



วิทยานิพนธ์

ศึกษาเปรียบเทียบโครงสร้างผิวหนังระเข้หน้าจืดพันธุ์ไทย (*Crocodylus siamensis* Schneider) บริเวณรักแร้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยวและขังรวม

COMPARATIVE MORPHOLOGICAL STUDY BETWEEN THE
INDIVIDUAL AND CONGREGATED CULTIVATION AT THE
AXILLAR SKIN OF SIAMESE CROCODILES
(*CROCODYLUS SIAMENSIS* SCHNEIDER)

นายदनัย เพียรจริง

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พ.ศ. 2550



ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (กายวิภาคศาสตร์ทางสัตวแพทย์)

ปริญญา

กายวิภาคศาสตร์ทางสัตวแพทย์

กายวิภาคศาสตร์

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง ศึกษาเปรียบเทียบโครงสร้างผิวหนังจะเข้หน้าจืดพันธุ์ไทย (*Crocodylus siamensis* Schneider) บริเวณรักแร้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยวและขังรวม

Comparative Morphological Study between the Individual and Congregated Cultivation at the Axillar Skin of Siamese Crocodiles (*Crocodylus siamensis* Schneider)

นามผู้วิจัย นายदनัย เพียรจริง

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ณรงค์ จึงสมานญาติ, Ph.D.)

กรรมการ

(รองศาสตราจารย์นที นิลนพคุณ, Ph.D.)

กรรมการ

(รองศาสตราจารย์วรัญญา วัชชวัลคุ, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ธีระศักดิ์ พรพวงษ์, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์วินัย อัจจงหาญ, M.A.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ศึกษาเปรียบเทียบ โครงสร้างผิวหนังจระเข้หน้าจืดพันธุ์ไทย (*Crocodylus siamensis* Schneider)
บริเวณรักแร้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยวและขังรวม

Comparative Morphological Study between the Individual and Congregated Cultivation at the
Axillar Skin of Siamese Crocodiles (*Crocodylus siamensis* Schneider)

โดย

นายคณัย เพียรจริง

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (กายวิภาคศาสตร์ทางสัตวแพทย์)

พ.ศ. 2550

คณั เพ็ชรจริง 2550: ศึกษาเปรียบเทียบโครงสร้างผิวหนังจระเข้หน้าจืดพันธุ์ไทย (*Crocodylus siamensis* Schneider) บริเวณรักแร้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยวและขังรวม ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (กายวิภาคศาสตร์ทางสัตวแพทย์) สาขากายวิภาคศาสตร์ทางสัตวแพทย์ ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ ปรชชานกรรการที่ปรึกษา: รรชศาสตราจารย์ณรงค์ จิงสมานญาคู, Ph.D. 111 หน้า

ศึกษาเนื้อเยื่อผิวหนังชั้น dermis ด้านบนรักแร้ของจระเข้หน้าจืดพันธุ์ไทย (*Crocodylus siamensis* Schneider) ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยวและแบบขังรวม แบบละ 10 ตัว โดยรักษาสภาพเนื้อเยื่อด้วย Bouin Fixative ตัดเนื้อเยื่อหนา 3 ไมครอนต่อเนื่อง 100 แผ่น สุ่มเลือกเนื้อเยื่อเป็นช่วง ช่วงละ 10 แผ่น ย้อมสีด้วย H&E Masson's trichrome และ Weigert methods เพื่อศึกษาเปรียบเทียบ collagen, muscular และ elastic fibers ด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา และประมาณการปริมาณของ collagen, muscular และ elastic fibers โดยวิธี Weibel's surface-to-volume estimation และ Olympus Micro Image Analysis (OMI) รุ่น 4.5 ในผิวหนังบริเวณแก้มและระหว่างแก้ม และประมาณการปริมาณ collagen และ muscular fibers ขนาดต่างๆ พบว่า ในบริเวณแก้มของหนังจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยว มีปริมาณ collagen fibers น้อยกว่าที่เลี้ยงแบบขังรวม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ส่วนในบริเวณระหว่างแก้มปริมาณ collagen fibers มีมากกว่าที่เลี้ยงแบบขังรวมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และปริมาณของ collagen fibers ในบริเวณแก้มของผิวหนังจระเข้ที่เลี้ยงทั้ง 2 แบบ มีมากกว่าในบริเวณระหว่างแก้มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ส่วนปริมาณ muscular fibers ในบริเวณแก้มของหนังจระเข้ที่เลี้ยงขังเดี่ยวและขังรวมนั้น ไม่มีความแตกต่างกัน และมีน้อยกว่าในบริเวณระหว่างแก้มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แต่ muscular fibers ในบริเวณระหว่างแก้มของหนังจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังรวม มีปริมาณมากกว่า และ muscular fibers ขนาดใหญ่ มีจำนวนมากกว่า แบบขังเดี่ยว อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ส่วนปริมาณ elastic fibers ของผิวหนังจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยว ทั้งบริเวณแก้มและบริเวณระหว่างแก้ม มีน้อยกว่าแบบขังรวมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และปริมาณของ elastic fibers ในบริเวณแก้มของหนังจระเข้ที่เลี้ยงทั้ง 2 แบบ มีมากกว่าในบริเวณระหว่างแก้ม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

การศึกษาคั้งนี้ แสดงให้เห็นว่า ผิวหนังของจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังรวม ซึ่งมีการเคลื่อนไหวมากกว่านั้น จะมีปริมาณ muscular fibers ในบริเวณระหว่างแก้ม มากกว่าผิวหนังของจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยว ซึ่งเคลื่อนไหวตัวได้น้อย แต่มีปริมาณ collagen fibers มากกว่า โดยเฉพาะบริเวณแก้ม ซึ่งเป็นบริเวณที่เคลื่อนไหวได้น้อย มีปริมาณ collagen fibers มากกว่าบริเวณระหว่างแก้ม ของจระเข้ที่เลี้ยงทั้งสองแบบ และ elastic fibers ของหนังจระเข้ทั้งบริเวณแก้มและระหว่างแก้ม ที่เลี้ยงแบบขังรวมมีปริมาณมากกว่าที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยว ดังนั้นการเลี้ยงจระเข้แบบขังรวม น่าจะได้หนังที่มีคุณภาพเหนียวทนแรงดึงได้ดีกว่า การเลี้ยงขังเดี่ยว เนื่องจากบริเวณระหว่างแก้ม มีปริมาณของ muscular และ elastic fibers มากกว่า และ บริเวณแก้ม มี collagen fibers ปริมาณมากกว่า ในหนังจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยว

Danai Pianjing 2007: Comparative Morphological Study between the Individual and Congregated Cultivation at the Axillar Skin of Siamese Crocodiles (*Crocodylus siamensis* Schneider). Master of Science (Veterinary Anatomy), Major Field: Veterinary Anatomy, Department of Anatomy. Thesis Advisor: Associate Professor Narong Chungsamarnyart, Ph.D. 111 pages.

The dermis of the individual and congregated cultivation of the Siamese Crocodiles (*Crocodylus siamensis* Schneider) were comparative histological studied. The dorsal axillar skin of 10 crocodiles of each cultivation were collected and fixed with Bouin's fixative. Each of the crocodile's skin blocks were serial sectioned 3 micron thick for one hundred sections. Each of ten randomized serial sections were stained by H&E, Masson's trichrome and Weigert methods. The volumes of collagen, muscular and elastic fibers of dermis in scalar and interscalar areas were estimated by Weibel's surface-to-volume estimation and Olympus Micro Image Analysis (OMI 4.5). The volume of collagen fibers in the scalar and interscalar dermis areas of the individual cultivation crocodiles was statistically less and more than in the congregated cultivation, respectively. The collagen fibers in scalar dermis of both cultivations were statistically much more than in the interscalar area. The volume of muscular fibers in the scalar dermis area of both cultivation crocodiles were not statistical significant difference and in the scalar dermis area was statistically less than in that of interscalar area. While the muscular fibers in the interscalar dermis area of the congregated cultivation crocodiles were statistically much more and much larger bundle than in that of the individual cultivation crocodiles. The volume of the elastic fibers in both scalar and interscalar dermis areas of the congregated cultivation crocodiles was statistical much more than in that of the individual cultivation crocodiles. The volumes of elastic fibers in the scalar dermis area of both cultivations were statistically much more than in the interscalar area.

This study indicated that the interscalar dermis of the congregated cultivation crocodiles which they are freely movements had much more muscular and elastic fibers than the individual cultivation crocodiles. It might be indicated that the crocodile's leather of congregated cultivation might be stronger than that of individual cultivation.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.ณรงค์ จึงสมานญาติ ประธานกรรมการที่ปรึกษา ให้ความช่วยเหลือในด้านต่างๆ ในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ตลอดจนการให้คำปรึกษา คำแนะนำและตรวจทานแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.นที นิลนพคุณ กรรมการที่ปรึกษาวิชาเอก รองศาสตราจารย์ ดร.วรวิทย์ วัชชวัลคุ กรรมการที่ปรึกษาวิชารอง และ รองศาสตราจารย์ ดร.อาคม สังข์วรานนท์ ผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัย ที่กรุณาให้คำปรึกษา คำแนะนำและความช่วยเหลือในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

ขอกราบขอบพระคุณ คุณยศพงษ์ เต็มศิริพงษ์ ศรีราชาฟาร์มและลูกฟาร์มของศรีราชาฟาร์ม ที่ให้ตัวอย่างผิวหนังจระเข้ และอำนวยความสะดวกในการเก็บตัวอย่าง มาศึกษาในครั้งนี้ คุณ วิไล บุญทวี บริษัท อีฟอ์แอล จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์ด้านกล้องถ่ายภาพดิจิทัลและโปรแกรมวิเคราะห์ภาพถ่ายด้วยคอมพิวเตอร์เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ในงานวิจัย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศิริชัย วงศ์นาคเพ็ชร ที่ให้คำปรึกษาด้านการวิเคราะห์ข้อมูลและแปลผลทางสถิติ และขอบคุณ คุณ ผกาวัต พงษ์เกษ และ น.สพ. สัญญา ทองแกมแก้ว ที่ให้ความช่วยเหลือในการเก็บเตรียมตัวอย่าง เจ้าหน้าที่และนักวิทยาศาสตร์ประจำห้องปฏิบัติการจุลกายวิภาค ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่คอยช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในการจัดหาเครื่องมืออุปกรณ์ทางวิทยาศาสตร์เพื่อใช้ในการทำงานวิจัย

ขอขอบพระคุณ สถาบันวิจัยและพัฒนา แห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ได้ให้ทุนอุดหนุนวิจัย (อ.ช. 59.45) มาทำการศึกษาครั้งนี้

กราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และขอบคุณ พี่ น้อง และเพื่อนๆ ทุก ๆ คน ที่คอยให้ความช่วยเหลือและให้กำลังใจเป็นอย่างดีจนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

दन्य पेयरज्ररर

กัณยยน 2550

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(4)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	2
การตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการ	13
อุปกรณ์	13
วิธีการ	14
ผลและวิจารณ์	17
ผล	17
วิจารณ์	62
สรุปและข้อเสนอแนะ	66
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	67
ภาคผนวก	70
ภาคผนวก ก การเตรียมสารเคมีและสีย้อมสำหรับพาราฟินเทคนิค	71
ภาคผนวก ข วิธีการวิเคราะห์ความเข้มสีโดยโปรแกรม Olympus Micro Image 4.5	78
ภาคผนวก ค ข้อมูลจากการวิเคราะห์ โดยวิธี Weibel's surface-to-volume estimation	83
ภาคผนวก ง ข้อมูลจากการวิเคราะห์ โดยวิธี Image Analysis โปรแกรม Olympus Micro Image 4.5	95
ภาคผนวก จ ข้อมูลจากการวิเคราะห์ค่าทางสถิติ	103
ประวัติการศึกษา และการทำงาน	111

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงส่วนประกอบและบริเวณที่พบ collagen fibers แต่ละชนิด	10
2	แสดงค่าประมาณการของ collagen fibers ของหนังจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยวและเลี้ยงแบบขังรวม ในบริเวณเกล็ดและระหว่างเกล็ด	21
3	แสดงค่าประมาณการของ muscular fibers ของหนังจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยวและเลี้ยงแบบขังรวม ในบริเวณเกล็ดและระหว่างเกล็ด	21
4	แสดงค่าประมาณการของ elastic fibers ของหนังจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยวและขังรวม ในบริเวณเกล็ดและระหว่างเกล็ด โดยวิธี Weibel's surface-to-volume estimation	24
5	แสดงค่าประมาณการ collagen fibers ของหนังจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยวและขังรวม ในบริเวณเกล็ดและระหว่างเกล็ด โดยวิธี Image analysis OMI 4.5	26
6	แสดงค่าประมาณการ muscular fibers ของหนังจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยวและขังรวม ในบริเวณเกล็ดและระหว่างเกล็ด โดยวิธี Image analysis OMI 4.5	26
7	แสดงปริมาณของแต่ละขนาดของ collagen fibers ในบริเวณเกล็ดและระหว่างเกล็ดของผิวหนังจระเข้ ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยวและขังรวม เป็นค่าประมาณการด้วย 100 test-points frame	31
8	แสดงค่าประมาณการปริมาณ muscular fibers ขนาดต่างๆ ของผิวหนังบริเวณเกล็ดและระหว่างเกล็ดของผิวหนังจระเข้ ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยวและขังรวม โดยวิธี Weibel's surface-to-volume estimation	37
ตารางผนวกที่		
ค1	แสดงข้อมูลจากการวิเคราะห์ค่าประมาณการ collagen fibers โดยวิธี Weibel's surface-to-volume estimation	84
ค2	แสดงข้อมูลจากการวิเคราะห์ค่าประมาณการ muscular fibers โดยวิธี Weibel's surface-to-volume estimation	87
ค3	แสดงข้อมูลจากการวิเคราะห์ค่าประมาณการ elastic fibers โดยวิธี Weibel's surface-to-volume estimation	91

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
ง1	แสดงข้อมูลจากการวิเคราะห์ค่าประมาณการ collagen fibers โดยวิธี Image Analysis โปรแกรม Olympus Micro Image 4.5	96
ง2	แสดงข้อมูลจากการวิเคราะห์ค่าประมาณการ muscular fibers โดยวิธี Image Analysis โปรแกรม Olympus Micro Image 4.5	99
จ1	แสดงข้อมูลจากการวิเคราะห์ค่าทางสถิติ SPSS ของค่าประมาณการ muscular fibers, collagen fibers, elastic fibers โดยวิธี Weibel's surface-to-volume estimation	104
จ2	แสดงข้อมูลจากการวิเคราะห์ค่าทางสถิติ SPSS ของค่าประมาณการ muscular fibers, collagen fibers โดยวิธี Image analysis OMI 4.5	106
จ3	แสดงข้อมูลจากการวิเคราะห์ค่าทางสถิติ SPSS ของค่าประมาณของแต่ละขนาดของ collagen fibers โดยวิธี Weibel's surface-to-volume estimation	107
จ4	แสดงข้อมูลจากการวิเคราะห์ค่าทางสถิติ SPSS ของค่าประมาณของแต่ละขนาดของ muscular fibers โดยวิธี Weibel's surface-to-volume estimation	109

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ภาพวาดแสดงความแตกต่างของหัวและเกล็ดบนหัวของจระเข้ 3 ชนิด	5
2	ภาพของหัวจระเข้ น้ำจืดพันธุ์ไทย แสดงการเรียงตัวของเกล็ด	5
3	ภาพทางจุลกายวิภาคของผิวหนังจระเข้ แสดงชั้นต่างๆ ของผิวหนัง	7
4	ภาพวาดแสดง ตำแหน่งระหว่างเกล็ด (Hinge region) ของผิวหนังงูและกิ้งก่า (บน) และของหนังจระเข้ (ล่าง)	7
5	ภาพโครงสร้างทางจุลกายวิภาคของผิวหนังจระเข้ ส่วนเกล็ด (Scalar region) และส่วนระหว่างเกล็ด (Interscalar region)	8
6	ภาพจุลกายวิภาคของ ผิวหนังจระเข้ที่ย้อมสีด้วย Masson's trichrome ที่มี 100 test-points frame วางทาบด้านบน	15
7	ภาพทางจุลกายวิภาคของผิวหนังบริเวณด้านบนรักแร้ของจระเข้ น้ำจืดพันธุ์ไทย ย้อมด้วย H&E	18
8	ภาพทางจุลกายวิภาคของผิวหนังบริเวณด้านบนรักแร้ของจระเข้ น้ำจืดพันธุ์ไทย ย้อมด้วยสี Masson's trichrome	19
9	ภาพทางจุลกายวิภาคของผิวหนังบริเวณด้านบนรักแร้ของจระเข้ น้ำจืดพันธุ์ไทย ย้อมด้วย Weigert แสดงโครงสร้างผิวหนังชั้นต่างๆ	20
10	แผนภูมิแสดงค่าประมาณการของ collagen fibers ของหนังจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยวและเลี้ยงแบบขังรวมในบริเวณเกล็ดและระหว่างเกล็ด โดยวิธี Weibel's surface-to-volume estimation	22
11	แผนภูมิค่าประมาณการของ muscular fibers ของหนังจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยวและเลี้ยงแบบขังรวม ในบริเวณเกล็ดและระหว่างเกล็ด โดยวิธี Weibel's surface-to-volume estimation	23
12	แผนภูมิแสดงค่าประมาณการของ elastic fibers ของหนังจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยวและเลี้ยงแบบขังรวม ในบริเวณเกล็ดและระหว่างเกล็ด โดยวิธี Weibel's surface-to-volume estimation	25
13	แผนภูมิแสดงค่าประมาณการของ collagen fibers บริเวณเกล็ดและระหว่างเกล็ดของผิวหนังจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยวและเลี้ยงแบบขังรวม โดยวิธี Area Image analysis ด้วย Olympus Micro Image(OMI) รุ่น 4.5	28

สารบัญญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
14	แผนภูมิแสดงค่าประมาณการของ muscular fibers ในบริเวณเกล็ดและระหว่างเกล็ด ของผิวหนังจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยวและเลี้ยงแบบขังรวม โดยวิธี Image analysis ด้วย Olympus Micro Image(OMI) รุ่น 4.5	29
15	แผนภูมิแสดงค่าประมาณการปริมาณของ collagen fibers ขนาดต่างๆ ของหนังจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยวและเลี้ยงแบบขังรวม ในบริเวณเกล็ด โดยวิธี Weibel's surface-to-volume estimation	32
16	แผนภูมิแสดงค่าประมาณการปริมาณ collagen fibers ขนาดต่างๆ ของหนังจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยวและเลี้ยงแบบขังรวม ในบริเวณระหว่างเกล็ด โดยวิธี Weibel's surface-to-volume estimation	33
17	แผนภูมิแสดงค่าปริมาณของ collagen fibers ขนาดต่างๆ ในบริเวณเกล็ดและระหว่างเกล็ดของหนังจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยว โดยวิธี Weibel's surface-to-volume estimation	34
18	แผนภูมิแสดงค่าประมาณการปริมาณ collagen fibers ขนาดต่างๆ ของหนังจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังรวม ในบริเวณเกล็ดและระหว่างเกล็ด โดยวิธี Weibel's surface-to-volume estimation	35
19	แผนภูมิแสดงค่าประมาณการ muscular fibers ขนาดต่างๆ ของผิวหนังจระเข้ในบริเวณเกล็ด ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยวและเลี้ยงแบบขังรวม โดยวิธี Weibel's surface-to-volume estimation	38
20	แผนภูมิแสดงค่าประมาณการ muscular fibers ขนาดต่างๆ ของหนังจระเข้ในบริเวณระหว่างเกล็ด ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยวและเลี้ยงแบบขังรวม โดยวิธี Weibel's surface-to-volume estimation	39
21	แผนภูมิแสดงค่าประมาณการ muscular fibers ขนาดต่างๆ ของหนังจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยว ในบริเวณเกล็ดและบริเวณระหว่างเกล็ด โดยวิธี Weibel's surface-to-volume estimation	40
22	แผนภูมิแสดงค่าประมาณการขนาดของ muscular fibers ของหนังจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังรวม ในบริเวณเกล็ดและระหว่างเกล็ด โดยวิธี Weibel's surface-to-volume estimation	41

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
23	ภาพผิวหนังของจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังรวมตัวที่ 1 (A และ B) และตัวที่ 2 (C และ D) ในบริเวณเกล็ด (A, C) และบริเวณระหว่างเกล็ด (B, D) ย้อมด้วยสี Masson's trichrome.	42
24	ภาพผิวหนังของจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังรวมตัวที่ 3 (A และ B) และตัวที่ 4 (C และ D) ในบริเวณเกล็ด (A, C) และบริเวณระหว่างเกล็ด (B, D) ย้อมด้วยสี Masson's trichrome.	43
25	ภาพผิวหนังของจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังรวมตัวที่ 5 (A และ B) และตัวที่ 6 (C และ D) ในบริเวณเกล็ด (A, C) และบริเวณระหว่างเกล็ด (B, D) ย้อมด้วยสี Masson's trichrome.	44
26	ภาพผิวหนังของจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังรวมตัวที่ 7 (A และ B) และตัวที่ 8 (C และ D) ในบริเวณเกล็ด (A, C) และบริเวณระหว่างเกล็ด (B, D) ย้อมด้วยสี Masson's trichrome.	45
27	ภาพผิวหนังของจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังรวมตัวที่ 9 (A และ B) และตัวที่ 10 (C และ D) ในบริเวณเกล็ด (A, C) และบริเวณระหว่างเกล็ด (B, D) ย้อมด้วยสี Masson's trichrome.	46
28	ภาพผิวหนังของจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยวตัวที่ 1 (A และ B) และตัวที่ 2 (C และ D) ในบริเวณเกล็ด (A, C) และบริเวณระหว่างเกล็ด (B, D) ย้อมด้วยสี Masson's trichrome.	47
29	ภาพผิวหนังของจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยวตัวที่ 3 (A และ B) และตัวที่ 4 (C และ D) ในบริเวณเกล็ด (A, C) และบริเวณระหว่างเกล็ด (B, D) ย้อมด้วยสี Masson's trichrome.	48
30	ภาพผิวหนังของจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยวตัวที่ 5 (A และ B) และตัวที่ 6 (C และ D) ในบริเวณเกล็ด (A, C) และบริเวณระหว่างเกล็ด (B, D) ย้อมด้วยสี Masson's trichrome.	49
31	ภาพผิวหนังของจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยวตัวที่ 7 (A และ B) และตัวที่ 8 (C และ D) ในบริเวณเกล็ด (A, C) และบริเวณระหว่างเกล็ด (B, D) ย้อมด้วยสี Masson's trichrome.	50

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
32	ภาพผิวหนังของจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยวตัวที่ 9 (A และ B) และตัวที่ 10 (C และ D) ในบริเวณเกล็ด (A, C) และบริเวณระหว่างเกล็ด (B, D) ย้อมด้วยสี Masson's trichrome.	51
33	ภาพผิวหนังของจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังรวมตัวที่ 1 (A และ B) และตัวที่ 2 (C และ D) ในบริเวณเกล็ด (A, C) และบริเวณระหว่างเกล็ด (B, D) ย้อมด้วยสี Weigert.	52
34	ภาพผิวหนังของจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังรวมตัวที่ 3 (A และ B) และตัวที่ 4 (C และ D) ในบริเวณเกล็ด (A, C) และบริเวณระหว่างเกล็ด (B, D) ย้อมด้วยสี Weigert.	53
35	ภาพผิวหนังของจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังรวมตัวที่ 5 (A และ B) และตัวที่ 6 (C และ D) ในบริเวณเกล็ด (A, C) และบริเวณระหว่างเกล็ด (B, D) ย้อมด้วยสี Weigert.	54
36	ภาพผิวหนังของจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังรวมตัวที่ 7 (A และ B) และตัวที่ 8 (C และ D) ในบริเวณเกล็ด (A, C) และบริเวณระหว่างเกล็ด (B, D) ย้อมด้วยสี Weigert.	55
37	ภาพผิวหนังของจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังรวมตัวที่ 9 (A และ B) และตัวที่ 10 (C และ D) ในบริเวณเกล็ด (A, C) และบริเวณระหว่างเกล็ด (B, D) ย้อมด้วยสี Weigert.	56
38	ภาพผิวหนังของจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยวตัวที่ 1 (A และ B) และตัวที่ 2 (C และ D) ในบริเวณเกล็ด (A, C) และบริเวณระหว่างเกล็ด (B, D) ย้อมด้วยสี Weigert.	57
39	ภาพผิวหนังของจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยวตัวที่ 3 (A และ B) และตัวที่ 4 (C และ D) ในบริเวณเกล็ด (A, C) และบริเวณระหว่างเกล็ด (B, D) ย้อมด้วยสี Weigert.	58
40	ภาพผิวหนังของจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยวตัวที่ 5 (A และ B) และตัวที่ 6 (C และ D) ในบริเวณเกล็ด (A, C) และบริเวณระหว่างเกล็ด (B, D) ย้อมด้วยสี Weigert.	59
41	ภาพผิวหนังของจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยวตัวที่ 7 (A และ B) และตัวที่ 8 (C และ D) ในบริเวณเกล็ด (A, C) และบริเวณระหว่างเกล็ด (B, D) ย้อมด้วยสี Weigert.	60
42	ภาพผิวหนังของจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยวตัวที่ 9 (A และ B) และตัวที่ 10 (C และ D) ในบริเวณเกล็ด (A, C) และบริเวณระหว่างเกล็ด (B, D) ย้อมด้วยสี Weigert.	61
ภาพผนวกที่		
ข1	แสดงหน้าต่าง Count/Size	80
ข2	แสดงหน้าต่าง Select Measurements เพื่อกำหนดค่าที่ต้องการ	81

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

Co	=	Collagen fibers
De	=	Dermis
El	=	Elastic fibers
Ep	=	Epidermis
Ke	=	Keratin
Mu	=	Muscular fibers

ศึกษาเปรียบเทียบโครงสร้างผิวหนังจระเข้หน้าจืดพันธุ์ไทย (*Crocodylus siamensis*
Schneider) บริเวณรักแร้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยวและขังรวม

Comparative Morphological Study between the Individual and Congregated
Cultivation at the Axillar Skin of Siamese Crocodiles
(*Crocodylus siamensis* Schneider)

คำนำ

ปัจจุบันจระเข้เป็นสัตว์เศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่ง ซึ่งมีการเพาะเลี้ยงมากมายทั่วโลก รวมถึงประเทศไทยด้วย จระเข้นั้นเป็นสัตว์ที่ใช้ประโยชน์ได้ทุกส่วน ได้แก่ หนังจระเข้นำมาทำเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องหนังต่างๆ ส่วนเนื้อจระเข้สามารถขายได้ในรูปเนื้อสด เนื้อแห้งและเนื้อกระป๋อง เป็นที่นิยมของชาวจีน ซึ่งใช้เนื้อจระเข้เป็นส่วนประกอบเข้าด้วยยาสมุนไพรเพื่อใช้รักษาโรคหอบหืด ส่วนไขมันจระเข้ ในสาธารณรัฐประชาชนจีนและสิงคโปร์ นิยมนำไขมันจระเข้ไปใช้เป็นน้ำมันถนอมสำหรับรอยฟกช้ำ น้ำร้อนลวก ฝีแผลก ใช้รักษาโรคผิวหนังและแผลสด และในออสเตรเลียก็นำไขมันจระเข้เข้าไปเป็นส่วนผสมหลักของน้ำมันและครีมบำรุงผิวกันแดด ซึ่งเป็นที่นิยมมาก ส่วนเครื่องในของจระเข้ มีผู้นำมาใช้เป็นยาแผนโบราณและยาจีน ดังนั้นจระเข้เป็นสัตว์ที่ทำรายได้ให้กับผู้เลี้ยงในแต่ละปีสูงพอสมควร และจระเข้มีตลาดที่ค่อนข้างสดใสกว่าการเลี้ยงสัตว์อื่นๆ มากเพราะตลาดมีความต้องการสูง โดยเฉพาะความต้องการหนังจระเข้ที่จะนำมาทำเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องหนัง ซึ่งมีราคาที่สูงค่อนข้างแพง และเป็นที่ยอดนิยมทั้งตลาดในและต่างประเทศ ดังนั้นธุรกิจการเลี้ยงจระเข้เพื่อเป็นสัตว์เศรษฐกิจจึงกว้างขวางมากขึ้น การเลี้ยงจระเข้ที่ทำให้ได้หนังจระเข้ที่มีคุณภาพดี จึงเป็นเป้าหมายหลักที่จะทำให้ธุรกิจการเลี้ยงจระเข้อยู่ได้ แต่การเลี้ยงบ่อยครั้งที่พบการขาดง่ายของผิวหนังจระเข้บริเวณรักแร้ในขั้นตอนการลอกหนัง ซึ่งส่งผลกระทบต่อได้หนังที่มีคุณภาพต่ำลง

การศึกษานี้ จึงศึกษาโครงสร้างผิวหนังจระเข้หน้าจืดพันธุ์ไทย เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานทางวิชาการของจระเข้หน้าจืดพันธุ์ไทย และอาจจะเป็นข้อมูลพื้นฐานในการส่งเสริมการเลี้ยงจระเข้ให้ประสบความสำเร็จ ให้ได้หนังจระเข้ที่มีคุณภาพดี อันจะเป็นประโยชน์ต่อเศรษฐกิจของประเทศในอนาคต

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของผิวหนังระเข้ น้ำจืดพันธุ์ไทย (*Crocodylus siamensis* Schneider)
2. เพื่อศึกษาโครงสร้างเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (Connective tissue) ของผิวหนังระเข้ น้ำจืดพันธุ์ไทย (*Crocodylus siamensis* Schneider) บริเวณรักแร้ของการเลี้ยงแบบขังเดี่ยวและแบบขังรวม

ขอบเขตการวิจัย

1. ศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของผิวหนังระเข้ น้ำจืดพันธุ์ไทย (*Crocodylus siamensis* Schneider) ในชั้น epidermis และ dermis
2. เปรียบเทียบเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (Connective tissue) ของผิวหนังระเข้ น้ำจืดพันธุ์ไทย (*Crocodylus siamensis* Schneider) บริเวณรักแร้ของการเลี้ยงแบบขังเดี่ยวและแบบขังรวม ในชั้น dermis

การตรวจเอกสาร

อนุกรมวิธานของจระเข้

อนุกรมของจระเข้ มีดังนี้ (Grenard, 1991)

Kingdom Animalia

Subkingdom Metazoa

Phylum Chordata

Subphylum Vertebrata

Class Reptilia

Subclass Archosauria

Family Crocodylidae

Subfamily Alligatorinae

Genus *Alligator*

Genus *Caiman*

Genus *Melanosuchus*

Genus *Paleosuchus*

Subfamily Crocodylinae

Genus *Crocodylus*

Genus *Osteolaemus*

Subfamily Tomistominae

Genus *Tomistoma*

Subfamily Gavialinae

Genus *Gavialis*

จระเข้ที่พบในประเทศไทย

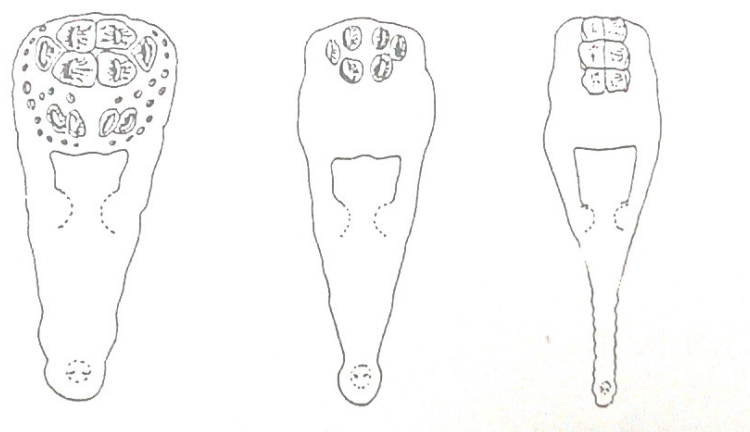
จระเข้ที่พบในประเทศไทยมี 3 ชนิด (ปานเทพ, 2541; มนตรี, 2542)

1. จระเข้ น้ำจืด พันธุ์ไทย (Freshwater หรือ Siamese Crocodile) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Crocodylus siamensis* Schneider พบมากที่สุดในประเทศไทย
2. จระเข้ น้ำเค็มหรือจระเข้ปากแม่น้ำ (Saltwater หรือ Estuarine Crocodile) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Crocodylus porosus* Schneider พบตามแหล่งน้ำเค็มและน้ำกร่อย
3. ตะโพง, จระเข้ปากกระทุงเหว (False Ghavial หรือ Malayan Gharial) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Tomistoma schlegelii* พบเฉพาะในจังหวัดภาคใต้

ลักษณะทางกายวิภาคและสรีระวิทยาของจระเข้

จระเข้เป็นสัตว์เลื้อยคลานวงศ์แรกหรือพวกแรก ที่เริ่มพัฒนาด้านกายวิภาคศาสตร์ โดยมีหัวใจครบ 4 ห้องเช่นเดียวกับสัตว์เลื้อยคลานด้วยนม ผิดกับสัตว์เลื้อยคลานอื่นๆ ที่มีหัวใจเพียง 3 ห้อง นอกจากนี้จระเข้ยังมีกระบังลมแบ่งเป็นช่องทรวงอกกับช่องท้อง เหมือนกับสัตว์เลื้อยคลานด้วยนม

จระเข้มีขนาดลำตัว ตั้งแต่ปานกลางจนถึงใหญ่มาก ร่างกายปกคลุมด้วยผิวหนังที่แข็งแรง ลักษณะคล้ายกับเกราะคลุมตัว ผิวหนังส่วนหัวเชื่อมติดกับกะโหลกบริเวณคอ ตรงส่วนท้ายทอยมีปุ่มเกล็ดแข็ง (Post occipital scale) เห็นชัดเจน จำนวนการเรียงตัวของปุ่มเกล็ดแข็งดังกล่าว สามารถนำไปจำแนกชนิดของจระเข้ด้วย (ภาพที่ 1 และ 2) นอกเหนือจากพิจารณาจากรูปลักษณะลำตัว รูปร่างของปาก และฟันแล้ว (รณฤทธิ์, 2533; ปานเทพ, 2541 และ มนตรี, 2542)



จระเข้ น้ำจืด พันธุ์ไทย

Crocodylus siamensis

จระเข้ น้ำเค็ม

Crocodylus porosus

ตะ โขง

Tomistoma schlegelii

ภาพที่ 1 ภาพวาดแสดงความแตกต่างของหัวและเกล็ดบนหัวของจระเข้ 3 ชนิด
ที่มา: ปานเทพ (2541)



ภาพที่ 2 ภาพของหัวจระเข้ น้ำจืด พันธุ์ไทย แสดงการเรียงตัวของเกล็ดใหญ่ 6 เกล็ดบนส่วนท้ายของหัว โดยเป็น 4 เกล็ดใหญ่เรียงเป็น 2 แถวๆละ 2 เกล็ดอยู่ตรงกลาง และอีก 2 เกล็ด วางเข้าร่องระหว่าง 2 แถวกลาง และถัดมาข้างหน้า ยังมีเกล็ดขนาดเล็กกว่า เรียงทางขวางใกล้แนวกลาง ข้างละ 2 เกล็ด

จระเข้ มีผิวหนังเป็นเกล็ดหนาแข็ง รูปสี่เหลี่ยมหุ้มเกือบตลอดทั้งตัว บางเกล็ดมีกระดูกแข็ง (Ossified) อยู่ข้างใต้ ซึ่งมีไว้สำหรับเป็นเกราะป้องกันตัว เกล็ดบนหลังเป็นเกล็ดสันขนาดใหญ่ เรียงเป็นแถวไปจนถึงหาง ประมาณเกล็ดที่ 10 ของเกล็ดของส่วนหาง เกล็ดข้างลำตัวมีขนาดเล็ก เกล็ดท้องเป็นเกล็ดเรียบแบนเรียงเป็นระเบียบ บนสันหางเป็นแผ่นเกล็ดใหญ่ตั้งสูง โดยเฉพาะตั้งแต่ บริเวณกลางของความยาวหางไปจนส่วนปลายหาง ที่ด้านบนของขาก็มีเกล็ดหุ้ม

