A* 133: 529-538.
- Tryfonas, A.E., J.K. Tucker, P.E. Brunkow, K.A. Johnson, H.S. Hussein, Z.Q. Lin. 2006. Metal accumulation in eggs of red-eared slider (*Trachemys scripta elegans*) in the Lower Illinois River. *Chemosphere* 63: 39-48.
- Torrent, A., Deniz, S., Ruiz, A., Calabuig, P., Sicilia, J., and Oros, J., 2002. Esophageal diverticulum associated with *Aerococcus viridans* infection in a loggerhead sea turtle (*Caretta caretta*). *Journal of Wildlife Disease* 38, 221-223.
- Van Meter R.J., J.R. Spotila and H.W. Avery. Polycyclic aromatic hydrocarbons affect survival and development of common snapping turtle (*Chelydra serpentina*) embryos and hatchlings. *Environ. Pollut.* 142 (2006): 466-475.
- Vitt, L.J., and J.P. Caldwell. 2009. *Herpetology: An Introductory Biology of Amphibians and Reptiles*, 3rd edition. Academic Press, San Diego. 697 pp.
- Wallace, B.P., P.R. Sotherland, P.S. Tomillo, S.S. Bouchard, R.D. Reina, J.R. Spotila, F.V. Paladino., 2006. Egg components, egg size, and hatchling size in leatherback turtles. *Comp. Biochem. Physiol. A* 145: 524-532.
- Winkler, J.D. 2006. Testing phylogenetic implications of eggshell characters in side-necked turtles (Testudines: Pleurodira). *Zoology* 109: 127-136.
- Wyneken, J. 2001. *The anatomy of sea turtles*. National Oceanic and Atmospheric Administration, Miami, FL.
- Xiangkun H., S. Li, L. Meiying, B. Huijun, H. Nainan, C. Qiusheng. 2008. Seasonal changes of sperm storage and correlative structures in male and female soft-shelled turtles, *Trionyx sinensis*. *Animal Reproduction Science* 108: 435-445.
- Yasumasu, S., Uzawa, M., Iwasawa, A., & Yoshizaki, N. 2010. Hatching mechanism of the Chinese soft-shelled turtle *Pelodiscus sinensis*. *Comp. Biochem. Physiol. B, Biochem. Mol. Biol.* 155 (4): 435-441.
- You, W.H., P.C. Wang. 1994a. Study on calcium and magnesium metabolism on embryonic development of *Chinemys reevesii*. *Chinese J. Zool.* 29: 20-22.
- Zhu, X.P., C.Q. Wei, W.H. Zhao, H.J. Du, Y.L. Chen, J.F. Gui. 2006. Effects of incubation temperatures on embryonic development in the Asian yellow pond turtle. *Aquaculture* 259: 243-248.

ภาคผนวก (Appendix)

ผลสำเร็จที่ได้รับ

การผลิตนักศึกษาที่จบการศึกษาจากโครงการ

2556 ปริญญาตรี 6 คน

นางสาวศิริกิจ ขำนาญกิจ รหัส 07520128

นางสาวปองขวัญ พุฒิกุล รหัส 07520096

นางสาววิชุดา บุญมาก รหัส 07520120

นางสาวมัทธมา ท่งคาโน รหัส 07520029

นางสาวจรีรัตน์ ก้านจันทร์ทีก รหัส 07520273

นางสาวจิตราพร เมฆพ่ายพ รหัส 07520549

2557 ปริญญาโท 1 คน

นางสาวเสาวลักษณ์ ศิขิวัฒน์ รหัส 55303204

ปี 2558-เสนอผลงานในประชุมระดับชาติ The 53th Kasetsart University Annual Conference

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ประเทศไทย วันที่ 3-6 กุมภาพันธ์ 2558 เรื่อง

-Comparative eggshell ultrastructure of three species of sea turtle

ปี 2557-เข้าร่วมและเสนอผลงานในประชุมระดับนานาชาติ The International Symposium on

Engineering and Natural Sciences (ISEANS 2014) ณ เมืองปักกิ่งประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีน

วันที่ 22-24 พฤษภาคม 2557 เรื่อง

-Sea turtle eggshell from Gulf of Thailand and Andaman Sea investigation for conservation:

Analysis of ultrastructure, morphology and elements using scanning electron microscopy

ปี 2556-เข้าร่วมและเสนอผลงานในการประชุมวิชาการและเสนอผลงานในการประชุมระดับนานาชาติ

ICEBESE 2013: International Conference on Environmental, Biological, Ecological Sciences, and Engineering ณ เมืองเวนีส ประเทศอิตาลี วันที่ 15-16 สิงหาคม 2556 ในผลงาน 2 เรื่อง คือ

-Leatherback turtle (*Dermochelys coriacea*) after incubation eggshell study in Andaman Sea, Thailand: Microanalysis on ultrastructure and elemental composition

-Histological study of postmortem juvenile green turtles (*Chelonia mydas*) from Royal Thai Navy Sea Turtle Nursery, Phang-nga, Thailand

และงานทั้ง 2 เรื่องได้ตีพิมพ์ในวารสาร World Academy of Science, Engineering and Technology International Journal of Biological, Life Science and Engineering Vol:7 No:8, 2013

-Abstract ในการประชุมวิชาการระดับนานาชาติ ICABBBE 2013 : International Conference on Agricultural, Biotechnology, Biological and Biosystems Engineerin to be held in Istanbul, Turkey during June 20-21, 2013. Gas and Water Exchange Structure of Marine Turtle Eggshell

Species; Green Turtle (*Chelonia Cydas*), Hawksbillsea (*eretmochelys Imbricata*) and Leatherback (*dermochelys Coriacea*).

ปี 2555-เข้าร่วมและเสนอผลงานในประชุมระดับนานาชาติ International Conference on Nanoscience and Technology ในวันที่ 23-27 กรกฎาคม 2555 เมืองปารีส ประเทศฝรั่งเศส จำนวน 2 เรื่อง

-Energy dispersive X-ray spectroscopy (EDX) analysis for mass and elementary mapping of elements in marine turtle eggshells from Thailand

-Classification on microstructure of sea turtle eggshells: green turtle (*Cheloniamydas*), hawksbill turtle (*Eretmochelysimbricata*), and leatherbackturtle (*Dermochelyscoriacea*) by SEM/SEI

ประวัติคณะวิจัย

ส่วนที่ 3 : ประวัติหัวหน้าโครงการวิจัย/ผู้ร่วมวิจัย

ตอนที่ 1 ประวัติหัวหน้าโครงการ

ประวัติ

1. ชื่อ – สกุล (ภาษาไทย) รองศาสตราจารย์ ดร. มยุวา อารีกิจเสรี
(ภาษาอังกฤษ) Mayuva Areekijserree
2. ตำแหน่งทางวิชาการปัจจุบัน รองศาสตราจารย์
3. สถานที่ทำงาน ภาควิชา ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ วิทยาเขตพระราชวังสนามจันทร์
จังหวัดนครปฐม 73000 E-mail: maijackee@yahoo.com
ที่อยู่ปัจจุบัน 83/18 หมู่บ้านราชวดี ซอยพุทธบูชา 36 ถนนพุทธบูชา ตำบลบางมด อำเภอทุ่งครุ
จังหวัดกรุงเทพมหานคร 10140 โทรศัพท์ 081-4937640
4. ประวัติการศึกษา
 - ปริญญาตรีสาขาวิชาชีววิทยา สถาบัน มหาวิทยาลัยศิลปากร ปีที่สำเร็จ พ.ศ. 2526
 - ปริญญาโท สาขาวิชากายวิภาคศาสตร์ สถาบัน มหาวิทยาลัยมหิดล ปีที่สำเร็จ พ.ศ. 2537
 - ปริญญาเอกสาขาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ สถาบัน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ปีที่สำเร็จ พ.ศ. 2546

