บทที่ 5

วิจารณ์ สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 วิจารณ์ผลการทดลอง

งานวิจัยนี้ได้ทำการทดลองเพื่อหาชิ้นดีเอ็นเอที่ให้ความแตกต่างระหว่างเพศในเต่าตนุโดยนำเอาลักษณะเฉพาะของ Bkm sequence ซึ่งเป็น sex-specific sequence ในสัตว์หลายชนิดมาใช้เป็นดีเอ็นเอติดตามในการทำเซาท์เทิร์นบลอทไฮบริไดซ์และใช้เป็นดีเอ็นเอไพรเมอร์ในเทคนิค PCR Bkm sequence นี้เคยถูกนำมาใช้เป็นดีเอ็นเอติดตามในการตรวจหาความแตกต่างระหว่างเพศของสัตว์หลายชนิด ซึ่งในเต่าตนุ Demas และคณะ (1990) ได้นำชิ้น subclone 2(8) ของ Bkm sequence ที่ Singh และ คณะ (1984) แยกได้จากงูสามเหลี่ยม *Bungarus fasciatus* มาใช้เป็นดีเอ็นเอติดตามโดยใช้เซาท์เทิร์นบลอทไฮบริไดเซชันในการตรวจความแตกต่างระหว่างเพศของเต่า *L .kempi* และเต่าตนุ พบความแตกต่างโดยพบชิ้นดีเอ็นเอขนาด 16.6 กิโลเบสเฉพาะในโครโมโซมัลดีเอ็นเอของเต่า *L .kempi* เพศผู้ที่ถูกย่อยด้วย *Bst*N I สำหรับในเต่าตนุพบชิ้นดีเอ็นเอขนาด 6.3 กิโลเบสเฉพาะในโครโมโซมัลดีเอ็นเอของเต่าตนุเพศผู้และพบชิ้นดีเอ็นเอขนาด 7.5 กิโลเบสเฉพาะในโครโมโซมัลดีเอ็นเอของเต่าตนุเพศเมียเมื่อย่อยด้วย *Sau*3A I แต่จาก Panicker และ Singh (1994) รายงานว่า Bkm sequence นอกจากจะเป็น sex- specific sequence แล้วยังพบว่าเป็น species-specific sequence ด้วยในการทดลองนี้จึงจำลอง GATA repeats จำนวน 21 เบส ซึ่งเป็น conserved sequence ใน Bkm sequence มาใช้แทนการใช้ Bkm sequence ที่แยกได้จากสัตว์ชนิดใดชนิดหนึ่งซึ่งจะมีลำดับเบสบางส่วนที่จำเพาะต่อสัตว์ชนิดนั้นๆ แทรกอยู่ทำให้ความจำเพาะต่อลำดับเบสของสัตว์อื่นน้อยลง ขั้นแรกของการทำวิจัยคือการเก็บตัวอย่างเลือดของเต่าตนุที่ทราบเพศแล้ว