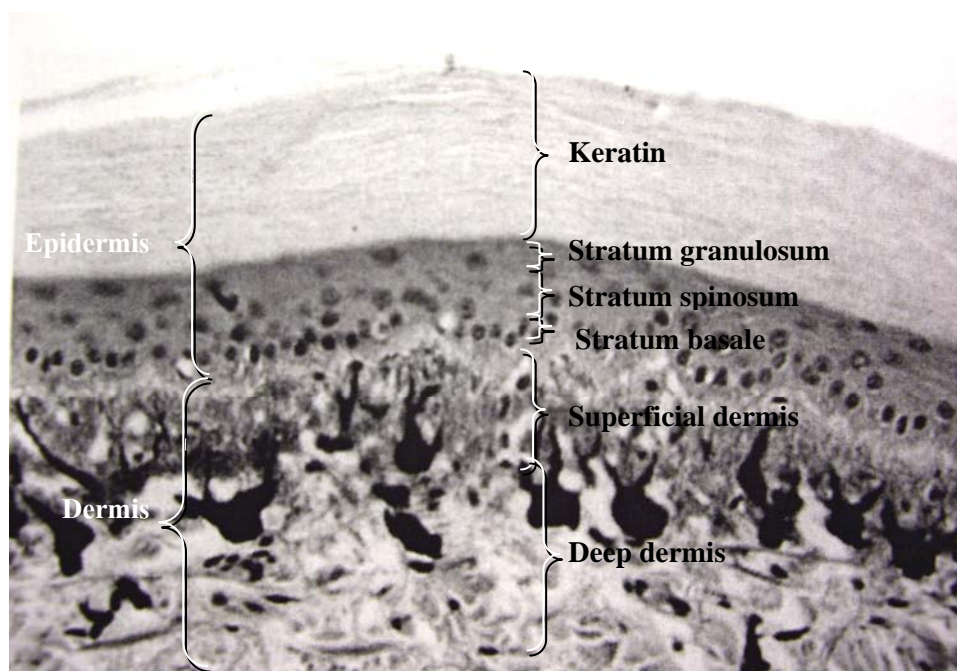
โครงสร้างของผิวหนังจระเข้

จระเข้เป็น Archosaurs โดยมีลักษณะของเกล็ดหลายๆ รูปแบบ (Brazaitis, 1987) เกล็ดจาก บริเวณต่างๆ ของจระเข้มีลักษณะทางจุลกายวิภาคและชีวเคมีที่เป็นแบบเดียวกัน (Lange, 1931)

ผิวหนังจระเข้ ประกอบด้วยผิวหนังชั้นนอก (Epidermis) และผิวหนังชั้นใน (dermis) (Alibardi and Thomson, 2001) (ภาพที่ 3)

ผิวหนังชั้นนอก (epidermis) ของจระเข้ประกอบไปด้วย 4 ชั้น (Manolis *et al.*, 2000) เรียง จากชั้นล่างสุดดังนี้

1. Stratum basale (Stratum germinativum) ประกอบด้วยชั้นเดียวของ columnar หรือ cuboidal cells ที่เรียงตัวอยู่บน basal lamina
2. Stratum spinosum ประกอบด้วย irregular polyhedral cells หลายชั้น
3. Stratum granulosum ประกอบด้วย flattened cells หลายชั้น เรียงตัวขนานกับ epidermal junction



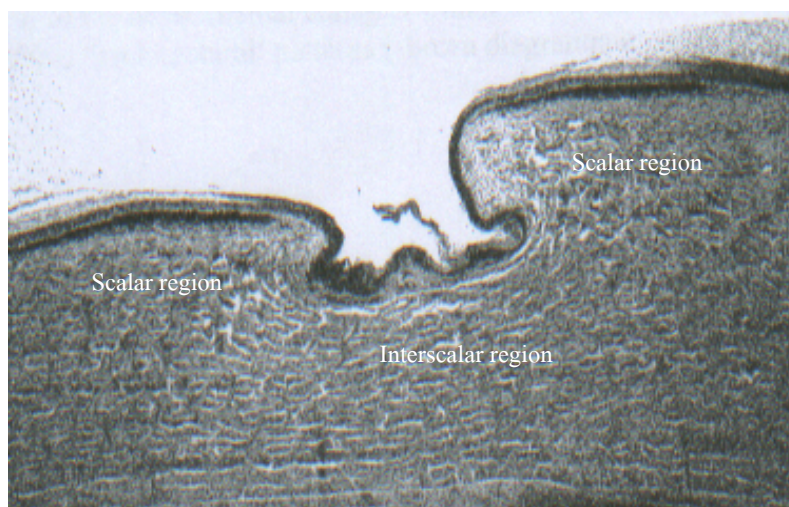
ภาพที่ 3 ภาพทางจุลกายวิภาคของผิวหนังกระแซ่ แสดงชั้นต่างๆ ของผิวหนัง ผิวหนังชั้นบนสุดเป็น Keratin ถัดลงมาเป็นชั้น Stratum granulosum, Stratum spinosum, Stratum basale ของ epidermis ตามลำดับ และชั้นล่างสุดเป็นชั้น superficial และ deep dermis
ที่มา: Manolis *et al.* (2000)

4. Stratum corneum (flake, scale) เป็นชั้นบนสุดของผิวหนังชั้นนอก ประกอบด้วย completely keratinized dead cells หลายชั้น และชั้นของเซลล์ที่ไม่มีนิวเคลียสและ cytoplasmic organelles รวมกันเป็นแผ่นเกล็ดกระจาย แต่ต่อเนื่องกันเหมือนเต่า (Spearman, 1966; Matoltsy and Huszar, 1972) ไม่เรียงซ้อนทับกันแน่นแบบงูและกิ้งก่า ส่วนที่ต่อกันระหว่างเกล็ดเรียกว่า hinge region ซึ่งเป็นบริเวณที่ชั้น epidermis บาง (ภาพที่ 4 และ 5)



ภาพที่ 4 ภาพวาดแสดงตำแหน่งระหว่างเกล็ด (Hinge region) ซึ่งเป็นผิวหนังระหว่างเกล็ดพับซ้อน ด้านล่างของเกล็ดของผิวหนังงูและกิ้งก่า (บน) และเป็นผิวหนังโค้งลงระหว่างเกล็ดในหนังกระแซ่ (ล่าง)

ที่มา: Kardong (1998)



ภาพที่ 5 ภาพโครงสร้างทางจุลกายวิภาคของผิวหนังจระเข้ แสดงโครงสร้างผิวหนังส่วนเกล็ด (Scalar region) และส่วนระหว่างเกล็ด (Interscalar region) ที่โค้งพับลงต่ำกว่าส่วนเกล็ด
ที่มา: Manolis *et al.* (2000)

ผิวหนังนอกทั้งเกล็ดบนลำตัวและเกล็ดล่างลำตัวมี beta (β) keratin (Spearman, 1966; Baden and Maderson, 1970; Manolis *et al.*, 2000) ในขณะที่ Alpha (α) keratin มีเฉพาะบริเวณ hinge region (Alexander, 1970) ซึ่งการเกิด beta keratin layer ในขบวนการ keratinisation ของหนังจระเข้ alligator นั้น มีลักษณะการเกิดเหมือนพวกนก (Matulionis, 1970; Kemp *et al.*, 1974; Sawyer *et al.*, 1974; Bowers and Brumbaugh, 1978) โดย beta keratin molecules จะสะสมโดยตรงบนชั้นของ alpha keratin (Alibardi and Thomson, 2001) มากกว่าเกิดการแทรกที่หลังของ Alpha keratin เหมือนอย่างกระดองเต่า Chelonia (Alibardi and Thompson, 1999)

Beta (β) keratin และ Alpha (α) keratin มีความแตกต่างดังนี้ (Alibardi and Thomson, 2001) คือ beta (β) keratin มีน้ำหนักต่ำกว่า Alpha (α) keratin มี glycine และ proline มาก มีเส้นผ่าศูนย์กลางของ microfibril สั้นกว่า Alpha (α) keratin มีความทนต่อการยืดได้ดีกว่า Alpha (α) keratin มี bundle or intermediate filament และไขมันน้อยกว่า Alpha (α) keratin และมี sulphide และ disulphide bonds มากกว่า Alpha (α) keratin

ความหนาของผิวหนังของจระเข้ ในระยะฟักเป็นตัวแรกๆ ผิวหนังแต่ละบริเวณจะหนาใกล้เคียงกัน เมื่ออายุประมาณ 1 ปี ผิวหนังจะมีความหนาแตกต่างกัน โดยบริเวณด้านล่างของลำตัว เช่น ด้านล่างของท้องและหางจะหนากว่าบริเวณคอและข้อเท้า โดยชั้น epidermis มี keratin หนามาก ในบริเวณด้านล่างของลำตัว (Manolis *et al.*, 2000)

ผิวหนังชั้นใน (Dermis) ของสัตว์พวกมีกระดูกสันหลัง รวมถึงจระเข้ ประกอบไปด้วย fibrous connective tissue, fibrous collagen, secreted extracellular by fibroblasts ซึ่งสามารถรับแรงดึงได้ (Marderson, 1985; Kardong, 1998; Sanders *et al.*, 1999; Alibardi and Thomson, 2001)

Fibrous connective tissues ของผิวหนังใน มี 3 ชนิด คือ collagen fibers, elastic fibers, reticular fibers ส่วนใหญ่เป็นพวก Collagen fibers (Kardong, 1998)

1. Collagen fibers (white fibers) ประกอบด้วยโปรตีนคอลลาเจน เป็นเส้นใยไม่มีสี แต่เมื่อรวมเป็นมัดเห็นเป็นสีขาวเช่น เอ็น (tendon) Collagen fibers มีหน้าที่ให้ความแข็งแรงแก่โครงสร้างนั้น เมื่อย้อม Hematoxylin & Eosin จะติดสีชมพูหรือแดง โครงสร้างระดับมหจุลกายวิภาคศาสตร์เป็นลายตามขวาง (cross-banding) ซึ่ง collagen fibers ประกอบด้วย fibrils จำนวนมากที่เรียงขนานกัน แต่ละ fibril ประกอบไปด้วยหน่วยเส้นใยละเอียด เรียกว่า microfibril แต่ละ microfibril เกิดจาก tropocollagen molecules ซึ่งประกอบด้วย three polypeptide chains โดยมี peptide chains 2 อันเหมือนกัน เรียกว่า alpha-1 (α_1) chain ส่วน peptide chain อีกอันหนึ่งเรียกว่า alpha-2 (α_2) chain ซึ่งมีการเรียงตัวของกรดอะมิโนแตกต่างดังนี้ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 แสดงส่วนประกอบและบริเวณที่พบ collagen fibers แต่ละชนิด

MOLECULAR TYPE	MOLECULAR FORMULA	SYNTHESIZING CELLS	FUNCTION	LOCATION IN BODY
I	$[\alpha 1(I)]_2\alpha 2(I)$	Fibroblast, osteoblast, odontoblast, cementoblast	Resists tension	Dermis, tendon, ligaments, capsules of organs, bone, dentin, cementum
II	$[\alpha 1(II)]_3$	Chondroblasts	Resists pressure	Hyaline cartilage, elastic cartilage
III	$[\alpha 1(III)]_3$	Fibroblast, reticular cell, smooth muscle cell, hepatocyte	Forms structural framework of spleen, liver, lymph nodes, smooth muscle, adipose tissue	Lymphatic system, spleen, liver, cardiovascular system, lung, skin.
IV	$[\alpha 1(IV)]_2\alpha 2(IV)$	Epithelial cells, muscle cells, Schwann cells	Forms meshwork of the lamina densa of the basal lamina to provide support and filtration	Basal lamina
V	$[\alpha 1(V)]_2\alpha 2(V)$	Fibroblasts, mesenchymal cells	Associated with type I collagen, also with placental ground substance	Dermis, tendon, ligaments, capsules of organs, bone, cementum, placenta
VII	$[\alpha 1(VII)]_3$	Epidermal cells	Forms anchoring fibrils that fasten lamina densa to underlying lamina reticularis	Junction of epidermis and dermis

ที่มา: Gartner and Hiatt (2001)

2. Elastic fibers เมื่อสภาวะสดๆ เห็นเป็นกลุ่มสีเหลือง พบมากที่หลอดเลือดขนาดใหญ่ และใน loose fibrous connective tissue Elastic fibers แยกออกได้ง่ายจาก collagen fibers เพราะเป็นเส้นใยที่บางมากและเมื่อดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ไม่มีลายตามขวาง Elastic fibers พบได้ตามเนื้อเยื่อที่ต้องการความยืดหยุ่นหรือหดตัวได้ เช่น ผนังเส้นเลือดแดงขนาดใหญ่ โดยเรียง

ตัวเป็นแผ่นวงกลม ส่วนที่ผิวหนัง elastic fibers จะอยู่กันกระจัดกระจายแทรกอยู่ระหว่างกลุ่มของ collagen และมีลักษณะเป็นเส้นใยบางยาว คล้ายเส้นด้ายเส้นเล็กๆ เมื่อดูด้วยกล้องจุลทรรศน์

3. Reticular fibers เป็นเส้นใยที่มีขนาดเล็กที่สุด เรียงตัวเป็นร่างแห พบในเนื้อเยื่อประสานของตัวอ่อน ต่อมาเมื่อตัวอ่อนเจริญมากขึ้น collagen fibers เข้ามาแทนที่ ในคนที่เติบโตเต็มที่ reticular fibers เป็นโครงสร้างของอวัยวะสร้างเม็ดเลือด เช่น ม้าม ต่อม้ำเหลือง โดย reticular fibers เป็นส่วนหนึ่งของ collagen fibers

ผิวหนังชั้นใน (Dermis) แบ่งได้เป็น 2 ชั้น คือ

1. ชั้น superficial dermis เป็นชั้นที่พบ collagen fibers น้อย มีขนาดเล็ก และเรียงตัวไม่เป็นระเบียบ ผิวหนังบริเวณด้านข้างและด้านหลังของลำตัว จะพบ melanophore และ melanin granules อีสระ โดย melanophore ขนาดใหญ่จะมี globular cell body เป็นแขนงยื่นออกไปยังบริเวณ dermal-epidermal junction. ส่วน superficial dermis บริเวณท้องจะไม่พบ melanocytes และขาดการเกิด pigment สีดำ (Manolis *et al.*, 2000)

2. ชั้น deep dermis เป็นชั้นที่พบ collagen fibers หนาแน่น มีขนาดใหญ่ และเรียงตัวเป็นระเบียบ

องค์ประกอบทางชีวเคมีของผิวหนังจระเข้ alligator มี glycogen เพิ่มขึ้นใน basal และ suprabasal layers ของ epidermal cells ในขณะที่มีจำนวนเซลล์เพิ่มมากขึ้นและมี precursors ของ beta keratin ด้วย เหมือนกับผิวหนังของ lizards (Alibardi, 1998) และนก (Matulionis, 1970) ซึ่งการเพิ่มขึ้นของ glycogen มักสัมพันธ์กับ lipids ทั้ง glycogen และ lipids อาจเป็นแหล่งพลังงานในการสร้าง keratin ของผิวหนังจระเข้ เช่นเดียวกับของเต่า (Matoltsy and Huszar, 1972) และ lizards บางชนิด (Alibardi and Thompson, 1999) เนื่องจาก glycogen สามารถเปลี่ยนไปเป็น glucose ได้ จากการทำงานของ epidermal cells อย่างรวดเร็ว เพื่อใช้สร้าง lipids (Freinkel, 1991) หรือใช้เป็นแหล่งพลังงานในการสร้าง keratin ของผิวหนัง

การเจริญของผิวหนัง หลังจากฟักเป็นตัวแล้ว มีการเจริญไปพร้อมกัน (linear fasion) โดยมีการหนาตัวของ epidermis และ dermis แต่ส่วนใหญ่มากกว่า 80% เป็นการหนาตัวของผิวหนังชั้น dermis ที่หนาตัวมากขึ้น และชั้น epidermis บางลง (Manolis *et al.*, 2000)

ความแตกต่างของผิวหนังของชั้น Dermis มี 4 รูปแบบ ซึ่งผันแปรตามการจัดเรียงของ collagen bundle ซึ่งในจระเข้ป่าจะมี collagen bundles ลักษณะแบน แคบกว่าและอัดแน่นมากกว่าใน จระเข้เลี้ยง (Manolis *et al.*, 2000)

อัตราการเจริญเติบโตของผิวหนังจระเข้เลี้ยง (Farm skin) จะมีความยาวมากกว่า จระเข้ป่า (Wild skin) และถ้าหากมีการกินอาหารประเภทไขมันก็อาจจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างชั้น dermis และ subsequent tanning ของผิวหนังได้ (Manolis *et al.*, 2000) ซึ่งอาหารของจระเข้เลี้ยง มี แวนอีนที่มีปริมาณ ไขมันที่สูงกว่าอาหารของจระเข้ป่า

โดยทั่วไปแผ่นหนังจระเข้ป่า (Wild skin) ดีกว่าแผ่นหนังของจระเข้เลี้ยง (Farm skin) โดยผิวหนังจระเข้เลี้ยง จะมีลักษณะเป็นแผ่นความกว้างกว่าจระเข้ป่าอย่างสม่ำเสมอ ซึ่งมีผลมาจากการเติบโตที่รวดเร็วและชนิดของอาหารที่เลี้ยง ซึ่งสัมพันธ์กับอาหารที่มีไขมันสูง ทำให้มีการสะสมของไขมัน ทำให้จระเข้เลี้ยงอ้วนกว่าและหนังกว้างมากกว่าจระเข้ป่า (Manolis *et al.*, 2000)

ดังนั้น โครงสร้างของผิวหนังจระเข้ที่มีการเลี้ยงดูต่างกันเช่นการเลี้ยงแบบขังตัวเดี่ยว และการเลี้ยงแบบขังหลายตัวรวมกัน ซึ่งมีการเคลื่อนไหวตัวตามธรรมชาติได้มากกว่า น่าจะมีผลต่อการกระจายตัวของเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน หรือชีวเคมีของผิวหนัง การศึกษาครั้งนี้ จึงศึกษาโครงสร้างทางจุลกายวิภาคของผิวหนังจระเข้ที่เลี้ยงดูด้วยทั้งสองแบบเปรียบเทียบกัน

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. จระเข้ นำจัดพันธุ์ไทย เพศผู้และเพศเมีย อายุ 3 ปี ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยว 10 ตัว และเลี้ยงแบบขังรวม 10 ตัว ซึ่งมีความยาว 167-200 เซนติเมตร เก็บผิวหนังบริเวณด้านบนรักแร้ (Dorsal axilla's region) ขนาด 1 ตารางนิ้ว
2. เครื่องมือผ่าตัด เช่น มีดผ่าตัด กรรไกรผ่าตัด tissue forcep
3. เครื่องแก้วสำหรับเก็บตัวอย่างและสารเคมีที่ใช้ในการเตรียมตัวอย่าง
4. อุปกรณ์ในการทำ Paraffin section
5. เครื่อง rotary microtome
6. น้ำยาคงสภาพ Bouin's Solution
7. Parafin
8. Xylene
9. Ethyl alcohol ความเข้มข้น 70%, 80%, 90%, 95%, 100%
10. Saturated lithium carbonate (Li_2CO_3)
11. Egg albumin
12. แผ่น glass slide
13. Cover glass
14. กล้องจุลทรรศน์ธรรมดา (Compound microscope)

วิธีการ

1. เก็บตัวอย่างผิวหนังจระเข้ที่มีการเลี้ยงแบบขังเดี่ยวและการเลี้ยงแบบขังรวม แบบละ 10 ตัว ที่ ศรีราชาฟาร์ม อ.ศรีราชา จ.ชลบุรี และลูกฟาร์มของศรีราชาฟาร์ม

2. นำเนื้อเยื่อตัวละ 1 ชิ้น มาเตรียมเนื้อเยื่อเพื่อศึกษาทาง histology ด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา โดยผ่านขั้นตอนดังนี้

2.1 รักษาสภาพเนื้อเยื่อด้วย Bouin Fixative

2.2 กำจัดน้ำออกด้วย ethanol series (70%, 80%, 90%, 95%, 100% 2 ครั้ง) ความเข้มข้นละ 15 นาที

2.3 หล่อเนื้อเยื่อเป็นบล็อกพาราฟิน โดยแช่เนื้อเยื่อใน transitional solvents ด้วย toluene และ xylene

2.4 ตัดเนื้อเยื่อเป็นแผ่นหนา 3 ไมครอน ด้วย rotary microtome แล้วทำการสุ่มเลือกเนื้อเยื่อเป็นช่วง ช่วงละ 10 แผ่น จากเนื้อเยื่อที่ตัดได้ตัดอยู่ในช่วง 0 ไมครอน ถึง 300 ไมครอน

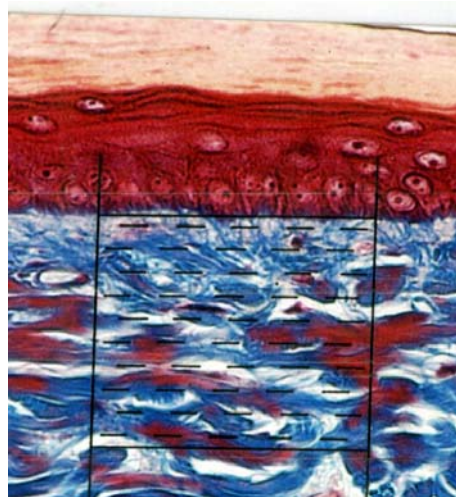
2.5 ล้างพาราฟินออกจากแผ่นเนื้อเยื่อ

2.6 ย้อมสีเนื้อเยื่อด้วย Harris hematoxylin and eosin เพื่อศึกษา histology ย้อมสีด้วย Masson's trichrome (Masson, 1929) เพื่อดู collagen fibers (ติดสีน้ำเงิน) และดู muscular fibers (ติดสีแดง) และย้อมสีด้วย Weigert's method (Mallory, 1961) เพื่อดู elastic fibers (ติดสีน้ำเงินดำ)

3. นับปริมาณ collagen fibers, muscular fibers, elastic fibers ในชั้น dermis ดังนี้

3.1 นำเนื้อเยื่อที่ย้อมสีแล้ว สีละจำนวน 10 slides โดยการสุ่มจากแผ่นเนื้อเยื่อ จำนวน 100 แผ่น ซึ่งหนาประมาณ 3 ไมครอน มาถ่ายภาพ 2 บริเวณ คือ บริเวณเกล็ด (Scalar area) และบริเวณระหว่างเกล็ด (Interscalar area) ด้วยกล้องดิจิทัล Olympus ถ่ายด้วยภาพเป็นขนาดโปสเตอร์ มาหาปริมาณ collagen, muscular, และ elastic fibers โดยใช้ 100 test-points frame (Weibel *et al.*, 1966)

(ภาพที่ 6) ซึ่งมีความกว้าง 2.90 เซนติเมตร และยาว 3.40 เซนติเมตร โดยวาง 100 test-points frame ขนานกับ epidermal junction จากภาพที่อัดขยายดังกล่าวข้างต้นและแยกขนาดของ fibers โดยกำหนดขนาดความกว้างของ fibers (μm) แบ่งเป็น 17 กลุ่ม คือขนาดกว้าง <0.50, 0.50, 1.00, 1.50, 2.00, 3.00, 4.00, 5.00, 6.00, 7.00, 8.00, 9.00, 10.00, 11.00, 12.00, 13.00 และขนาด >13.00 μm



ภาพที่ 6 ภาพจุลกายวิภาคของ ผิวหนังระเซ่ที่ข้อมือสีด้วย Masson's trichrome ที่มี 100 test-points frame วางทาบด้านบน (X500)

3.2 นับปริมาณ Collagen และ Muscular fibers ด้วยโปรแกรม Olympus Micro Image (OMI) รุ่น 4.5 ในบริเวณเดียวกับการนับโดยใช้ 100 test-points frame โดยนำค่าที่ได้เป็นค่า pixel แล้วทำการแปลงเป็นค่า μm^2 ตามสูตร

$$\text{ค่า } \mu\text{m}^2 = \text{ค่า pixel} \div (7.88)^2$$

4. นำข้อมูลที่ได้จากการนับทั้ง 2 วิธี มาทำการวิเคราะห์ทางสถิติ

การวิเคราะห์ทางสถิติ

1. วิเคราะห์เปรียบเทียบปริมาณของ collagen fibers, muscular fibers, elastic fibers ระหว่างหนังของกระชี่น้ำจืดพันธุ์ไทยที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยว และแบบขังรวม ด้วย โปรแกรม SPSS
2. วิเคราะห์เปรียบเทียบปริมาณของ collagen fibers, muscular fibers ขนาดต่างๆ ของหนังกระชี่น้ำจืดพันธุ์ไทยที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยวและแบบขังรวม

โดยวิธีวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ผลและวิจารณ์

ผล

ผลการศึกษาโครงสร้างทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของผิวหนังกระชั้นน้ำจืดพันธุ์ไทย ด้วยการย้อมสี H&E (ภาพที่ 7) Masson's trichrome (ภาพที่ 8) และ Weigert (ภาพที่ 9) พบว่าผิวหนังกระชั้นแบ่งเป็น 2 ชั้น คือ Epidermis และ Dermis

ผิวหนังชั้น Epidermis

1. ชั้นบนสุดเป็นชั้น stratum corneum มีความหนาประมาณ 15.40-21.00 μm ในบริเวณเกล็ด และ 9.00-18.50 μm ในบริเวณระหว่างเกล็ด ซึ่งเป็น keratin ติดสีแดงอ่อนบริเวณเกล็ดและติดสีแดงบริเวณระหว่างเกล็ด เมื่อย้อมสี Masson's trichrome (ภาพที่ 8) และติดสีเหลือง เมื่อย้อมสี Weigert ทั้งบริเวณเกล็ดและระหว่างเกล็ด
2. ชั้นรองลงมาประกอบไปด้วยเซลล์หลายรูปแบบ (polygonal cells) 2-3 ชั้น โดยเซลล์ชั้นบนสุด มีลักษณะแบน ส่วนเซลล์ในชั้นถัดมาจะมีขนาดใหญ่หนากว่า
3. ชั้นล่างเป็นเซลล์ทรงสูง (columnar cells) เรียงเป็นแถว จำนวน 1 แถว

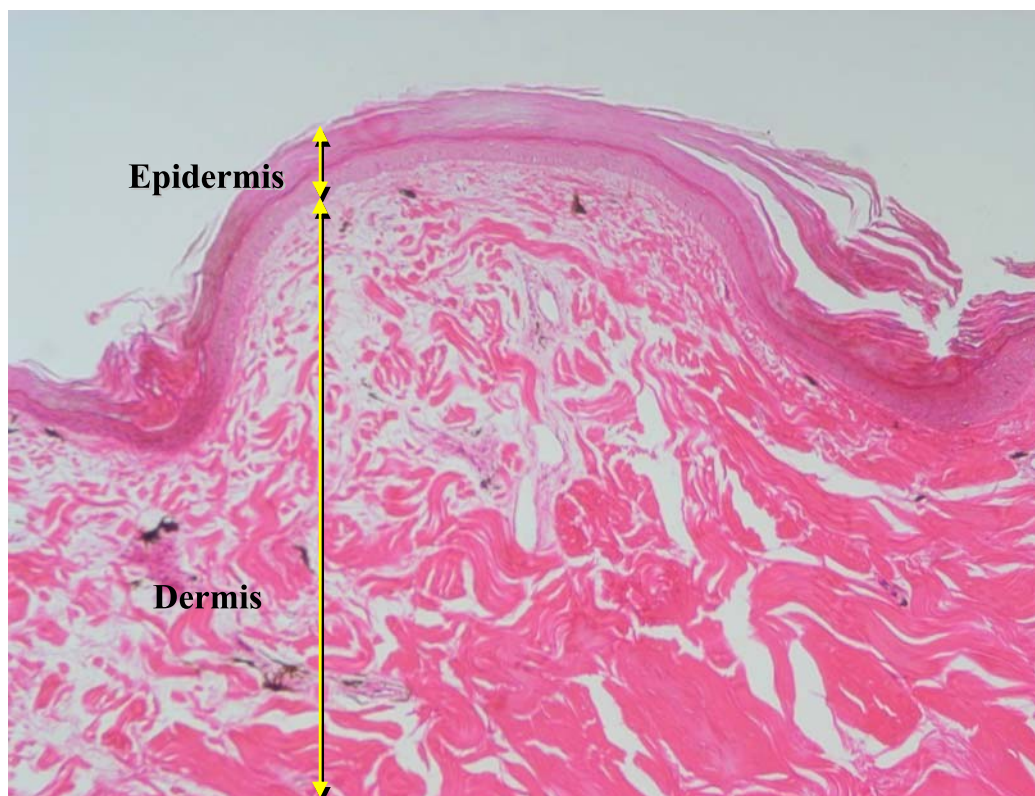
ผิวหนังชั้น Dermis

ผิวหนังประกอบไปด้วย Connective tissues โดยจากการย้อมสีด้วย Masson's trichrome พบว่าเส้นใย collagen ติดสีน้ำเงิน และ muscular fibers ติดสีแดง (ภาพที่ 8)

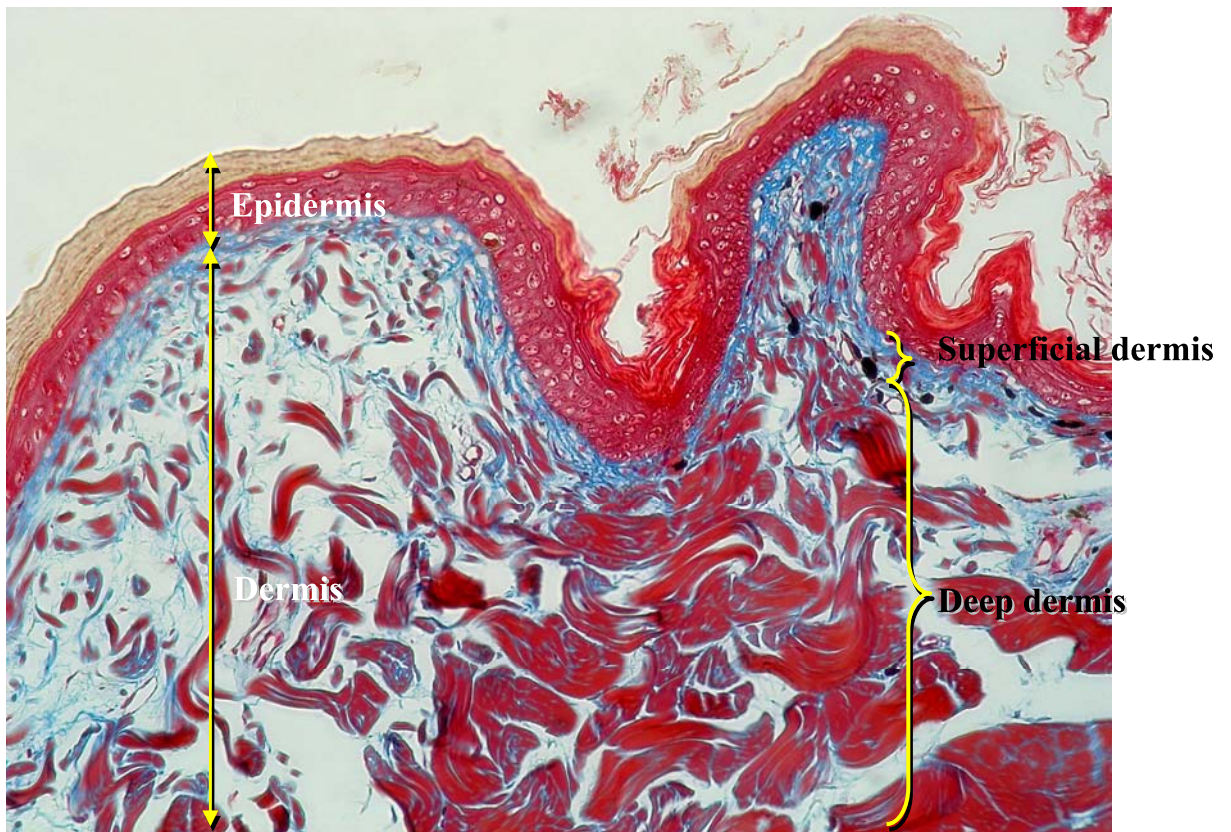
ในบริเวณเกล็ด (scar area) ชั้น superficial dermis พบเส้นใย collagen กระจายตัวอยู่หนาแน่น และ muscular fibers มีน้อย ส่วนชั้น deep dermis พบเส้นใย collagen กระจายตัวอยู่น้อย แต่ muscular fibers หนาแน่นขึ้น

ในบริเวณระหว่างเกล็ดทั้งชั้น Superficial และ deep dermis พบ muscular fibers มีการเรียงตัวอย่างหนาแน่น แต่เส้นใย collagen พบกระจายตัวอยู่เบาบาง

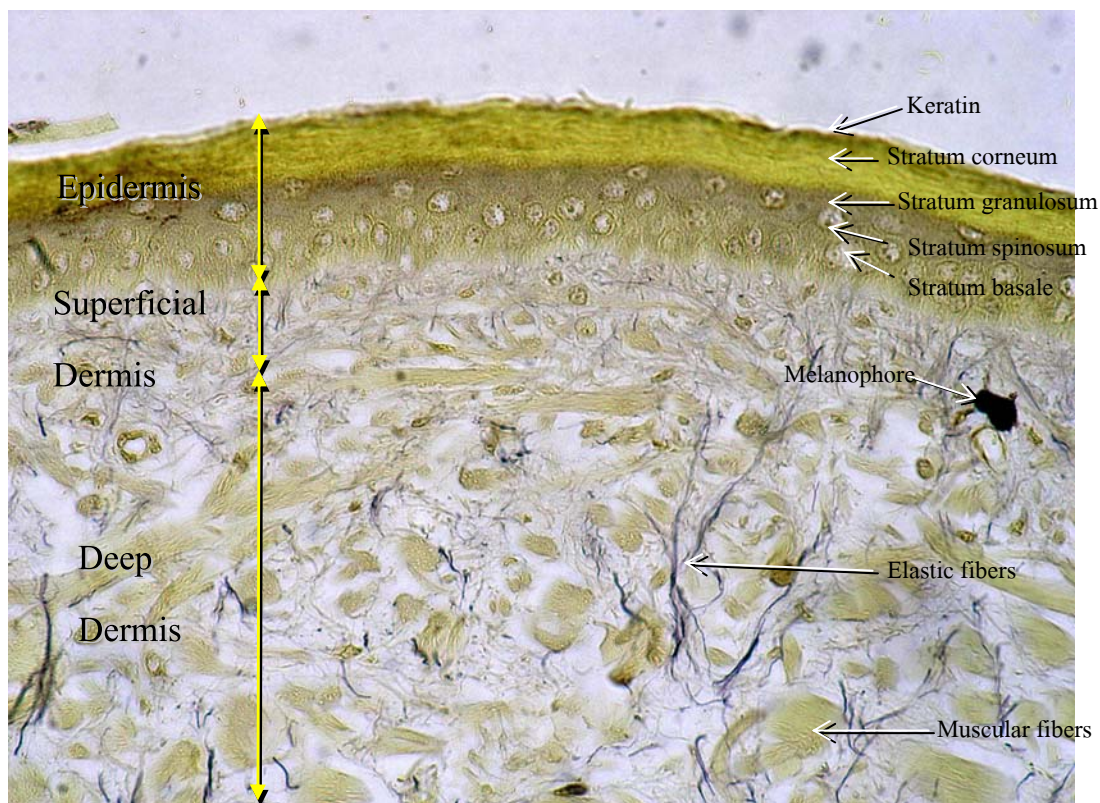
นอกจากนี้ เส้นใย Elastic ติดสีน้ำเงินดำ จากการย้อมด้วย Weigert's method พบน้อย ทั้งบริเวณเกล็ดและระหว่างเกล็ด และมีเซลล์ประสาทติดสีดำรูปร่างคล้ายดาวมีแขนง บางแขนงยื่นเข้าไปเกือบถึงชั้น epidermis



ภาพที่ 7 ภาพทางจุลกายวิภาคของผิวหนังบริเวณด้านบนรักแร้ของกระซำน้ำจืดพันธุ์ไทย ย้อมด้วย H&E แสดงโครงสร้างผิวหนัง ชั้น epidermis และ dermis (X 200)



ภาพที่ 8 ภาพทางจุลกายวิภาคของผิวหนังบริเวณด้านบนรักแร้ของกระเช้าน้ำจืดพันธุ์ไทย ย้อมด้วยสี Masson's trichrome แสดงโครงสร้างผิวหนัง ซึ่งประกอบด้วย ชั้น epidermis และ dermis (X 200)



ภาพที่ 9 ภาพทางจุลกายวิภาคของผิวหนังบริเวณด้านบนรักแร้ของจระเข้ที่เลี้ยงในน้ำจืดพื้นที่ไทย ย้อมด้วย Weigert แสดงโครงสร้างผิวหนัง ชั้น Stratum corneum, Stratum granulosum, Stratum spinosum, Stratum basale ของ epidermis และชั้น Superficial และ deep dermis ซึ่งประกอบด้วย muscular bundles (สีน้ำตาลอ่อน) และ elastic fibers (สีดำ) (X 425)

ผลการศึกษาเปรียบเทียบค่าประมาณการของ collagen fibers และ muscular fibers ในผิวหนังของจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยว และขังรวม โดยวิธี Weibel's surface-to-volume estimation (Weibel *et.al.*, 1966)

พบว่าผิวหนังชั้นเดอร์มิส (Dermis) ของจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยว (Individual cultivation) และเลี้ยงแบบขังรวม (Congregated cultivation) ในส่วนบริเวณเกล็ด (Scalar area) มีค่าประมาณของ collagen fibers $59.72 \pm 17.68\%$ และ $66.57 \pm 10.08\%$ ตามลำดับ ส่วนบริเวณระหว่างเกล็ด (Interscalar area) มีค่าประมาณของ collagen fibers $45.79 \pm 23.88\%$ และ $27.01 \pm 17.42\%$ ตามลำดับ (ตารางที่ 2 และ ภาพที่ 10)