* แหล่งทุนที่ได้รับในขณะศึกษาระดับปริญญาเอก: ทุนพัฒนาอาจารย์สาขาขาดแคลน ศึกษาภายในประเทศ (รุ่นที่3) และทุนจากทบวงมหาวิทยาลัยผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัยมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยานิพนธ์ระดับบัณฑิตศึกษา

วิทยานิพนธ์ระดับบัณฑิตศึกษา (ชื่อเรื่อง/ปีที่ดำเนินการ ทั้งระดับปริญญาโทและปริญญาเอก)

-ระดับปริญญาโท

หัวข้อวิทยานิพนธ์ระดับปริญญาโท เรื่อง: Sex Determination on Bovine Embryo Using H-Y Antibody (ปีที่ดำเนินการ พ.ศ. 2536-2537)

-ระดับปริญญาเอก

หัวข้อวิทยานิพนธ์ระดับปริญญาเอก เรื่อง: Culture and Enzymatic Digestive Activities of Freshwater Pearl Mussel *Hyriopsis (Hyriopsis) bialatus* Simpson, 1900 (ปีที่ดำเนินการ พ.ศ. 2544-2546)
5. สาขาวิชาที่มีความชำนาญพิเศษ
 - สาขาเกษตรศาสตร์และชีววิทยา
 - แขนงวิชา Histology
 - Microtechnique (tissue preparation and section)
 - Scanning electron microscope
 - Transmission electron microscope
 - แขนงวิชา Advanced embryology และ Biotechnology for animals

- *In vitro* fertilization (IVF) embryo culture (IVC) and embryo maturation (IVM)
- Embryo sexing
- Oocyte and semen collection and preservation
- *In vitro* culture, digestive enzyme study and digestibility in aquatic animals
- *In vitro* cytotoxicity method for the assessment of heavy metal in cell culture

รางวัลที่ได้รับจากงานวิจัย

-รางวัลผลงานวิจัยระดับดีสาขาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากรประจำปี 2553 เรื่อง “การศึกษาอาการท้องแดงและโรคไขติดยึดเชื้อราในปูทะเลไทย (*Scylla serrata* Forskal 1775): ปัจจัยทางกายภาพชีวภาพและพยาธิชีววิทยา” โดยสถาบันวิจัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

สาขาวิชาที่ได้รับรางวัล: วิทยาศาสตร์และวิทยาศาสตร์ประยุกต์

-รางวัลผลงานวิจัยระดับดีสาขาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากรประจำปี 2549 เรื่อง “ศึกษาเทคนิคการเพาะเลี้ยง สัตว์น้ำในนา และลักษณะโปรตีนที่หลังจากเซลล์บุท่อนไข่และเซลล์ล้อมรอบเซลล์ไข่สุกร” โดยสถาบันวิจัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

สาขาวิชาที่ได้รับรางวัล: วิทยาศาสตร์และวิทยาศาสตร์ประยุกต์

-รางวัลที่ 3 ในการนำเสนอภาพถ่ายทางจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน ชื่อภาพ “Giant Mitochondria” โดยสมาคมจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแห่งประเทศไทย (Narkkong N and **Areekijsee M**) ประจำปี 2553 โดยสมาคมกล้องจุลทรรศน์แห่งประเทศไทย

สาขาวิชาที่ได้รับรางวัล: ชีววิทยา

-รางวัลที่ 3 ในการนำเสนอผลงานวิจัย (Poster presentation) โดยสมาคมจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแห่งประเทศไทย เรื่อง “Effect of fulvic acid on the cadmium bioavailability of treated primary cell culture” (**Areekijsee M**, Sanmanee N.) ประจำปี 2550 โดยสมาคมกล้องจุลทรรศน์แห่งประเทศไทย

สาขาวิชาที่ได้รับรางวัล: ชีววิทยา

- รางวัลที่ 2 ในการนำเสนอผลงานวิจัย (Poster presentation) เรื่อง Soil management effect on organic matter content; case study from Thailand. (Swangiang K. Sanmanee N. Panishkan K. **Areekijsee M**.) ในการจัดการประชุมประจำปี 2550 “The international symposium on forest soils and ecosystem Health” จัดโดย Center of Forestry and Horticulture Research Griffith University. Brisbane, Queensland, Australia. สาขาวิชาที่ได้รับรางวัล: วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม

รางวัลที่ได้รับจากงานวิจัยเมื่อเป็นนักศึกษา

-รางวัลผลงานวิจัยยอดเยี่ยมของภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ประจำปี 2537 **Robert C. Holland Award**: The best M.S. thesis in 1994, Anatomy Department, Faculty of science, Mahidol University

-รางวัลผลงานวิทยานิพนธ์ระดับชมเชย สำหรับนักศึกษาปริญญาเอก สาขาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ประจำปี 2546

ผลงานวิจัย/ผลงานสร้างสรรค์ทางด้านศิลปะและการออกแบบที่ดำเนินการเสร็จแล้ว

ชื่อเรื่อง บทบาทของกรดฮิวมิกและกรดฟัลลิกในดินของพื้นที่เกษตรกรรมต่อการดูดซับธาตุอาหารในดินและโลหะที่เป็นพิษ: กรณีศึกษาภูมิภาคตะวันตกของประเทศไทย

ลักษณะโครงการ โครงการเดี่ยว (ทุนงบประมาณแผ่นดิน)

ทำหน้าที่ ผู้ร่วมโครงการ

สาขาวิชา วิจัยประยุกต์

จำนวนงบประมาณ 2,000,000 บาท

ปีที่ดำเนินการ 2549-2550

ชื่อเรื่อง ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและองค์ประกอบของธาตุในเปลือกไข่เต่าทะเลไทยด้วย

Energy Dispersive X-ray Analysis (EDX) และ Secondary Electron Imaging (SEI)

ลักษณะโครงการ โครงการเดี่ยว (ทุน ดร. วิโรจน์ ตันตราภรณ์)

ทำหน้าที่ หัวหน้าโครงการ

สาขาวิชา ชีววิทยา

จำนวนงบประมาณ 50,000 บาท

ปีที่ดำเนินการ 2548

ชื่อเรื่อง การพัฒนาเทคนิคการใช้เซลล์เพาะเลี้ยงสำหรับศึกษารูปแบบความเป็นพิษของโลหะหนัก

(Development of *in vitro* cytotoxicity method for the assessment of heavy metal for the prevention and control of industrially related pollutions) (ทุน สกอ.)