มาใช้เตรียมโครโมโซมัลดีเอ็นเอแต่เนื่องจากตัวอย่างเต่าตนุในสถานีอนุรักษ์ที่สามารถนำมาเจาะเลือดได้ส่วนใหญ่เป็นเต่ารุ่นซึ่งมีอายุประมาณ 4-6 ปี น้ำหนักประมาณ 50 กิโลกรัม ซึ่งบางตัวยังเห็นความแตกต่างระหว่างเพศได้ไม่ชัดเจนส่วนเต่าตนุพ่อพันธุ์แม่พันธุ์ที่มีอยู่มักจะเลี้ยงอยู่บริเวณชายหาดริมทะเลโดยมีรั้วกั้น อีกทั้งบางตัวที่มีอยู่มีขนาดใหญ่หรือมีน้ำหนักเกิน 75 กิโลกรัม จึงไม่สามารถทำการเจาะเลือดได้เพราะขณะทำการเจาะเลือดจากบริเวณต้นคอของเต่าจำเป็นต้องจับเต่าไว้บนแท่นรองให้หัวอยู่ในระดับต่ำกว่าลำตัวซึ่งการจับเต่าที่มีขนาดใหญ่ให้เต่าอยู่นิ่งในลักษณะดังกล่าวทำได้ยากมาก ตัวอย่างเต่าตนุที่ได้มักเป็นเต่าตนุที่ติดอวนของชาวประมงแล้วนำมาให้ที่สถานีอนุรักษ์ทำการดูแลไว้ซึ่งส่วนใหญ่เป็นเต่าเพศเมีย ดังนั้นตัวอย่างเต่าตนุที่ทราบเพศแน่นอนโดยดูจากลักษณะหางที่ทำการเจาะเลือดได้จึงมีเพศผู้ 3 ตัว และเพศเมีย 5 ตัว ด้วยเหตุนี้จึงได้พยายามหาวิธีการเพิ่มตัวอย่างเต่าตนุที่ทราบเพศโดยใช้ตัวอย่างจากลูกเต่าตนุที่ทำการเพาะฟักแบบควบคุมอุณหภูมิโดยทดลองเพาะฟักไข่เต่าตนุในห้องทดลองโดยใช้อุณหภูมิตามข้อมูลที่รายงานโดย Morreale (1982) ว่าที่อุณหภูมิเพาะฟักสูงกว่า 29.5°C ลูกเต่าตนุที่ฟักได้จะเป็นเพศเมียมากกว่าร้อยละ 95 และที่อุณหภูมิเพาะฟักต่ำกว่า 28°C ลูกเต่าตนุที่ฟักได้จะเป็นเพศผู้มากกว่าร้อยละ 90 จึงทำการเพาะฟักไข่จำนวน 30 ฟอง ในกล่องโฟม 2 กล่องโดยควบคุมอุณหภูมิให้เป็น 27°C และ 35°C เนื่องจากตู้ควบคุมอุณหภูมิทั้งสองตู้ที่ใช้มีคุณสมบัติทำความร้อนได้เพียงอย่างเดียวจึงไม่สามารถทำให้อุณหภูมิต่ำกว่าอุณหภูมิห้องได้ ดังนั้นจึงตั้งตู้ควบคุมอุณหภูมิ 27°C ไว้ในห้องทดลองที่มีเครื่องปรับอากาศอีกทีหนึ่ง อย่างไรก็ตามในวันที่อากาศร้อนอุณหภูมิในห้องทดลองสูงกว่าอุณหภูมิที่ตั้งไว้ในตู้ควบคุมทำให้อุณหภูมิที่วัดได้ในรังโฟมสูงขึ้นด้วย นอกจากอุณหภูมิจะมีผลต่อการกำหนดเพศแล้ว Merchant-Larios และ Villalpando (1990) ยังรายงานว่าอุณหภูมิมีผลต่อเวลาที่ใช้ในการฟักไข่ นอกจากนั้นความชื้นปริมาณก๊าซออกซิเจนเป็นปัจจัยมีผลต่อการฟักเป็นตัวและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นปัจจัยมีผลต่อการกำหนดเพศด้วย ซึ่งในการทดลองไม่สามารถทำการควบคุมปัจจัยดังกล่าวได้จึงเพียงแต่พรมน้ำบริเวณผิวทรายเมื่อพบว่าผิวหน้าทรายในกล่องโฟมแห้ง จากเหตุผลดังกล่าวทำให้อัตราการฟัก