ส่วน muscular fibers ของจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยว และเลี้ยงแบบขังรวม ในส่วนบริเวณเกล็ด มีค่าประมาณของ muscular fibers 11.96 ± 14.17 % และ 11.23 ± 10.80 % ตามลำดับ ในบริเวณระหว่างเกล็ด มีค่าประมาณของ muscular fibers 31.22 ± 24.05 % และ 56.13 ± 18.49 % ตามลำดับ (ตารางที่ 3 และภาพที่ 11)

ตารางที่ 2 แสดงค่าประมาณการของ collagen fibers ของหนังจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยว และเลี้ยงแบบขังรวม ในบริเวณเกล็ด และระหว่างเกล็ด

Collagen fibers		Surface to Volume Estimation (Mean \pm SD %)	
Area	n	Individual cultivation	Congregated cultivation
Scalar area	10	59.72 ± 17.68 ^b	66.57 ± 10.08 ^a
Interscalar area	10	45.79 ± 23.88 ^d	27.01 ± 17.42 ^b

a, b มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ระหว่างคอลัมน์

c, d มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ภายในคอลัมน์

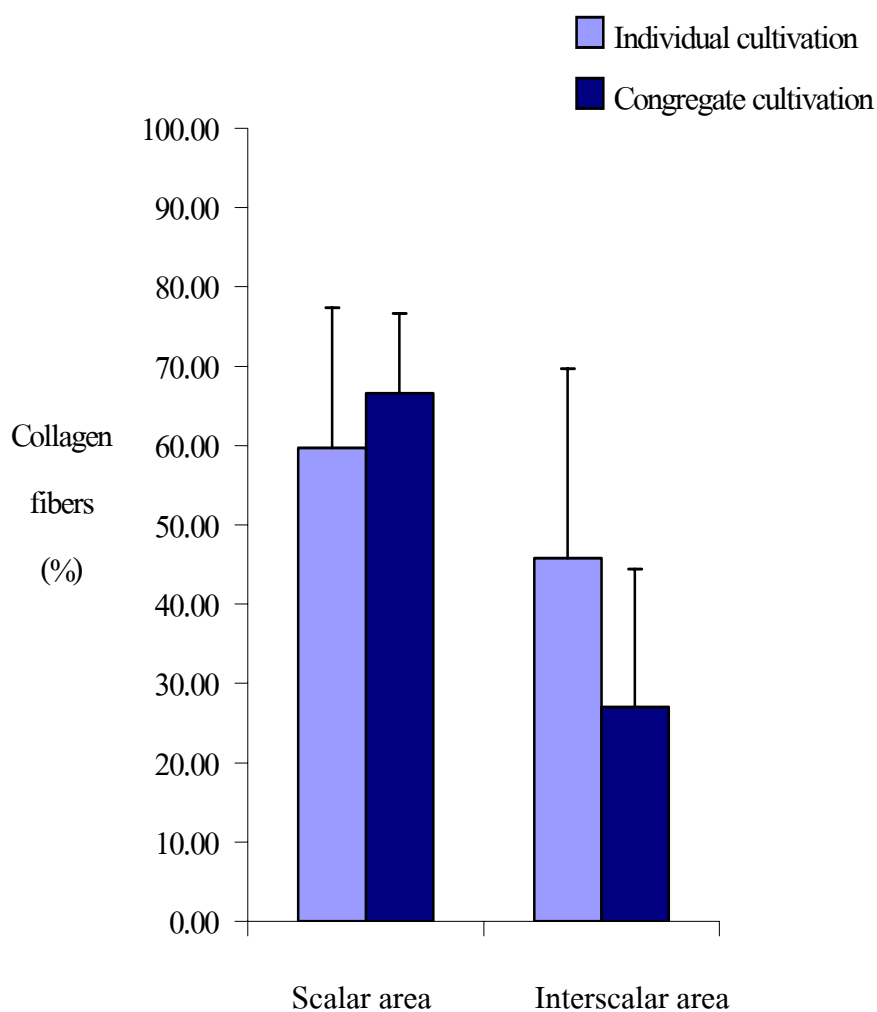
ตารางที่ 3 แสดงค่าประมาณการของ muscular fibers ของหนังจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยว และเลี้ยงแบบขังรวม ในบริเวณเกล็ดและระหว่างเกล็ด

Muscular fibers		Surface to Volume Estimation (Mean \pm SD %)	
Area	n	Individual cultivation	Congregated cultivation
Scalar area	10	11.96 ± 14.17 ^d	11.23 ± 10.80 ^d
Interscalar area	10	31.22 ± 24.05 ^b	56.13 ± 18.49 ^a

a, b มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ระหว่างคอลัมน์

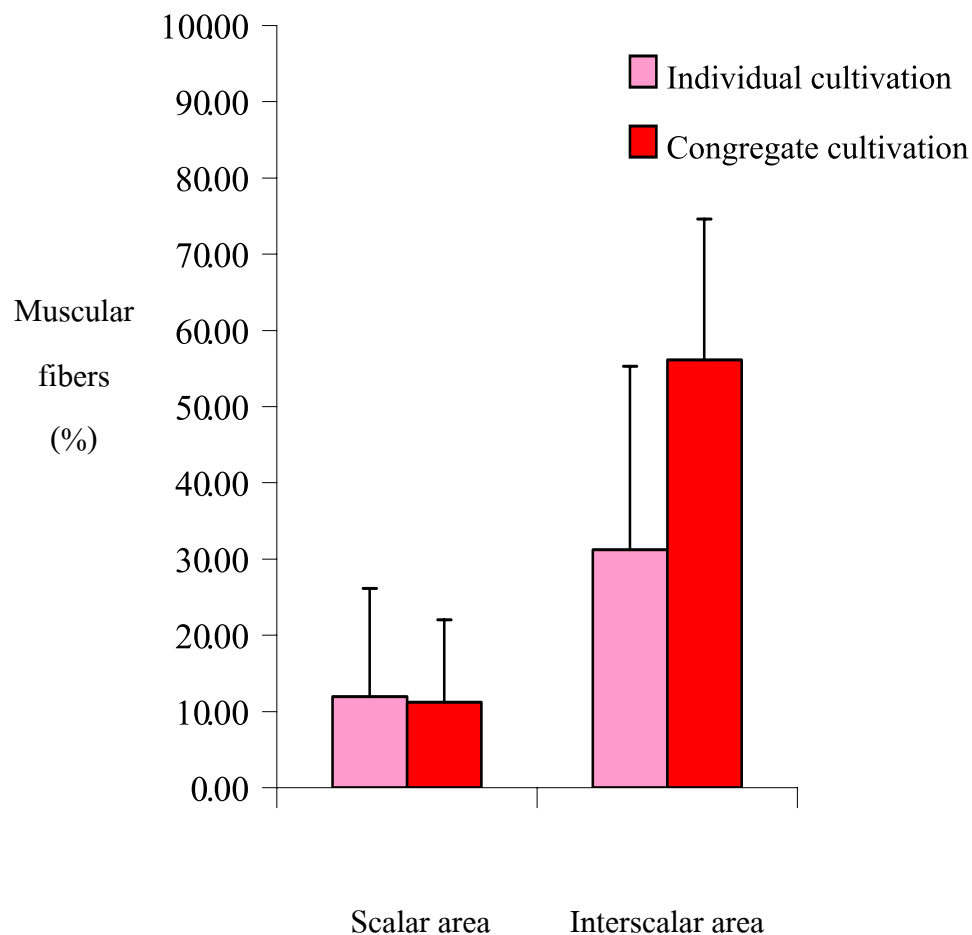
c, d มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ภายในคอลัมน์

เมื่อเปรียบเทียบค่าประมาณการของ Collagen fibers และ muscular fibers พบว่าผิวหนังชั้น dermis ของจระเข้ในบริเวณเกล็ดที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยว มีปริมาณ collagen fibers น้อยกว่าแบบขังรวม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ตารางที่ 2) ส่วนในบริเวณระหว่างเกล็ดของหนังจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยวมีปริมาณ collagen fibers มากกว่าแบบขังรวมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ตารางที่ 2) และปริมาณของ collagen fibers ในบริเวณเกล็ดของผิวหนังจระเข้ที่เลี้ยงทั้ง 2 แบบ จะมีมากกว่าในบริเวณระหว่างเกล็ดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ตารางที่ 2 และภาพที่ 10)



ภาพที่ 10 แผนภูมิแสดงค่าประมาณการของ collagen fibers ของหนังจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยว และเลี้ยงแบบขังรวมในบริเวณเกล็ดและระหว่างเกล็ด โดยวิธี Weibel's surface-to-volume estimation

ส่วน muscular fibers ในบริเวณเกล็ดของผิวหนังจระเข้ที่เลี้ยงขังเดี่ยวและขังรวมนั้น ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางที่ 3) แต่ muscular fibers ในบริเวณระหว่างเกล็ดของหนังจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยว มีปริมาณ muscular fibers น้อยกว่าแบบขังรวมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางที่ 3) และปริมาณ muscular fibers ในบริเวณเกล็ดของผิวหนังจระเข้ที่เลี้ยงทั้ง 2 แบบ จะมีน้อยกว่าในบริเวณระหว่างเกล็ดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางที่ 3 และภาพที่ 11)



ภาพที่ 11 แผนภูมิค่าประมาณการของ muscular fibers ของหนังจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยว และเลี้ยงแบบขังรวม ในบริเวณเกล็ดและระหว่างเกล็ด โดยวิธี Weibel's surface-to-volume estimation

ผลการศึกษาเปรียบเทียบค่าประมาณการของ elastic fibers ของหนังจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยวและ
ขังรวม โดยวิธี Weibel's surface-to-volume estimation

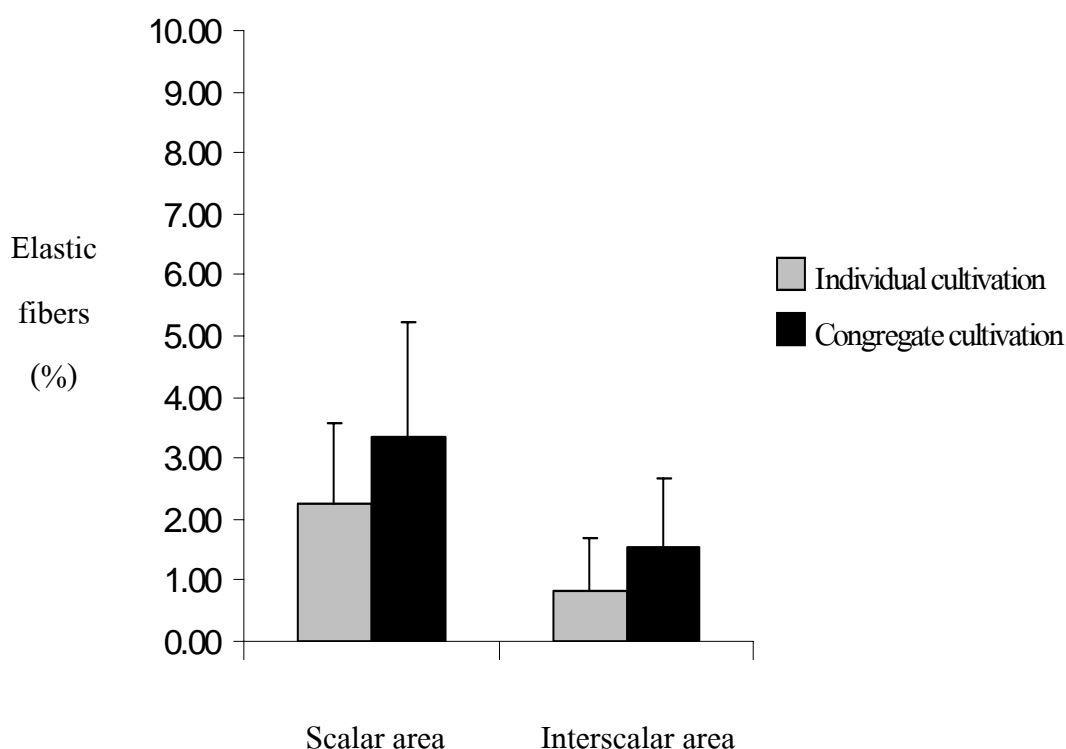
พบว่าผิวหนังชั้น dermis ของจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยว บริเวณเกล็ดและบริเวณระหว่างเกล็ด มีค่าประมาณของ elastic fibers 2.25 ± 1.32 % และ 0.81 ± 0.88 % ตามลำดับ ส่วนหนังจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังรวม ในบริเวณเกล็ดและบริเวณระหว่างเกล็ด มีค่าประมาณของ elastic fibers 3.35 ± 1.87 % และ 1.56 ± 1.10 % ตามลำดับ (ตารางที่ 4 และภาพที่ 12) แสดงว่าจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยวผิวหนังทั้งบริเวณเกล็ดและบริเวณระหว่างเกล็ด มีปริมาณ elastic fibers น้อยกว่าแบบขังรวมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และในบริเวณเกล็ดของหนังจระเข้ที่เลี้ยงทั้ง 2 แบบจะมีปริมาณของ elastic fibers มากกว่าในบริเวณระหว่างเกล็ด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 4 และภาพที่ 12)

ตารางที่ 4 แสดงค่าประมาณการของ elastic fibers ของหนังจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยวและขังรวม
ในบริเวณเกล็ดและระหว่างเกล็ด โดยวิธี Weibel's surface-to-volume estimation

Elastic fibers		Surface to Volume Estimation (Mean±SD %)	
Area	n	Individual cultivation	Congregated cultivation
Scalar area	10	2.25 ± 1.32 ^b	3.35 ± 1.87 ^a
Interscalar area	10	0.81 ± 0.88 ^b	1.56 ± 1.10 ^a

a, b มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ระหว่างคอลัมน์

c, d มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ภายในคอลัมน์



ภาพที่ 12 แผนภูมิแสดงค่าประมาณการของ elastic fibers ของหนังจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยว และเลี้ยงแบบขังรวม ในบริเวณเกล็ดและระหว่างเกล็ด โดยวิธี Weibel's surface-to-volume estimation

ผลการศึกษาเปรียบเทียบค่าประมาณการของ collagen fibers, muscular fibers ระหว่างการเลี้ยงแบบขังเดี่ยวและขังรวม โดยวิธี Image analysis ด้วยโปรแกรม Olympus Micro Image(OMI) รุ่น 4.5 ในบริเวณเดียวกันกับการนับโดยใช้ 100 test-points frame

พบว่าผิวหนังชั้น dermis ในบริเวณเกล็ดและบริเวณระหว่างเกล็ด ของจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยวมีค่าประมาณของ collagen fibers $2425.27 \pm 794.17 \mu\text{m}^2$ และ $1845.75 \pm 996.19 \mu\text{m}^2$ ตามลำดับ (ตารางที่ 5 และภาพที่ 13) ส่วนในจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังรวม ในบริเวณเกล็ดและบริเวณระหว่างเกล็ด มีค่าประมาณของ collagen fibers $2823.78 \pm 587.68 \mu\text{m}^2$ และ $1222.16 \pm 686.18 \mu\text{m}^2$ ตามลำดับ (ตารางที่ 5 และภาพที่ 13)

ตารางที่ 5 แสดงค่าประมาณการ collagen fibers ของหนังจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยวและขังรวม ในบริเวณเกล็ดและระหว่างเกล็ด โดยวิธี Image analysis OMI 4.5

Collagen fibers		Surface to Volume Estimation (Mean±SD μm^2)	
Area	n	Individual cultivation	Congregated cultivation
Scalar	10	2425.27±794.17 ^c b	2823.78±587.68 ^c a
Interscalar	10	1845.75±996.19 ^d a	1222.16±686.18 ^d b

a, b มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ระหว่างคอลัมน์

c, d มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ภายในคอลัมน์

ส่วน muscular fibers ในบริเวณเกล็ดและบริเวณระหว่างเกล็ด ของจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยว มีค่าประมาณการ $830.34 \pm 583.61 \mu\text{m}^2$ และ $1879.91 \pm 1109.68 \mu\text{m}^2$ ตามลำดับ ส่วนในผิวหนังจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังรวม มีค่าประมาณการ $970.21 \pm 609.65 \mu\text{m}^2$ และ $3081.72 \pm 755.90 \mu\text{m}^2$ ตามลำดับ (ตารางที่ 6 และภาพที่ 14)

ตารางที่ 6 แสดงค่าประมาณการ muscular fibers ของหนังจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยวและขังรวม ในบริเวณเกล็ดและระหว่างเกล็ด โดยวิธี Image analysis OMI 4.5

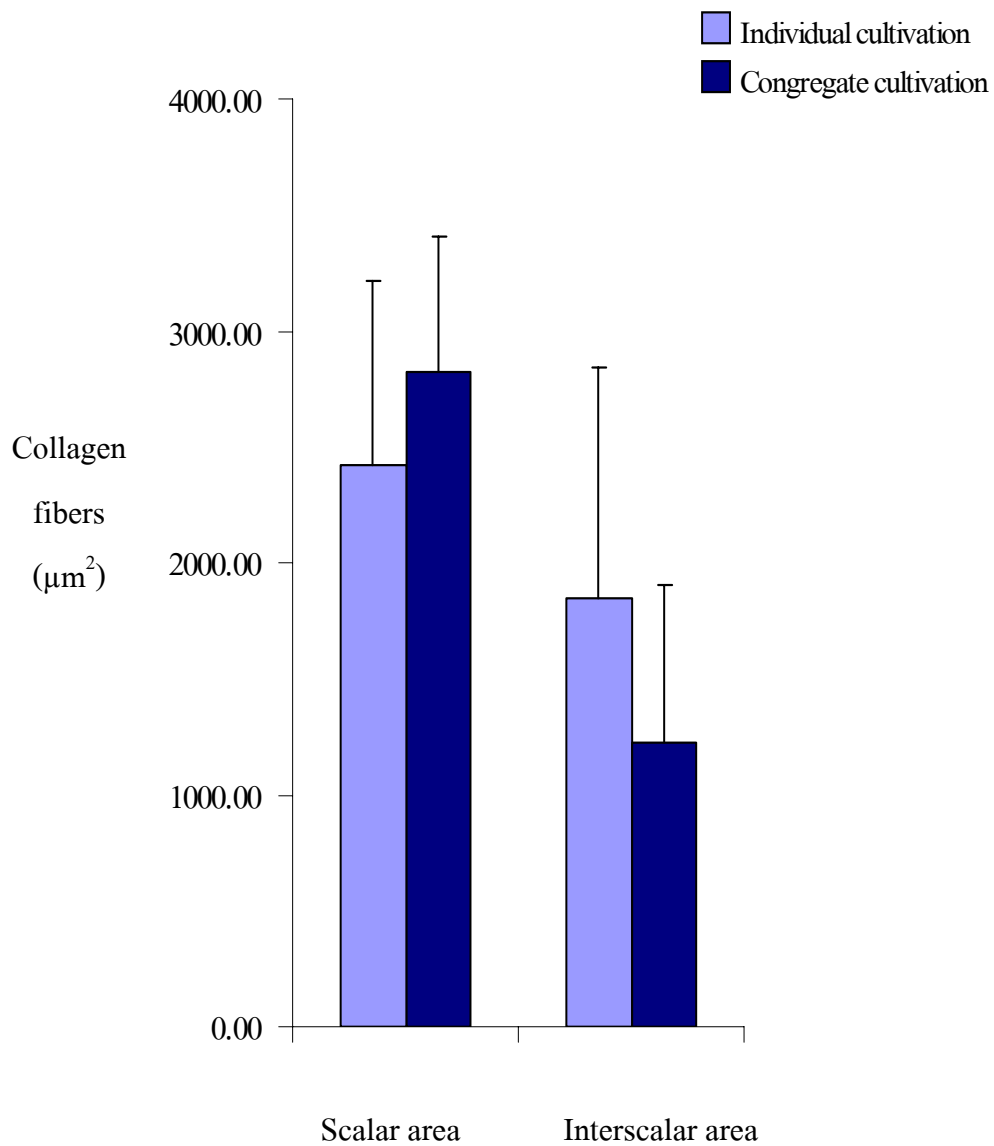
Muscular fibers		Surface to Volume Estimation(Mean±SD μm^2)	
Area	n	Individual cultivation	Congregated cultivation
Scalar	10	830.34±583.61 ^d a	970.21±609.65 ^d a
Interscalar	10	1879.91±1109.68 ^c b	3081.72±755.90 ^c a

a, b มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ระหว่างคอลัมน์

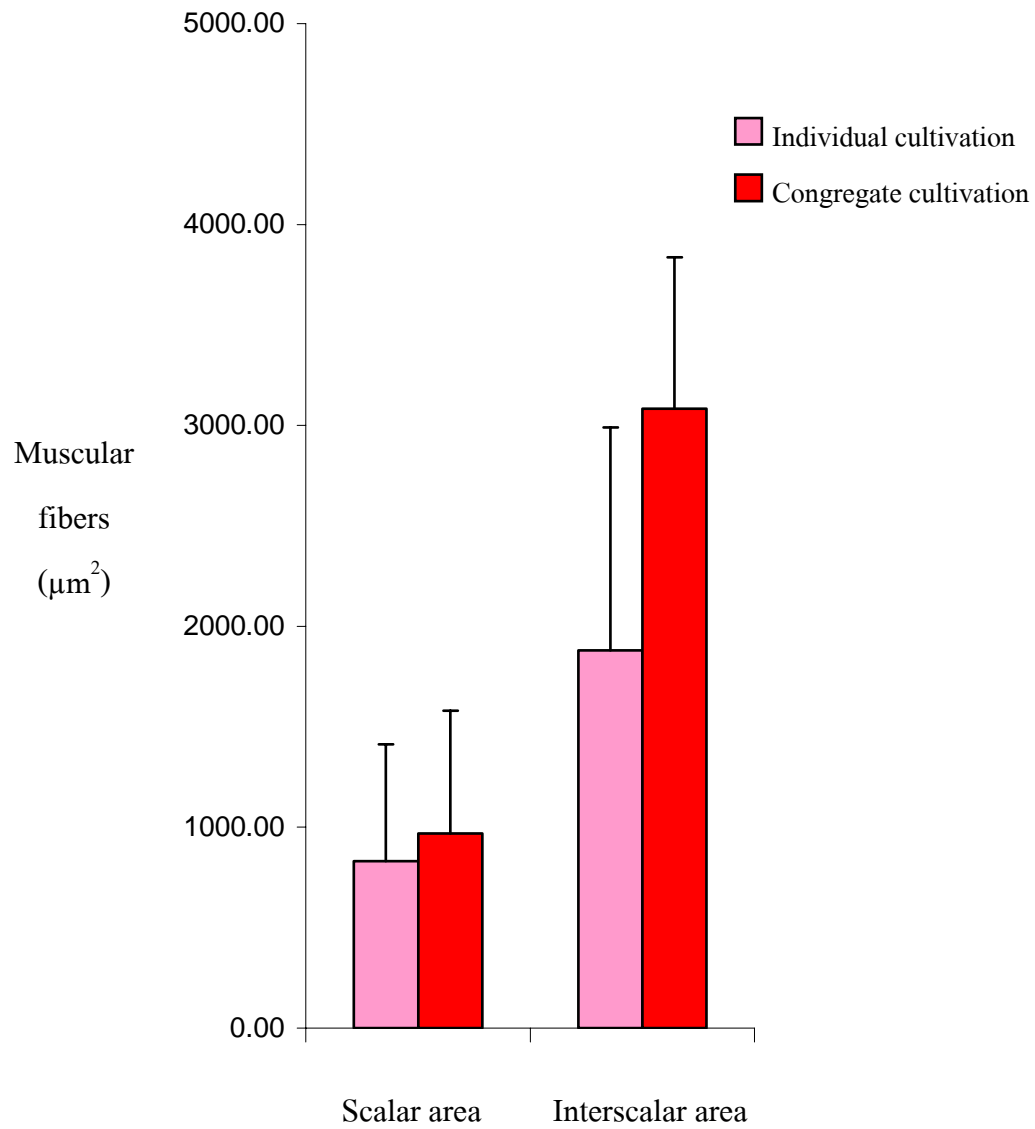
c, d มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ภายในคอลัมน์

ผลการประมาณการโดยวิธี Image analysis OMI 4.5 แสดงว่า ในบริเวณเกล็ดของหนังจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยว มี collagen fibers ปริมาณน้อยกว่าหนังจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังรวม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ตารางที่ 5) และในบริเวณระหว่างเกล็ดของหนังจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยว มี collagen fibers ปริมาณมากกว่าผิวหนังจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังรวม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ตารางที่ 5 และภาพที่ 13) และผิวหนังในบริเวณเกล็ดของจระเข้ที่เลี้ยงทั้ง 2 แบบ มีปริมาณของ collagen fibers มากกว่าในบริเวณระหว่างเกล็ด (ตารางที่ 5) ซึ่งสอดคล้องเช่นเดียวกับการประมาณการโดยวิธี Weibel's surface-to-volume estimation

ส่วนค่าประมาณการ muscular fibers บริเวณเกล็ดของผิวหนังจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยวมีปริมาณไม่มีความแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) (ตารางที่ 6) แต่ในบริเวณระหว่างเกล็ดของผิวหนังจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยว มีปริมาณน้อยกว่าหนังจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังรวม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ตารางที่ 6) และผิวหนังในบริเวณเกล็ดของจระเข้ที่เลี้ยงทั้ง 2 แบบ มีปริมาณ muscular fibers น้อยกว่าในบริเวณระหว่างเกล็ด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ตารางที่ 6) ซึ่งสอดคล้องกับการประมาณการโดยวิธี Weibel's surface-to-volume estimation เช่นเดียวกัน



ภาพที่ 13 แผนภูมิแสดงค่าประมาณการของ collagen fibers บริเวณเกล็ดและระหว่างเกล็ด ของ ฟิวหนัจระเซ่ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยวและเลี้ยงแบบขังรวม โดยวิธี Area Image analysis ด้วย โปรแกรม Olympus Micro Image (OMI) รุ่น 4.5



ภาพที่ 14 แผนภูมิแสดงค่าประมาณการของ muscular fibers ในบริเวณเกิดและระหว่างเกิดของผิวหนังระเซ่ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยวและเลี้ยงแบบขังรวม โดยวิธี Image analysis ด้วย โปรแกรม Olympus Micro Image (OMI) รุ่น 4.5

ผลการศึกษขนาดของ collagen fibers และ muscular fibers ในหนังจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยว และขังรวม โดยการเปรียบเทียบค่าประมาณการ ที่ได้จากการใช้ 100 test-points frame (Weibel et.al, 1966)

ในบริเวณเกล็ด collagen fibers ขนาด < 0.50 มีจำนวนมากที่สุดในผิวหนังจระเข้ที่เลี้ยง ทั้งแบบขังเดี่ยวและแบบขังรวม แต่จำนวน collagen fibers ขนาด < 0.50 ของผิวหนังจระเข้ที่เลี้ยง แบบขังเดี่ยวน้อยกว่าของจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังรวม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ตารางที่ 7 และภาพที่ 15)

ในบริเวณระหว่างเกล็ด collagen fibers ขนาด < 0.50 มีจำนวนมากที่สุดในผิวหนังจระเข้ ที่เลี้ยงทั้งแบบขังเดี่ยวและแบบขังรวมเช่นเดียวกัน แต่จำนวน collagen fibers ขนาด < 0.50 ของ ผิวหนังจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยวนั้นมีจำนวนมากกว่าของจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังรวม อย่างมีนัยสำคัญทาง สถิติ ($p < 0.05$) (ตารางที่ 7 และภาพที่ 16)

ในการเลี้ยงแบบขังเดี่ยว collagen fibers ขนาด < 0.50 มีจำนวนมากที่สุด ทั้งในผิวหนัง บริเวณเกล็ดและระหว่างเกล็ด แต่จำนวน collagen fibers ขนาด < 0.50 ไม่มีความแตกต่างกันอย่าง มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ตารางที่ 7 และภาพที่ 17) ส่วนในการเลี้ยงแบบขังรวม collagen fibers ขนาด < 0.50 มีจำนวนมากที่สุด ทั้งในผิวหนังบริเวณเกล็ดและระหว่างเกล็ด แต่จำนวน collagen fibers ขนาด < 0.50 ของผิวหนังในบริเวณเกล็ดมีค่ามากกว่าในบริเวณระหว่างเกล็ด อย่าง มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ตารางที่ 7 และภาพที่ 18)

ตารางที่ 7 แสดงปริมาณของแต่ละขนาดของ collagen fibers ในบริเวณเกล็ดและระหว่างเกล็ดของ ผิวหนังจระเข้ ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยว และขังรวม เป็นค่าประมาณการด้วย 100 test-points frame

Collagen Size(μm)	Surface to Volume Estimation(Mean \pm SD %)			
	Individual cultivation		Congregated cultivation	
	Scalar area	Interscalar area	Scalar area	Interscalar area
<0.50	37.73 \pm 13.80 ¹ _b	36.26 \pm 21.20 ¹ _c	48.77 \pm 11.00 ³ _a	21.09 \pm 15.23 ⁴ _d
0.50	7.53 \pm 5.17 ¹ _b	3.24 \pm 3.74 ² _c	12.27 \pm 7.05 ³ _a	3.44 \pm 3.32 ⁴ _c
1.00	4.04 \pm 4.11 ¹ _a	1.39 \pm 2.31 ² _c	2.37 \pm 2.61 ³ _b	0.59 \pm 1.28 ⁴ _d
1.50	0.21 \pm 0.82 ¹ _a	0.06 \pm 0.31 ¹ _c	0.11 \pm 0.47 ³ _a	0.00 \pm 0.00 ⁴ _c
2.00	4.13 \pm 3.82 ¹ _a	1.41 \pm 2.69 ² _c	1.35 \pm 2.02 ³ _b	0.65 \pm 1.60 ⁴ _d
3.00	2.17 \pm 3.00 ¹ _a	0.75 \pm 1.74 ² _c	0.66 \pm 1.30 ³ _b	0.33 \pm 1.01 ⁴ _d
4.00	1.39 \pm 2.05 ¹ _a	1.01 \pm 2.64 ¹ _c	0.45 \pm 1.43 ³ _b	0.37 \pm 1.45 ³ _d
5.00	1.08 \pm 2.29 ¹ _a	0.56 \pm 1.62 ¹ _c	0.32 \pm 1.07 ³ _b	0.23 \pm 1.16 ³ _c
6.00	0.76 \pm 1.62 ¹ _a	0.50 \pm 1.87 ¹ _c	0.08 \pm 0.51 ³ _b	0.25 \pm 1.57 ³ _c
7.00	0.28 \pm 1.27 ¹ _a	0.23 \pm 0.97 ¹ _c	0.10 \pm 0.50 ³ _a	0.03 \pm 0.22 ³ _d
8.00	0.13 \pm 0.61 ¹ _a	0.07 \pm 0.41 ¹ _c	0.02 \pm 0.20 ³ _a	0.00 \pm 0.00 ³ _c
9.00	0.18 \pm 0.73 ¹ _a	0.12 \pm 1.02 ¹ _c	0.01 \pm 0.10 ³ _b	0.00 \pm 0.00 ³ _c
10.00	0.03 \pm 0.30 ¹ _a	0.13 \pm 0.85 ¹ _c	0.00 \pm 0.00 ³ _a	0.00 \pm 0.00 ³ _c
11.00	0.00 \pm 0.00 ¹ _a	0.00 \pm 0.00 ¹ _c	0.00 \pm 0.00 ³ _a	0.00 \pm 0.00 ³ _c
12.00	0.04 \pm 0.40 ¹ _a	0.00 \pm 0.00 ¹ _c	0.00 \pm 0.00 ³ _a	0.00 \pm 0.00 ³ _c
13.00	0.00 \pm 0.00 ¹ _a	0.06 \pm 0.60 ¹ _c	0.02 \pm 0.20 ³ _a	0.03 \pm 0.30 ³ _c
>13.00	0.00 \pm 0.00 ¹ _a	0.00 \pm 0.00 ¹ _c	0.04 \pm 0.40 ³ _a	0.00 \pm 0.00 ³ _c

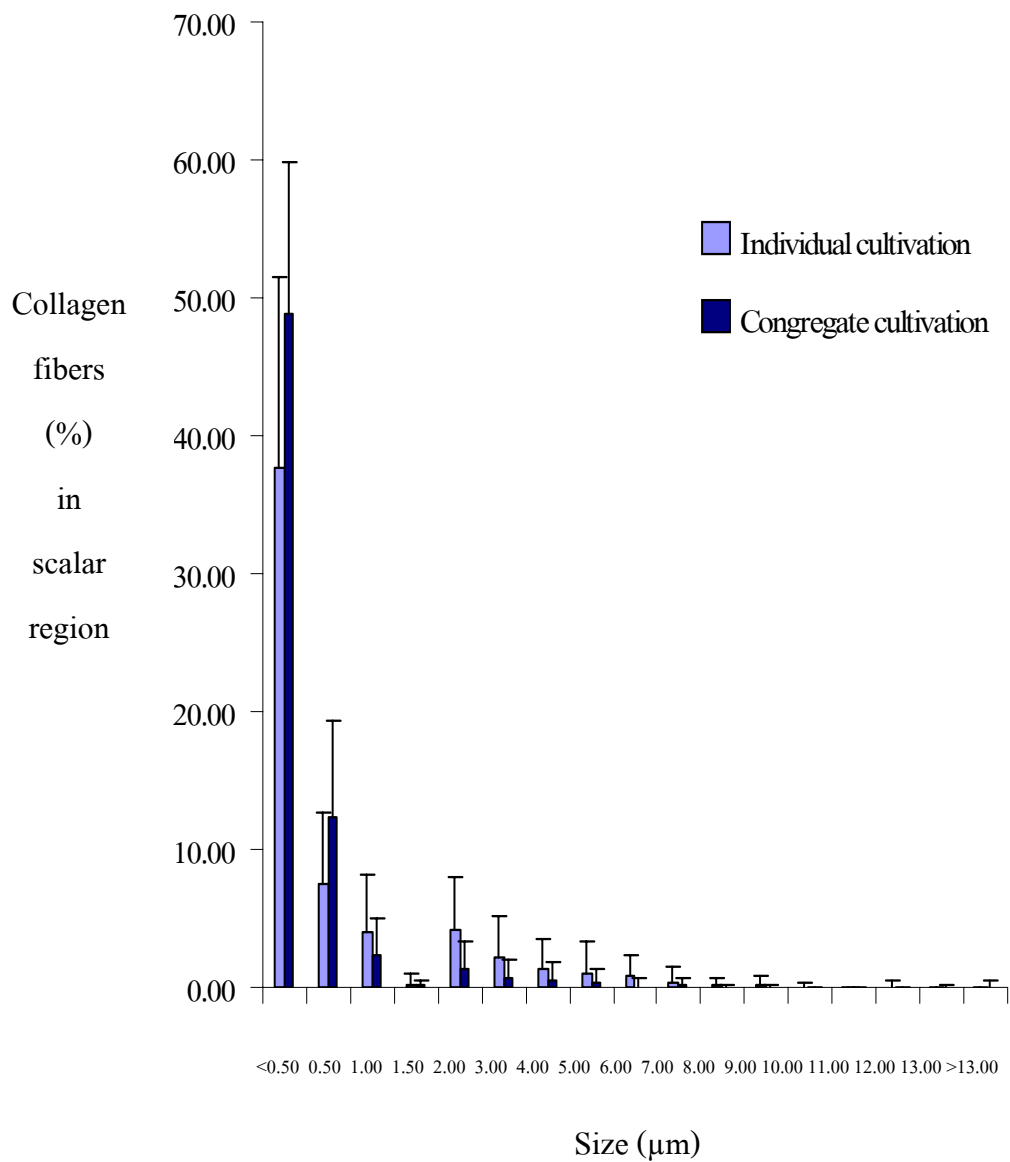
a, b มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ระหว่างบ่อขังเดี่ยวกับบ่อขังรวม บริเวณเกล็ด

c, d มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ระหว่างบ่อขังเดี่ยวกับบ่อขังรวม บริเวณระหว่างเกล็ด