ลักษณะโครงการ คณะบุคคล

ทำหน้าที่ ผู้ร่วมวิจัย

ปีที่ดำเนินการ ตุลาคม 2546 - 30 กันยายน 2547

ชื่อเรื่อง ศึกษาเทคนิคการเพาะเลี้ยง สัณฐานวิทยาและลักษณะโปรตีนที่หลังจากเซลล์บุท่อไข่และเซลล์ล้อมรอบเซลล์ไข่สุกร (Study on *in vitro* culture technique, morphology and characterization of secretory protein from porcine oviductal epithelial and cumulus cells)

ลักษณะโครงการ โครงการเดี่ยว (สกว.)

ทำหน้าที่ หัวหน้าโครงการ

สาขาวิชา ชีววิทยา

จำนวนงบประมาณ 480,000 บาท

ปีที่ดำเนินการ 1 กรกฎาคม 2547- 30 มิถุนายน 2549

ชื่อเรื่อง การศึกษาอาการท้องแดงและโรคไข่ติดเชื้อราในปูทะเลไทย (*Scylla serrata Forskal 1775*):

ปัจจัยทางกายภาพ ชีวภาพ และพยาธิชีววิทยา

ลักษณะโครงการ โครงการเดี่ยว (สกว.)

ทำหน้าที่ หัวหน้าโครงการ

สาขาวิชา ชีววิทยา

จำนวนงบประมาณ 480,000 บาท

ชื่อเรื่อง ต้นแบบแปรรูปไข่เต่าทะเลไทย : วิเคราะห์โครงสร้างพื้นฐานวิทยาและองค์ประกอบธาตุเพื่อการอนุรักษ์

ลักษณะโครงการ	โครงการเดี่ยว (สกว., TRFMAC)
ทำหน้าที่	หัวหน้าโครงการ
สาขาวิชา	ชีววิทยา
จำนวนงบประมาณ	300,000 บาท
ปีที่ดำเนินการ	2550-2552

การเผยแพร่ผลงานวิจัย/ผลงานสร้างสรรค์

ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์ในวารสารระดับนานาชาติ (ในรอบ 6 ปี)

Areekijseeree M, Veerapraditsin T, Panyarachun B. 2010. Characterization of red sternum syndrome in mud crab farms from Thailand. *Biologia* 65/1: 150-156. DOI 102478/s11756-009-0228-y **มี impact factor 0.617** (ปี 2009).

Chuen-Im T, **Areekijseeree M**, Chongthammakun S, Sheila G. 2010. Aerobic Bacterial Infections in Captive Juvenile Green Turtles (*Chelonia mydas*) and Hawksbill Turtles (*Eretmochelys imbricata*) from Thailand. *Chelonian Conservation and Biology* 9 (1) 135-142. DOI: 10.2744/CCB-0808.1. **มี impact factor 1.294** (ปี 2008)

Sanmanee N, **Areekijseeree M**. 2010. The effects of fulvic acid on copper bioavailability to porcine oviductal epithelial cells. *Biol.Trace. Res.* 135: 162-173. DOI 10.1007/s12011-009-8508-5. **มี impact factor 1.013** (ปี 2008)

Sanmanee N, **Areekijseeree M**. 2009. *In vitro* toxicology assessment of cadmium bioavailability on primary porcine oviductal epithelial cells. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* **มี impact factor 1.281** (ปี 2007)

Areekijseeree M, Veerapraditsin T. 2008. Characterization of porcine oviductal epithelial cells, cumulus cells and granulosa cells-conditioned medium and their ability to acrosome reaction on frozen bovine spermatozoa. *Micron* 39: 160-167. **มี impact factor 1.46** (ปี 2004).

Areekijseeree M, Vejaratpimol R. 2006. *In vivo* and *in vitro* porcine oviductal epithelial cells, cumulus cell complexes and cumulus cells study: A scanning electron microscopy and inverted microscopy study. *Micron* 37 (8): 707-716. **มี impact factor 1.46** (ปี 2004)

Areekijseeree M, Thongpan A, Vejaratpimol R. 2005. Morphological study of porcine oviductal epithelial cells and cumulus-oocyte complex. *Kasetsart Journal (Nat. Sci.)* 39 (1) P. 136-144. **มี impact factor 0.060** (ปี 2004)

ผลงานวิจัยอื่นๆ

ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์และการนำเสนอผลงานในระดับนานาชาติ (ในรอบ 6 ปี)

Areekijserree M, Thepsithar C, Metasart W. 2010 Recovery of cumulus-oocyte complexes (COCs) and investigation on oviductal epithelial cells, protein secretions from oviduct and ovary on porcine estrous cycle. Abstract of The 1st International Congress on Controversies in Cryopreservation of Stem Cells, Reproductive Cells, Tissue and Organs (CRYO). 27-30 May 2010, Valencia, Spain.

Areekijserree M, Thepsithar C, Metasart W, Narkkong N. 2010. Cumulus cells expansion and oocyte disconnection in intact- and multi-cumulus cell layers of porcine cumulus cell complexes (pCOCs) during in vitro culture. Abstract of The 1st International Congress on Controversies in Cryopreservation of Stem Cells, Reproductive Cells, Tissue and Organs (CRYO). 27-30 May 2010, Valencia, Spain.

Sribuddhachart K, **Areekijserree M**. 2010. Determination on ultra-morphology, elemental characterization and elemental location using SEI/BEI/EDX with smiling program X-ray images of Rock pigeon eggshells. Abstract of The 6th International Conference On Biological Sciences Global Climate Change and Biohazards. 10-11 November 2010, Tanta University, Tanta, Egypt.

Areekijserree M, Sribuddhachart K. 2010. Observation on quantitative and qualitative microanalysis of elemental composition of wild and captive avian eggshells from the central part of Thailand. Abstract of The 6th International Conference On Biological Sciences. Global Climate Change and Biohazards. 10-11 November 2010, Tanta University, Tanta, Egypt.

Areekijserree M, Nuamsukon S, Chuen-Im T, Narkkong N, 2010. Microanalysis on Ultrastructure and Elemental Composition of Green turtles (*Chelonia mydas*) Eggshells. Proceedings of the 27th MST Annual Conference, 20-22 January 2010, Samui, Thailand.

Areekijserree M, Thepsithar C, Chuen-Im T, Narkkong N, Namchote S. Study on red sternum character in mud crabs *Scylla serrata* (Forskål, 1755) Thailand. Proceedings of the 27th MST Annual Conference, 20-22 January 2010, Samui, Thailand.

Narkkong N, **Areekijserree M**, 2010. Apatitic granules in chitinophosphatic shell of Lingulid Brachiopods. Proceedings of the 27th MST Annual Conference, 20-22 January 2010, Samui, Thailand.

Chuen-Im T, **Areekijserree M**, Chongthammakun S, Sheila G. 2010. Bacterial-associated diseases in juvenile *Chelonia mydas* and *Eretmochelys imbricata* from the Sea Turtle Conservation Centre, Thailand. Proceedings of the 27th MST Annual Conference, 20-22 January 2010, Samui, Thailand.

Areekijserree M, Thepsithar C, Thongpukdee A, Somkanae U. 2009. Thin cell layer somatic hybridization between *Caladium humboldtii* Schott 'Phraya Savet' and *C. bicolor* (Ait.) Vent. 'Suvarnabhum'. Abstract of 23th International Eucarpia Symposium, Section Ornamentals "Colourful Breeding and Genetics", 31 August -4 September 2009, Leiden, The Netherland.