เป็นตัวที่ได้จากการทดลองต่ำคือจากไข่เต่า 30 ฟองฟักเป็นตัวได้เพียง 9 ตัว โดยไข่ในกล่องโฟมที่บ่มในอุณหภูมิสูงมีไข่ฟักเป็นตัวเพียง 2 ตัวคิดเป็นร้อยละของการฟักเป็นตัวได้เพียง 13.3 ขณะที่ไข่ในกล่องโฟมที่บ่มในอุณหภูมิต่ำคิดเป็นร้อยละของการฟักเป็นตัวได้ 46.7 โดยผลที่ได้มีค่าใกล้เคียงกับที่บุญเลิศ ผาสุก (2535) รายงานไว้ว่าเมื่อนำไข่เต่าตนุมาทำการเพาะฟักแบบควบคุมอุณหภูมิในกล่องโฟมที่ตั้งไว้ในตู้อบที่กองประมงทะเลและตั้งอุณหภูมิไว้ที่ 30.99°C ผลการฟักออกเป็นตัวโดยเฉลี่ยร้อยละ 21.3 ขณะที่ในกล่องที่ตั้งไว้ด้วยกันแต่อยู่นอกตู้อบมีอุณหภูมิ 28.15°C ผลการฟักออกเป็นตัวโดยเฉลี่ยเท่ากับร้อยละ 41.56 โดยระยะเวลาที่ใช้ในการเพาะฟักเท่ากับ 52 วันและ 62 วัน ตามลำดับ ซึ่งใกล้เคียงกับเวลาที่ใช้ในการทดลองนี้เช่นกัน สำหรับไข่ที่ไม่ฟักเป็นตัวในกล่องที่บ่มที่อุณหภูมิสูงพบว่าที่เปลือกไข่มีราขึ้น ไข่เน่าและมีไข่บางฟองที่เปลือกไข่แตกออกก่อนที่จะมีการฟักเป็นตัวเป็นผลมาจากผิวทรายในกล่องโฟมที่บ่มที่อุณหภูมิสูงจะแห้งเร็วกว่าผิวทรายในกล่องโฟมที่บ่มที่อุณหภูมิต่ำและถ้าปล่อยให้ทรายแห้งเปลือกไข่จะแตกออกก่อนที่จะมี การฟักแต่ถ้าพรมน้ำบ่อยเกินไปจะทำให้ทรายที่อยู่ก้นกล่องโฟมแฉะเป็นเหตุให้ราขึ้นและไข่เน่าได้

นอกจากการใช้ตัวอย่างจากลูกเต่าตนุที่ทำการเพาะฟักแบบควบคุมอุณหภูมิแล้วในงานวิจัยนี้ได้ใช้ตัวอย่างจากลูกเต่าตนุที่ตายระหว่างการอนุบาลจากสถานีอนุรักษ์พันธุ์เต่าทะเลต่างๆ แล้วนำมาจำแนกเพศโดยการศึกษาลักษณะทางเนื้อเยื่อของโกแนดเทียบกับเนื้อเยื่อโกแนดของลูกเต่าหญ้าที่ Merchant-Larios และ Villalpando (1990) ได้ศึกษาไว้ ผลการศึกษาลักษณะเนื้อเยื่อของโกแนดทั้งหมด 21 ตัวอย่าง สามารถตรวจความแตกต่างระหว่างเพศได้ 16 ตัวอย่าง หรือคิดเป็นร้อยละของการตรวจแยกเพศได้ 76.2 ส่วนตัวอย่างที่ไม่สามารถทำการแยกเพศได้เป็นลูกเต่าตนุที่มีอายุน้อย (ต่ำกว่า 4 เดือน) โกแนดยังไม่มีการพัฒนาเป็นอัณฑะหรือรังไข่และบางตัวอย่างขาดความสมบูรณ์ของสภาพเนื้อเยื่อที่จะนำมาทำสไลด์ถาวรเพราะเมื่อทำการย้อมเนื้อเยื่อแล้วตรวจดูพบว่าส่วนของคอร์เทกซ์หลุดลอกออกไปทำให้

การจำแนกลักษณะทางเนื้อเยื่อของโกแนดทำได้ยาก อย่างไรก็ตามส่วนใหญ่ของตัวอย่างเหล่านี้สามารถทำการแยกเพศโดยอาศัยความแตกต่างกันของการเรียงตัวในชั้นเมดัลลา