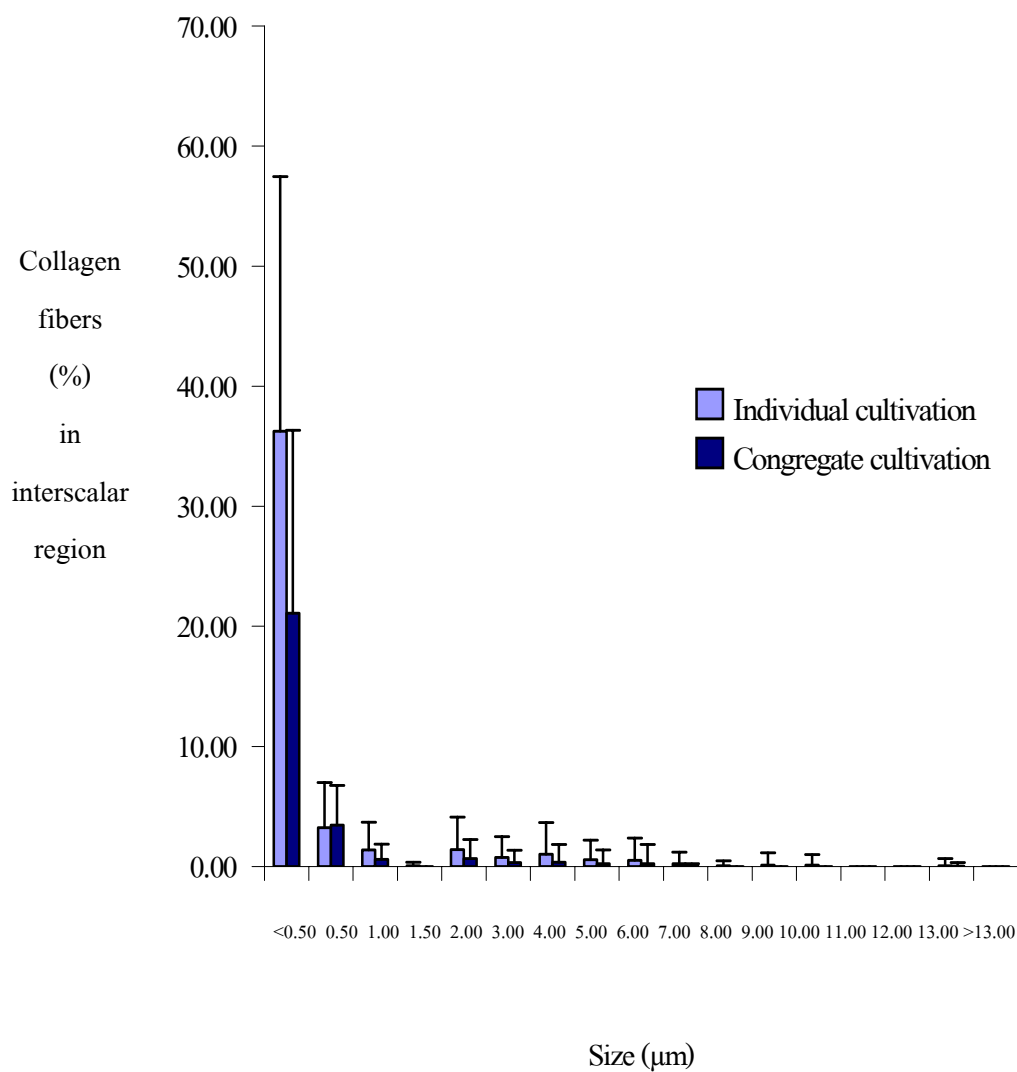
1, 2 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ระหว่างบริเวณเกล็ดกับบริเวณ ระหว่างเกล็ดในบ่อขังเดี่ยว

3, 4 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ระหว่างบริเวณเกล็ดกับบริเวณ ระหว่างเกล็ด ในบ่อขังรวม

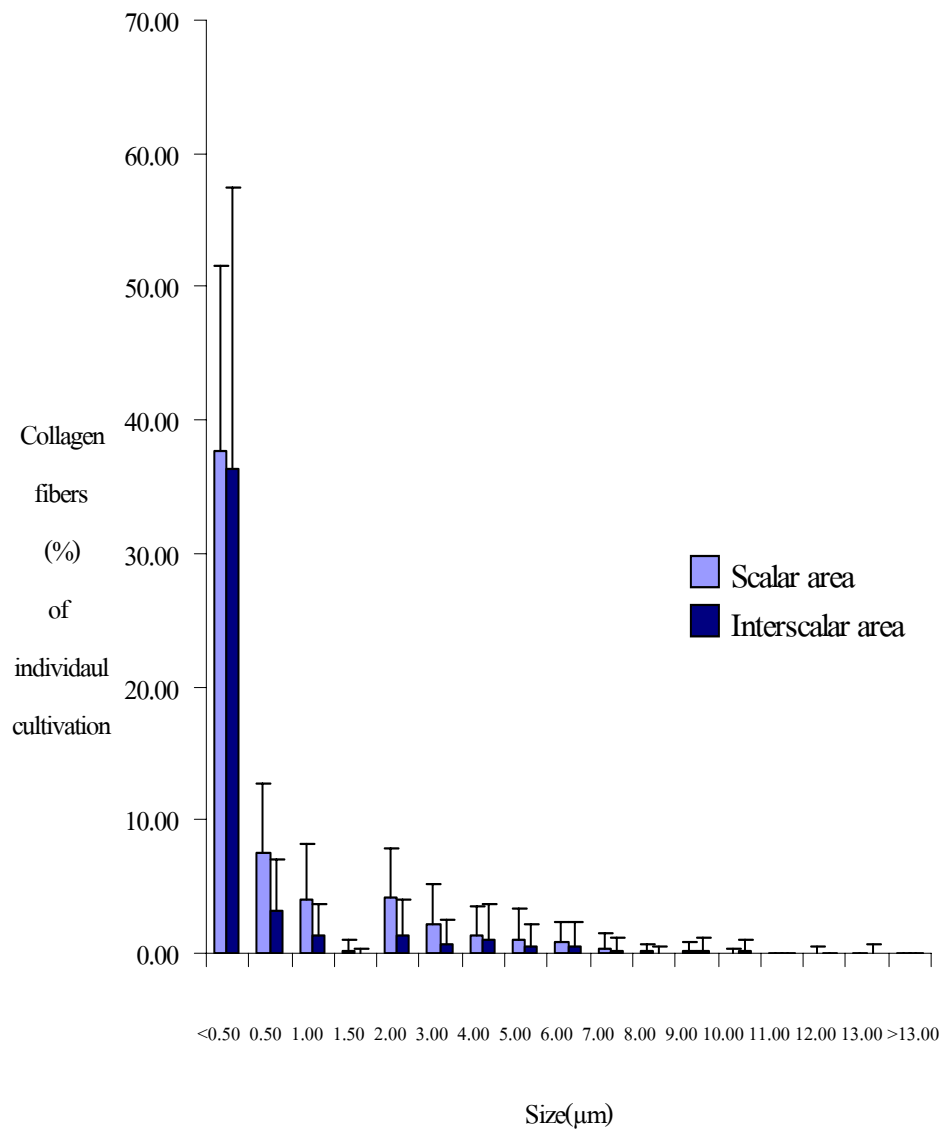
ตัวอักษรที่เหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)



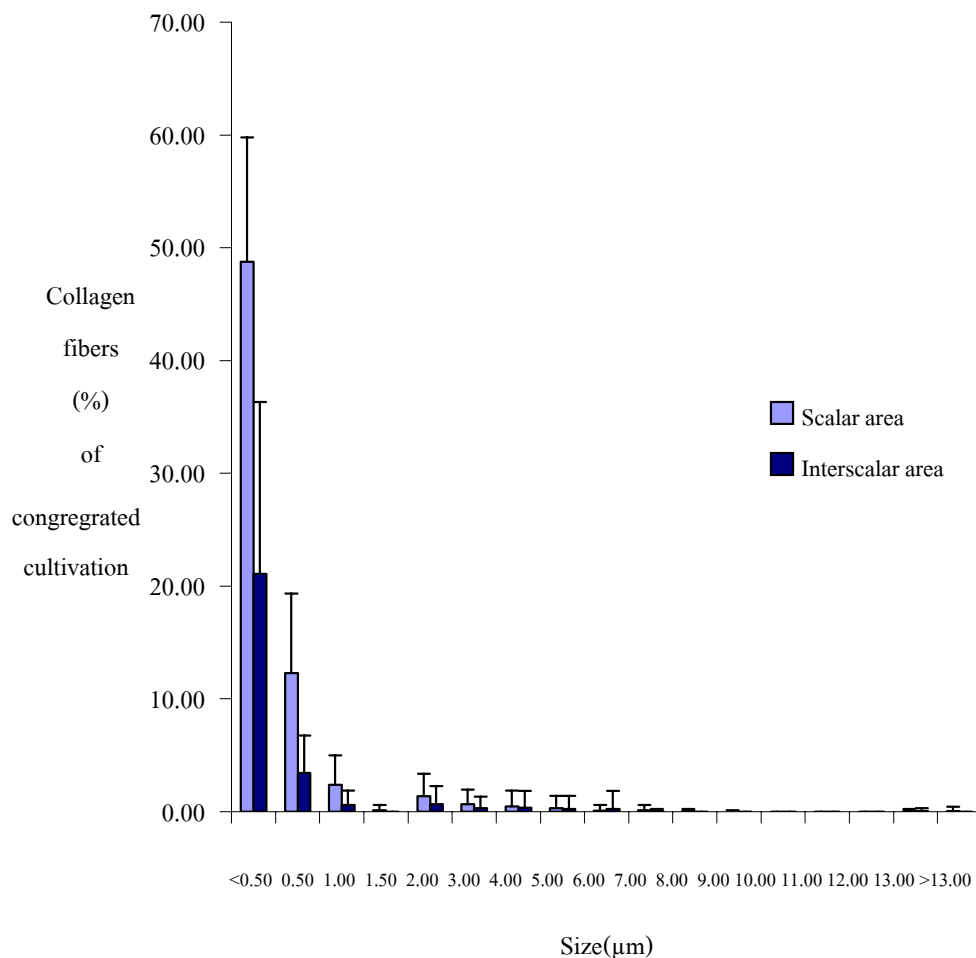
ภาพที่ 15 แผนภูมิแสดงค่าประมาณการปริมาณของ collagen fibers ขนาดต่างๆ ของหนังจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยวและเลี้ยงแบบขังรวม ในบริเวณเกล็ด โดยวิธี Weibel's surface-to-volume estimation



ภาพที่ 16 แผนภูมิแสดงค่าประมาณการปริมาณ collagen fibers ขนาดต่างๆ ของหนังกระจกที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยวและเลี้ยงแบบขังรวม ในบริเวณระหว่างเกล็ด โดยวิธี Weibel's surface-to-volume estimation



ภาพที่ 17 แผนภูมิแสดงค่าปริมาณของ collagen fibers ขนาดต่างๆ ในบริเวณเกล็ดและระหว่างเกล็ดของหนังระชี่ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยว โดยวิธี Weibel's surface-to-volume estimation



ภาพที่ 18 แผนภูมิแสดงค่าประมาณการปริมาณ collagen fibers ขนาดต่างๆ ของหนังจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังรวม ในบริเวณเกล็ด และระหว่างเกล็ด โดยวิธี Weibel's surface-to-volume estimation

ในผิวหนังจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยว มี muscular fibers ขนาด 3.00 µm จำนวนมากที่สุด ทั้งผิวหนังบริเวณเกล็ดและระหว่างเกล็ด โดยในบริเวณเกล็ดมีค่าน้อยกว่าบริเวณระหว่างเกล็ด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ตารางที่ 8 และภาพที่ 21) แต่ในผิวหนังจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังรวม มี muscular fibers ขนาด 2.00 µm มีจำนวนมากที่สุดในบริเวณเกล็ด ซึ่งจำนวนของ muscular fibers ทั้งสองขนาด ในผิวหนังจระเข้ที่เลี้ยงทั้งสองแบบ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p > 0.05$) (ตารางที่ 8 และภาพที่ 19)

ในผิวหนังจระเข้บริเวณระหว่างเกล็ด ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยว มีขนาดของ muscular fibers ขนาด 3.00 μm จำนวนมากที่สุด แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กับของในผิวหนังจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังรวม ในขณะที่ผิวหนังจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังรวม มี muscular fibers ขนาด 6.00 μm มากที่สุด และ muscular fibers ขนาดใหญ่ตั้งแต่ 2.00, 4.00-11.00 และ >13.00 μm มีจำนวนมากกว่าในผิวหนังจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยว อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ตารางที่ 8 และภาพที่ 20)

ในผิวหนังบริเวณระหว่างเกล็ด ของจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังรวม muscular fibers ขนาด 2.00 - 11.00, 13.00 และ >13.00 μm มีจำนวนมากกว่าในบริเวณเกล็ด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ตารางที่ 8 และภาพที่ 22)

ตารางที่ 8 แสดงค่าประมาณการปริมาณ muscular fibers ขนาดต่างๆ ของผิวหนังบริเวณเกิ้ล็ดและระหว่างเกิ้ล็ดของผิวหนังจรเข้ ที่เลี้ยงแบบข้งเดี่ยว และข้งรวม โดยวิธี Weibel's surface-to-volume estimation

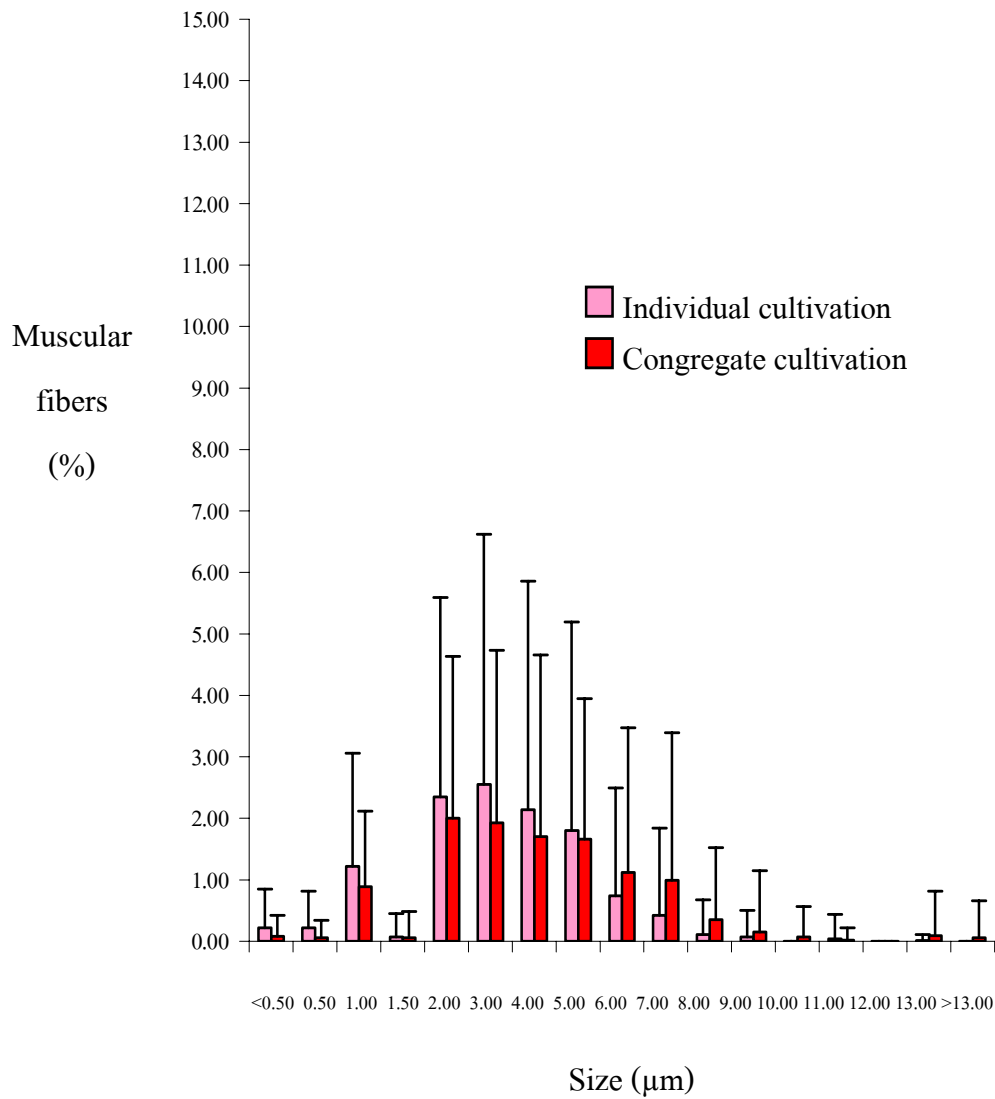
Muscular Size(μm)	Surface to Volume Estimation (Mean \pm SD %)			
	Individual cultivation		Congregated cultivation	
	Scalar area	Interscalar area	Scalar area	Interscalar area
<0.50	0.22 \pm 0.63 ² _a	1.14 \pm 2.64 ¹ _c	0.08 \pm 0.34 ⁴ _a	0.49 \pm 1.32 ³ _d
0.50	0.22 \pm 0.60 ¹ _a	0.12 \pm 0.48 ¹ _d	0.06 \pm 0.28 ⁴ _b	0.59 \pm 1.79 ³ _c
1.00	1.22 \pm 1.84 ¹ _a	0.75 \pm 1.61 ¹ _c	0.89 \pm 1.23 ³ _a	1.18 \pm 1.84 ³ _c
1.50	0.07 \pm 0.38 ¹ _a	0.03 \pm 0.17 ¹ _c	0.06 \pm 0.42 ³ _a	0.03 \pm 0.22 ³ _c
2.00	2.35 \pm 3.24 ¹ _a	3.12 \pm 4.23 ¹ _d	2.00 \pm 2.63 ⁴ _a	4.48 \pm 4.70 ³ _c
3.00	2.55 \pm 4.07 ² _a	4.65 \pm 6.39 ¹ _c	1.93 \pm 2.80 ⁴ _a	5.40 \pm 5.90 ³ _c
4.00	2.14 \pm 3.72 ² _a	4.62 \pm 5.58 ¹ _d	1.70 \pm 2.96 ⁴ _a	6.90 \pm 5.79 ³ _c
5.00	1.80 \pm 3.39 ² _a	4.52 \pm 5.58 ¹ _d	1.66 \pm 2.29 ⁴ _a	7.10 \pm 6.94 ³ _c
6.00	0.74 \pm 1.76 ² _a	3.30 \pm 4.27 ¹ _d	1.12 \pm 2.35 ⁴ _a	7.13 \pm 7.44 ³ _c
7.00	0.42 \pm 1.42 ² _b	3.42 \pm 5.87 ¹ _d	0.99 \pm 2.40 ⁴ _a	5.63 \pm 6.68 ³ _c
8.00	0.11 \pm 0.57 ² _a	1.21 \pm 3.97 ¹ _d	0.35 \pm 1.18 ⁴ _a	2.67 \pm 4.33 ³ _c
9.00	0.07 \pm 0.43 ² _a	1.78 \pm 4.94 ¹ _d	0.15 \pm 1.00 ⁴ _a	4.77 \pm 6.75 ³ _c
10.00	0.00 \pm 0.00 ² _a	0.85 \pm 2.27 ¹ _d	0.07 \pm 0.50 ⁴ _a	3.05 \pm 6.03 ³ _c
11.00	0.04 \pm 0.40 ¹ _a	0.26 \pm 1.59 ¹ _d	0.02 \pm 0.20 ⁴ _a	1.57 \pm 4.12 ³ _c
12.00	0.00 \pm 0.00 ¹ _a	0.17 \pm 0.91 ¹ _c	0.00 \pm 0.00 ³ _a	0.43 \pm 2.24 ³ _c
13.00	0.01 \pm 0.10 ¹ _a	0.25 \pm 1.47 ¹ _c	0.09 \pm 0.73 ⁴ _a	0.73 \pm 2.95 ³ _c
>13.00	0.00 \pm 0.00 ² _a	1.03 \pm 3.54 ¹ _d	0.06 \pm 0.60 ⁴ _a	3.98 \pm 9.77 ³ _c

a, b มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ระหว่างบ่อเดียวกับบ่อรวมบริเวณเกิ้ล็ด
c, d มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ระหว่างบ่อเดียวกับบ่อรวมบริเวณระหว่างเกิ้ล็ด

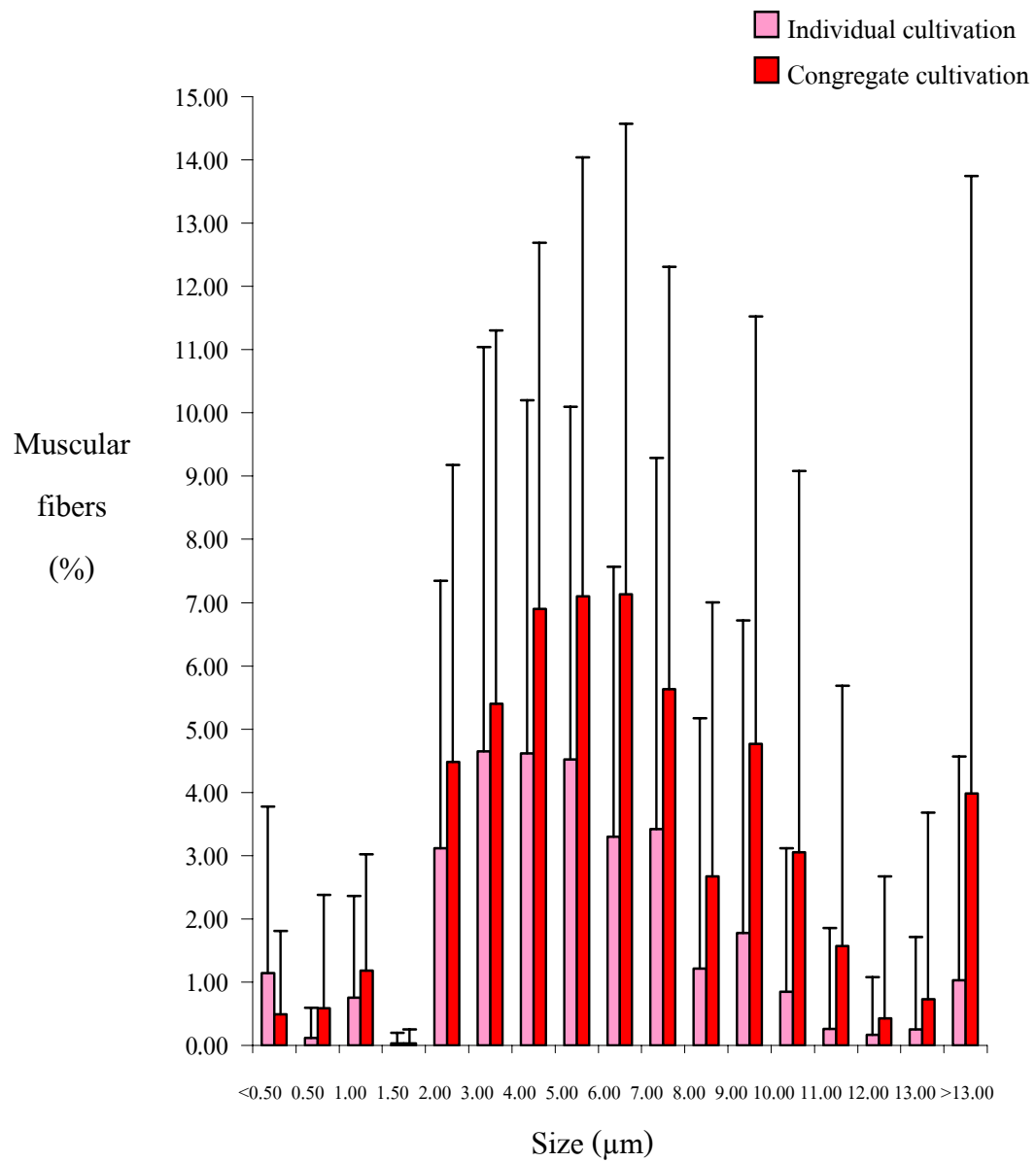
1, 2 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ระหว่างบริเวณเกิ้ล็ดกับระหว่างเกิ้ล็ด บ่อเดี่ยว

3, 4 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ระหว่างบริเวณเกิ้ล็ดกับระหว่างเกิ้ล็ด บ่อรวม

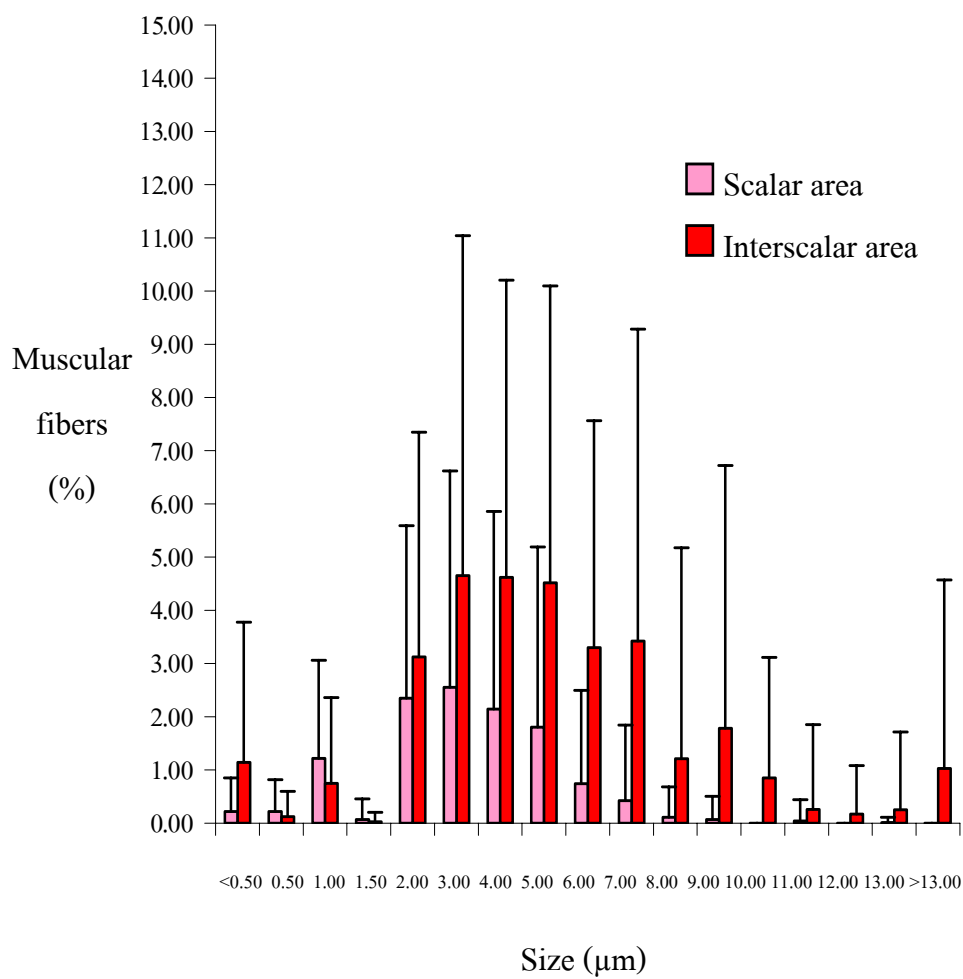
ตัวอักษรหรือตัวเลข ที่เหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)



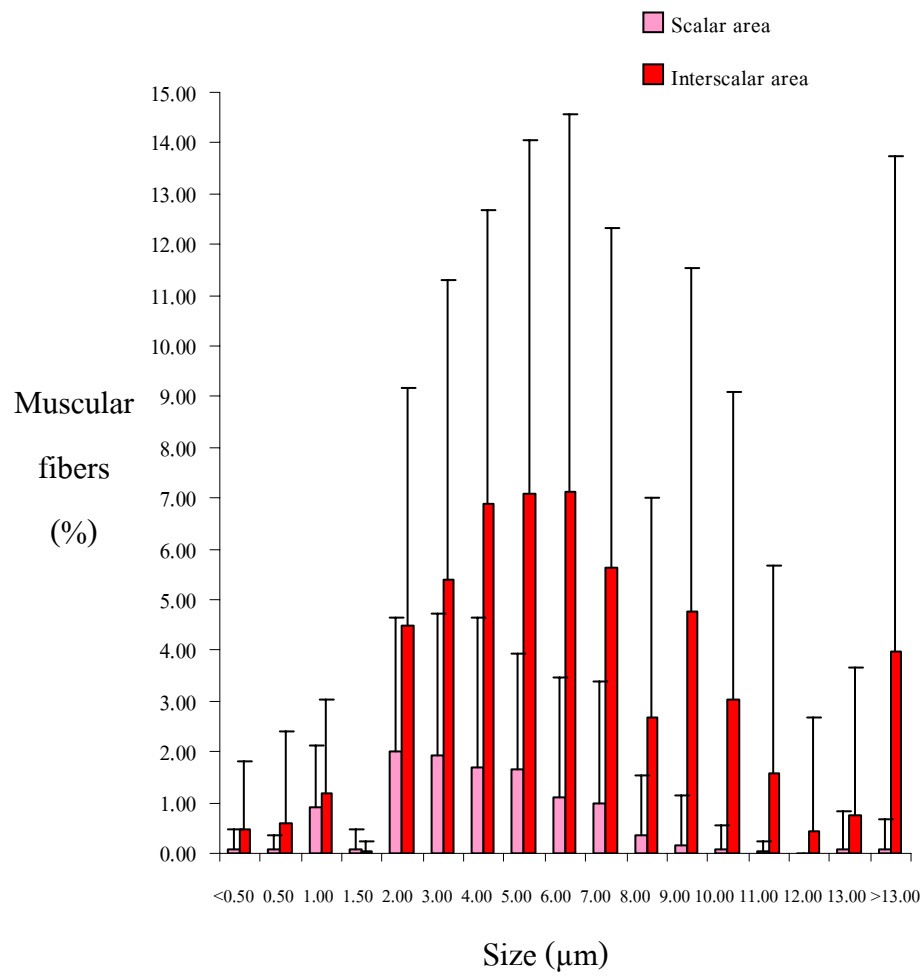
ภาพที่ 19 แผนภูมิแสดงค่าประมาณการ muscular fibers ขนาดต่างๆ ของผิวหนังระเหิดในบริเวณ
 เกิดที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยว และเลี้ยงแบบขังรวม โดยวิธี Weibel's surface-to-volume
 estimation



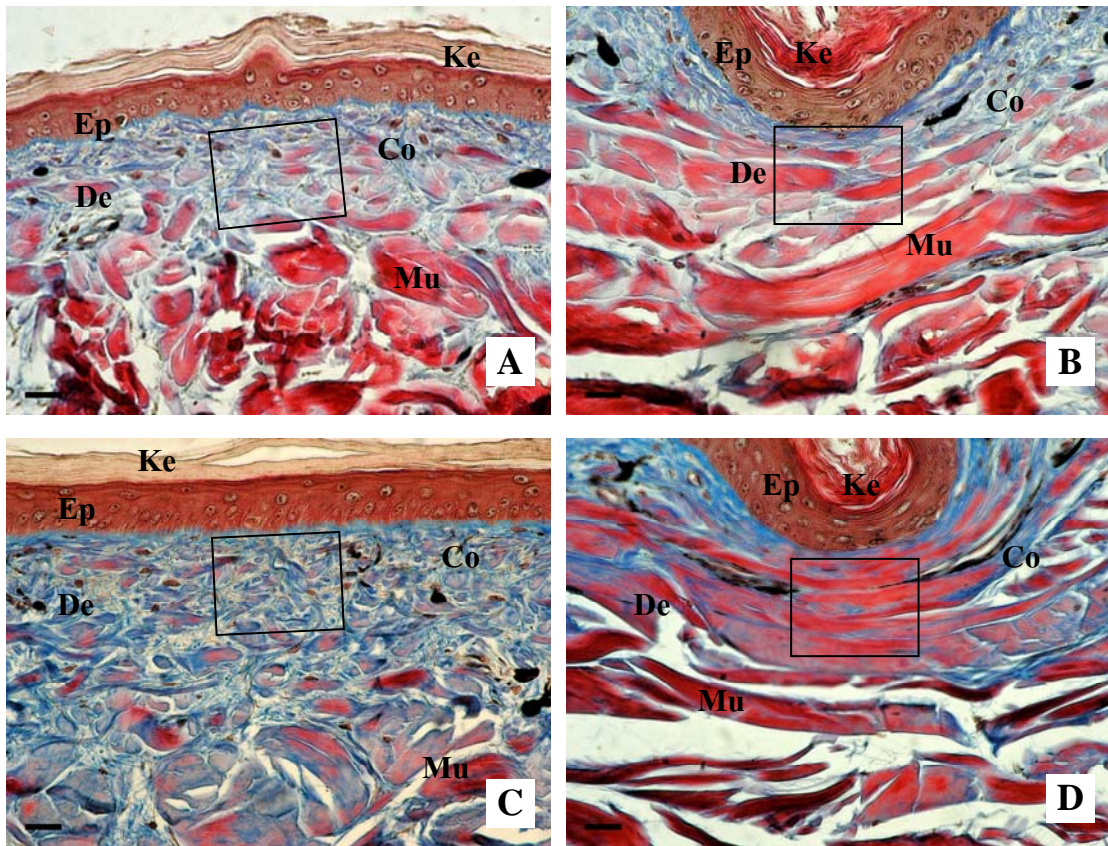
ภาพที่ 20 แผนภูมิแสดงค่าประมาณการ muscular fibers ขนาดต่างๆ ของหนังจระเข้ในบริเวณระหว่างเกล็ด ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยวและเลี้ยงแบบขังรวม โดยวิธี Weibel's surface-to-volume estimation



ภาพที่ 21 แผนภูมิแสดงค่าประมาณการ muscular fibers ขนาดต่างๆ ของหนังจระเข้ที่เลี้ยงแบบ
ขังเดี่ยว ในบริเวณเกล็ด และบริเวณระหว่างเกล็ด โดยวิธี Weibel's surface-to-volume
estimation

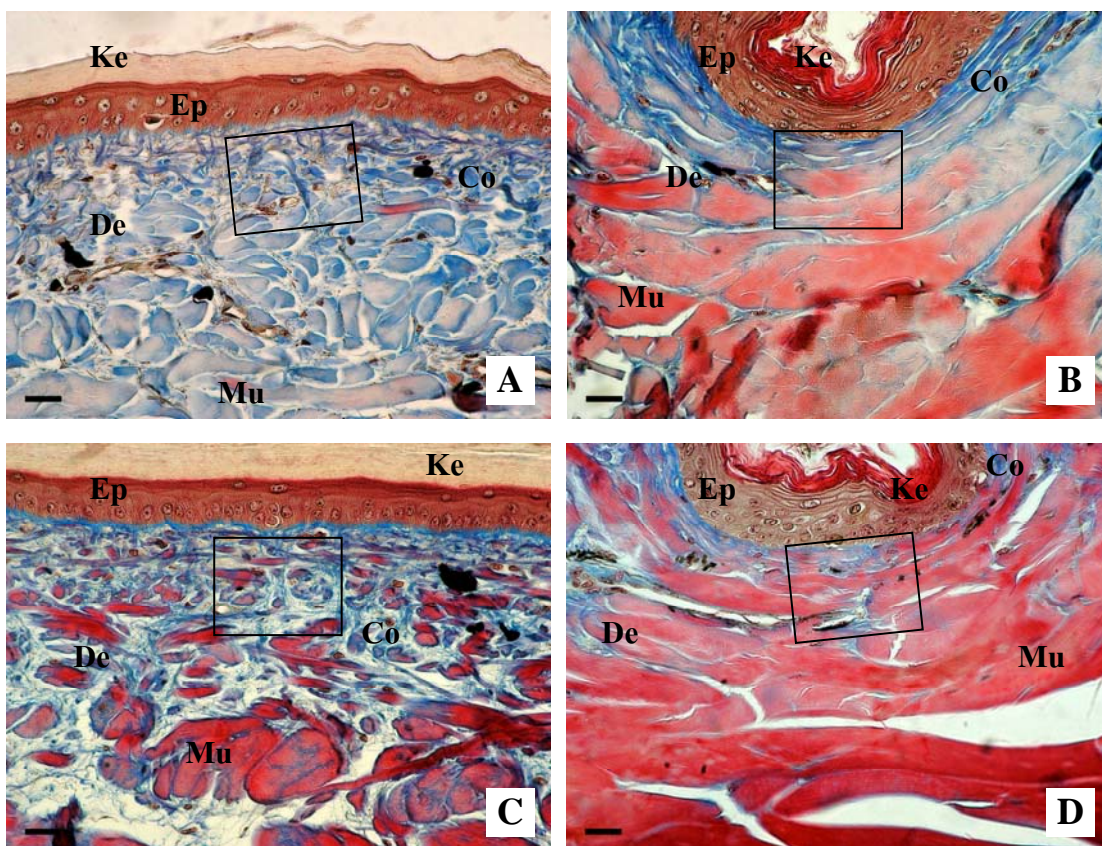


ภาพที่ 22 แผนภูมิแสดงค่าประมาณการขนาดของ muscular fibers ของหนังจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังรวม ในบริเวณเกล็ดและระหว่างเกล็ด โดยวิธี Weibel's surface-to-volume estimation



ภาพที่ 23 ภาพผิวหนังของจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังรวมตัวที่ 1 (A และ B) และตัวที่ 2 (C และ D) ในบริเวณเกล็ด (A, C) และบริเวณระหว่างเกล็ด (B, D) ย้อมด้วยสี Masson's trichrome. Ep, Epidermis; De, Dermis; Co, Collagen fibers; Mu, Muscle fibers; Ke, Keratin; El, Elastic fibers. Scale bar, 20 μ m. (X250)