Areekijserree M, Panishkan K, Sanmanee N, Swangjang K. 2009. Elemental characterization of agricultural soil in Western region of Thailand. Proceeding of the International Soil and Water Assessment Tool-Southeast Asia (SWAT-SEA) Conference, 5-8 January, 2009. Chiang Mai, Thailand.

Panishkan K., **Areekijserree M**, Sanmanee N, Swangjang K. 2009. Multivariate analysis of soil chemical composition on clustering patterns: A case study from Western part of Thailand. Proceeding of the International Soil and Water Assessment Tool-Southeast Asia (SWAT-SEA) Conference, 5-8 January, 2009. Chiang Mai, Thailand.

Areekijserree M, Sanmanee N, Panishkan K, Swangjan, K. 2008. Nanotechnology investigation on characterization of humic substance in organic fertilizers. In The 9th International Congress on Cell Biology, 7-10 October, 2008. Seoul, Korea.

Nuamsukon S, Chuen-Im T, Peng-Pan P, Rattanayuvakorn S, **Areekijserree M**. Juvenile sea turtles conservation: Analysis of structure, element of eggshell, microbiological, histological investigation. In The 9th International Congress on Cell Biology, 7-10 October, 2008. Seoul, Korea.

Sribuddhachart K, Engsusophon A, **Areekijserree M**. 2008. Elemental and ultrastructural analysis of the avian eggshells: Secondary electron imaging detector (SEI) and energy dispersive x-ray analysis (EDX) techniques. In The 9th International Congress on Cell Biology, 7-10 October, 2008. Seoul, Korea.

Areekijserree M, Cheum-Im T, Mettasart W, Narkkong N. 2008. Proceeding of the 25th EMST Annual Conference Microscopy Society of Thailand. 9-11 January 2008. Phisanulok, Thailand. P84-85.

Areekijserree M, Sanmanee N. 2007. Effect of fulvic acid on the cadmium bioavailability of treated primary cell culture. Abstract of the 24th EMST Annual Conference Microscopy Society of Thailand. 14-16 February 2007 at Kasetsart University, Thailand.

Swangiang K, Sanmanee N, Panishkan K, **Areekijserree M**. 2007. Relationship between humic acid quantity and some properties of agricultural soils in the western part of Thailand. Abstract of Functioning of NOM in Environment 11 Nordic- Baltic Symposium 10th -13th June 2007. Joensuu, Finland. P.49.

- Sanmanee N. Swangiang K. **Areekijserree M.** Panishkan K. 2007. Effect organic matter on Ca, Zn, Pb and Cu in two different groups of agriculture soils in Thailand. Abstract of Humic substances in Ecosystem 7. 17th-21th June 2007. Bachotek, Poland. P.30.
- Swangiang K. Sanmanee N. Panishkan K. **Areekijserree M.** 2007. Soil management effect on organic matter content; case study from Thailand. Processding on The international symposium on forest soils and ecosystem health. 19th-23th August 2007. Noosa, Queensland, Australia. P.105-106.
- Sanmanee N. Ruckthongsook W. **Areekijserree M.** Panishkan K. 2007. The Relationship of Different Soil Particle Sizes with Organic Carbon. In International Conference on Agricultural, Food and Biological Engineering & Post Harvest/Production Technology, 21-24 January, 2007. Khon Kaen, Thailand. P.77.
- Mettasart W. CheunIm T. **Areekijserree M.** 2007. Oocyte collection and *in vitro* oocyte culture supplemented with hormones in sow. Abstract of the First Annual Conference Silpakorn University.
- Kaewsangiem S. Salaenoi J. Narkkong N. Veerapraditsin T. **Areekijserree M.** 2006. Histopathology of red sternum syndrome in mud crab (*Scylla serrata* Forskall 1775) collected from soft-shell crab farm. Journal of microscopy of Thailand 20: 207-208.
- Areekijserree M.** Thongpan A. Vejaratpimol R. 2005. Porcine oviductal epithelial cells and cumulus-oocyte complex observance. Abstract of the 22th EMST Annual Conference Microscopy Society of Thailand. 2-4 February 2005 at Chonburi, Thailand.
- Sangthong T. **Areekijserree M.** Vejaratpimol R. 2005. Cytotoxicity and genotoxicity of mouse derived (L₉₂₉) cells exposed to cadmium chloride and cells viability assays. Abstract of the 31th Congress on Science and Technology of Thailand. 18-20 October 2005. Technopolis, Suranaree University, Nakhon Ratchasima. P107-108.
- Areekijserree M.** Vejaratpimol R. Gumlungpat N. 2004. Microstructure investigations of porcine ampullary oviductal epithelial cells by Scanning electron microscope. Abstract of the 30th Congress on Science and Technology of Thailand. 19-21 October 2004. at Impact Exhibition and Convention Center, Muang Thong Thani. P43.
- Areekijserree M.** 2003. Scanning electron microscopy observations of porcine ampullary oviductal epithelial cells. Silpakorn University International Journal. 1-2 (3) P. 226-276.

นันทิรา สรรมณี, กนกพร สว่างแจ้ง, กมลชนก พาณิชการ, มยุวาท อารีกิจเสรี. 2551. ศึกษาความเป็นประโยชน์ของอิฐกับภาคการเกษตรไทย. วารสารเคหะการเกษตร ปีที่ 32 ฉบับที่ 5 หน้า 247-249.

มยุรา อารีกิจเสรี. 2550. แนวทางการศึกษาโครงสร้างและองค์ประกอบธาตุของสารชีวโมเลกุลในปฏิกิริยาของไธม. หนังสือพิมพ์ข่าวทหารคำ ปีที่ 27 ฉบับที่ 278 วันที่ 16-31 ธันวาคม 2550. หน้า 7.

มยุรา อารีกิจเสรี เทคนิคการเพาะเลี้ยงเซลล์บ่งชี้แนวโน้มและเซลล์ล้อมรอบเซลล์ไข่สุกเพื่อการศึกษาทางชีววิทยาการสืบพันธุ์และการทดสอบทางพิษวิทยา วารสารวิทยาศาสตร์ศึกษา 2547 ปีที่ 1 ฉบับที่ 2 หน้า 33-36.

มยุรา อารีกิจเสรี การเตรียมตัวอย่างเซลล์เพาะเลี้ยงเพื่อการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน Journal of STREC 2547 ปีที่ 12 ฉบับที่ 1 หน้า 9-12.

ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์ในวารสารระดับนานาชาติและได้นำเสนอผลงาน (มากกว่า 5 ปี)

Kitiyanant Y, Tocharus C, **Areekijserree M**, Pavasuthipaisit K. 1995. Swamp buffalo oocytes from transvaginal ultrasound-guided aspiration fertilized and co-cultured in vitro with bovine oviductal epithelial cells. *Theriogenology*. 43 (1): 250. **มี impact factor 1.965 (ปี 2001)**

Kitiyanant Y, Lhuangmahamonkol S, **Areekijserree M**, Tocharus C, Thonabulsombat C, Pavasuthipaisit K. 1993. Porcine oviductal support in vitro bovine embryo development. *Theriogenology*. 39 (1): 246. **มี impact factor 1.965 (ปี 2001)**

Tocharus C, Kitiyanant Y, **Areekijserree M**, Jaruanuswan M, Pavasuthipaisit K. 1994. Viability testing of frozen-thawed bovine embryos produced from oocytes matured fertilized and cultured with oviductal cells in vitro. *Thai. J. Physiol. Sci.* 7(1): 23-31.