การทำเซาท์เทิร์นบลอทไฮบริไดเซชันในเต่าตนุตัวเต็มวัยที่ทราบเพศแล้วเพื่อตรวจหาชิ้นดีเอ็นเอที่ให้ความแตกต่างระหว่างเพศของเต่าตนุซึ่งพบชิ้นดีเอ็นเอขนาด 8.35 กิโลเบส เฉพาะในโครโมโซมัลดีเอ็นเอของเต่าตนุเพศผู้ที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Hae* III แต่จะไม่พบความแตกต่างระหว่างเพศของชิ้นดีเอ็นเอที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะอื่นที่ทำการทดลองรวมทั้ง *Sau*3A I ด้วยซึ่งผลการทดลองนี้ไม่สอดคล้องกับที่ Demas และคณะ (1990) เคยรายงานไว้ ซึ่ง ดีเอ็นเอติดตามและภาวะที่ใช้ในการทดลองต่างกันอาจเป็นสาเหตุให้ผลการทดลองต่างกันได้ อย่างไรก็ตามผลการทดลองก็ยืนยันว่าดีเอ็นเอติดตาม GATA repeats จำนวน 21 เบสให้ความแตกต่างระหว่างเพศได้จึงควรทำการทดลองกับตัวอย่างเต่าตนุจำนวนมากขึ้นแต่เนื่องจากโครโมโซมัลดีเอ็นเอของลูกเต่าตนุที่เตรียมได้จากเนื้อเยื่อตับและหัวใจส่วนใหญ่มีการแตกหักเพราะต้องผ่านขั้นตอนการบดเนื้อเยื่อให้ละเอียดก่อนทำการสกัดและในเนื้อเยื่อบางตัวอย่างอาจไม่สดเพียงพอเพราะใช้เวลาขนส่งนานซึ่งตัวอย่างเต่าถูกเก็บไว้ในน้ำแข็งก่อนที่จะเปลี่ยนมาเก็บที่ -20 หรือ -80 °C เมื่อถึงห้องปฏิบัติการ นอกจากนี้โครโมโซมัลดีเอ็นเอที่สกัดจากเลือดของเต่าตนุที่อายุน้อย (3-4 เดือน) ก็พบว่ามีการแตกหักเช่นกันโดยการแตกหักนี้อาจเกิดเนื่องจากเซลล์เม็ดเลือดแตกตัวขณะทำการเจาะเลือดเพราะต้องใช้เข็มเบอร์ 25 ซึ่งเป็นเข็มที่มีขนาดเล็กมากในการเจาะเลือดจากลูกเต่าตนุระหว่างดูดเลือดผ่านเข็มขนาดเล็กนั้นอาจทำให้เซลล์เม็ดเลือดแตกส่งผลให้ดีเอ็นเอแตกหักได้ซึ่งโครโมโซมัลดีเอ็นเอที่แตกหักแบบไม่จำเพาะนี้เป็นข้อจำกัดเพราะไม่สามารถวิเคราะห์ดีเอ็นเอเหล่านี้ด้วยเซาท์เทิร์นบลอทไฮบริไดเซชันได้

เนื่องจากเทคนิค PCR ซึ่งเป็นการเพิ่มจำนวนชิ้นดีเอ็นเอได้จากดีเอ็นเอต้นแบบที่มีปริมาณน้อยๆ ได้และเป็นเทคนิคที่ใช้งานง่าย สะดวก และให้ผลได้รวดเร็วแม่นยำ ทำให้สามารถใช้กับดีเอ็นเอที่เตรียมได้จากลูกเต่าตนุซึ่งมีปริมาณน้อยและมีการแตกหักในบางส่วนได้ จึงทดลองนำ GATA repeats จำนวน