โดยภาพ A พบ Collagen fibers 66 จุด และ Muscle fibers 13 จุด
 ภาพ B พบ Collagen fibers 28 จุด และ Muscle fibers 47 จุด
 ภาพ C พบ Collagen fibers 74 จุด และ Muscle fibers 5 จุด
 ภาพ D พบ Collagen fibers 18 จุด และ Muscle fibers 79 จุด



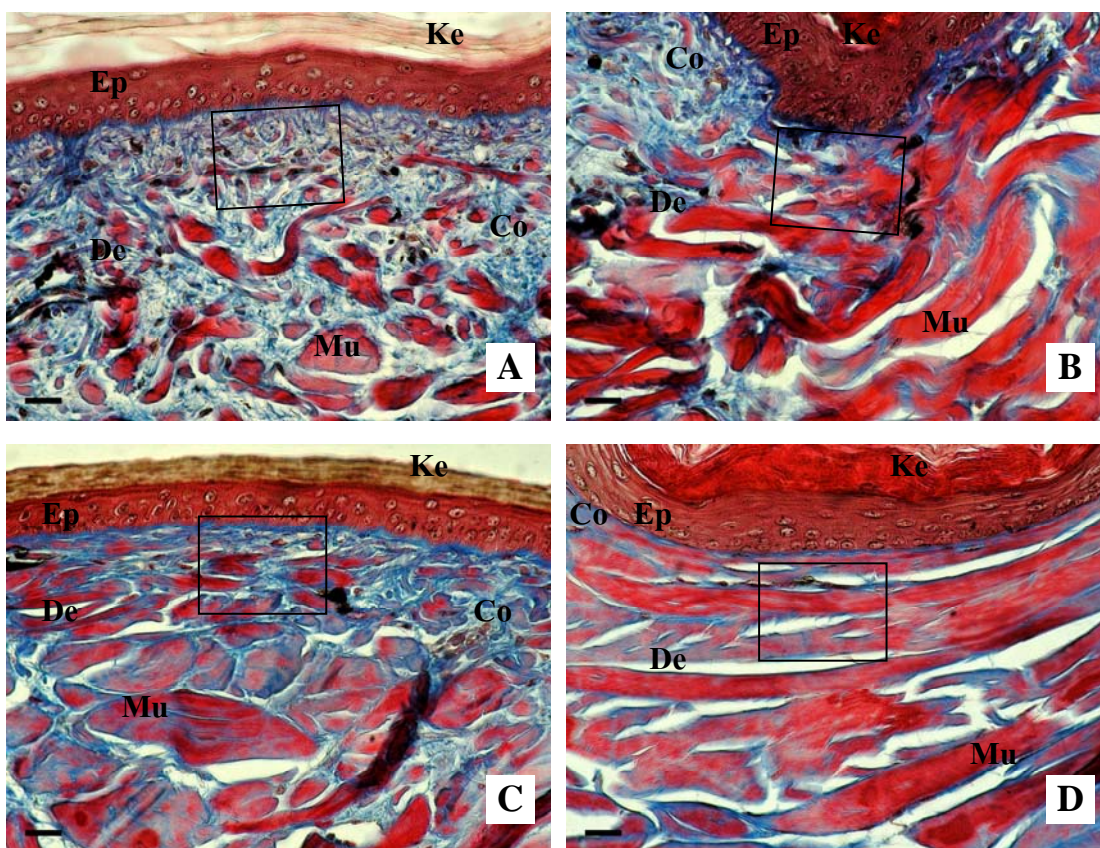
ภาพที่ 24 ภาพผิวหนังของจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังรวมตัวที่ 3 (A และ B) และตัวที่ 4 (C และ D) ในบริเวณเกล็ด (A, C) และบริเวณระหว่างเกล็ด (B, D) ย้อมด้วยสี Masson's trichrome. Ep, Epidermis; De, Dermis; Co, Collagen fibers; Mu, Muscle fibers; Ke, Keratin; El, Elastic fibers. Scale bar, 20 μ m. (X250)

โดยภาพ A พบ Collagen fibers 57 จุด และ Muscle fibers 0 จุด

ภาพ B พบ Collagen fibers 26 จุด และ Muscle fibers 63 จุด

ภาพ C พบ Collagen fibers 70 จุด และ Muscle fibers 8 จุด

ภาพ D พบ Collagen fibers 19 จุด และ Muscle fibers 60 จุด



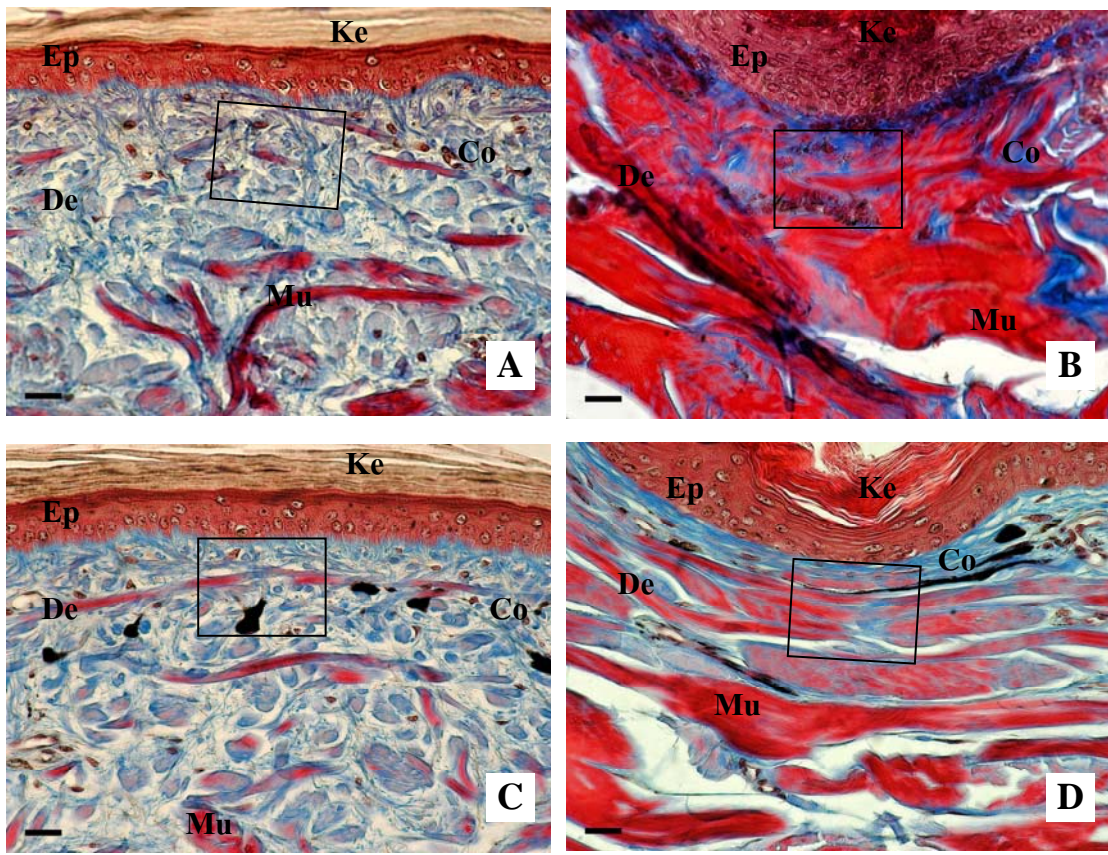
ภาพที่ 25 ภาพผิวหนังของจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังรวมตัวที่ 5 (A และ B) และตัวที่ 6 (C และ D) ในบริเวณเกล็ด (A, C) และบริเวณระหว่างเกล็ด (B, D) ย้อมด้วยสี Masson's trichrome. Ep, Epidermis; De, Dermis; Co, Collagen fibers; Mu, Muscle fibers; Ke, Keratin; El, Elastic fibers. Scale bar, 20 μ m. (X250)

โดยภาพ A พบ Collagen fibers 66 จุด และ Muscle fibers 10 จุด

ภาพ B พบ Collagen fibers 43 จุด และ Muscle fibers 46 จุด

ภาพ C พบ Collagen fibers 64 จุด และ Muscle fibers 29 จุด

ภาพ D พบ Collagen fibers 14 จุด และ Muscle fibers 58 จุด



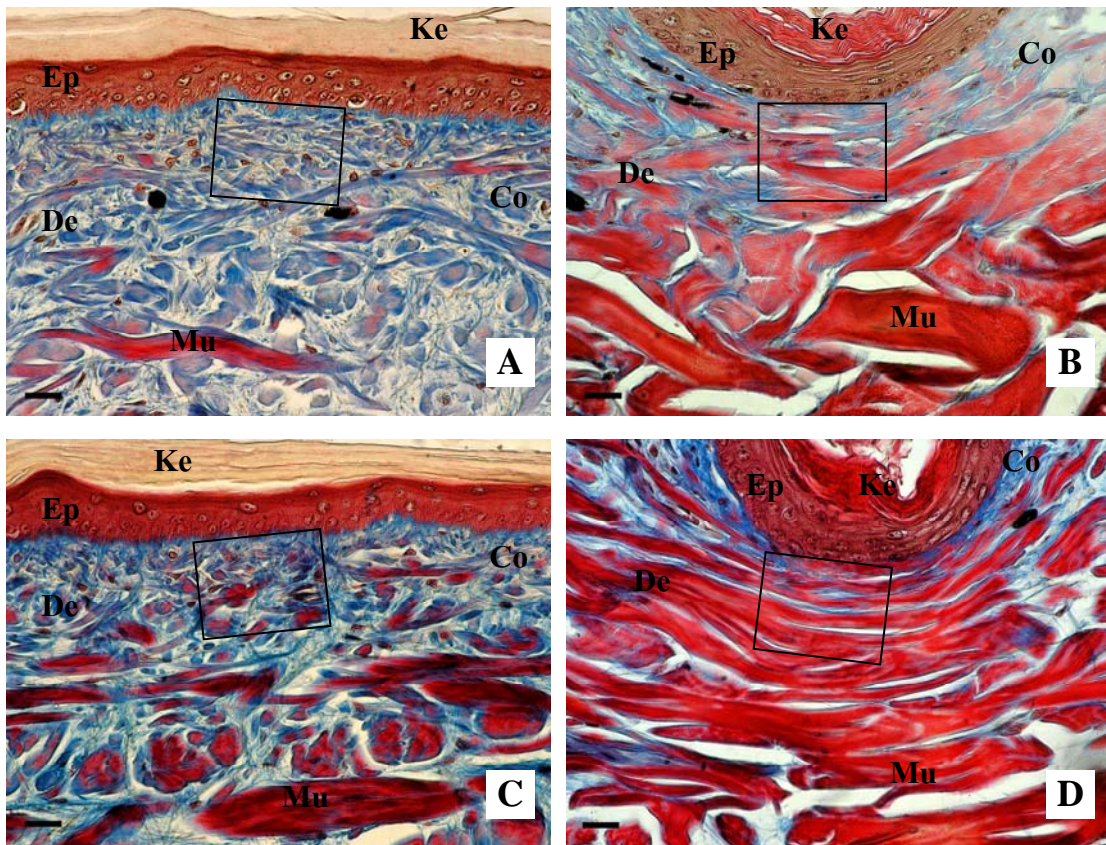
ภาพที่ 26 ภาพผิวหนังของจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังรวมตัวที่ 7 (A และ B) และตัวที่ 8 (C และ D) ในบริเวณเกล็ด (A, C) และบริเวณระหว่างเกล็ด (B, D) ย้อมด้วยสี Masson's trichrome. Ep, Epidermis; De, Dermis; Co, Collagen fibers; Mu, Muscle fibers; Ke, Keratin; El, Elastic fibers. Scale bar, 20 μ m. (X250)

โดยภาพ A พบ Collagen fibers 79 จุด และ Muscle fibers 1 จุด

ภาพ B พบ Collagen fibers 25 จุด และ Muscle fibers 46 จุด

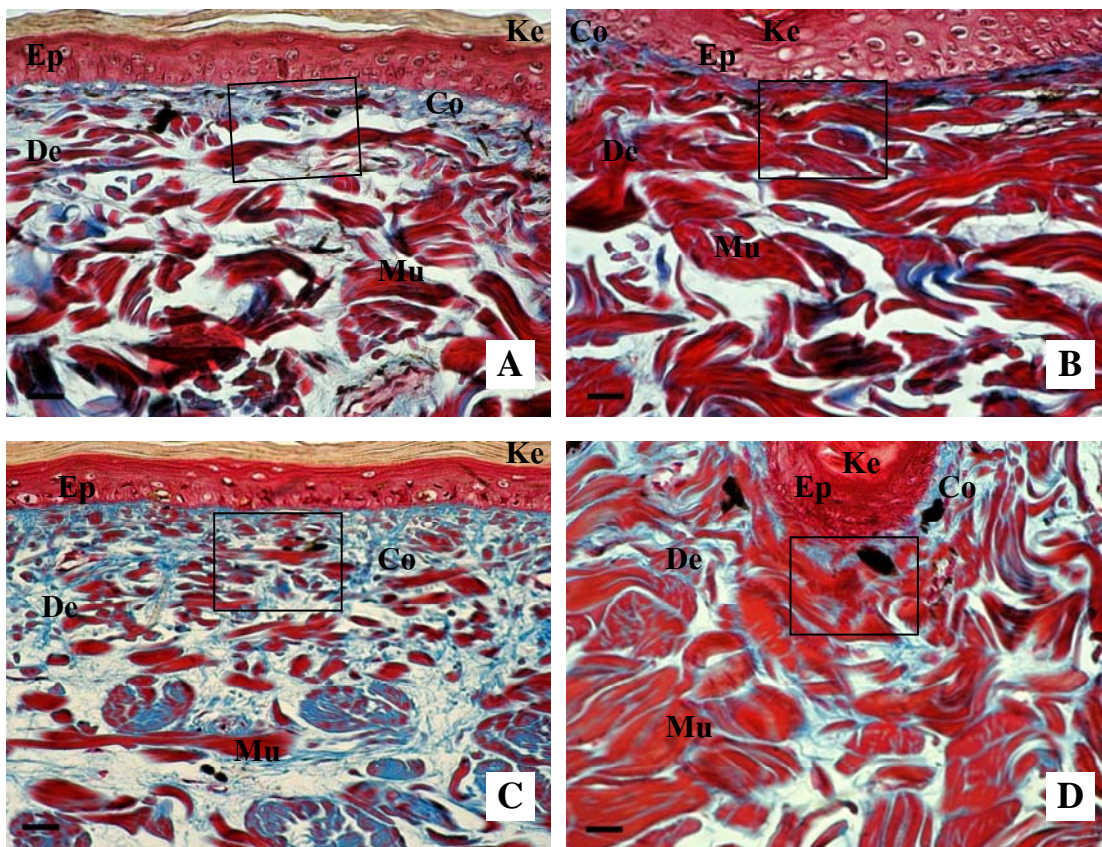
ภาพ C พบ Collagen fibers 69 จุด และ Muscle fibers 8 จุด

ภาพ D พบ Collagen fibers 31 จุด และ Muscle fibers 48 จุด



ภาพที่ 27 ภาพผิวหนังของจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังรวมตัวที่ 9 (A และ B) และตัวที่ 10 (C และ D) ในบริเวณเกล็ด (A, C) และบริเวณระหว่างเกล็ด (B, D) ย้อมด้วยสี Masson's trichrome. Ep, Epidermis; De, Dermis; Co, Collagen fibers; Mu, Muscle fibers; Ke, Keratin; El, Elastic fibers. Scale bar, 20 μ m. (X250)

โดยภาพ A พบ Collagen fibers 78 จุด และ Muscle fibers 1 จุด
 ภาพ B พบ Collagen fibers 26 จุด และ Muscle fibers 52 จุด
 ภาพ C พบ Collagen fibers 82 จุด และ Muscle fibers 12 จุด
 ภาพ D พบ Collagen fibers 15 จุด และ Muscle fibers 73 จุด



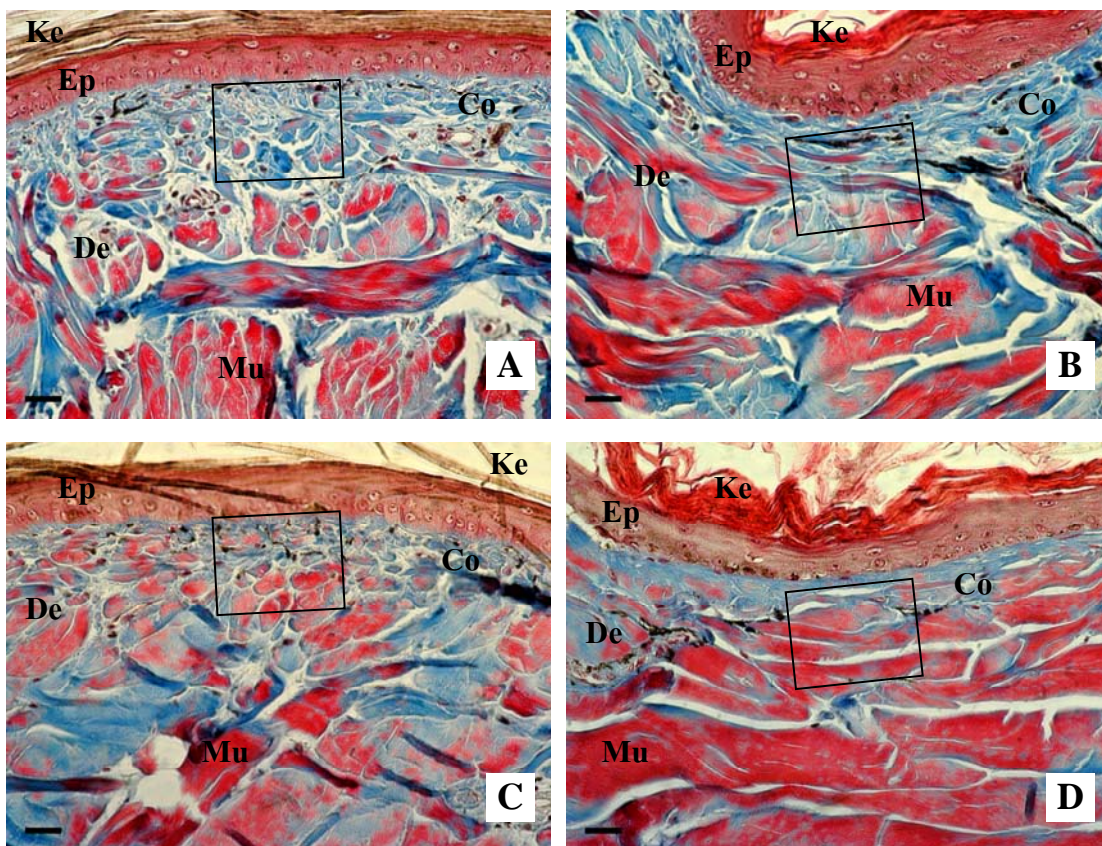
ภาพที่ 28 ภาพผิวหนังของจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยวตัวที่ 1 (A และ B) และตัวที่ 2 (C และ D) ในบริเวณเกล็ด (A, C) และบริเวณระหว่างเกล็ด (B, D) ย้อมด้วยสี Masson's trichrome. Ep, Epidermis; De, Dermis; Co, Collagen fibers; Mu, Muscle fibers; Ke, Keratin; EL, Elastic fibers. Scale bar, 20 μ m. (X250)

โดยภาพ A พบ Collagen fibers 36 จุด และ Muscle fibers 32 จุด

ภาพ B พบ Collagen fibers 7 จุด และ Muscle fibers 63 จุด

ภาพ C พบ Collagen fibers 46 จุด และ Muscle fibers 30 จุด

ภาพ D พบ Collagen fibers 35 จุด และ Muscle fibers 55 จุด



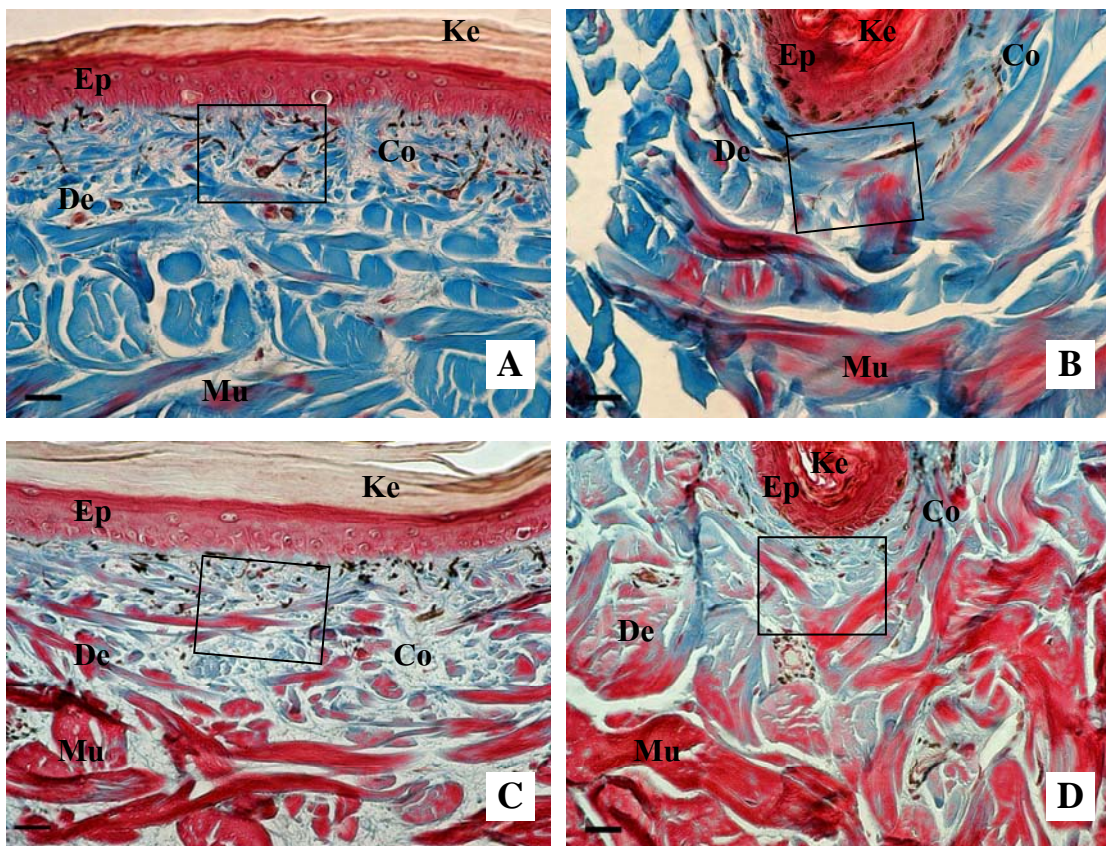
ภาพที่ 29 ภาพผิวหนังของจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยวตัวที่ 3 (A และ B) และตัวที่ 4 (C และ D) ในบริเวณเกล็ด (A, C) และบริเวณระหว่างเกล็ด (B, D) ย้อมด้วยสี Masson's trichrome. Ep, Epidermis; De, Dermis; Co, Collagen fibers; Mu, Muscle fibers; Ke, Keratin; El, Elastic fibers. Scale bar, 20 μ m. (X250)

โดยภาพ A พบ Collagen fibers 74 จุด และ Muscle fibers 4 จุด

ภาพ B พบ Collagen fibers 49 จุด และ Muscle fibers 11 จุด

ภาพ C พบ Collagen fibers 51 จุด และ Muscle fibers 33 จุด

ภาพ D พบ Collagen fibers 30 จุด และ Muscle fibers 48 จุด



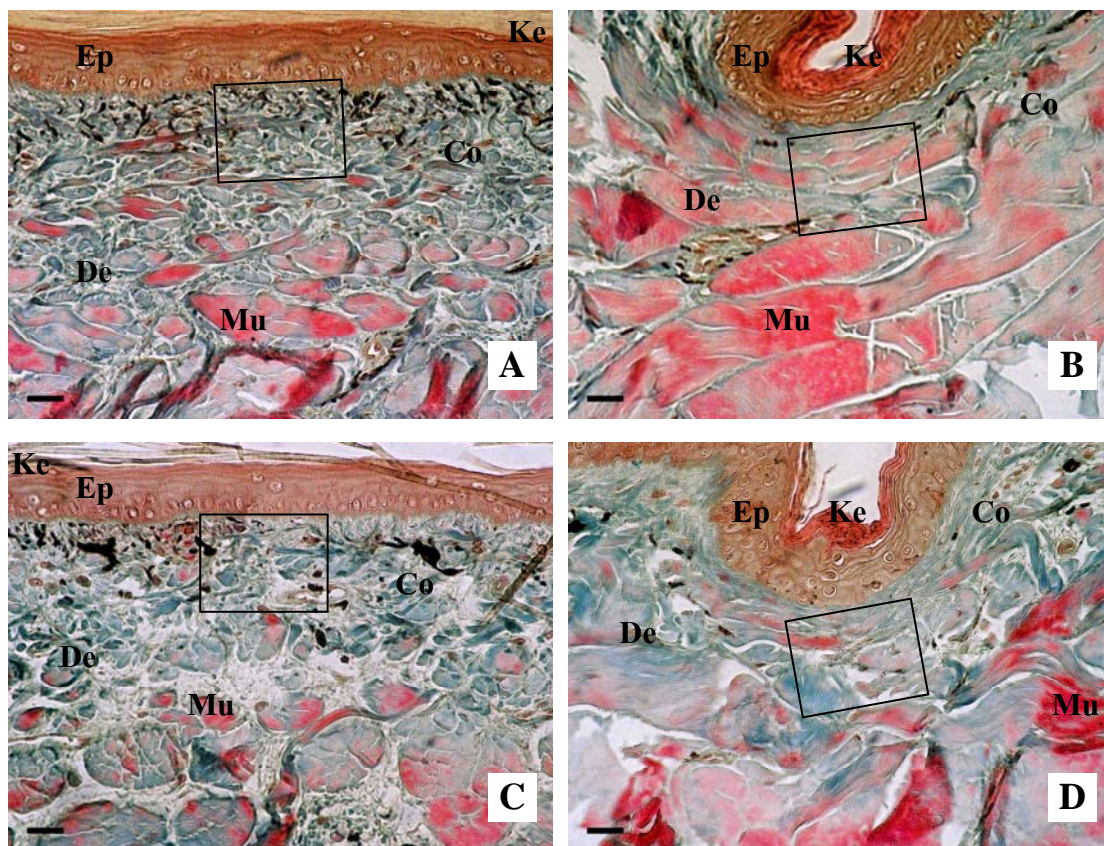
ภาพที่ 30 ภาพผิวหนังของจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยวตัวที่ 5 (A และ B) และตัวที่ 6 (C และ D) ในบริเวณเกล็ด (A, C) และบริเวณระหว่างเกล็ด (B, D) ย้อมด้วยสี Masson's trichrome. Ep, Epidermis; De, Dermis; Co, Collagen fibers; Mu, Muscle fibers; Ke, Keratin; El, Elastic fibers. Scale bar, 20 μ m. (X250).

โดยภาพ A พบ Collagen fibers 66 จุด และ Muscle fibers 1 จุด

ภาพ B พบ Collagen fibers 69 จุด และ Muscle fibers 17 จุด

ภาพ C พบ Collagen fibers 58 จุด และ Muscle fibers 8 จุด

ภาพ D พบ Collagen fibers 70 จุด และ Muscle fibers 20 จุด



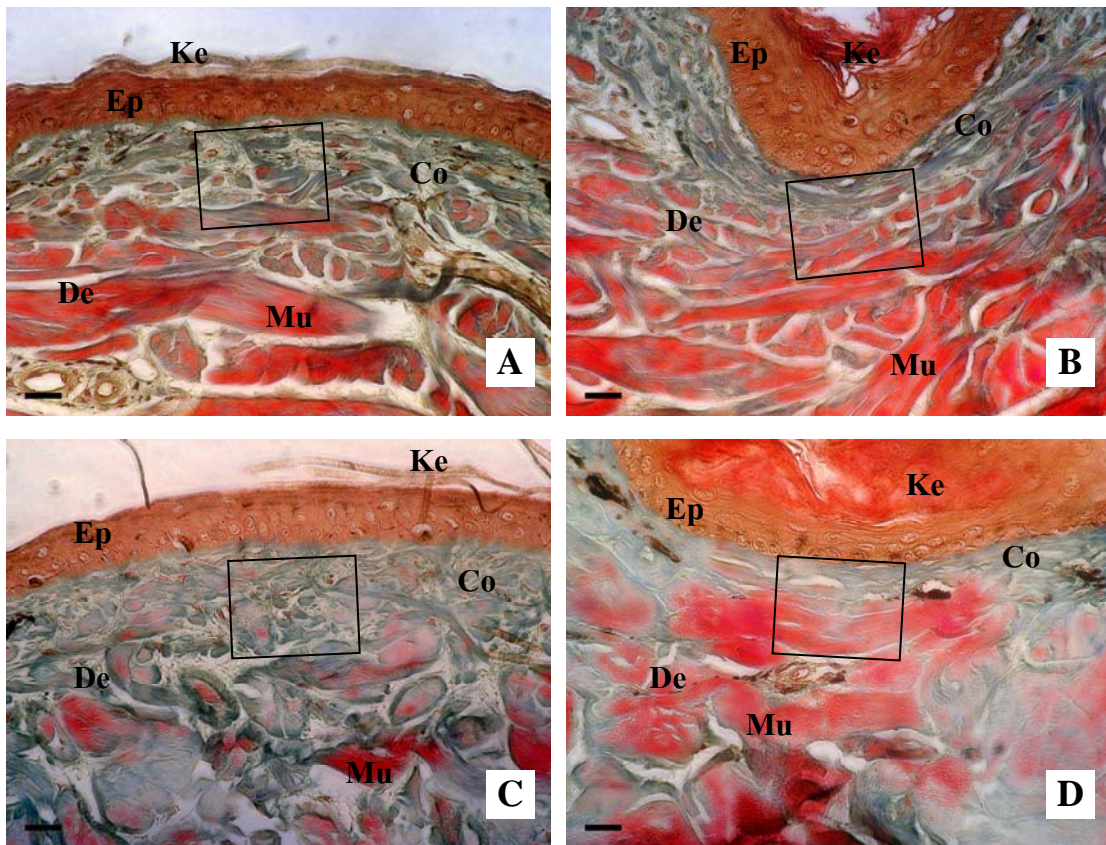
ภาพที่ 31 ภาพผิวหนังของจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยวตัวที่ 7 (A และ B) และตัวที่ 8 (C และ D) ในบริเวณเกล็ด (A, C) และบริเวณระหว่างเกล็ด (B, D) ย้อมด้วยสี Masson's trichrome. Ep, Epidermis; De, Dermis; Co, Collagen fibers; Mu, Muscle fibers; Ke, Keratin; El, Elastic fibers. Scale bar, 20 μ m. (X250)

โดยภาพ A พบ Collagen fibers 63 จุด และ Muscle fibers 4 จุด

ภาพ B พบ Collagen fibers 53 จุด และ Muscle fibers 24 จุด

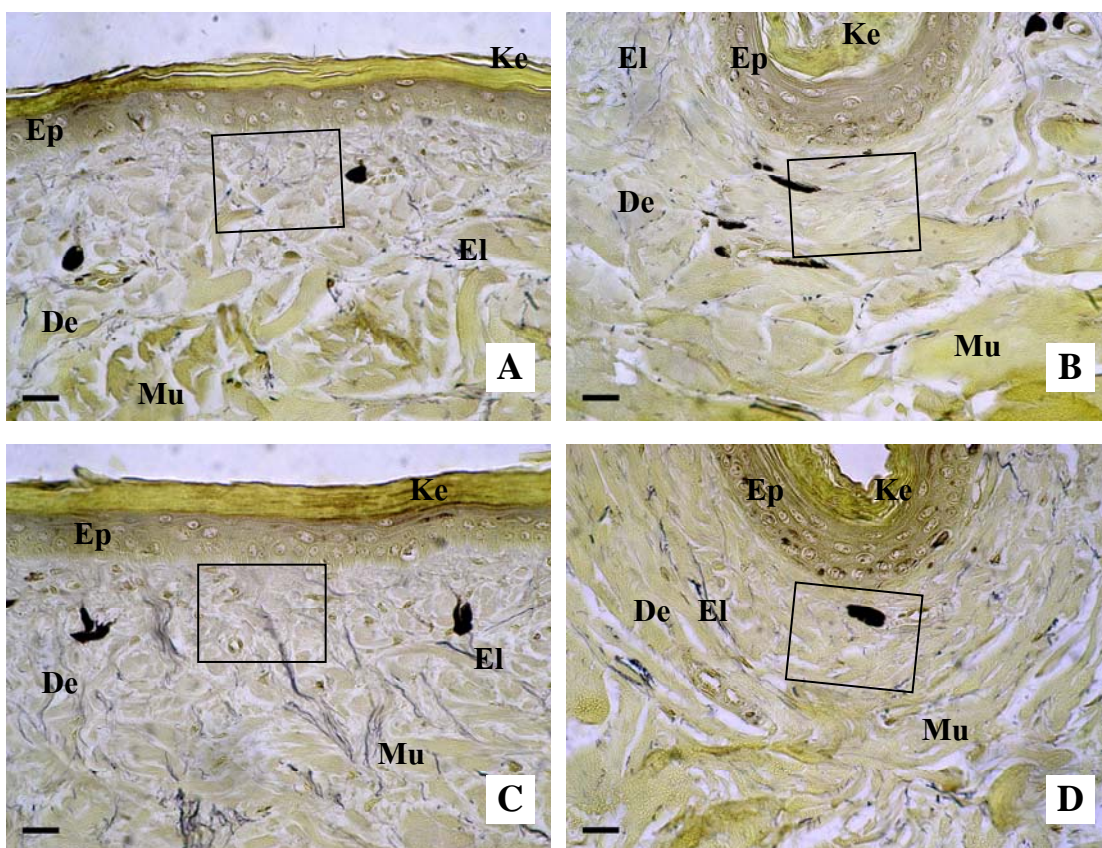
ภาพ C พบ Collagen fibers 71 จุด และ Muscle fibers 1 จุด

ภาพ D พบ Collagen fibers 77 จุด และ Muscle fibers 11 จุด



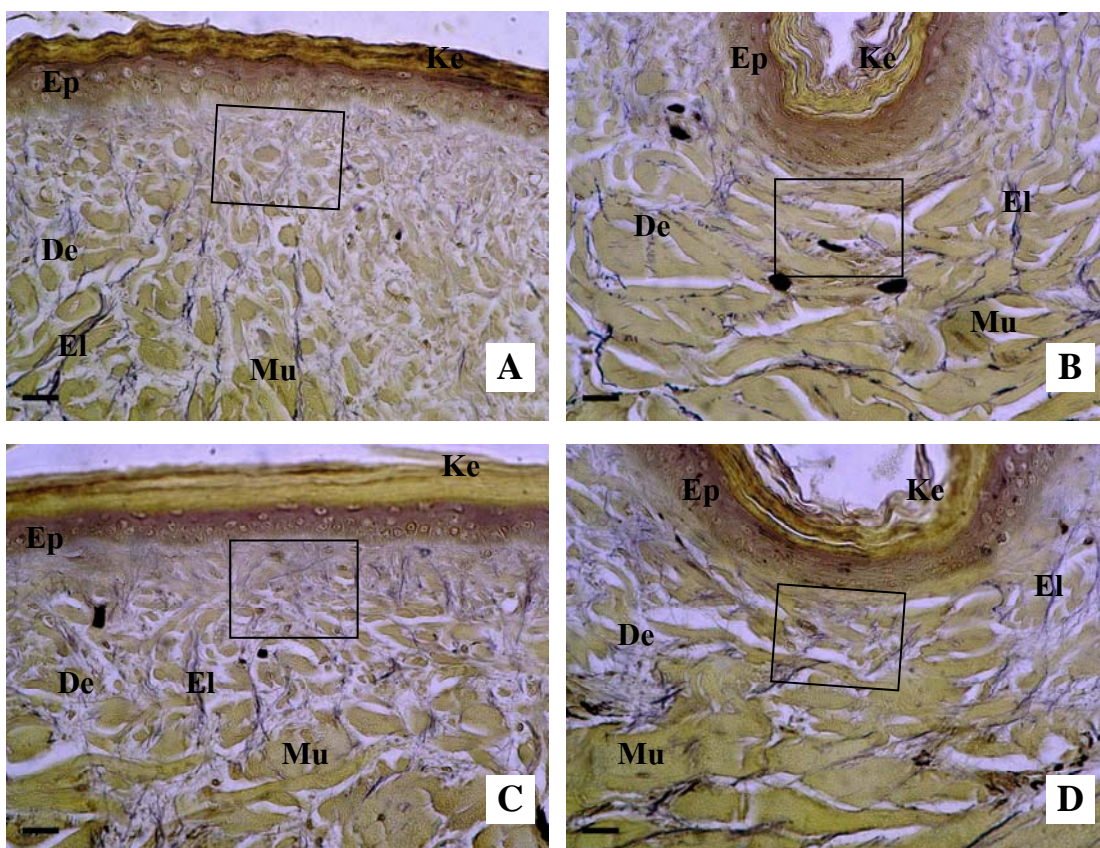
ภาพที่ 32 ภาพผิวหนังของกระเซ้งที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยวตัวที่ 9 (A และ B) และตัวที่ 10 (C และ D) ในบริเวณเกล็ด (A, C) และบริเวณระหว่างเกล็ด (B, D) ย้อมด้วยสี Masson's trichrome. Ep, Epidermis; De, Dermis; Co, Collagen fibers; Mu, Muscle fibers; Ke, Keratin; El, Elastic fibers. Scale bar, 20 μ m. (X250)