Kitiyanant Y, Schmidt MJ, **Areekijserree M**, Pavasuthipaisit K. 1994. Acrosome evaluation of semen collection by AV in Asian elephant (*Elephas maximus*) and treated with caffeine, PHE, c-AMP and Heparin. Seventh International Symposium on Spermatology. Cairn, North Queensland, Australia. 1994; P. 95-96.

Kitiyanant Y, Tocharus C, **Areekijserree M**, Jaruanuswan M, Vasavanandh T, Rathprasert T, Pavasuthipaisit P. 1994. Biotechnology IV: Sexing in cattle. Proceeding in the International Congress (Techno Indochina) on Science and Technology for good Relationship with Neighbor Countries. Bangkok, Thailand. P. 18-24.

Pavasuthipaisit K, Kitiyanant Y, Tocharus C, Thonabulsombat C, Lhuangmahamonkol S, **Areekijserree M.**, Narksompop N. 1993. Biotechnology in farm animal III. Ovum pick up, embryo production and hormonal influence. Proceeding in Second Inter-Congress Symposium of The Asia and Oceanic-Society for Comparative Endocrinology, Thailand. P.160-161.

Pavasuthipaisit K, Kitiyanant Y, Tocharus C, Thonabulsombat C, **Areekijserree M**, Lhuangmahamonkol S, Narksompop N Prempre P. 1993. Biotechnology in farmanimals I. Embryo production in vitro and sexing. Proceeding in The 31st Kasetsart University Annual conference. P.93-106.

- Kitiyant Y, Lhuangmahamonkol S, **Areekijserree M**, Tocharus C, Thonabulsombat C, Pavasuthipaisit K. 1993. Porcine oviductal support in vitro bovine embryo development. Annual Meeting of The IETS. January 10-12 in Baton Rouge, Louisiana, USA. 1993.
- Kitiyant Y, Songthavesin C, Youngprapakorn P, Junprasert S, **Areekijserree M**, Tocharus C, Pavasuthipaisit K. 1993. Seasonal changes of male reproductive tract and testosterone level of *Crocodilus siamensis*. Proceedings in Second Inter-Congress Symposium of The Asia and Oceania-Society for Comparative Endocrinology, Thailand. 1993; P. 232-233.
- Kitiyant Y, Thonabulsombat C, Chongthammakun S, Tocharus C, Sricharoen P, **Areekijserree M**, Pavasuthipaisit K. 1991. Pregnancy and born of calf resulting from bovine oocyte matured, fertilized and cultured in oviductal cells in vitro. Abstract of The seventeenth Congress on Science and Technology of Thailand. October 24-26 at Health Science Auditorium Khon Kaen University, Thailand. 1991; B-089.
- Kitiyant Y, Thonabulsombat C, Chongthammakun S, Tocharus C, Sricharoen P, **Areekijserree M**, Pavasuthipaisit K. 1991. Pregnancy and born of calf resulting from bovine oocyte matured, fertilized and cultured in oviductal cells in vitro. The fourteenth Annual Meeting of the Society of Anatomy of Thailand. Songkla. 1991; P.14-15.
- Ooba T, Sricharoen P, **Areekijserree M**, Kitiyanant Y, Pavasuthipaisit K. 1990. Evaluation of acrosome reaction in bovine sperm by a triple-staining technique. *J Physiol. Sci.* 3: 91-104.
- Pavasuthipaisit K, Kitiyanant Y, Chongthammakun S, Thonabulsombat C, Tocharus C, **Areekijserree M**, Sricharoen P, Ooba T. Biotechnology of embryo production in vitro and its impact on national economic improvements. In Abstract of The thirteenth Annual Meeting of the Society of Anatomy of Thailand. Bangkok. 1990; P. 27.
- Chongthammakun S, Teganjanavaich K, **Yongsabanant M**, Pavasuthipaisit K. 1987. Bioactive and immunoactive luteinizing hormone responses to gonadotropin-releasing hormone in post-menopausal women with diabetes mellitus. *Ramathibodi. Med. J.* 50-53.
- Chongthammakun S, Pavasuthipaisit K, Varavudhit P, Eakavibhata C, **Yongsabanant M**, Vongpayabal P. 1987. Studies on the effects of gossypol on monkey sperm morphology. Abstract of The thirteenth Conference on Science and technology of Thailand. October 20-22 at Prince of Songkla University, Hat-yai, Songkla, Thailand. 1987; B78.
- Somsamorn J, **Yongsabanant M**, Anantasiri S, Pavasuthipaisit K. 1986. An investigation on the alteration of pituitary hormones secretion in Thai hyperthyroidism patients. The ninth Annual Meeting of the Society of Anatomy of Thailand. April 22-25 at Karnchanaburi Thailand. 1986; P.39.

Chongthammakun S, **Youngsabanant M**, Pavasuthipaisit K. 1986. Bioactive and immunoactive luteinizing hormone during the menstrual cycle in normal Thai women. Intern. Med. 1986. 2: 70-75.

งานวิจัยที่เป็นวิทยานิพนธ์ปริญญาเอกที่ได้ตีพิมพ์ในวารสารระดับนานาชาติและได้นำเสนอผลงาน

Areekijserree M, Engkagul A, Kovitvadhi U, Thongpan A, Mingmuang M, Pakkong P, Rungruangsak-Torrissen K. 2004. Temperature and pH characteristics of amylase and proteinase of adult freshwater pearl mussel: *Hyriopsis (Hyriopsis) bialatus* Simpson 1900. Aquaculture. 234: 575-587. **มี impact factor 1.536** (ปี 2002).

Areekijserree, M, Engkagul A, Kovitvadhi U, Thongpan A, Rungruangsak-Torrissen K. 2006. Development of digestive enzymes and *in vitro* digestibility of different phytoplankton for culture of juvenile freshwater pearl mussel, *Hyriopsis (Hyriopsis) bialatus* Simpson 1900. Invert. Reprod. Dev. 49 (4) 255-262. **มี impact factor 0.7** (ปี 2002)

Areekijserree M, Engkagul A, Kovitvadhi U, Thongpan A, Mingmuang M, Kovitvadhi S. 2002. Activity profiles at different pH and temperature of cellulases and lipases in freshwater pearl mussel: *Hyriopsis (Hyriopsis) bialatus*, Simpson 1900. Kasetsart Journal (Nat. Sci.). 4 (36) 399-407. **มี impact factor 0.060** (ปี 2004)

Areekijserree M, Kovitvadhi S, Kovitvadhi U, Engkagul A, Thongpan A, Mingmuang M, Vejaratpimol R. 2003. Culture and morphological development of freshwater pearl mussel: *Hyriopsis (Hyriopsis) bialatus* Simpson 1900. Abstract of the 29th Congress on Science and Technology of Thailand. 20-22 October 2003 at Khon Kaen University.

Areekijserree M, Engkagul A, Kovitvadhi U, Thongpan A, Mingmuang M, Pakkong P, Rungruangsak-Torrissen K. 2002. Proteinases in freshwater pearl mussel, *Hyriopsis (Hyriopsis) bialatus* Simpson 1900. Abstract of the 28th Congress on Science and Technology of Thailand 24-26 October 2002. Queen Sirikit National Convention Center, Bangkok. P. 309.