21 เบส มาใช้เป็นดีเอ็นเอไพรเมอร์ในเทคนิค PCR โดยทดลองกับเต่าตนุที่ทราบเพศแล้วและพบความแตกต่างระหว่างเพศของชิ้นดีเอ็นเอที่ได้จากการทำ PCR ที่อุณหภูมิ anncaling ทุกอุณหภูมิที่ใช้ในการทดลองคือพบแถบดีเอ็นเอขนาด 2.29 กิโลเบส ในเพศผู้มีความเข้มของแถบน้อยกว่าในเพศเมียโดยที่อุณหภูมิ annealing เท่ากับ 49°C ซึ่งเป็นค่า T_m ของดีเอ็นเอไพรเมอร์ผลการทำ PCR จะได้ปริมาณและจำนวนชิ้นผลิตภัณฑ์ดีเอ็นเอได้มากกว่าที่อุณหภูมิ annealing อื่นๆ รวมทั้งเห็นความแตกต่างได้ชัดกว่าที่อุณหภูมิอื่นจึงใช้อุณหภูมิ annealing ที่ 49 °C สำหรับตรวจสอบเพศในลูกเต่าตนุโดยดูแถบดีเอ็นเอขนาด 2.29 กิโลเบส ซึ่งพบว่าในลูกเต่าตนุผลการทำ PCR ให้ผลเช่นเดียวกับเต่าตนุที่ทราบเพศแล้ว จากผลการทดลองคาดว่าชิ้นดีเอ็นเอขนาด 2.29 กิโลเบสที่พบทั้งในเต่าตนุเพศผู้และเพศเมียอาจจะเป็นชิ้นเดียวกันแต่มีจำนวนชุดบนโครโมโซมัลดีเอ็นเอไม่เท่ากันซึ่งจำนวนชุดนี้ต่างกันในเพศผู้และเพศเมียเมื่อทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้เทคนิค PCR จึงได้ปริมาณของผลิตภัณฑ์ต่างกันโดยชิ้นดีเอ็นเอนี้อาจเป็นส่วนหนึ่งของ Bkm sequence ในเต่าตนุเพราะจากรายงานหลายฉบับระบุว่าพบ Bkm sequence อยู่บน W โครโมโซมเป็นจำนวนมากและพบมากกว่าบน Z โครโมโซมในสัตว์เลื้อยคลานหลายชนิด (Singh, 1990) นอกจากนั้น Singh, Phillips และ Jones (1984) รายงานว่า GATA repeats (Bkm sequence) พบอยู่เป็นจำนวนมากบน sex-determining region บน Y โครโมโซมของหนู และ W โครโมโซมของงู ในปี ค.ศ. 1980 Singh, Purdom และ Jenes ได้ทำ in situ hybridization โดยใช้ BK minor ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของ Bkm sequence เป็นดีเอ็นเอติดตามในงูหลายชนิด พบว่ามีจุดสีดำของชิ้นดีเอ็นเอติดตามที่ถูกติดฉลากด้วยรังสีขึ้นบน W โครโมโซมอย่างหนาแน่นขณะที่ Z โครโมโซมและโครโมโซมอื่นพบการกระจายของจุดดำนี้อยู่ประปราย (ภาคผนวกที่9) นอกจากนี้ในปี ค.ศ. 1989 Durbin, Erickson และ Craig ได้นำ $(GATA)_5$ มาใช้เป็นดีเอ็นเอติดตามในเทคนิคเซาท์เทิร์น-บลอทไฮบริไดเซชันศึกษาการตรวจเพศในงูและยืนยันว่าพบ sequence ดังกล่าวอยู่หนาแน่นบนโครโมโซมเส้นที่ 17 ซึ่งเป็นโครโมโซมเพศของงู (W โครโมโซม) อย่างไรก็ตามอาจเป็นไปได้ว่าชิ้นดีเอ็นเอผลิตภัณฑ์ขนาด 2.29 กิโลเบสนี้เป็นผลมาจากการเพิ่มปริมาณ