โดยภาพ A พบ Collagen fibers 71 จุด และ Muscle fibers 12 จุด
 ภาพ B พบ Collagen fibers 39 จุด และ Muscle fibers 34 จุด
 ภาพ C พบ Collagen fibers 85 จุด และ Muscle fibers 4 จุด
 ภาพ D พบ Collagen fibers 40 จุด และ Muscle fibers 53 จุด



ภาพที่ 33 ภาพผิวหนังของกระเซี้ยที่เลี้ยงแบบขังรวมตัวที่ 1 (A และ B) และตัวที่ 2 (C และ D) ในบริเวณเกล็ด (A, C) และบริเวณระหว่างเกล็ด (B, D) ย้อมด้วยสี Weigert. Ep, Epidermis; De, Dermis; Co, Collagen fibers; Mu, Muscle fibers; Ke, Keratin; El, Elastic fibers. Scale bar, 20 μm . (X250)

โดย ภาพ A พบ Elastic fibers 2	จุด
ภาพ B พบ Elastic fibers 0	จุด
ภาพ C พบ Elastic fibers 4	จุด
ภาพ D พบ Elastic fibers 2	จุด



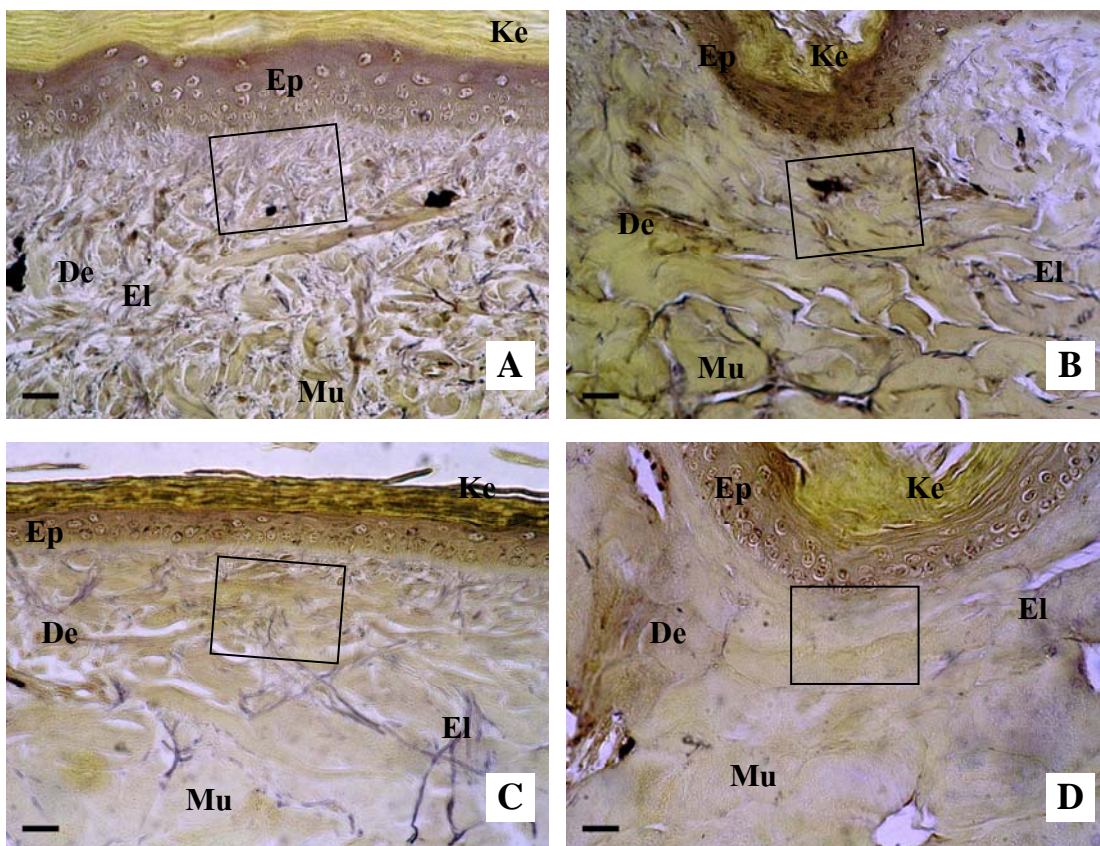
ภาพที่ 34 ภาพผิวหนังของกระเซี้ที่เลี้ยงแบบขังรวมตัวที่ 3 (A และ B) และตัวที่ 4 (C และ D) ในบริเวณเกล็ด (A, C) และบริเวณระหว่างเกล็ด (B, D) ย้อมด้วยสี Weigert. Ep, Epidermis; De, Dermis; Co, Collagen fibers; Mu, Muscle fibers; Ke, Keratin; El, Elastic fibers. Scale bar, 20 μm . (X250)

โดย ภาพ A พบ Elastic fibers 5 จุด

ภาพ B พบ Elastic fibers 1 จุด

ภาพ C พบ Elastic fibers 2 จุด

ภาพ D พบ Elastic fibers 2 จุด



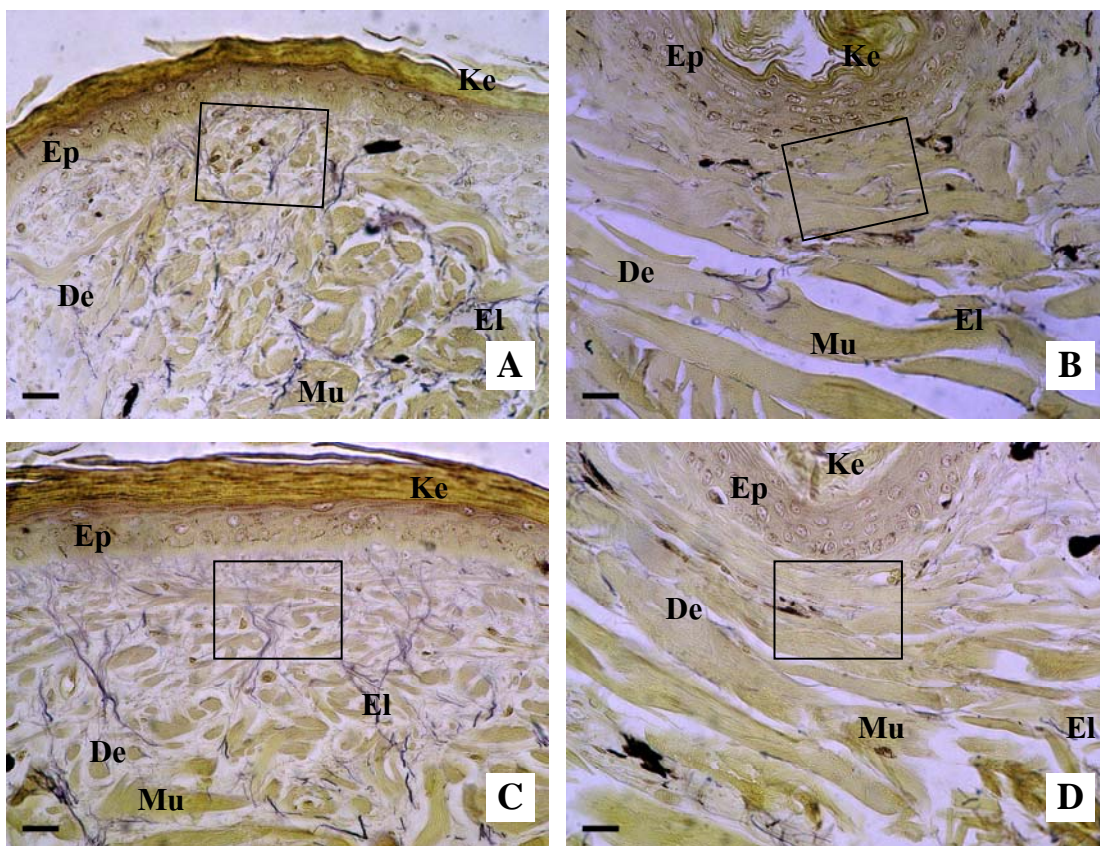
ภาพที่ 35 ภาพผิวหนังของกระเซ้ที่เลี้ยงแบบขังรวมตัวที่ 5 (A และ B) และตัวที่ 6 (C และ D) ในบริเวณเกล็ด (A, C) และบริเวณระหว่างเกล็ด (B, D) ย้อมด้วยสี Weigert. Ep, Epidermis; De, Dermis; Co, Collagen fibers; Mu, Muscle fibers; Ke, Keratin; El, Elastic fibers. Scale bar, 20 μm . (X250)

โดย ภาพ A พบ Elastic fibers 2 จุด

ภาพ B พบ Elastic fibers 2 จุด

ภาพ C พบ Elastic fibers 5 จุด

ภาพ D พบ Elastic fibers 0 จุด



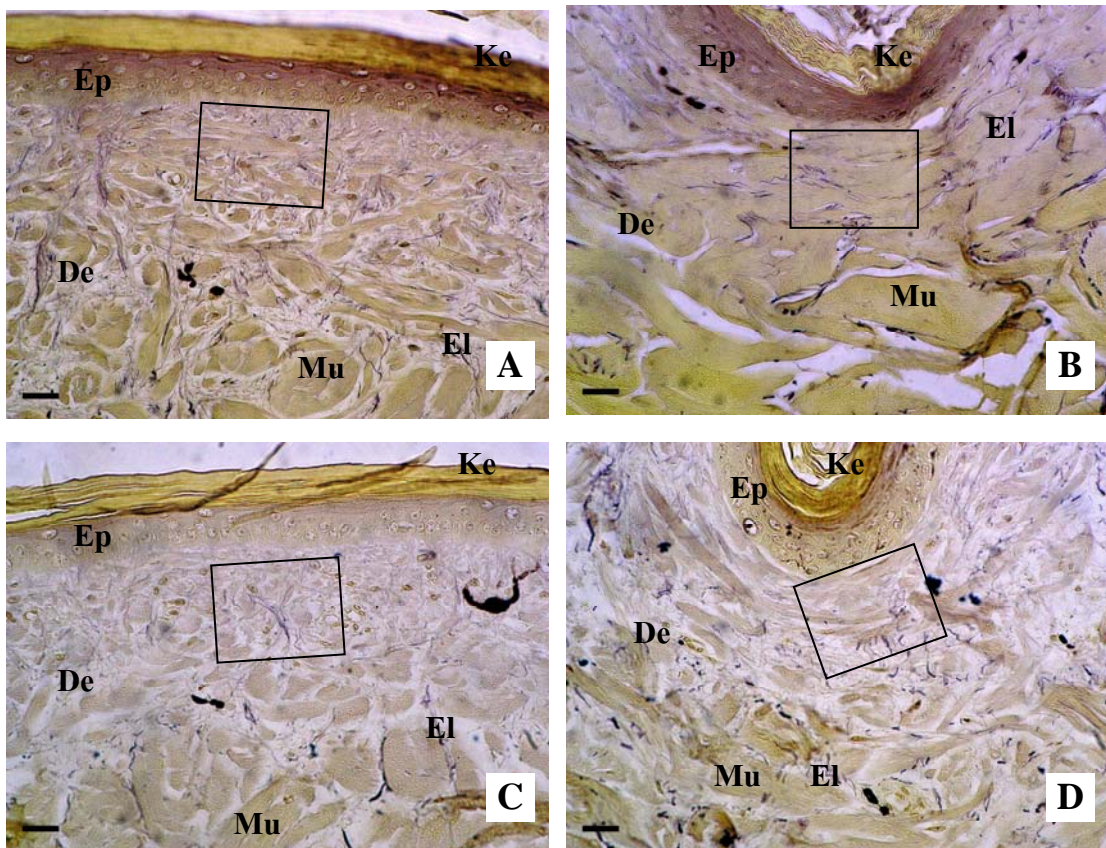
ภาพที่ 36 ภาพผิวหนังของกระเซ่ที่เลี้ยงแบบขังรวมตัวที่ 7 (A และ B) และตัวที่ 8 (C และ D) ในบริเวณเกล็ด (A, C) และบริเวณระหว่างเกล็ด (B, D) ย้อมด้วยสี Weigert. Ep, Epidermis; De, Dermis; Co, Collagen fibers; Mu, Muscle fibers; Ke, Keratin; El, Elastic fibers. Scale bar, 20 μ m. (X250)

โดย ภาพ A พบ Elastic fibers 2 จุด

ภาพ B พบ Elastic fibers 1 จุด

ภาพ C พบ Elastic fibers 5 จุด

ภาพ D พบ Elastic fibers 1 จุด



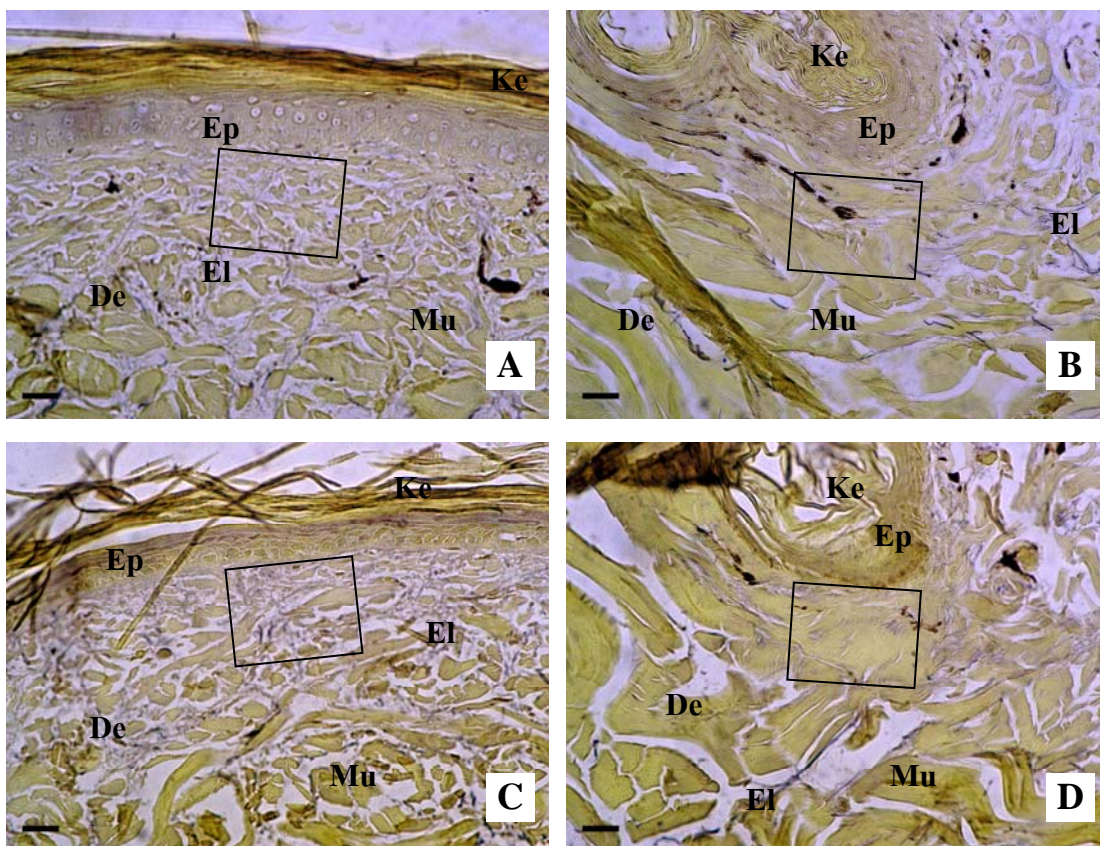
ภาพที่ 37 ภาพผิวหนังของจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังรวมตัวที่ 9 (A และ B) และตัวที่ 10 (C และ D) ในบริเวณเกล็ด (A, C) และบริเวณระหว่างเกล็ด (B, D) ย้อมด้วยสี Weigert. Ep, Epidermis; De, Dermis; Co, Collagen fibers; Mu, Muscle fibers; Ke, Keratin; El, Elastic fibers. Scale bar, 20 μm . (X250)

โดย ภาพ A พบ Elastic fibers 1 จุด

ภาพ B พบ Elastic fibers 1 จุด

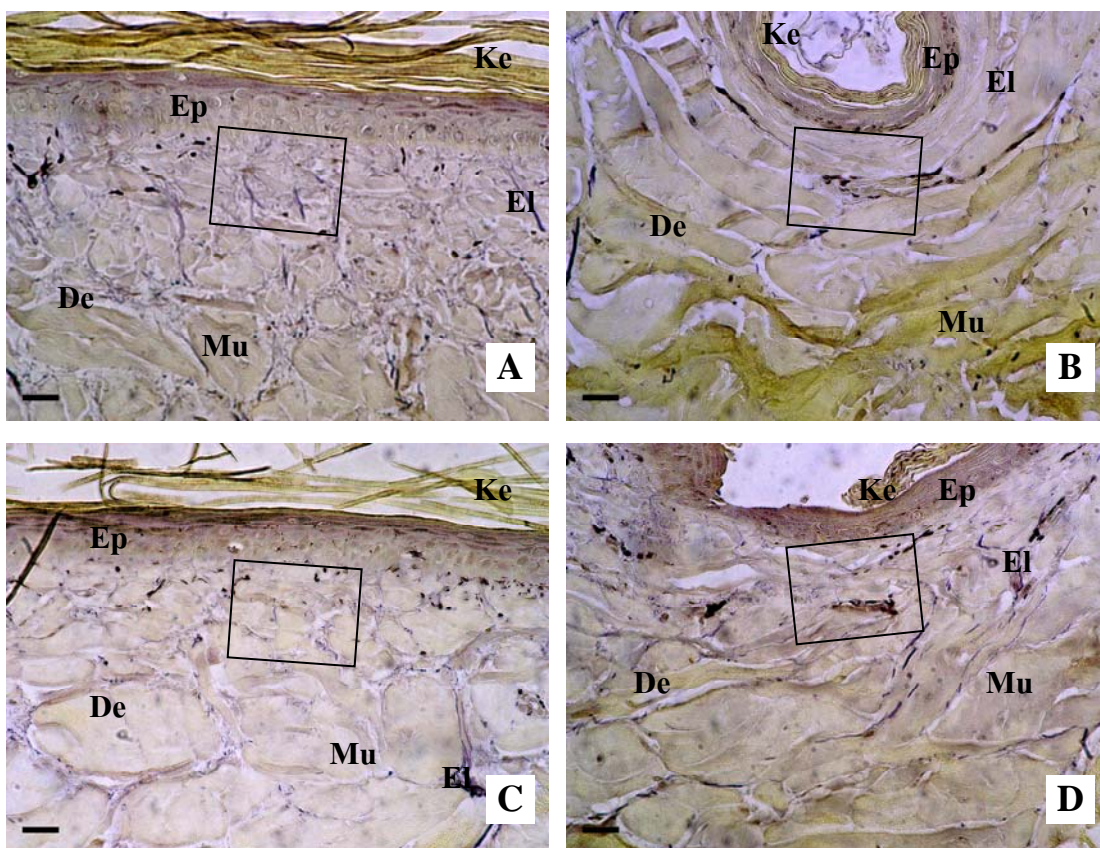
ภาพ C พบ Elastic fibers 6 จุด

ภาพ D พบ Elastic fibers 3 จุด



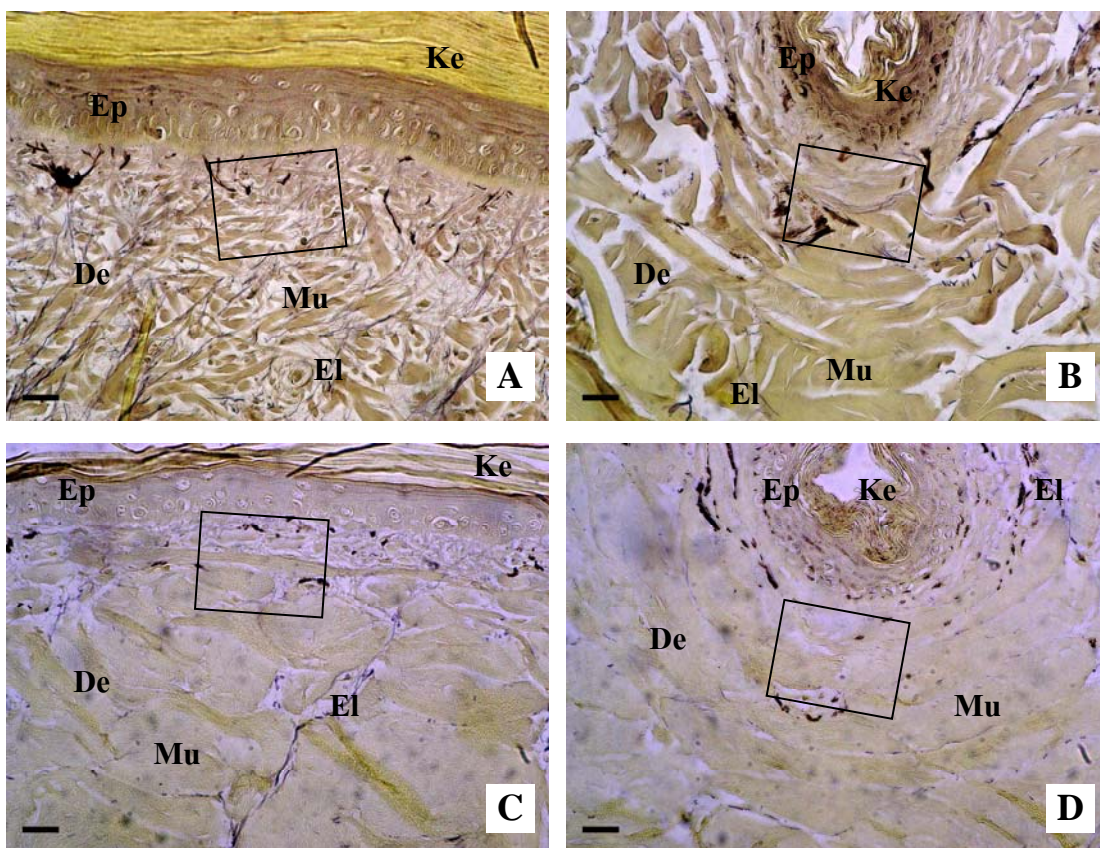
ภาพที่ 38 ภาพผิวหนังของจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยวตัวที่ 1 (A และ B) และตัวที่ 2 (C และ D) ในบริเวณเกล็ด (A, C) และบริเวณระหว่างเกล็ด (B, D) ย้อมด้วยสี Weigert. Ep, Epidermis; De, Dermis; Co, Collagen fibers; Mu, Muscle fibers; Ke, Keratin; El, Elastic fibers. Scale bar, 20 μm . (X250)

โดย ภาพ A พบ Elastic fibers 3 จุด
 ภาพ B พบ Elastic fibers 0 จุด
 ภาพ C พบ Elastic fibers 2 จุด
 ภาพ D พบ Elastic fibers 0 จุด



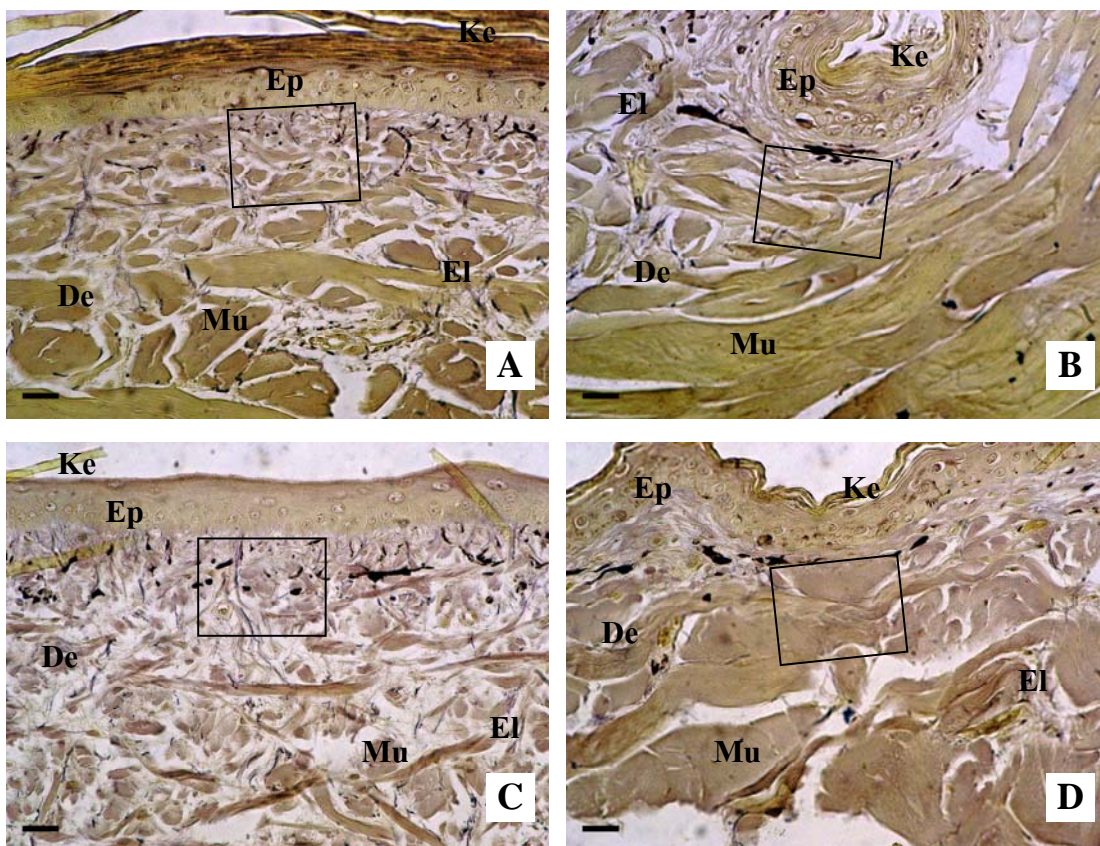
ภาพที่ 39 ภาพผิวหนังของจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยวตัวที่ 3 (A และ B) และตัวที่ 4 (C และ D) ในบริเวณเกล็ด (A, C) และบริเวณระหว่างเกล็ด (B, D) ย้อมด้วยสี Weigert. Ep, Epidermis; De, Dermis; Co, Collagen fibers; Mu, Muscle fibers; Ke, Keratin; El, Elastic fibers. Scale bar, 20 μ m.(X250)

- โดย ภาพ A พบ Elastic fibers 3 จุด
 ภาพ B พบ Elastic fibers 0 จุด
 ภาพ C พบ Elastic fibers 2 จุด
 ภาพ D พบ Elastic fibers 3 จุด



ภาพที่ 40 ภาพผิวหนังของจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยวตัวที่ 5 (A และ B) และตัวที่ 6 (C และ D) ในบริเวณเกล็ด (A, C) และบริเวณระหว่างเกล็ด (B, D) ย้อมด้วยสี Weigert. Ep, Epidermis; De, Dermis; Co, Collagen fibers; Mu, Muscle fibers; Ke, Keratin; El, Elastic fibers. Scale bar, 20 μ m.(X250)

- โดย ภาพ A พบ Elastic fibers 1 จุด
 ภาพ B พบ Elastic fibers 3 จุด
 ภาพ C พบ Elastic fibers 2 จุด
 ภาพ D พบ Elastic fibers 0 จุด



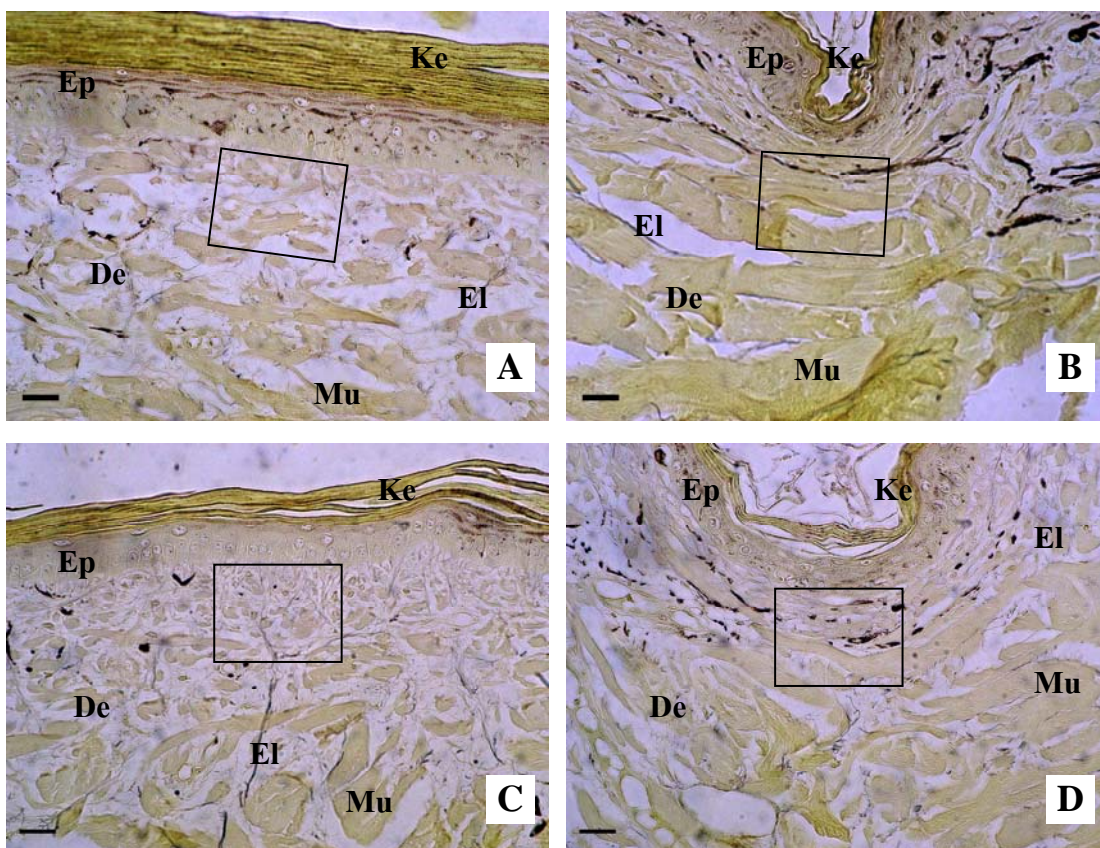
ภาพที่ 41 ภาพผิวหนังของจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยวตัวที่ 7 (A และ B) และตัวที่ 8 (C และ D) ในบริเวณเกล็ด (A, C) และบริเวณระหว่างเกล็ด (B, D) ย้อมด้วยสี Weigert. Ep, Epidermis; De, Dermis; Co, Collagen fibers; Mu, Muscle fibers; Ke, Keratin; El, Elastic fibers. Scale bar, 20 μ m.(X250)

โดย ภาพ A พบ Elastic fibers 2 จุด

ภาพ B พบ Elastic fibers 3 จุด

ภาพ C พบ Elastic fibers 1 จุด

ภาพ D พบ Elastic fibers 1 จุด



ภาพที่ 42 ภาพผิวหนังของกระเซี้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยวตัวที่ 9 (A และ B) และตัวที่ 10 (C และ D) ในบริเวณเกล็ด (A, C) และบริเวณระหว่างเกล็ด (B, D) ย้อมด้วยสี Weigert. Ep, Epidermis; De, Dermis; Co, Collagen fibers; Mu, Muscle fibers; Ke, Keratin; El, Elastic fibers. Scale bar, 20 μ m.(X250)

โดย ภาพ A พบ Elastic fibers 1 จุด

ภาพ B พบ Elastic fibers 0 จุด

ภาพ C พบ Elastic fibers 2 จุด

ภาพ D พบ Elastic fibers 2 จุด

วิจารณ์

ผลการศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของผิวหนังจระเข้ น้ำจืดพันธุ์ไทย (*Crocodylus siamensis* Schneider) พบว่า ผิวหนังด้านนอก มีส่วนที่เป็นเกล็ดแข็ง (scalar area) สลับกับส่วนที่ไม่มีเกล็ด (interscalar area) โดยทั้งสองส่วน มีโครงสร้างทางจุลกายวิภาคศาสตร์ แบ่งเป็น 2 ชั้น คือ epidermis และ dermis ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาผิวหนังจระเข้ น้ำเค็ม (*Crocodylus porosus*) (Manolis *et al.*, 2000) ผิวหนังชั้น epidermis ประกอบด้วยเซลล์ 4 ชั้น คือ

1. Stratum corneum เป็นชั้นนอกสุดของผิวหนังชั้นนอก ประกอบไปด้วย keratinized dead cells หลายชั้น
2. Stratum granulosum เป็นชั้นรองลงมาประกอบด้วย flattened cells หลายชั้น
3. Stratum spinosum ประกอบด้วย irregular polyhedral cells หลายชั้น
4. Stratum germinativum ประกอบด้วย columnar หรือ cuboidal cells ของ ที่เรียงตัวเป็นชั้นเดียวอยู่บน basal lamina

ส่วนชั้น Dermis ประกอบไปด้วย connective tissues และ muscular fibers ในปริมาณที่แตกต่างกัน ทำให้แยกชั้น dermis ออกเป็น 2 ส่วน คือ superficial dermis (ส่วนบน) และ deep dermis (ส่วนล่าง) เช่นเดียวกับผิวหนังของ *Alligator mississippiensis* (Alibardi and Thomson, 2001) โดย superficial dermis เป็นชั้นที่พบ collagen fibers ขนาดเล็ก จำนวนน้อย กระจายเรียงตัวไม่เป็นระเบียบ ส่วน deep dermis เป็นชั้นที่พบ collagen fibers ขนาดใหญ่ เรียงตัวหนาแน่น เป็นระเบียบ

จำนวนของ collagen และ muscular fibers ของจระเข้ น้ำจืดพันธุ์ไทย ในชั้น dermis ทั้งสองส่วน ตรงบริเวณเกล็ด (scalar area) และบริเวณระหว่างเกล็ด (interscalar area) มีความแตกต่างกัน ดังนี้

ในบริเวณเกล็ด (scalp area) ชั้น superficial dermis พบ collagen fibers จำนวนมาก กระจายตัวอยู่ไม่เป็นระเบียบ และ muscular fibers พบเบาบาง ส่วนชั้น deep dermis พบ muscular fibers เป็นจำนวนมาก และ collagen fibers กระจายตัวอยู่เบาบางกว่า ชั้น superficial dermis

ในบริเวณระหว่างเกล็ด (interscalp area) นั้น ชั้น superficial และ deep dermis มี muscular fibers เรียงตัวอย่างหนาแน่น และ collagen fibers พบเบาบาง

นอกจากนี้ในบริเวณเกล็ด และระหว่างเกล็ด ยังมี elastic fibers อยู่กระจายเบาบาง และมี เซลล์ melanophore ที่มี cytoplasmic processes ยื่นยาว ทำให้มีรูปร่างคล้ายดาว ซึ่งติดสีดำจากการย้อมสี H&E, Weigert, Masson's trichrome โดยบาง processes ยื่นเข้าไปเกือบถึงชั้น epidermis ซึ่งผิวหนังด้านข้างและด้านหลังของจรเข้ชั้น superficial dermis จะมี melanophore และ melanin granules อีสระ โดย melanophore ขนาดใหญ่จะมี globular cell body เป็นแขนงยื่นออกไปยังบริเวณ dermal/epidermal junction ส่วนเกล็ดบริเวณท้องจะไม่พบ melanophore และขาดการเกิด pigment สีดำ (Manolis *et al.*, 2000)

การศึกษาเปรียบเทียบค่าประมาณการปริมาณของ collagen และ muscular fibers ของผิวหนังชั้น dermis ตรงเนื้อเยื่อบริเวณเดียวกัน โดยวิธี Weibel's surface-to-volume estimation (Weibel *et al.*, 1966) และวิธี Image analysis ด้วยโปรแกรม Olympus Micro Image (OMI) รุ่น 4.5 ได้ผลไปในทิศทางเดียวกัน แสดงให้เห็นว่าวิธีการประมาณการปริมาณเนื้อเยื่อของ Weibel *et al.* (1966) สามารถใช้ได้ในกรณีที่ไม่มีอุปกรณ์และโปรแกรม Image analysis

ค่าประมาณการปริมาณ collagen และ muscular fibers ของผิวหนังในบริเวณเกล็ด ของจรเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยว มีปริมาณ collagen fibers น้อยกว่าแบบขังรวม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ตารางที่ 2) แต่ muscular fibers ในบริเวณเกล็ดไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) (ตารางที่ 3)

ส่วนในบริเวณระหว่างเกล็ดของหนังจรเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยว มีปริมาณ collagen fibers มากกว่าแบบขังรวมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ตารางที่ 2) แต่ muscular fibers ในบริเวณระหว่างเกล็ดของหนังจรเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยว มีปริมาณ muscular fibers น้อยกว่าแบบขังรวมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ตารางที่ 3) แสดงว่าปริมาณ collagen fibers ไม่สัมพันธ์กับการเคลื่อนไหวของจรเข้ แต่ผลการศึกษาปริมาณ muscular fibers ตรงบริเวณระหว่างเกล็ดในจรเข้