Areekijserree M, Engkagul A, Kovitvadhi U, Thongpan A, Mingmuang M, Pakkong P, Rungruangsak-Torrissen K. 2002. Amylase in freshwater pearl mussel, *Hyriopsis (Hyriopsis) bialatus* Simpson 1900. Abstract of the 28th Congress on Science and Technology of Thailand 24-26 October 2002. Queen Sirikit National Convention Center, Bangkok. P.310.

ตำรา เอกสารประกอบการสอนและเอกสารการสอน

มยุรา อารีกิจเสรี 2550 “การเตรียมเซลล์สืบพันธุ์และการผลิตตัวอ่อนสัตว์ในจานแก้ว” (Animal Gamete Preparation and *In vitro* Embryonic Production) ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร 215 หน้า ISBN 978-974-641-212-4

มยุรา อารีกิจเสรี 2548 “เทคนิคทางชีววิทยาสำหรับกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด” (Biological Techniques in Scanning Electron Microscopy) ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร 119 หน้า ISBN 974-9624-89-0

มยุรา อารีกิจเสรี 2549 เอกสารประกอบการสอนวิชา Biological Microtechniques ภาควิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยศิลปากร วิทยาเขตพระราชวังสนามจันทร์ นครปฐม 195 หน้า

มยุรา อารีกิจเสรี 2546 ชีววิทยาทั่วไป 1 บทที่, 31 หน้า

มยุรา อารีกิจเสรี 2543 “กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน” ในเอกสารประกอบการอบรมโอลิมปิกวิชาการ สาขาชีววิทยา ค่ายที่ 1 ระหว่าง 6-21 ตุลาคม 2543 ภาควิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยศิลปากร วิทยาเขตพระราชวังสนามจันทร์ นครปฐม

มยุรา อารีกิจเสรี 2541 คู่มือปฏิบัติการวิชา 512 221 เอ็มบริโอส์ตว์มีกระดูกสันหลัง 50 หน้า

ประวัติคณะผู้ร่วมวิจัยคนที่ 1

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ธนาพร ชื่นอ้อม (วีระประดิษฐ์ศิลปะ)

1. ตำแหน่ง พนักงานมหาวิทยาลัย
2. วัน เดือน ปีเกิด 3 พฤศจิกายน พ.ศ. 2515
3. หมายเลขประจำตัวประชาชน 3101202665491
4. การศึกษา

<u>คุณวุฒิ</u>	<u>ปี พ.ศ.ที่จบ</u>	<u>ชื่อสถานศึกษาและประเทศ</u>
วท.บ. (สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ)	2537	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ประเทศไทย
วท.ม. (สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ เอกชีวเคมี)	2541	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ประเทศไทย
Ph.D. (Molecular Virology)	2547	University of Glasgow, UK

หัวข้อวิทยานิพนธ์ระดับปริญญาโท เรื่อง: Genetic variation of green turtle (*Chelonia mydas*) of Thailand by using microsatellite DNA (ปีที่ดำเนินการ พ.ศ. 2540-2541)

หัวข้อวิทยานิพนธ์ระดับปริญญาเอก เรื่อง: Interaction between HPV-16 negative regulatory element and cellular proteins during epithelial cell differentiation (ปีที่ดำเนินการ พ.ศ. 2545-2547)

5. สังกัด ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร พระราชวังสนามจันทร์ จังหวัดนครปฐม รหัส 73000 e-mail : suy85@hotmail.co.uk

6. สาขาวิชาที่เกี่ยวข้อง

- มีัญชพยาธิวิทยา
- ไวรัสวิทยา
- การเพาะเลี้ยงเซลล์สัตว์
- การศึกษาทางจุลชีววิทยา
- การศึกษาโปรตีนทางชีวเคมี

7. ประสบการณ์การทำงาน:

-ผู้ช่วยนักวิจัย ในโครงการ “ความหลากหลายของเชื้อก่อให้เกิดโรคใหม่ต่อใบข้าวในประเทศไทย”, ศูนย์พันธุวิศวกรรมแห่งชาติ ปี พ.ศ. 2541-2544

8. ผลงานทางวิชาการ

1. Areekijserree M, **Veerapraditsin T**, Panyarachun B. 2010. Characterization of red sternum syndrome in mud crab farms from Thailand. *Biologia* 65/1: 150-156. DOI 102478/s11756-009-0228-y มี impact factor 0.617 (ปี 2009).
2. **Chuen-Im T**, Areekijserree M, Chongthammakun S, Sheila G. 2010. Aerobic Bacterial Infections in Captive Juvenile Green Turtles (*Chelonia mydas*) and Hawksbill Turtles (*Eretmochelys imbricata*) from Thailand. *Chelonian Conservation and Biology* 9 (1) 135-142. DOI: 10.2744/CCB-0808.1. มี impact factor 1.294 (ปี 2008)
3. Cumming S.A. McPhillips M.G., **Veerapraditsin T.**, Milligan S.G., Graham S.V. 2003. Activity of the human papillomavirus type 16 late negative regulatory element is partly due to four weak consensus 5' splice sites that bind a U1 snRNP-like complex. *J Virol.* 77: 5167-5177.
4. **Veerapraditsin T.**, McPhillips M.G., Cumming S.A., Karali D., Milligan S.G., Boner W., Morgan I.M., Graham S.V. 2004. SF2/ASF binds the human papillomavirus type 16 late RNA control element and is regulated during differentiation of virus-infected epithelial cells. *J Virol.* 78: 10598-10605.

การเสนอผลงานในงานประชุมทางวิชาการ

1. **Veerapraditsin T.**, McPhillips M.G., Cumming S.A., and Graham S.V. The HPV-16 negative regulatory element binds cellular RNA processing factors expressed in concert with late events in the virus life cycle. **Poster presentation** in 11th Tenovus-Scotland Symposium, University of Glasgow, April 2002.
2. **Veerapraditsin T.**, McPhillips M.G., Milligan S.G., Cumming S.A., Karali D., Graham S.V. Interaction between the HPV-16 negative regulatory element (NRE) and RNA processing factors during epithelial cell differentiation. **Oral presentation** in DNA tumour viruses congress, Triest, Italy, May 2003.
3. **Veerapraditsin T.**, McPhillips M.G., Milligan S.G., Cumming S.A., Graham S.V. SF2/ASF, a splicing factor, interacts with the HPV-16 RNA control element and is mediated by the virus in differentiated epithelial cells. **Oral presentation** in RNA club society in UK, Amberside, UK, January 2004.
4. **Veerapraditsin T.**, McPhillips M.G., Milligan S.G., Cumming S.A., Karali D., Graham S.V. Regulation of a splicing factor, SF2/ASF, in differentiated epithelial cells is