ดีเอ็นเอจากบริเวณมากกว่าหนึ่งตำแหน่งซึ่งแตกต่างกันแต่มีขนาดของชิ้นดีเอ็นเอเท่ากันโดยบางตำแหน่งนี้พบเฉพาะในเพศเมียเมื่อทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจึงได้ผลิตภัณฑ์มากกว่าเนื่องจากตำแหน่งที่ชิ้นดีเอ็นเอไพรเมอร์สามารถเข้าไปจับมีจำนวนต่างกัน การแยกชิ้นดีเอ็นเอขนาด 2.29 กิโลเบสออกมาทำการโคลนและหาลำดับเบสเทียบกับยีนใน GEN BANK จึงจะช่วยให้เข้าใจถึงลักษณะของดีเอ็นเอชิ้นนี้ได้ สำหรับการนำผลการจำแนกเพศในลูกเต่าโดยการศึกษาเนื้อเยื่อโกแนดมาเปรียบเทียบกับผลการทำ PCR ซึ่งพบว่าตรงกันร้อยละ 75 และผลการจำแนกเพศโดยการทำ PCR กับเพศที่คาดว่าจะได้จากการกำหนดอุณหภูมิในการเพาะฟักตรงกันร้อยละ 67 โดยข้อมูลจากตัวอย่างรหัส U25-U27 ซึ่งมีผลจากการระบุเพศทั้ง 3 วิธี พบว่าผลจากการเพาะฟักไข่แบบควบคุมอุณกภูมิแตกต่างไปจากผลการจำแนกเพศโดยการศึกษาโกแนดและการทำ PCR อย่างไรก็ตามผลที่แตกต่างกันอาจมีสาเหตุมาจากความไม่สมบูรณ์ของเนื้อเยื่อโกแนดหรือการที่ไม่สามารถควบคุมปัจจัยอื่นที่มีผลต่อการเกิดเพศขณะทำการเพาะฟัก

เนื่องจากมีตัวอย่างเต่าตนุที่ทราบแน่นอนอยู่ไม่มากและความผิดพลาดบางประการของเทคนิคที่ใช้ระบุเพศของลูกเต่าในการทดลองและการตรวจเพศลูกเต่าตนุด้วยเทคนิค PCR ซึ่งจะสะดวก รวดเร็ว ปลอดภัยและใช้ดีเอ็นเอต้นแบบจากเลือดเพียง 0.5 มิลลิลิตร ก็จะสามารถตรวจเพศของลูกเต่าได้โดยที่ลูกเต่ายังมีชีวิตอยู่และจะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในงานอนุรักษ์ ดังนั้นเพื่อเพิ่มความมั่นใจในการนำ GATA repeats จำนวน 21 เบสไปใช้เป็นดีเอ็นเอไพรเมอร์ อาจจะต้องนำวิธีการดังกล่าวไปทดลองกับเต่าตนุที่ทราบเพศแล้วจำนวนมากขึ้นเพื่อความแน่นอนก่อนนำไปใช้จริงอีกครั้ง สำหรับผลการโคลนชิ้นดีเอ็นเอขนาด 2.29 กิโลเบส ซึ่งสามารถทำการเชื่อมต่อเข้ากับพลาสมิดได้แล้วควรทำการศึกษาต่อไป เพราะถ้าสามารถทราบลำดับเบสของชิ้นดีเอ็นเอ ดังกล่าวแล้วอาจนำไปถึงปัจจัยแรกของการระบุเพศในเต่าตนุหรือความเข้าใจถึงกลไกของการระบุเพศในเต่าตนุได้ดีขึ้นรวมทั้งอาจจะสามารถพัฒนาให้ได้ชิ้นดีเอ็นเอไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อการตรวจเพศในลูกเต่าตนุมากขึ้นหรือพัฒนาไปใช้กับเต่าทะเลชนิดอื่นต่อไป