ที่เลี้ยงทั้ง 2 แบบ มีปริมาณ muscular fibers มากกว่าบริเวณเกลือ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ตารางที่ 3 และ 6) แสดงว่า ในขณะที่ระเซ่เคลื่อนไหวลำตัวนั้น บริเวณระหว่างเกลือมีการเคลื่อนไหวมากกว่าบริเวณเกลือ การเคลื่อนไหวออกกำลังกาย ทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของ muscle bulk ส่งเสริมให้เกิด protein synthesis และการเพิ่มขึ้นของ muscle mass ที่แข็งแรง (Aoi *et al.*, 2006)

การศึกษาค่าประมาณการปริมาณ elastic fibers ในบริเวณเกลือของผิวหนังระเซ่ที่เลี้ยงทั้ง 2 แบบ มีค่าประมาณการปริมาณของ elastic fibers มากกว่าบริเวณระหว่างเกลือ โดยเฉพาะในหนังระเซ่ที่เลี้ยงแบบขังรวม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ตารางที่ 4) ซึ่งสอดคล้องกับหน้าที่ของ elastic fibers ที่เป็นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่ทำหน้าสัมผัสเกี่ยวกับการยึดหดดึงผิวหนังและเกลือให้ติดแน่นกับลำตัว (Dellmann and Brown, 1981)

การศึกษาดัง ขนาดของ collagen fibers ในบริเวณเกลือ collagen fibers ขนาด < 0.50 มีจำนวนมากที่สุดในผิวหนังระเซ่ที่เลี้ยงทั้งแบบขังเดี่ยวและแบบขังรวม แต่ผิวหนังระเซ่ที่เลี้ยงแบบขังรวม มีจำนวนมากกว่าของระเซ่ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยว อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ตารางที่ 7) ซึ่งการเลี้ยงแบบขังรวม จะมีอิสระในการเคลื่อนไหวได้มากกว่า คล้ายคลึงระเซ่ป่าที่พบมี collagen bundle ในแนวยาว แบน แคบกว่าและอัดแน่น มากกว่าในหนังระเซ่ที่เพาะเลี้ยง (Manolis *et al.*, 2000) ส่วนในบริเวณระหว่างเกลือ collagen fibers ขนาด < 0.50 มีจำนวนมากที่สุดในผิวหนังระเซ่ที่เลี้ยงทั้ง 2 แบบ เช่นเดียวกัน แต่ในการเลี้ยงแบบขังเดี่ยวซึ่งมีการเคลื่อนไหวที่น้อยกว่ามีจำนวนมากว่าการเลี้ยงแบบขังรวม (ตารางที่ 7) แสดงว่าขนาดและจำนวนของ collagen fibers ไม่สัมพันธ์กับการเคลื่อนไหว

ส่วนขนาดของ muscular fibers ในบริเวณเกลือของผิวหนังที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยว ขนาด $0.50 \mu\text{m}$ มีจำนวนมากกว่าในผิวหนังที่เลี้ยงแบบขังรวม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 8) ส่วนขนาด muscular fibers ที่มีจำนวนมากในบริเวณเกลือคือ $2.00-3.00 \mu\text{m}$ แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p > 0.05$) (ตารางที่ 8) ในผิวหนังระเซ่ที่เลี้ยงทั้งสองแบบ อาจแสดงถึงการเคลื่อนไหวของผิวหนังบริเวณใต้เกลือมีน้อย ขนาดของ muscular fibers บริเวณเกลือในระเซ่ที่เลี้ยงแบบขังรวมที่มีการเคลื่อนไหวมากกว่า จึงไม่มีขนาด muscular fibers ที่ใหญ่กว่า ของผิวหนังระเซ่ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยว

แต่ในบริเวณระหว่างเกล็ดในผิวหนังจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังรวม มี muscular fibers ขนาดใหญ่ ตั้งแต่ 2.00, 4.00-11.00, และ >13.00 μm เป็นจำนวนมากกว่าในผิวหนังจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยว อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ตารางที่ 8) อาจจะยืนยันและสอดคล้องกันว่า บริเวณระหว่างเกล็ดย่อมมีการเคลื่อนไหวของผิวหนังมากกว่าบริเวณใต้เกล็ด จึงมี muscular fibers ขนาดใหญ่ จำนวนมากกว่า และผันแปรตามการเคลื่อนไหวที่อิสระและมากกว่า ของจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังรวม

สรุปและข้อเสนอแนะ

การศึกษาครั้งนี้ แสดงให้เห็นว่า จระเข้ที่เลี้ยงแบบขังรวม ซึ่งมีการเคลื่อนไหวมากกว่านั้น ผิวหนังชั้น dermis จะมีปริมาณ muscular fibers ในบริเวณระหว่างเกล็ด มากกว่าผิวหนังของจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยว ซึ่งเคลื่อนไหวตัวได้น้อย แต่มีปริมาณ collagen fibers ชั้น dermis มากกว่า โดยเฉพาะบริเวณเกล็ด ซึ่งเป็นบริเวณที่เคลื่อนไหวได้น้อย มีปริมาณ collagen fibers มากกว่าบริเวณระหว่างเกล็ด ของจระเข้ที่เลี้ยงทั้งสองแบบ และ elastic fibers ของผิวหนังจระเข้ทั้งบริเวณเกล็ดและระหว่างเกล็ด ที่เลี้ยงแบบขังรวมมีปริมาณมากกว่า ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยว ดังนั้นการเลี้ยงจระเข้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยวและเลี้ยงแบบขังรวม เป็นเวลา 2 ปี น่าจะมีผลต่อคุณภาพของหนังจระเข้ โดยหนังจระเข้ที่เลี้ยงขังรวม น่าจะแข็งแรงทนแรงดึงได้มากกว่า หนังจระเข้ที่เลี้ยงขังเดี่ยว แต่การเลี้ยงแบบขังรวมอาจจะทำให้เกิดบาดแผลจากการกัดกันได้ ดังนั้นถ้าหากจะเลี้ยงแบบขังเดี่ยว ต้องมีพื้นที่กว้างพอที่จะให้จระเข้เคลื่อนไหวตัวได้สะดวก ซึ่งควรจะต้องทำการศึกษาวิจัยถึงความกว้างของพื้นที่ที่เหมาะสมต่อไป

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

- ปานเทพ รัตนากร. 2541. การเพาะเลี้ยงจระเข้เบื้องต้น. เอกสารเผยแพร่.
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 59 น.
- มนตรี รัตนพงษ์พันธ์. 2542. ฟาร์มจระเข้. สำนักพิมพ์เพื่อนเกษตร, นนทบุรี. 160 น.
- รณฤทธิ์ ไชยณรงค์. 2533. จระเข้. ม.ป.ท.
- ศุภลักษณ์ โรมนันท์พันธ์. 2545. เทคนิคเนื้อเยื่อสัตว์. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์,
กรุงเทพฯ. 286 น.
- Alexander, N.J. 1970. Comparition of α and β keratin in reptiles. **Zeitschrift fur Zellforschung** 110:153-165.
- Alibardi, L. 1998. Glycogen distribution in relation to epidemal cell differentiation during embryonic scale morphogenesis in the lizard *Anolis lineatopus*. **Acto Zool.** 79:91-100.
- _____, and M.B. Thompson. 1999. Epidemal differentiation during carapace and plastron formation in the embryonic turtle *Emydura macquarii*. **J. Ant.** 194:531-545.
- _____, and M.B. Thomson. 2001. Fine structure of the development epidermis in the embryo of the American alligator (*Alligator mississippiensis*, Crocodilia, Reptilia). **J. Ant.** 198:265-282.
- Aoi, W., Y. Naito, and T. Yoshikawa. 2006. Exercise and functional foods. **Nutrition Journal** 5-15.
- Baden, H.P., and P.F.A. Maderson. 1970. Morphological and biophysical indentification of fibrous proteins in the amniote epidemis. **J. Experiment. Zool.** 174:225-232.

- Bowers, R.R., and J.A. Brumbaugh. 1978. An ultrastructural study of the regenerating breast feather of the fowl. **J. Morphol.** 158:275-290.
- Brazaitis, P. 1987. The identification of crocodilian skins and products. In *Wildlife Management: Crocodiles and Alligators* (ed. Webb G, Manolis S, Whitchcad PJ). **Chipping Norton: Surrey Beatty & Conservation Commission of the Northern Territory**:373-386.
- Dellmann, H.D., and E.M. Brown. 1981. **Textbook of Veterinary Histology** 2nd edition, US.
- Freinkel, R.K. 1991. Carbohydrate metabolism of epidermis. **Physiology, Biochemistry and Molecular Biology of the Skin.** 2nd ed., p. 452-461, *In* G. La, ed. New York-Oxford University press.
- Gartner, L.P., and J.L. Hiatt. 2001. **Color Textbook of Histology.** 2nd edition W.B.Saunders Company, US.
- Grenard, S. 1991. **Handbook of Alligators and Crocodiles.** Krieger Publishing Company.
- Kardong, K.V. 1998. **Vertebrate.** 2nd edition Wm. C. Brown Publishers, US.
- Kemp, D.j., P.Y. Dyer, and G.E. Rogers. 1974. Keratin synthesis during development of the embryonic chick feather. **J. Cell Biol.:** 114-131.
- Lange, B. 1931. Integument der sauropsiden. In *Handbuch der vergleichend Anatomie der wirbeltiere* (ed. Bolk L, Goppert E, Kallius E, Lubosch W). **Berlin: Urban & Schwarzenberg** 1:375-448.
- Luna L.G. 1968. **Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology.** 3rd ed. McGraw-Hill, Inc. US. 258 p.

- Mallory, F.B. 1961. **Pathological Technique**. Hafner Publishing Co, New York.
- Manolis, S.C., G. Webb, and K. Richardson. 2000. **Improving the Quality of Australian Crocodile Skins**. A report for the Rural Industries Research and Development Corporation.
- Marderson, P.F.A. 1985. **Some development problem of the reptilian integument**. In *Biology of reptilian*, News York.
- Masson, P.J. 1929. J. Techn. Methods, p. 258 **Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology**. 3rd ed., Vol. 12. McGraw-Hill, Inc., US.
- Matoltsy, A.G., and T. Huszar. 1972. Kelatinization of the reptilian epidermis : An ultrastructural study of the turtle skin. **J. Ultrastruc. Res.** 38.
- Matulionis, D.H. 1970. Morphology of the developing down feathers of chick embryos. **Zeitfrisht fur Anatomie and Entwicklungs-Geschichte**. 132:107-157.
- Sanders, J.E., B.S. Goldstein, D.F. Leotta, and K.A. Richard. 1999. Image processing techniques of quantitative analysis of skin structure. **Computer Methods and Programs in Biomedicine** 59:167-180.
- Sawyer, R.H., U.K. Abbott, and G.N. Fry. 1974. Avian Schale development. III. Ultrastructure of the keratinizing cells of the outer and inner epidermal surface of the scale ridge. **J. Experiment. Zool** 190:57-70.
- Spearman, R.I.C. 1966. The keratinization of epidermal scales, feathers and hairs. **Biol. Rev.** 41:59-96.
- Weibel, E.R., G.S. Kistler, and W.F. Scherle. 1966. Practical stereological methods for morphometric cytology. **J. Cell Biol.** 30:23-38.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

การเตรียมสารเคมีและสีซ่อมสำหรับพาราฟินเทคนิค

การเตรียมสารเคมีและวิธีการย้อมสีทางพาราฟินเทคนิค

น้ำยาคงสภาพเนื้อเยื่อ Bouin's solution

Picric acid (saturate aqueous)	750 มล.
Formalin, 37-40%	250 มล.
Glacial acetic acid	50 มล.

ผสมเข้าด้วยกัน

1. สีย้อม Harris hematoxylin และ eosin method (ศุภลักษณ์, 2545; Luna, 1968)

1.1 Harris hematoxylin

Hematoxylin crystals	5 กรัม
Alcohol, 100%	50 มล.
Ammonium or potassium alum	100 กรัม
Distilled water	1,000 มล.
Mercuric oxide (red)	2.5 กรัม

ละลาย hematoxylin ใน 100 % แอลกอฮอล์ ส่วน alum ละลายในน้ำกลั่นโดยใช้ความร้อน เมื่อละลายดีแล้วยกออกจากความร้อน แล้วจึงผสมสารละลาย 2 อย่างนี้เข้าด้วยกัน จากนั้นนำกลับไปต้มใหม่ให้เร็วที่สุด(จำกัดเวลาในการต้มประมาณ 1 นาที) ระหว่างนี้ต้องใช้แท่งแก้วคอยคนอยู่ตลอดเวลา ยกออกจากความร้อนแล้วค่อยๆเติม Mercuric oxide (red) แล้วยกกลับไปให้ความร้อนใหม่ เคี่ยวให้เดือดปุดๆไปจนกระทั่ง สีกลายเป็นสีม่วงเข้ม(dark purple) ยกออกจากความร้อน แล้วรีบทำให้เย็น โดยแช่ในภาชนะใส่น้ำ สีนี้อ้อมที่จะใช้ได้ทันทีที่เย็น ให้เติมกรดแอซิดิกเข้มข้น 2-4 มล. ต่อ 100 มล.ของสารละลาย เพื่อเพิ่มให้การติดสีของนิวเคลียสถูกต้องเที่ยงตรงยิ่งขึ้น ก่อนใช้ต้องกรองสีก่อนและสีควรเก็บไว้ในขวดน้ำตา

1.2 Eosin solution

(1% Stock Alcoholic Eosin)

Eosin Y (water soluble)	1 กรัม
Distilled water	20 มล.
ละลายเข้าด้วยกันแล้วจึงเติม	
Alcohol, 95%	80 มล.

(Working eosin solution)

Stock eosin solution	1 ส่วน
Alcohol 80%	3 ส่วน

ก่อนใช้ให้เติม 0.5 มล. ของกรดแอซิดิก ต่อ 100 มล. ของสีแล้วคนให้เข้ากัน

วิธีการย้อมสี Harris hematoxylin และ eosin

- นำ paraffin section ไป deparaffinized ใน xylene และ hydration ใน alcohol ที่ความเข้มข้นต่างๆ จนถึงน้ำกลั่น
- แช่ใน Harris hematoxylin 5-6 นาที
- ล้าง (rinse) ในน้ำประปาที่ไหล 1-2 นาที
- Differentiate ใน 1% acid alcohol โดยจุ่ม 1-2 วินาที
- จุ่มในน้ำประปาที่ไหลผ่าน นาน 1 นาที
- จุ่มใน lithium carbonate นาน 1 นาที
- ล้างในน้ำประปาที่ไหลผ่าน นาน 1 นาที
- แช่ใน eosin solution นาน 2 นาที
- Dehydration และ clearing
- Mount ด้วย permount

ผล

- Nucleus ติดสีน้ำเงิน
- Cytoplasm เป็นสีชมพูแดง

2. สีย้อม Masson's trichrome method (Masson, 1929)

2.1 Weigert's iron hematoxylin solution

2.1.1 Solution A

Hematoxylin crystal	1.0	กรัม
Alcohol, 95%	100.0	มล.

2.1.2 Solution B

Ferric chloride (29% aqueous)	4.0	มล.
Distilled water	95.0	มล.
Hydrochloric acid (concentrated)	1.0	มล.

2.1.3 Working solution

ผสม solution A และ B ในสัดส่วนเท่าๆ กัน

2.2 Biebrich scarlet – acid fuchsin solution

Biebrich scarlet, aqueous 1%	90.0	มล.
Acid fuchsin, aqueous 1%	10.0	มล.
Glacial acetic acid	1.0	มล.

2.3 Phosphomolybdic-Phosphotungstic acid solution

Phosphomolybdic acid	5.0	กรัม
Phosphotungstic acid	5.0	กรัม
Distilled water (น้ำกลั่น)	200.0	มล.

2.4 Aniline Blue solution

Aniline blue	2.5	กรัม
Glacial acetic acid	2.0	มล.
Distilled water	100.0	มล.

2.5 Light green solution, 2%

Light green, SF yellowish	2	กรัม
Distilled water	98	มล.
Glacial acetic acid	1	มล.

วิธีการย้อมสี Masson's trichrome

- 1) ล้างพาราฟินออก แล้วเอาน้ำเข้าเนื้อเยื่อจนถึงน้ำกลั่น
- 2) ถ้าคงสภาพเนื้อเยื่อด้วยฟอร์มาลิน ต้องแช่สไลด์ในสารที่ช่วยทำให้การย้อมสีติดดีขึ้น (mordant) ในสารละลายบูแองค์ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 56 °C หรือทิ้งไว้ค้างคืนที่อุณหภูมิห้องปกติ
- 3) ปล่อยให้เย็นแล้วล้างน้ำประปาแบบไหล จนกระทั่งสีเหลืองของบูแองค์หมดไป
- 4) ล้างอย่างรวดเร็วในน้ำกลั่น
- 5) จุ่มสไลด์ ใน Weigert's iron hematoxylin solution นาน 10 นาที
- 6) ล้างอย่างรวดเร็วในน้ำกลั่น
- 7) จุ่มใน biebrich scarlet acid fuchsin solution นาน 2 นาที แล้วสีนี้เก็บไว้ใช้ได้อีก
- 8) ล้างอย่างรวดเร็วในน้ำกลั่น
- 9) จุ่มใน phosphomolybdic – phosphotungstic acid นาน 10-15 นาที ก่อนที่จะย้อมสี aniline blue (หรือจะใช้ 5% phosphotungstic acid นาน 15 นาที ก่อนที่จะย้อมด้วยสี light green) สารละลายนี้ใช้แล้วทิ้งเลย
- 10) ย้อมสีด้วย aniline blue นาน 5 นาที หรือ 2% light green solution นาน 1 นาที (สำหรับระบบประสาทส่วนกลางต้องย้อมสีนาน 15-20 นาที) สีนี้เก็บไว้ใช้ได้อีก
- 11) ล้างอย่างรวดเร็วในน้ำกลั่น
- 12) จุ่มสไลด์ใน glacial acetic acid นาน 3-5 นาที สารละลายใช้แล้วทิ้ง

13) ขจัดน้ำออกด้วย 95% และ 100% alcohol ขจัด alcohol และทำให้ใสในไซลินอย่างละ 2 ครั้ง

14) หยด permount ปิดกระจกปิดสไลด์

ผล

1. Nucleus ตึคสีดำ
2. Cytoplasm, keratin muscular fibers และ intercellular fibers ตึคสีแดง
3. Collagen fibers ตึคสีฟ้า (ถ้าย้อมด้วย light green จะเป็นสีเขียว)

3. ย้อม Weigert's method (Mallory, 1961)

3.1 Weigert's iron hematoxylin solution (เตรียมเหมือน Masson's trichrome method)

3.2 Resorcin – fuchsin solution

3.2.1 Stock solution

Basic fuchsin	2.0	กรัม
Resorcinal	4.0	กรัม
น้ำกลั่น	200.0	มล.

ผสมสารดังกล่าวในบีกเกอร์ นำไปต้มโดยปล่อยให้เดือดนาน 1 นาที จากนั้นเติม 25 มล. ของ 29% สารละลายเฟอริกคลอไรด์ ปล่อยให้เย็นแล้วกรอง ปล่อยให้ตะกอนที่ค้างบนกระดาษกรองนั้นแห้ง แล้วนำกระดาษกรองที่มีตะกอนแห้งอยู่นั้นกลับไปใส่ในบีกเกอร์เดิมที่แห้ง แต่มีคราบของตะกอนติดค้างอยู่บ้าง เติม 95% แอลกอฮอล์ 200 มล. ลงในบีกเกอร์ แล้วให้ความร้อนอย่างระมัดระวัง เพื่อละลายตะกอนจากกระดาษกรอง จนตะกอนละลายหมดจึงทิ้งกระดาษกรองไป จากนั้นจึงเติมกรดไฮโดรคลอริก 4 มล. สารละลายนี้จะเก็บไว้ได้นานหลายเดือน

3.2.2 Working solution

Resorcin – fuchsin, stock	10.0	มล.
Alcohol 70%	100.0	มล.
Hydrochloric acid, conc.	2.0	มล.

3.3 Van Gieson's solution

Acid fuchsin, 1% aqueous	2.5	มล.
Picric acid, saturated aqueous	97.5	มล.

วิธีการย้อมสี Weigert's method

- 1) ล้างพาราฟินออก แล้วเอาน้ำเข้าเนื้อเยื่อจนถึงน้ำกลั่น
- 2) จุ่มสไลด์ใน Weigert's iron hematoxylin solution นาน 10 นาที
- 3) ล้างอย่างดีในน้ำ จะทำให้สีเข้มยิ่งขึ้น
- 4) จุ่มใน Resorcin – fuchsin นาน 30 นาที หรือนานกว่า
- 5) ล้างอย่างรวดเร็วใน 95% alcohol
- 6) ล้างในน้ำประปา
- 7) จุ่มใน Van Gieson's solution นาน 1 นาที (สารละลายนี้เก็บไว้ใช้ได้อีก) ถ้าย้อมสีมากเกินไป น้ำจะเป็นตัวล้างสารละลายสีแวนก็สันส่วนเกินออกได้
- 8) ขจัดน้ำออกด้วย 95% และ 100% alcohol ขจัด alcohol และทำให้สไลด์ในไซลิน อย่างละ 2 ครั้ง
- 9) หยอด permount ปิดกระจกปิดสไลด์

ผล


1. Elastic fibers ติดสีน้ำเงินดำถึงดำ
2. Nucleus ติดสีน้ำเงินถึงดำ
3. Collagen fibers ติดสีชมพูถึงสีแดง
4. เนื้อเยื่ออื่นๆ ติดสีเหลือง

ภาคผนวก ข

วิธีการวิเคราะห์ความเข้มสีโดยโปรแกรม Olympus Micro Image 4.5

วิธีการวิเคราะห์ความเข้มสีโดยโปรแกรม Olympus Micro Image 4.5

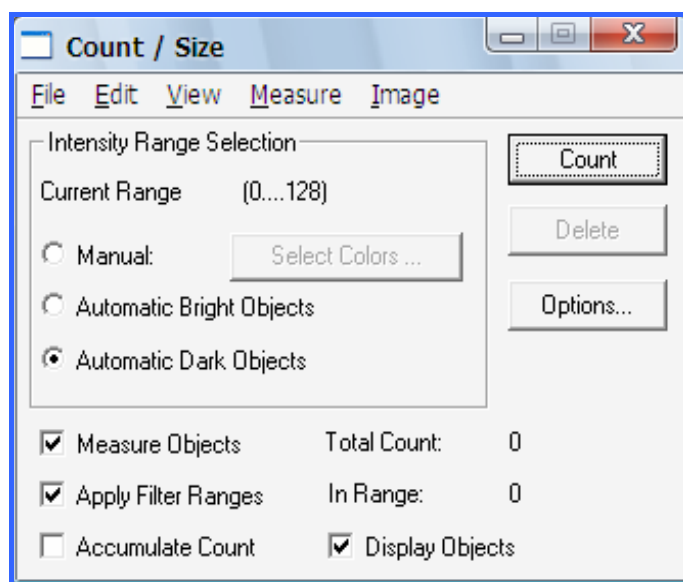
โปรแกรม Olympus Micro Image 4.5 (OMI 4.5) เป็นโปรแกรมจากบริษัท Olympus มีจุดประสงค์เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ภาพถ่ายทางวิทยาศาสตร์ ซึ่งมีหลายรูปแบบ แต่สำหรับการทดลองในครั้งนี้ จะใช้ Histogram menu เพื่อนำมาวิเคราะห์ความเข้มสี โดยใน Histogram menu ของโปรแกรม OMI 4.5 นี้ จะทำการคำนวณค่าความเข้มสีน้ำเงินของ collagen fibers และสีแดงของ muscular fibers ในผิวหนังชั้น dermis ซึ่งในการทดลองนี้ จะใช้ภาพถ่ายที่ได้จากกล้องถ่ายภาพดิจิทัล Olympus DP70

ในการวิเคราะห์ความเข้มสีนั้นสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ขั้นตอน คือ การ Calibrate สีเพื่อกำหนดมาตรฐาน และจากนั้นจึงทำการวิเคราะห์ความเข้มสีตามต้องการ โดยในขั้นแรกนั้น เมื่อเปิดใช้โปรแกรมนี้เป็นครั้งแรกต้องทำการ Calibrate เพื่อตั้งค่ามาตรฐานให้กับโปรแกรมเสียก่อน ซึ่งทำได้โดยในขั้นแรกต้องเปิด file ภาพถ่ายที่ต้องการ โดยเลือกปุ่ม  จากนั้นเลือก “Measure menu” บน Toolbar จากนั้นเลือก “Calibration” และ “Intensity” ตามลำดับ บนหน้าจอจะปรากฏหน้าต่าง Intensity Calibration ขึ้นมา จากนั้นเลือก New menu กำหนดให้เป็น free form กดปุ่ม ok

แล้วจึงเลือก “Options... menu” เพื่อกำหนดค่า Input และ Output ของการวิเคราะห์ความเข้มสี ซึ่งจะเป็นการเปรียบเทียบโดยใช้โทนสีขาว-ดำ โดยจะต้องตั้งค่าความเข้มสีให้อยู่ระหว่าง 0 ซึ่งเป็นค่าความเข้มสีสูงสุด ถึง 255 ซึ่งเป็นความเข้มสีต่ำสุด โดยในการทดลองครั้งนี้จะแสดงผลลัพธ์ออกมาในรูปของเปอร์เซ็นต์ความเข้มสี จึงตั้งค่า 0 ในช่อง Input เพื่อใช้เป็นตัวแทนของความเข้มสีสูงสุด และตั้งค่า 100 ในช่อง Output โดยเมื่อแสดงผลออกมาจะออกมาในรูปของค่า 100% จากนั้นทำการตั้งค่า input ของ Intensity เป็น 0 เพื่อใช้เป็นตัวแทนของความเข้มสีต่ำสุด และตั้งค่า Output เป็น 200 ซึ่งจะทำให้แสดงผลออกมาในรูปของ 0% (เนื่องจากทางโปรแกรมได้ตั้งค่าไว้เป็นมาตรฐาน ดังนั้น ในการตั้งค่าตามความต้องการนั้นต้องลบค่าเดิมทิ้ง โดยเลือกค่าที่ต้องการลบ จากนั้นเลือกปุ่ม “Delete” จากนั้นจึงตั้งค่าตามต้องการได้โดยเลือกปุ่ม “Add” เพื่อเพิ่มค่าที่ต้องการ) จากนั้นคลิกปุ่ม “OK” เพื่อบันทึกการตั้งค่า และเลือก unit name เพื่อกำหนดหน่วยของค่าที่แสดงผลออกมา โดยในที่นี้กำหนดให้เป็น pixel และกำหนดชื่อของการตั้งค่า จากนั้นเลือกปุ่ม “Close” เพื่อบันทึกการตั้งค่า

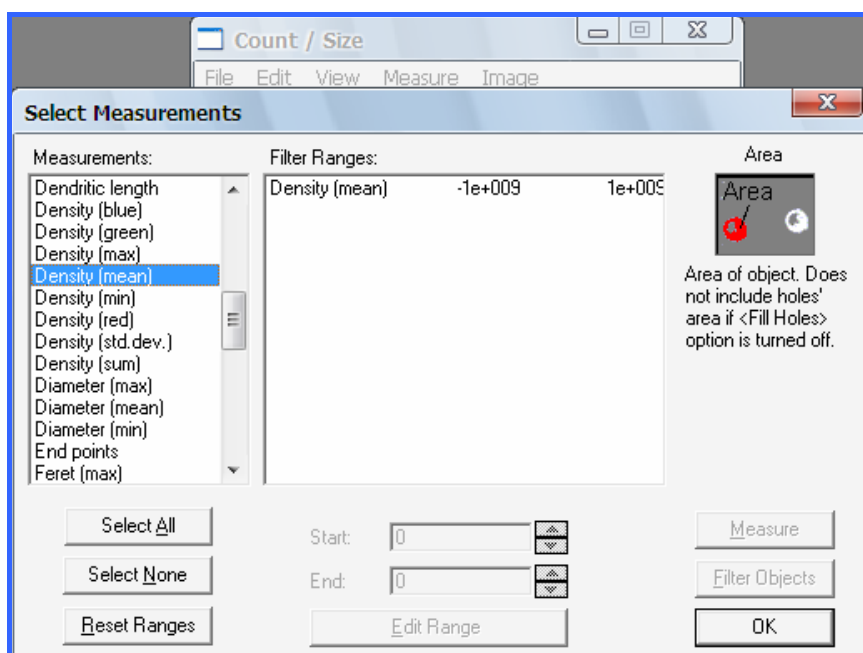
และเริ่มการวิเคราะห์ความเข้มสีจากภาพถ่ายโดยใช้ Histogram based โดยเริ่มจากการเลือก “Count/Size menu” บน Toolbar

จะปรากฏ Count/Size window ขึ้นมา




ภาพผนวกที่ ข1 แสดงหน้าต่าง Count/Size

ทำการกำหนดค่าที่ต้องการให้โปรแกรมคำนวณโดยเลือก “Measure menu” บน Toolbar ของหน้าต่าง Count/Size เลือก “Select Measurement menu” จะปรากฏหน้าต่าง Select Measurement ขึ้นมา เลือกค่าที่ต้องการซึ่งในการทดลองนี้ต้องการคือค่า Area และ Density (mean) จากนั้นเลือกปุ่ม “OK” เพื่อจบการตั้งค่า



ภาพผนวกที่ ข2 แสดงหน้าต่าง Select Measurements เพื่อกำหนดค่าที่ต้องการ

จากนั้นเลือกช่อง “manual” บนหน้าต่าง Count/Size และเลือกปุ่ม “Select Colors...” จะปรากฏหน้าต่าง Segmentation – (ชื่อภาพที่ต้องการวิเคราะห์) และเลือก “Histogram based” เพื่อเข้าสู่ Histogram based window และมีสัญลักษณ์  ให้เลือกที่ปุ่มสัญลักษณ์นี้

จากนั้นคลิกที่ภาพถ่ายโดยเลือกบริเวณที่ติดสีน้ำเงินของcollagen fibers ติดสีแดงของ muscular fibers ในผิวหนังชั้น Dermis โดยในทุกบริเวณของภาพถ่ายที่มีสีน้ำเงินและสีแดง จะเปลี่ยนเป็นสีแดงสด

เมื่อทำการเลือกสีจนเป็นที่พอใจแล้ว เลือกปุ่ม “Close” เพื่อปิดหน้าต่างเลือกสี และเลือกปุ่ม “Count” เพื่อให้โปรแกรมทำการวิเคราะห์ค่าความเข้มสี แต่หากต้องการทราบค่าความเข้มสีของสีน้ำเงินและสีแดง ในแต่ละเซลล์นั้นสามารถทำได้โดย double lick ที่บริเวณที่ต้องการ บนหน้าจอจะปรากฏเปอร์เซ็นต์ความเข้มสีของสีน้ำเงินและสีแดง ในบริเวณนั้นๆ และหากต้องการทราบผลทั้งหมดสามารถดูได้จากการเลือก “View menu” บน Toolbar ของ Count/Size window เลือก “Measurent data” จะปรากฏหน้าต่างแสดงค่าความเข้มสีในแต่ละเซลล์ออกมาในรูปแบบของตาราง และสามารถส่งค่าที่ได้ในรูปแบบของตารางไปยังโปรแกรม Microsoft excel เพื่อนำค่าที่ได้ไปใช้ในการวิเคราะห์ทางสถิติต่อไปได้ โดยเปิดโปรแกรม Microsoft excel จากนั้นกลับมายังโปรแกรม

OMI เลือก “File menu” บน Toolbar ของหน้าต่าง Measurement data จากนั้นเลือก “Export Data menu” ข้อมูลทั้งหมดในตารางจะไปปรากฏอยู่ในตารางของโปรแกรม Microsoft excel ต่อไป

ซึ่งในการทดลองนี้ กำหนดให้ทำการวิเคราะห์ collagen fibers และ muscular fibers ของผิวหนังกระเซ้บริเวณด้านบนรักแร้ บริเวณแก้มและระหว่างแก้ม ของกระเซ้ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยว จำนวน 10 ตัว และที่เลี้ยงแบบขังรวมจำนวน 10 ตัว โดยแต่ละตัวทำการวิเคราะห์ 10 slides สรุปทำการวิเคราะห์ collagen fibers จำนวน 400 slides muscular fibers จำนวน 400 slides โดยแสดงค่าออกมาเป็น pixel

ภาคผนวก ค

ข้อมูลจากการวิเคราะห์ โดยวิธี Weibel's surface-to-volume estimation

ตารางผนวกที่ ค1 แสดงข้อมูลจากการวิเคราะห์ค่าประมาณการ collagen fibers โดยวิธี Weibel's surface-to-volume estimation

Crocodile No.	Slide No.	Individual cultivation		Congregated cultivation	
		Scalar area	Interscalar area	Scalar area	Interscalar area
1	1	49	57	73	51
	2	61	55	51	30
	3	61	36	64	39
	4	74	49	67	54
	5	58	44	63	46
	6	48	40	66	28
	7	33	20	60	35
	8	41	27	54	47
	9	66	40	58	34
	10	47	17	65	17
2	1	55	49	64	18
	2	39	49	74	18
	3	72	46	78	46
	4	43	64	58	73
	5	67	82	61	22
	6	61	28	59	27
	7	55	19	82	44
	8	59	27	77	17
	9	73	45	51	39
	10	51	30	68	46
3	1	65	67	66	40
	2	42	73	69	23
	3	28	52	79	75
	4	88	70	82	42
	5	59	49	75	63
	6	80	80	57	26
	7	70	82	58	25
	8	66	69	70	46
	9	74	74	72	52
	10	67	83	56	43

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

Crocodile No.	Slide No.	Individual cultivation		Congregated cultivation	
		Scalar area	Interscalar area	Scalar area	Interscalar area
4	1	51	76	49	30
	2	66	61	77	34
	3	58	70	73	41
	4	52	72	67	2
	5	64	68	69	3
	6	68	78	49	16
	7	83	78	72	5
	8	64	68	76	6
	9	69	82	60	6
	10	68	75	70	19
5	1	60	20	81	0
	2	55	56	64	28
	3	63	53	61	11
	4	80	62	62	0
	5	61	42	50	9
	6	58	53	39	6
	7	69	47	76	3
	8	72	59	58	7
	9	76	46	75	50
	10	73	48	66	43
6	1	62	26	64	14
	2	71	77	71	17
	3	72	87	55	8
	4	56	66	87	5
	5	58	66	74	26
	6	64	36	91	13
	7	65	51	69	11
	8	80	41	77	2
	9	82	46	82	2
	10	72	71	68	3

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

Crocodile No.	Slide No.	Individual cultivation		Congregated cultivation	
		Scalar area	Interscalar area	Scalar area	Interscalar area
7	1	66	79	48	41
	2	80	72	56	17
	3	78	41	67	18
	4	60	46	57	18
	5	71	39	70	12
	6	77	33	61	30
	7	83	62	79	25
	8	72	80	65	16
	9	76	61	64	28
	10	85	14	68	44
8	1	72	57	66	45
	2	85	72	73	52
	3	72	30	64	42
	4	64	39	66	23
	5	81	38	68	33
	6	65	46	68	45
	7	82	70	78	51
	8	78	52	68	43
	9	82	53	61	38
	10	85	40	69	31
9	1	7	6	72	23
	2	41	7	68	13
	3	36	11	53	10
	4	46	16	72	6
	5	1	0	78	26
	6	25	18	33	17
	7	25	0	55	36
	8	36	7	69	35
	9	29	5	64	17
	10	44	28	72	27

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

Crocodile No.	Slide No.	Individual cultivation		Congregated cultivation	
		Scalar area	Interscalar area	Scalar area	Interscalar area
10	1	46	35	73	43
	2	45	32	74	15
	3	41	4	73	46
	4	48	19	76	65
	5	51	20	79	15
	6	47	7	72	15
	7	55	12	53	14
	8	32	9	59	15
	9	23	15	55	10
	10	36	3	82	15

ตารางผนวกที่ ค2 แสดงข้อมูลจากการวิเคราะห์ค่าประมาณการ muscular fibers โดยวิธี Weibel's surface-to-volume estimation

Crocodile No.	Slide No.	Individual cultivation		Congregated cultivation	
		Scalar area	Interscalar area	Scalar area	Interscalar area
1	1	7	17	7	40
	2	1	21	31	42
	3	5	22	21	49
	4	4	11	10	22
	5	5	5	11	36
	6	6	29	13	47
	7	6	22	13	44
	8	5	16	13	38
	9	8	33	10	56
	10	14	45	4	59

ตารางผนวกที่ ค2 (ต่อ)