- mediated by HPV-16. **Oral presentation** in Virology Workshop at University of Glasgow, UK, February 2004.
5. **Veerapraditsin T.**, McPhillips M.G., Milligan S.G., Cumming S.A., Karali D., Graham S.V. Regulation of a splicing factor, SF2/ASF, in differentiated epithelial cells is mediated by HPV-16. **Oral presentation** in Virus Group – Human papillomaviruses (HPV) – Workshop in Society for General Microbiology conference at University of Bath, UK, April 2004.
 6. **Veerapraditsin T.**, and Graham S.V. HPV-16 regulates SF2/ASF and hnRNP A1 during epithelial cell differentiation. **Poster presentation** in BioScience 2004 Symposium – from molecules to organisms organised by Biochemical Society in UK, Science Exhibition Conference Centre, Glasgow, July 2004.
 7. Yule L., **Veerapraditsin T.**, McPhillips M.G., Milligan S.G., Zhang J. and Graham S.V. SF2/ASF binds the HPV-16 late RNA control element and regulated during differentiation of virus-infected epithelial cells. Poster presentation in RNA Structure and Function: a joint Biochemical Society/Royal Society of Chemistry Focused Meeting, University of Edinburgh, UK, November 2004.
 8. Areekijserree M, **Veerapraditsin T.** 2008. Characterization of porcine oviductal epithelial cells, cumulus cells and granulosa cells-conditioned medium and their ability to acrosome reaction on frozen bovine spermatozoa. *Micron* 39: 160-167. **มี impact factor 1.46** (ปี 2004).
 9. Mettasart W. **Cheunlm T.** Areekijserree M. 2007. Oocyte collection and *in vitro* oocyte culture supplemented with hormones in sow. Abstract of the First Annual Conference Silpakorn University.
 10. Areekijserree M. **Cheum-Im T.** Mettasart W. Narkkong N. 2008. Proceeding of the 25th EMST Annual Conference Microscopy Society of Thailand. 9-11 January 2008. Phisanulok, Thailand. P84-85.

ประสบการณ์อื่น ๆ

- ผู้ช่วยสอนวิชาปฏิบัติการไวรัสวิทยา สำหรับนักศึกษาปี 4 ณ Institute of Virology, University of Glasgow, UK ปี พ.ศ. 2546
- ผู้ช่วยสอนวิชาปฏิบัติการไวรัสวิทยา สำหรับนักศึกษาปี 4 ณ Institute of Virology, University of Glasgow, UK ปี พ.ศ. 2547

- ผู้ช่วยสอนวิชาปฏิบัติการใน Pathology/Parasitology/Virology สำหรับนักศึกษาปี 3 ณ University of Glasgow, UK ปี พ.ศ. 2547
- ผู้ช่วยสอนวิชาปฏิบัติการเทคนิคใช้ในการศึกษาทางชีวโมเลกุล สำหรับนักศึกษาปี 3 ณ University of Glasgow, UK ปี พ.ศ. 2547

ประสบการณ์เกี่ยวกับงานวิจัย

- ปี พ.ศ. 2548- 2549 ได้รับทุนวิจัยจาก ดร. วิโรจน์ ตันตราภรณ์ ในหัวข้อ “การสำรวจโรคในลูกเต่าทะเลจากศูนย์อนุรักษ์พันธุ์เต่าทะเล อ. สัตหีบ จ. ชลบุรี”

ประวัติผู้ร่วมวิจัยคนที่ 2

ผู้ช่วยศาสตราจารย์กัลยา ศรีพุทธชาติ

อาจารย์ที่ปรึกษาชมรมคณกรักษ์นก คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร

1. ตำแหน่ง ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ระดับ 8

2. วัน เดือน ปีเกิด 8 เมษายน พ.ศ. 2499

3. การศึกษา

คุณวุฒิ	ปี พ.ศ. ที่จบ	ชื่อสถานศึกษาและประเทศ
วท.บ. (ชีววิทยาทั่วไป)	2521	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ประเทศไทย
วท.ม. (วนศาสตร์)	2525	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ประเทศไทย

หัวข้อวิทยานิพนธ์ระดับปริญญาโทเรื่อง: Feeding Habits of Captive Common Barking Deer (*Muntiacus muntjak*) (ปีที่ดำเนินการ พ.ศ. 2524-2525)

4. สังกัดภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร พระราชวังสนามจันทร์

จังหวัดนครปฐม รหัส 73000 โทรศัพท์ 034-243429, 034-273045 โทรสาร 034-273046

5. สาขาวิชาที่เชี่ยวชาญ

- ปักษีวิทยา

- นิเวศวิทยา

6. ผลงานวิจัย

Areekijserree M. **Sribuddhachart K.** 2011. Percentage of trace elements and ultrastructural analysis before hatching on wild and captive avian eggshells from Thailand: evidence from scanning electron microscope. SESSION: ET09P. Abstract of The SETACEurope 21st Annual Meeting”15-21 May 2011 Milan, Italy.

Sribuddhachart K., Areekijserree. M. 2010. Determination on ultra-morphology, elemental characterization and elemental location using SEI/BEI/EDX with smiling program X-ray images of Rock pigeon eggshells. Abstract of The 6th International Conference On Biological Sciences

- Global Climate Change and Biohazards. 10-11 November 2010, Tanta University, Tanta, Egypt.
- Areekijserree M, **Sribuddhachart K**. 2010. Observation on quantitative and qualitative microanalysis of elemental composition of wild and captive avian eggshells from the central part of Thailand. Abstract of The 6th International Conference On Biological Sciences. Global Climate Change and Biohazards. 10-11 November 2010, Tanta University, Tanta, Egypt.
- Sribuddhachart K**, Engsusophon A, Areekijserree M. 2008. Elemental and ultrastructural analysis of the avian eggshells: Secondary electron imaging detector (SEI) and energydispersivex-rayanalysis(EDX) techniques. In The 9th International Congress on Cell Biology, 7-10 October, 2008. Seoul, Korea.
- Muangphra P, **Sribuddhachart K**, Supanyarak T, Khwaiphan W. Diversity of phytoplankton on mudflat, Tambhon Bang Kunsai, Amphor Bann Laen, Petchburi. Abstract of the Second National Conference on Algae and Plankton. 23-25 March 2005. HolidayGarden Hotel. Chiang Mai. OP2-02 (Oral presentation).
- Muangphra P, Noophan P, **Sribuddhachart K**. A Comparison of Species Growth Rate and Orthophosphate Removal Efficiencies of *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus armatus* to be Modified in the Stabilization Pond. In Proceedings of the International Symposium on Lowland Technology 2004 (September 1-3, 2004) Bangkok, Thailand.
- Prommi T, **Sribuddhachart K**, Lookson P, Rattanasatien S. 2001. Species diversity of adult Caddisflies (Trichoptera) in Huai Mae Prachan Stream at Chaiyaphum. Proceedings, Symposium on Aquatic Resources and Environment and Utilization, Chiang Mai, Thailand: pp 30-38.
- Kositanon C, Muangphra P, **Sribuddhachart K**, Sripongphan K. Survey of some Changing Conditions of Water System in Silpakorn University, Sanam Charn Palace Campus. *Bullitin of the Research of SilpakornUniversity* 1995; 5:4-6.
- Vejaratpimol R, **Sribuddhachart K**, Sripongphan K, Pewnim T. Effects of Gonadotropins on Ovulation and Survival rate of *Clarias macrocephalus*, Gunther. *SilpakornUniversity Journal* 1992; 13(1):103-118.
- Vejaratpimol R, Pewnim T, **Sribuddhachart K**, Sripongphan K. Triploidy induction in *Clarias macrocephalus*, Gunther. *Bulletin of the Research of SilpakornUniversity* 1987. 4:21-39.