5.2 สรุปผลการทดลอง

จากผลการทดลองหาชิ้นดีเอ็นเอที่ให้แตกต่างระหว่างเพศสามารถสรุปได้ว่าเมื่อใช้ GATA repeats จำนวน 21 เบส เป็นดีเอ็นเอติดตามหรือดีเอ็นเอไพรเมอร์สำหรับเซาท์เทิร์นบลอทไฮบริไดเซชัน หรือ PCR ตามลำดับ จะให้ความแตกต่างระหว่างเพศได้คือ

1. เมื่อใช้เทคนิคเซาท์เทิร์นบลอทไฮบริไดเซชันพบชิ้นดีเอ็นเอขนาด 8.35 กิโลเบส เฉพาะในโครโมโซมัลดีเอ็นเอของเต่าตนุเพศผู้ที่ถูกย่อยด้วย *Hae* III
2. การทำ PCR ที่อุณหภูมิ annealing เท่ากับ 49°C พบชิ้นดีเอ็นเอขนาด 2.29 กิโลเบส ในเพศเมียเป็นแถบเข้มกว่าในเพศผู้
3. การจำแนกเพศของลูกเต่าตนุโดยใช้เทคนิค PCR เทียบกับผลการศึกษาลักษณะเนื้อเยื่อของโกแนดให้ผลตรงกันร้อยละ 75
4. การจำแนกเพศด้วยวิธี PCR เทียบกับเพศที่คาดว่าจะได้โดยการควบคุมอุณหภูมิขณะเพาะฟักให้ผลตรงกันร้อยละ 67
5. จากการทำการโคลนชิ้นดีเอ็นเอขนาด 2.29 กิโลเบส ได้ดีเอ็นเอลูกผสมระหว่างชิ้นดีเอ็นเอพาหะ กับชิ้นที่ต้องการโคลนในขั้นตอนการเชื่อม แต่ยังไม่สามารถทำการเคลื่อนย้ายดีเอ็นเอลูกผสมเข้าสู่เซลล์เจ้าบ้านได้

5.3 ข้อเสนอแนะ

จากผลการวิจัยที่ได้ศึกษามาทั้งหมดคาดว่า GATA repeats จำนวน 21 เบส น่าจะใช้เป็นดีเอ็นเอติดตามตรวจสอบความแตกต่างระหว่างเพศของลูกเต่าตนุเพื่อช่วยในงานอนุรักษ์ได้ แต่อย่างไรก็ตามควรทำการทดลองโดยเพิ่มจำนวนตัวอย่างเต่าตนุที่ทราบเพศแน่นอนให้มากขึ้นหรืออาจจะใช้การจำแนกเพศโดยการศึกษาลักษณะทางเนื้อเยื่อภายใต้กล้องจุลทรรศน์ได้แต่ตัวอย่างของลูกเต่าตนุที่เก็บต้องคัดเฉพาะลูกเต่าที่มีอายุประมาณ 4 เดือนขึ้นไปเพราะจะเห็นความแตกต่างของลักษณะเนื้อเยื่อได้ชัดเจนและต้องเลือกใช้เฉพาะเนื้อเยื่อที่ยังสดและสมบูรณ์ ไม่มีการย่อยสลายตัวของเซลล์และไม่แนะนำให้ใช้ตัวอย่างจากลูกเต่าตนุที่ทำการเพาะฟักแบบควบคุมอุณหภูมิในตู้อบที่ต้องทำการเคลื่อนย้ายไข่เต่าเป็นระยะทางไกลหรือใช้เวลานานเพราะให้ผลตอบแทนที่ไม่คุ้มค่า นอกจากนี้ควรที่จะทำการศึกษาชิ้นดีเอ็นเอขนาด 2.29 กิโลเบส ที่ได้จากการทำ PCR ต่อไปเพื่อศึกษาดูลักษณะเฉพาะและคุณสมบัติของดีเอ็นเอดังกล่าวซึ่งคาดว่าน่าจะมีหน้าที่เกี่ยวข้องกับกลไกการระบุเพศในเต่าตนุด้วย