ประวัติคณะผู้ร่วมวิจัยคนที่ 3

ชื่อ – นามสกุลนางมยุรี ภูมิไพบูลย์

1. ตำแหน่ง นักวิชาการการเงินและบัญชีชำนาญการ ระดับ 6

2. วัน เดือน ปีเกิด 18 เมษายน พ.ศ. 2502

3. หมายเลขประจำตัวประชาชน 3102102051289

4. การศึกษา –Master of Business Administration (บธ.ม.)

<u>คุณวุฒิ</u>	<u>ปี พ.ศ.ที่จบ</u>	<u>ชื่อสถานศึกษาและประเทศ</u>
บธ.บ. (สาขาการจัดการ)	2548	มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลบพิตรพิมุข จักรวรรดิ ประเทศไทย
บธ.ม. (สาขาการจัดการทั่วไป)	2553	มหาวิทยาลัยรามคำแหง ประเทศไทย

5. สังกัด คณะบริหารธุรกิจ มหาวิทยาลัยรามคำแหง แขวงหัวหมาก เขตบางกะปิ
กรุงเทพฯ 10150 โทรศัพท์ที่ทำงาน 02-3108226 ต่อ 2209 โทรศัพท์มือถือ
081-9496547
E-mail: Mayuree.Pumi@hotmail.com

6. สาขาวิชาที่เชี่ยวชาญ

- การจัดการ (Management) การจัดเก็บข้อมูลและการจัดการไฟล์ข้อมูล (Data collection and data file management)

7. หน้าที่ที่ได้รับมอบหมายในการผลิตมหัศจรรย์

1. ผู้ประสานงานการศึกษาคุณงานนักศึกษาระดับปริญญาโทฝ่ายหลักสูตรโครงการพิเศษ
2. เจ้าหน้าที่ผู้ช่วยสอนการศึกษาคุณงานนักศึกษาระดับปริญญาโทฝ่ายหลักสูตรโครงการพิเศษ

8. ประสบการณ์การทำงาน

อบรมและศึกษาคูณงานในต่างประเทศ

การศึกษาคูณงานด้านการบริหารทรัพยากรบุคคล การบริหารจัดการองค์การ การบริหารช่องทางการจัดจำหน่าย หรือปริมาณการผลิต การพัฒนาบริษัท

ปี 2554

- | | | |
|---------------------------|------------------------|----------------|
| 1. 13-17 กุมภาพันธ์ 2554 | บริษัท HONDA | ประเทศเวียดนาม |
| 2. 20- 21 กุมภาพันธ์ 2554 | บริษัท BIA VINAKEN LTD | ประเทศเวียดนาม |
| 3. 5-8 พฤศจิกายน 2554 | บริษัท NEwater Visitor | ประเทศสิงคโปร์ |

ปี 2555

- | | | |
|-------------------------|--|-----------------|
| 1. 6-14 มกราคม 2555 | บริษัท HEINKEN | ประเทศเวียดนาม |
| | บริษัท TAN THUAN INDUSTRIAL ZONE | ประเทศเวียดนาม |
| 2. 9-27 กุมภาพันธ์ 2555 | บริษัท HYUNDAI ASAN PLANT | ประเทศเกาหลีใต้ |
| | บริษัท KIA MOTOR COOPERATION (HWASUNG PLANT) | ประเทศเกาหลีใต้ |

3. 11- 29 มีนาคม 2555 1 เมษายน 255	CP Factory Kunming	สาธารณประชาชนจีน มณฑลคุนหมิง
4. 12-14 พฤศจิกายน 2555	CP Vietnam Livestock Corporation	ประเทศเวียดนาม

อบรมและศึกษาดูงานภายในประเทศ

ปี 2553

1. 30 สิงหาคม 2553	บริษัทไทยยูเนียน บริษัทพันท้ายนรสิงห์ บริษัทหยันห่อหยุ่น บริษัทมโนราห์	จังหวัดสมุทรสาคร จังหวัดสมุทรสาคร จังหวัดสมุทรสาคร จังหวัดสมุทรสาคร
2. 2-4 กันยายน 2553	โรงงานศิลาชล	จังหวัดเชียงใหม่
3. 8-10 กันยายน 2553	โรงงานเผาขยะ	จังหวัดภูเก็ต
4. 1 พฤศจิกายน 2553	บริษัทสยามไวน์ คูเลอร์	จังหวัดสมุทรสาคร
5. 17-19 ธันวาคม 2553	บริษัทดอยคำ จำกัด	จังหวัดเชียงราย

ปี 2554

- | | | |
|------------------------|-----------------------|--------------------|
| 1. 21 มกราคม 2554 | บริษัท โอเชียนกลาส | จังหวัดสมุทรปราการ |
| 2. 23-24 มกราคม 2544 | บริษัทริบโก้ | จังหวัดประจวบฯ |
| 3. 28-29 มกราคม 2544 | บริษัทกรีนไพน์ | จังหวัดประจวบฯ |
| 4. 30-31 มกราคม 2554 | บริษัทแปรรูปผลิตภัณฑ์ | จังหวัดประจวบฯ |
| 5. 2-3 กุมภาพันธ์ 2554 | บริษัทไฟฟ้าแก่งคอย | จังหวัดสระบุรี |
1. อบรมการพิมพ์หนังสือราชการภาษาไทยด้วยโปรแกรมการพิมพ์ในเครื่องคอมพิวเตอร์ที่ถูกต้อง 30 พฤศจิกายน 2553 สำนักงานอธิการบดี มหาวิทยาลัยรามคำแหง
 2. อบรมหลักสูตรธรรมและจริยธรรมในการบริหาร วันที่ 6 - 7 กันยายน 2554 ห้องประชุม ศ. ไพบุลย์ สุวรรณโพธิศรี มหาวิทยาลัยรามคำแหง และ จังหวัดอยุธยา
 3. อบรมการจัดทำแผนบริหารความเสี่ยงและควบคุมภายในวันที่ 30 กันยายน 2554 หอประชุมพ่อขุนรามคำแหงมหาราช มหาวิทยาลัยรามคำแหง
 4. อบรมการบริหารความเสี่ยง วันที่ 22 พฤศจิกายน 2554 กองคลังสำนักงานอธิการบดี ร่วมกับ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ณ หอประชุมพ่อขุนรามคำแหงมหาราช มหาวิทยาลัยรามคำแหง
 5. เข้าร่วมและเสนอผลงานในการประชุมวิชาการและเสนอผลงานในการประชุมระดับนานาชาติ ICEBESE 2013: International Conference on Environmental, Biological, Ecological Sciences, and Engineering ณ เมืองเวนีส์ ประเทศอิตาลี วันที่ 15-16 สิงหาคม 2556 ในผลงาน 2 เรื่อง คือ -Leatherback turtle (*Dermochelys coriacea*) after incubation eggshell study in Andaman Sea, Thailand: Microanalysis on ultrastructure and elemental composition

-Histological study of postmortem juvenile green turtles (*Chelonia mydas*) from Royal Thai Navy Sea Turtle Nursery, Phang-nga, Thailand

และงานทั้ง 2 เรื่องได้ตีพิมพ์ในวารสาร World Academy of Science, Engineering and Technology International Journal of Biological, Life Science and Engineering Vol:7 No:8, 2013