Crocodile No.	Slide No.	Individual cultivation		Congregated cultivation	
		Scalar area	Interscalar area	Scalar area	Interscalar area
2	1	13	9	4	59
	2	24	33	5	79
	3	10	38	0	36
	4	13	12	5	17
	5	9	2	0	60
	6	18	48	5	59
	7	15	66	0	35
	8	13	45	0	76
	9	12	37	2	39
	10	33	48	0	43
3	1	0	0	0	44
	2	0	4	12	69
	3	0	1	0	10
	4	0	3	0	56
	5	0	17	0	21
	6	1	0	0	63
	7	0	0	0	71
	8	1	17	7	31
	9	0	0	0	33
	10	0	2	5	26
4	1	12	10	31	56
	2	1	19	11	60
	3	8	20	11	52
	4	0	2	23	80
	5	0	12	13	86
	6	3	0	39	66
	7	0	0	13	86
	8	0	0	8	80
	9	0	0	19	80
	10	0	0	8	60

ตารางผนวกที่ ค2 (ต่อ)

Crocodile No.	Slide No.	Individual cultivation		Congregated cultivation	
		Scalar area	Interscalar area	Scalar area	Interscalar area
5	1	9	61	2	88
	2	14	11	10	56
	3	4	24	10	80
	4	0	15	18	91
	5	3	33	35	77
	6	18	16	36	73
	7	6	18	4	81
	8	4	6	14	82
	9	4	32	7	39
	10	0	3	10	46
6	1	15	56	29	58
	2	1	11	4	54
	3	1	3	33	76
	4	2	11	7	86
	5	7	8	14	52
	6	3	50	5	71
	7	6	32	16	68
	8	6	44	15	80
	9	3	31	2	83
	10	3	10	9	76
7	1	3	13	5	35
	2	1	14	6	56
	3	3	34	8	58
	4	3	38	14	38
	5	12	34	13	57
	6	14	48	6	52
	7	4	22	1	46
	8	17	5	7	65
	9	9	20	20	49
	10	6	68	11	46

ตารางผนวกที่ ค2 (ต่อ)

Crocodile No.	Slide No.	Individual cultivation		Congregated cultivation	
		Scalar area	Interscalar area	Scalar area	Interscalar area
8	1	0	29	10	47
	2	2	11	7	27
	3	10	54	9	46
	4	3	45	8	51
	5	1	58	0	55
	6	23	48	4	47
	7	3	27	2	28
	8	12	37	13	42
	9	0	44	7	46
	10	4	53	8	48
9	1	57	75	1	53
	2	35	62	6	67
	3	33	73	28	69
	4	24	52	8	56
	5	66	81	1	52
	6	32	48	54	66
	7	48	75	11	51
	8	32	63	15	45
	9	45	49	5	62
	10	36	68	7	58
10	1	30	55	8	35
	2	29	43	13	57
	3	22	67	11	34
	4	21	64	12	20
	5	21	65	5	85
	6	34	58	20	81
	7	32	81	36	77
	8	32	70	35	79
	9	41	53	42	71
	10	40	77	12	73

ตารางผนวกที่ ค3 แสดงข้อมูลจากการวิเคราะห์ค่าประมาณการ elastic fibers โดยวิธี Weibel's surface-to-volume estimation

Crocodile No.	Slide No.	Individual cultivation		Congregated cultivation	
		Scalar area	Interscalar area	Scalar area	Interscalar area
1	1	3	0	8	1
	2	3	1	8	4
	3	1	0	2	0
	4	3	0	2	2
	5	1	0	4	2
	6	2	1	2	1
	7	2	1	4	1
	8	3	0	1	1
	9	2	0	4	2
	10	2	0	5	1
2	1	2	3	4	2
	2	2	3	7	3
	3	2	0	3	2
	4	3	0	3	2
	5	1	1	2	2
	6	3	0	5	3
	7	1	1	3	2
	8	1	2	4	2
	9	3	0	5	3
	10	2	0	4	5
3	1	2	1	3	1
	2	3	0	5	3
	3	3	1	1	2
	4	1	1	3	1
	5	1	1	2	2
	6	1	3	3	1
	7	3	0	5	1
	8	2	0	2	1
	9	4	1	3	0
	10	2	2	6	2

ตารางผนวกที่ ค3 (ต่อ)

Crocodile No.	Slide No.	Individual cultivation		Congregated cultivation	
		Scalar area	Interscalar area	Scalar area	Interscalar area
4	1	1	0	2	1
	2	3	0	1	1
	3	1	1	2	2
	4	2	0	1	0
	5	2	1	1	1
	6	2	0	1	0
	7	1	0	4	0
	8	1	1	4	0
	9	1	0	3	2
	10	2	2	1	0
5	1	5	0	6	1
	2	4	1	4	3
	3	5	0	3	1
	4	2	3	4	1
	5	1	1	4	1
	6	3	1	7	1
	7	2	1	5	0
	8	2	1	2	1
	9	2	2	2	3
	10	2	1	2	2
6	1	1	1	5	0
	2	0	2	2	2
	3	2	1	8	2
	4	2	2	5	3
	5	2	2	8	1
	6	2	1	2	0
	7	2	2	2	2
	8	1	2	3	1
	9	3	1	5	2
	10	0	3	5	1

ตารางผนวกที่ ค3 (ต่อ)

Crocodile No.	Slide No.	Individual cultivation		Congregated cultivation	
		Scalar area	Interscalar area	Scalar area	Interscalar area
7	1	1	0	2	1
	2	3	0	3	2
	3	2	1	1	0
	4	6	0	5	2
	5	1	0	3	4
	6	1	1	3	2
	7	3	2	2	1
	8	4	2	3	1
	9	2	1	1	1
	10	3	0	1	1
8	1	1	0	9	1
	2	1	0	1	1
	3	2	1	1	2
	4	1	0	2	3
	5	1	2	3	0
	6	2	2	5	1
	7	1	1	5	5
	8	6	0	3	2
	9	2	1	2	1
	10	2	3	5	3
9	1	2	0	4	0
	2	2	1	3	1
	3	1	0	2	1
	4	1	0	3	1
	5	5	1	2	1
	6	2	1	1	1
	7	5	1	4	2
	8	5	1	4	1
	9	3	0	6	2
	10	5	0	3	2

ตารางผนวกที่ ค3 (ต่อ)

Crocodile No.	Slide No.	Individual cultivation		Congregated cultivation	
		Scalar area	Interscalar area	Scalar area	Interscalar area
10	1	5	0	4	2
	2	2	0	3	1
	3	3	0	2	2
	4	6	0	1	1
	5	2	0	3	1
	6	1	1	2	4
	7	2	1	6	3
	8	3	0	2	1
	9	1	0	1	1
	10	1	1	1	2

ภาคผนวก ง

ข้อมูลจากการวิเคราะห์ โดยวิธี Image Analysis โปรแกรม Olympus Micro Image 4.5

ตารางผนวกที่ ง1 แสดงข้อมูลจากการวิเคราะห์ค่าประมาณการ collagen fibers โดยวิธี Image Analysis โปรแกรม Olympus Micro Image 4.5

Crocodile No.	Slide No.	Individual cultivation		Congregated cultivation	
		Scalar area	Interscalar area	Scalar area	Interscalar area
1	1	3714.04	3191.06	2729.36	1973.16
	2	3681.96	2832.88	1213.06	1887.00
	3	2907.77	2308.98	1823.42	1884.71
	4	3710.35	2844.77	1401.14	2472.20
	5	2641.91	2831.17	1814.09	1814.04
	6	2580.02	2111.45	2332.64	1252.14
	7	2089.33	2248.37	3255.64	1460.71
	8	2418.72	1217.98	2905.85	1539.45
	9	3447.62	1557.98	2802.49	1210.83
	10	2539.30	902.90	2826.37	1059.24
2	1	2739.20	1285.35	2297.73	709.76
	2	3145.40	1699.04	2404.31	1072.71
	3	1372.59	1559.40	2827.37	2327.68
	4	2346.94	2733.29	2941.47	1793.53
	5	2569.07	1620.15	2692.66	1415.43
	6	2526.46	990.78	2339.02	1550.12
	7	3133.21	1326.13	2536.12	1242.12
	8	3341.44	1519.53	1933.43	1135.16
	9	2399.31	983.71	2021.18	2228.98
	10	3141.31	1431.40	2487.41	1382.46
3	1	2793.23	3675.90	2663.53	2128.21
	2	2856.46	3524.25	2820.08	1136.72
	3	2702.10	3924.62	3056.36	3494.13
	4	2486.38	3032.14	3340.78	1687.50
	5	2489.89	1822.21	3341.70	2162.39
	6	3544.39	3093.53	2523.45	835.95
	7	3379.03	3994.56	3338.64	1242.43
	8	3281.31	3444.98	3320.48	2829.76
	9	3645.71	3516.10	3717.34	2607.59
	10	3276.82	2940.15	3590.97	1918.11

ตารางผนวกที่ ง1 (ต่อ)

Crocodile No.	Slide No.	Individual cultivation		Congregated cultivation	
		Scalar area	Interscalar area	Scalar area	Interscalar area
4	1	1991.66	2738.64	1779.11	1699.90
	2	3003.97	1790.73	1782.09	1287.25
	3	1603.01	1652.89	2784.97	904.93
	4	2412.26	2797.76	2677.83	464.05
	5	3289.25	3138.66	2267.06	115.63
	6	3211.50	3678.24	2242.65	738.62
	7	2906.43	3822.78	2737.67	323.83
	8	3321.91	3504.00	2165.36	398.51
	9	3066.11	3582.87	2504.15	543.91
	10	2590.94	2620.08	2779.38	915.69
5	1	2931.55	1178.66	2597.56	225.77
	2	2576.98	2177.02	1940.48	966.83
	3	2988.72	1193.04	2852.09	609.94
	4	2352.29	2289.34	2913.85	255.84
	5	2396.43	1754.97	2250.83	449.04
	6	2791.12	2259.04	1921.61	337.21
	7	2659.06	1925.44	2950.73	461.89
	8	2826.37	2164.25	2408.01	284.92
	9	2859.84	2503.06	2918.12	1762.61
	10	3764.14	2942.65	3132.15	2118.58
6	1	1869.17	1050.55	2415.60	1321.70
	2	2510.61	2523.87	3711.91	1285.80
	3	2954.65	2877.72	2958.64	481.62
	4	2499.71	2067.92	3188.95	101.78
	5	2086.73	2380.12	3160.51	1109.87
	6	3024.20	1093.96	3438.91	539.87
	7	2319.10	2124.96	4035.68	356.12
	8	2594.37	1985.90	2973.38	129.22
	9	1790.97	1100.73	3893.41	209.89
	10	2640.91	3049.92	3364.36	180.18

ตารางผนวกที่ ง1 (ต่อ)

Crocodile No.	Slide No.	Individual cultivation		Congregated cultivation	
		Scalar area	Interscalar area	Scalar area	Interscalar area
7	1	1713.95	1266.25	2915.98	1526.97
	2	2378.54	1740.90	2647.97	887.83
	3	3152.62	1377.37	3282.89	1035.54
	4	1900.01	1859.75	3065.67	1351.72
	5	2622.81	1518.91	2835.25	694.60
	6	2557.22	1295.85	2878.54	1245.73
	7	2999.88	1583.17	3331.22	1597.23
	8	2292.80	2866.06	2730.21	744.69
	9	2520.02	1572.49	2609.93	1401.82
	10	1433.77	424.50	3293.79	1523.63
8	1	2557.19	1457.96	3377.20	1480.21
	2	2350.95	2309.85	3269.30	1768.05
	3	3094.06	878.94	2644.54	1501.73
	4	2804.76	1717.76	3256.64	936.43
	5	3128.88	777.35	3562.53	1384.33
	6	2019.30	1983.00	3113.79	1618.87
	7	2948.96	2023.44	3423.42	2437.03
	8	2998.27	2093.67	3350.08	1498.41
	9	2806.10	690.69	3295.13	1407.24
	10	3342.39	920.08	3218.97	2168.59
9	1	413.19	194.25	3205.39	1192.36
	2	1218.35	587.38	3065.01	1371.62
	3	1652.37	814.70	2956.16	758.28
	4	1009.40	747.07	2845.99	390.58
	5	771.87	52.50	3183.28	1273.61
	6	834.02	1686.53	834.63	929.89
	7	1008.38	364.57	2348.36	1792.80
	8	1164.69	532.48	3478.03	1441.34
	9	732.00	431.12	3254.38	912.37
	10	1245.49	1058.45	3497.21	1834.30

ตารางผนวกที่ ง1 (ต่อ)

Crocodile No.	Slide No.	Individual cultivation		Congregated cultivation	
		Scalar area	Interscalar area	Scalar area	Interscalar area
10	1	1283.98	424.61	3808.25	1483.10
	2	1745.62	658.18	3104.63	1054.77
	3	1796.15	366.54	2992.93	1383.65
	4	1829.39	985.90	3067.36	2553.00
	5	1800.37	1342.28	3186.74	316.20
	6	1529.78	286.37	3391.53	1078.31
	7	1116.25	423.34	2270.01	392.05
	8	871.42	1213.56	2037.27	454.71
	9	1312.47	704.04	2290.74	480.95
	10	834.15	1208.90	3412.05	875.81

ตารางผนวกที่ ง2 แสดงข้อมูลจากการวิเคราะห์ค่าประมาณการ muscular fibers โดยวิธี Image Analysis โปรแกรม Olympus Micro Image 4.5

Crocodile No.	Slide No.	Individual cultivation		Congregated cultivation	
		Scalar area	Interscalar area	Scalar area	Interscalar area
1	1	1063.46	699.89	826.76	1761.01
	2	151.64	1694.77	1876.22	2658.85
	3	715.88	2411.83	1687.99	2251.19
	4	234.51	1228.32	1479.84	2231.36
	5	256.56	716.62	1695.87	2645.47
	6	497.31	2257.45	874.10	3056.80
	7	773.71	2070.35	1617.28	2719.87
	8	736.02	1549.59	958.27	2747.99
	9	930.82	2625.37	636.40	3271.94
	10	1029.95	3276.14	1400.40	3235.67

ตารางผนวกที่ ง2 (ต่อ)

Crocodile No.	Slide No.	Individual cultivation		Congregated cultivation	
		Scalar area	Interscalar area	Scalar area	Interscalar area
2	1	689.82	541.64	829.56	3941.98
	2	891.69	1849.33	330.72	3481.97
	3	889.26	2144.28	1006.61	1853.84
	4	1494.95	1368.38	1773.78	2441.80
	5	544.07	204.85	324.65	3164.34
	6	1338.82	2333.45	646.68	3035.67
	7	1108.05	2943.45	1004.29	2856.83
	8	1208.48	2386.22	918.60	3688.87
	9	490.08	2801.85	473.31	2280.19
	10	1526.08	2385.03	479.22	1699.67
3	1	1202.14	177.55	859.35	2160.87
	2	997.67	405.85	652.62	3315.39
	3	147.36	255.10	666.74	904.09
	4	498.02	710.74	454.08	3028.98
	5	623.15	1732.27	241.89	2366.67
	6	141.91	1034.60	478.01	2915.14
	7	174.94	194.83	287.42	3413.13
	8	160.59	1079.16	559.08	1483.89
	9	183.04	129.87	159.84	1846.88
	10	262.25	472.15	258.94	2052.86
4	1	2714.51	860.16	2127.53	3189.29
	2	687.95	1351.62	1677.04	3213.19
	3	684.72	2847.97	1141.44	3403.88
	4	341.45	147.45	1328.41	4096.76
	5	107.93	1192.15	834.79	4472.63
	6	219.10	718.13	2142.21	3706.31
	7	421.63	614.37	786.43	4247.89
	8	344.48	347.49	1712.86	3975.93
	9	196.64	208.25	882.30	3762.90
	10	237.67	143.07	701.51	3516.84

ตารางผนวกที่ ง2 (ต่อ)

Crocodile No.	Slide No.	Individual cultivation		Congregated cultivation	
		Scalar area	Interscalar area	Scalar area	Interscalar area
5	1	1152.04	2539.67	664.28	4349.99
	2	946.74	640.51	558.07	3588.75
	3	1031.64	2059.30	1175.55	3986.62
	4	551.97	1626.06	1276.57	4375.98
	5	60.79	2355.67	1994.32	4119.39
	6	322.94	512.56	2784.02	3982.45
	7	534.04	480.25	760.60	3505.18
	8	1036.05	948.77	1557.21	4279.11
	9	189.53	1502.66	579.99	2327.34
	10	356.91	375.94	646.87	2446.44
6	1	696.12	2982.12	2297.41	3214.86
	2	102.15	644.66	413.81	2344.45
	3	320.72	713.91	1760.56	4006.05
	4	185.93	554.77	1246.84	4655.70
	5	113.92	522.77	1300.57	3015.57
	6	309.64	2511.34	1365.49	4057.87
	7	1070.79	1850.79	502.12	3404.36
	8	770.91	1917.73	1444.01	2973.38
	9	807.59	2514.72	462.10	4020.49
	10	315.29	1495.27	1242.11	4070.22
7	1	241.70	1907.89	148.45	2466.71
	2	258.78	1852.55	754.19	3304.36
	3	159.63	1901.91	1192.72	3138.04
	4	916.68	2385.96	895.75	2752.78
	5	1133.29	1885.03	1558.97	3070.58
	6	1178.21	3032.14	926.06	3363.89
	7	1804.74	1510.96	484.63	2967.92
	8	872.59	335.12	251.55	3310.81
	9	1450.61	2213.10	1011.33	3168.32
	10	1421.95	3434.05	406.74	3110.76

ตารางผนวกที่ ง2 (ต่อ)

Crocodile No.	Slide No.	Individual cultivation		Congregated cultivation	
		Scalar area	Interscalar area	Scalar area	Interscalar area
8	1	1285.19	2725.87	686.25	2694.53
	2	973.79	1345.47	654.39	1766.18
	3	788.43	3873.67	885.36	3217.17
	4	270.44	2762.18	883.49	2880.69
	5	73.16	3051.42	344.12	2968.98
	6	1567.34	2354.46	595.05	2779.93
	7	831.31	482.38	242.12	1458.47
	8	368.87	2441.57	756.16	2790.65
	9	267.50	3709.09	485.08	3402.74
	10	1195.07	2962.94	454.00	2491.72
9	1	2500.10	3857.98	606.93	3320.25
	2	1328.14	3015.36	181.42	3125.11
	3	1684.42	3341.35	1175.94	3436.30
	4	1652.05	2838.57	1076.33	3201.56
	5	2774.18	4245.34	258.94	2824.52
	6	885.43	2105.12	3480.44	3539.56
	7	1768.24	3594.75	686.00	2702.34
	8	1035.29	2772.49	699.39	2408.82
	9	1699.56	2325.02	328.77	3260.86
	10	1216.74	2545.77	446.88	2829.93
10	1	1111.98	3192.57	570.86	2672.74
	2	1724.89	2449.43	545.22	3119.85
	3	1081.21	2662.82	1064.20	1969.34
	4	758.59	2795.82	1011.09	1594.91
	5	842.02	3184.75	895.20	4187.00
	6	1124.48	2378.62	1255.33	3291.63
	7	1161.09	3986.33	1566.08	3501.86
	8	659.11	3357.65	1990.89	3945.28
	9	1438.18	2713.74	2053.60	3732.43
	10	1734.50	3598.41	685.01	3579.31

ภาคผนวก จ

ข้อมูลจากการวิเคราะห์ค่าทางสถิติ

ตารางผนวกที่ จ1 แสดงข้อมูลจากการวิเคราะห์ค่าทางสถิติ SPSS ของค่าประมาณการ muscular fibers, collagen fibers, elastic fibers โดยวิธี Weibel's surface-to-volume estimation

Muscular fibers cultivation comparision

Area	n	Surface to Volume Estimation (Mean \pm SD %)		P-value	F	df
		Individual cultivation	Congregated cultivation			
Scalar	10	11.96 \pm 14.167	11.23 \pm 10.795	0.682000	0.168	1,198
Interscalar	10	31.22 \pm 24.054	56.13 \pm 18.494	0.000000	67.402	1,198

Collagen fibers cultivation comparision

Area	n	Surface to Volume Estimation (Mean \pm SD %)		P-value	F	df
		Individual cultivation	Congregated cultivation			
Scalar	10	59.72 \pm 17.682	66.57 \pm 10.082	0.001000	11.326	1,198
Interscalar	10	45.79 \pm 23.876	27.01 \pm 17.420	0.000000	40.377	1,198

Muscular fibers area comparision

Cultivation	n	Surface to Volume Estimation (Mean \pm SD %)		P-value	F	df
		Scalar area	Interscalar area			
Individual	10	11.96 \pm 14.167	31.22 \pm 24.054	0.000000	47.600	1,198
Congregated	10	11.23 \pm 10.795	56.13 \pm 18.494	0.000000	439.663	1,198

Collagen fibers area comparision

Cultivation	n	Surface to Volume Estimation (Mean \pm SD %)		P-value	F	df
		Scalar area	Interscalar area			
Individual	10	59.72 \pm 17.682	45.79 \pm 23.876	0.000000	21.983	1,198
Congregated	10	66.57 \pm 10.082	27.01 \pm 17.420	0.000000	386.336	1,198

ตารางผนวกที่ ๑1 (ต่อ)

Elastic fibers cultivation comparision

Area	n	Surface to Volume Estimation(Mean±SD %)		P-value	F	df
		Individual cultivation	Congregated cultivation			
Scalar	10	2.25±1.321	3.35±1.872	0.000000	23.059	1,198
Interscalar	10	0.81±0.884	1.56±1.095	0.000000	28.408	1,198

Elastic fibers cultivation comparision

Cultivation	n	Surface to Volume Estimation(Mean±SD %)		P-value	F	Df
		Scalar area	Interscalar area			
Individual	10	2.25±1.321	0.81±0.884	0.000000	82.069	1,198
Congregated	10	3.35±1.872	1.56±1.095	0.000000	68.159	1,198

ตารางผนวกที่ จ2 แสดงข้อมูลจากการวิเคราะห์ค่าทางสถิติ SPSS ของค่าประมาณการ muscular fibers, collagen fibers โดยวิธี Image analysis OMI 4.5

Muscular fibers cultivation comparision						
Area	n	Surface to Volume Estimation (Mean \pm SD μm^2)		P-value	F	df
		Individual cultivation	Congregated cultivation			
Scalar	10	830.34 \pm 583.618	970.21 \pm 609.651	0.099000	2.747	1,198
Interscalar	10	1879.91 \pm 1109.686	3081.72 \pm 755.904	0.000000	80.117	1,198

Collagen fibers cultivation comparision						
Area	n	Surface to Volume Estimation (Mean \pm SD μm^2)		P-value	F	df
		Individual cultivation	Congregated cultivation			
Scalar	10	2425.27 \pm 794.171	2823.78 \pm 587.683	0.000000	16.270	1,198
Interscalar	10	1845.75 \pm 996.192	1222.16 \pm 686.189	0.000000	26.576	1,198

Muscular fibers area comparision						
Cultivation	n	Surface to Volume Estimation (Mean \pm SD μm^2)		P-value	F	df
		Scalar area	Interscalar area			
Individual	10	830.34 \pm 583.618	1879.91 \pm 1109.686	0.000000	70.061	1,198
Congregated	10	970.21 \pm 609.651	3081.72 \pm 755.904	0.000000	472.766	1,198

Collagen fibers area comparision						
Cultivation	n	Surface to Volume Estimation (Mean \pm SD μm^2)		P-value	F	df
		Scalar area	Interscalar area			
Individual	10	2425.27 \pm 794.171	1845.75 \pm 996.192	0.000000	20.691	1,198
Congregated	10	2823.78 \pm 587.683	1222.16 \pm 686.189	0.000000	314.276	1,198

ตารางผนวกที่ ๓ แสดงข้อมูลจากการวิเคราะห์ค่าทางสถิติ SPSS ของค่าประมาณของแต่ละขนาดของ collagen fibers โดยวิธี Weibel's surface-to-volume estimation

Collagen size(μm)	Scalar area		$p < 0.05$	F	df
	Surface to Volume Estimation(Mean \pm SD %)				
	Individual cultivation	Congregated cultivation			
<0.50	37.73 \pm 13.801	48.77 \pm 11.000	0.000	39.131	1,198
0.50	7.53 \pm 5.173	12.27 \pm 7.052	0.000	29.373	1,198
1.00	4.04 \pm 4.109	2.37 \pm 2.612	0.001	11.763	1,198
1.50	0.21 \pm 0.820	0.11 \pm 0.469	0.291	1.120	1,198
2.00	4.13 \pm 3.824	1.35 \pm 2.017	0.000	41.356	1,198
3.00	2.17 \pm 2.999	0.66 \pm 1.304	0.000	21.324	1,198
4.00	1.39 \pm 2.054	0.45 \pm 1.431	0.000	14.097	1,198
5.00	1.08 \pm 2.290	0.32 \pm 1.072	0.003	9.032	1,198
6.00	0.76 \pm 1.621	0.08 \pm 0.506	0.000	16.029	1,198
7.00	0.28 \pm 1.272	0.10 \pm 0.503	0.190	1.732	1,198
8.00	0.13 \pm 0.614	0.02 \pm 0.200	0.090	2.903	1,198
9.00	0.18 \pm 0.730	0.01 \pm 0.100	0.022	5.323	1,198
10.00	0.03 \pm 0.300	0.00 \pm 0.000	0.319	1.000	1,198
11.00	0.00 \pm 0.000	0.00 \pm 0.000	-	-	1,198
12.00	0.04 \pm 0.400	0.00 \pm 0.000	0.319	1.000	1,198
13.00	0.00 \pm 0.000	0.02 \pm 0.200	0.319	1.000	1,198
>13.00	0.00 \pm 0.000	0.04 \pm 0.400	0.319	1.000	1,198

Collagen size(μm)	Interscalar area		$p < 0.05$	F	df
	Surface to Volume Estimation(Mean \pm SD %)				
	Individual cultivation	Congregated cultivation			
<0.50	36.26 \pm 21.204	21.09 \pm 15.232	0.000	33.762	1,198
0.50	3.24 \pm 3.745	3.44 \pm 3.322	0.690	0.160	1,198
1.00	1.39 \pm 2.313	0.59 \pm 1.280	0.003	9.156	1,198
1.50	0.06 \pm 0.312	0.00 \pm 0.000	0.056	3.697	1,198
2.00	1.41 \pm 2.686	0.65 \pm 1.598	0.016	5.914	1,198
3.00	0.75 \pm 1.743	0.33 \pm 1.006	0.038	4.357	1,198
4.00	1.01 \pm 2.638	0.37 \pm 1.447	0.035	4.524	1,198
5.00	0.56 \pm 1.623	0.23 \pm 1.162	0.100	2.734	1,198
6.00	0.50 \pm 1.867	0.25 \pm 1.566	0.306	1.053	1,198
7.00	0.23 \pm 0.973	0.03 \pm 0.223	0.046	4.015	1,198
8.00	0.07 \pm 0.408	0.00 \pm 0.000	0.088	2.938	1,198
9.00	0.12 \pm 1.018	0.00 \pm 0.000	0.240	1.390	1,198
10.00	0.13 \pm 0.849	0.00 \pm 0.000	0.127	2.346	1,198
11.00	0.00 \pm 0.000	0.00 \pm 0.000	-	-	1,198
12.00	0.00 \pm 0.000	0.00 \pm 0.000	-	-	1,198
13.00	0.06 \pm 0.600	0.03 \pm 0.300	0.655	0.200	1,198
>13.00	0.00 \pm 0.000	0.00 \pm 0.000	-	-	1,198

ตารางผนวกที่ ๖3 (ต่อ)

Individual cultivation					
Collagen size(μm)	Surface to Volume Estimation(Mean \pm SD %)		$p < 0.05$	F	df
	Scalar area	Interscalar area			
<0.50	37.73 \pm 13.801	36.26 \pm 21.204	0.562	0.338	1,198
0.50	7.53 \pm 5.173	3.24 \pm 3.745	0.000	45.131	1,198
1.00	4.04 \pm 4.109	1.39 \pm 2.313	0.000	31.578	1,198
1.50	0.21 \pm 0.820	0.06 \pm 0.312	0.089	2.922	1,198
2.00	4.13 \pm 3.824	1.41 \pm 2.686	0.000	33.886	1,198
3.00	2.17 \pm 2.999	0.75 \pm 1.743	0.000	16.763	1,198
4.00	1.39 \pm 2.054	1.01 \pm 2.638	0.257	1.292	1,198
5.00	1.08 \pm 2.290	0.56 \pm 1.623	0.065	3.432	1,198
6.00	0.76 \pm 1.621	0.50 \pm 1.867	0.294	1.106	1,198
7.00	0.28 \pm 1.272	0.23 \pm 0.973	0.755	0.097	1,198
8.00	0.13 \pm 0.614	0.07 \pm 0.408	0.417	0.662	1,198
9.00	0.18 \pm 0.730	0.12 \pm 1.018	0.632	0.229	1,198
10.00	0.03 \pm 0.300	0.13 \pm 0.849	0.268	1.234	1,198
11.00	0.00 \pm 0.000	0.00 \pm 0.000	-	-	1,198
12.00	0.04 \pm 0.400	0.00 \pm 0.000	0.319	1.000	1,198
13.00	0.00 \pm 0.000	0.06 \pm 0.600	0.319	1.000	1,198
>13.00	0.00 \pm 0.000	0.00 \pm 0.000	-	-	1,198

Congregated cultivation					
Collagen size(μm)	Surface to Volume Estimation(Mean \pm SD %)		$p < 0.05$	F	df
	Scalar area	Interscalar area			
<0.50	48.77 \pm 11.000	21.09 \pm 15.232	0.000	217.043	1,198
0.50	12.27 \pm 7.052	3.44 \pm 3.322	0.000	128.299	1,198
1.00	2.37 \pm 2.612	0.59 \pm 1.280	0.000	37.453	1,198
1.50	0.11 \pm 0.469	0.00 \pm 0.000	0.020	5.497	1,198
2.00	1.35 \pm 2.017	0.65 \pm 1.598	0.007	7.400	1,198
3.00	0.66 \pm 1.304	0.33 \pm 1.006	0.046	4.015	1,198
4.00	0.45 \pm 1.431	0.37 \pm 1.447	0.695	0.155	1,198
5.00	0.32 \pm 1.072	0.23 \pm 1.162	0.570	0.324	1,198
6.00	0.08 \pm 0.506	0.25 \pm 1.566	0.303	1.067	1,198
7.00	0.10 \pm 0.503	0.03 \pm 0.223	0.204	1.622	1,198
8.00	0.02 \pm 0.200	0.00 \pm 0.000	0.319	1.000	1,198
9.00	0.01 \pm 0.100	0.00 \pm 0.000	0.319	1.000	1,198
10.00	0.00 \pm 0.000	0.00 \pm 0.000	-	-	1,198
11.00	0.00 \pm 0.000	0.00 \pm 0.000	-	-	1,198
12.00	0.00 \pm 0.000	0.00 \pm 0.000	-	-	1,198
13.00	0.02 \pm 0.200	0.03 \pm 0.300	0.782	0.077	1,198
>13.00	0.04 \pm 0.400	0.00 \pm 0.000	0.319	1.000	1,198

ตารางผนวกที่ ๓4 แสดงข้อมูลจากการวิเคราะห์ค่าทางสถิติ SPSS ของค่าประมาณของแต่ละขนาดของ muscular fibers โดยวิธี Weibel's surface-to-volume estimation

Muscular size(μm)	Scalar area		$p < 0.05$	F	df
	Surface to Volume Estimation(Mean \pm SD %)				
	Individual cultivation	Congregated cultivation			
<0.50	0.22 \pm 0.629	0.08 \pm 0.339	0.051	3.841	1,198
0.50	0.22 \pm 0.596	0.06 \pm 0.278	0.016	5.921	1,198
1.00	1.22 \pm 1.840	0.89 \pm 1.230	0.138	2.223	1,198
1.50	0.07 \pm 0.383	0.06 \pm 0.422	0.861	0.031	1,198
2.00	2.35 \pm 3.242	2.00 \pm 2.632	0.403	0.702	1,198
3.00	2.55 \pm 4.071	1.93 \pm 2.804	0.211	1.573	1,198
4.00	2.14 \pm 3.717	1.70 \pm 2.959	0.356	0.858	1,198
5.00	1.80 \pm 3.393	1.66 \pm 2.288	0.733	0.117	1,198
6.00	0.74 \pm 1.756	1.12 \pm 2.354	0.197	1.674	1,198
7.00	0.42 \pm 1.423	0.99 \pm 2.402	0.042	4.170	1,198
8.00	0.11 \pm 0.567	0.35 \pm 1.175	0.067	3.383	1,198
9.00	0.07 \pm 0.432	0.15 \pm 0.999	0.463	0.540	1,198
10.00	0.00 \pm 0.000	0.07 \pm 0.498	0.161	1.979	1,198
11.00	0.04 \pm 0.400	0.02 \pm 0.200	0.655	0.200	1,198
12.00	0.00 \pm 0.000	0.00 \pm 0.000	-	-	1,198
13.00	0.01 \pm 0.100	0.09 \pm 0.726	0.276	1.191	1,198
>13.00	0.00 \pm 0.000	0.06 \pm 0.600	0.319	1.000	1,198

Muscular size(μm)	Interscalar area		$p < 0.05$	F	df
	Surface to Volume Estimation(Mean \pm SD %)				
	Individual cultivation	Congregated cultivation			
<0.50	1.14 \pm 2.636	0.49 \pm 1.322	0.029	4.858	1,198
0.50	0.12 \pm 0.477	0.59 \pm 1.793	0.012	6.418	1,198
1.00	0.75 \pm 1.610	1.18 \pm 1.839	0.080	3.095	1,198
1.50	0.03 \pm 0.171	0.03 \pm 0.223	1.000	0.000	1,198
2.00	3.12 \pm 4.229	4.48 \pm 4.700	0.033	4.627	1,198
3.00	4.65 \pm 6.390	5.40 \pm 5.902	0.390	0.743	1,198
4.00	4.62 \pm 5.581	6.90 \pm 5.794	0.005	8.033	1,198
5.00	4.52 \pm 5.575	7.10 \pm 6.938	0.004	8.403	1,198
6.00	3.30 \pm 4.268	7.13 \pm 7.438	0.000	19.947	1,198
7.00	3.42 \pm 5.869	5.63 \pm 6.683	0.014	6.174	1,198
8.00	1.21 \pm 3.965	2.67 \pm 4.332	0.014	6.180	1,198
9.00	1.78 \pm 4.941	4.77 \pm 6.752	0.000	12.770	1,198
10.00	0.85 \pm 2.267	3.05 \pm 6.029	0.001	11.665	1,198
11.00	0.26 \pm 1.593	1.57 \pm 4.118	0.003	8.804	1,198
12.00	0.17 \pm 0.911	0.43 \pm 2.244	0.284	1.153	1,198
13.00	0.25 \pm 1.466	0.73 \pm 2.947	0.146	2.127	1,198
>13.00	1.03 \pm 3.540	3.98 \pm 9.770	0.005	8.059	1,198

ตารางผนวกที่ ๔ (ต่อ)

Individual cultivation					
Muscular size(μm)	Surface to Volume Estimation(Mean \pm SD %)		$p < 0.05$	F	df
	Scalar area	Interscalar area			
<0.50	0.22 \pm 0.629	1.14 \pm 2.636	0.001	11.523	1,198
0.50	0.22 \pm 0.596	0.12 \pm 0.477	0.192	1.715	1,198
1.00	1.22 \pm 1.840	0.75 \pm 1.610	0.056	3.695	1,198
1.50	0.07 \pm 0.383	0.03 \pm 0.171	0.341	0.909	1,198
2.00	2.35 \pm 3.242	3.12 \pm 4.229	0.150	2.088	1,198
3.00	2.55 \pm 4.071	4.65 \pm 6.390	0.006	7.682	1,198
4.00	2.14 \pm 3.717	4.62 \pm 5.581	0.000	13.678	1,198
5.00	1.80 \pm 3.393	4.52 \pm 5.575	0.000	17.369	1,198
6.00	0.74 \pm 1.756	3.30 \pm 4.268	0.000	30.775	1,198
7.00	0.42 \pm 1.423	3.42 \pm 5.869	0.000	24.677	1,198
8.00	0.11 \pm 0.567	1.21 \pm 3.965	0.007	7.542	1,198
9.00	0.07 \pm 0.432	1.78 \pm 4.941	0.001	11.885	1,198
10.00	0.00 \pm 0.000	0.85 \pm 2.267	0.000	14.059	1,198
11.00	0.04 \pm 0.400	0.26 \pm 1.593	0.182	1.794	1,198
12.00	0.00 \pm 0.000	0.17 \pm 0.911	0.063	3.484	1,198
13.00	0.01 \pm 0.100	0.25 \pm 1.466	0.104	2.668	1,198
>13.00	0.00 \pm 0.000	1.03 \pm 3.540	0.004	8.464	1,198

Congregated cultivation					
Muscular size(μm)	Surface to Volume Estimation(Mean \pm SD %)		$p < 0.05$	F	df
	Scalar area	Interscalar area			
<0.50	0.08 \pm 0.399	0.49 \pm 1.322	0.003	9.027	1,198
0.50	0.06 \pm 0.278	0.59 \pm 1.793	0.004	8.535	1,198
1.00	0.89 \pm 1.230	1.18 \pm 1.839	0.191	1.718	1,198
1.50	0.06 \pm 0.422	0.03 \pm 0.223	0.530	0.395	1,198
2.00	2.00 \pm 2.632	4.48 \pm 4.700	0.000	21.194	1,198
3.00	1.93 \pm 2.804	5.40 \pm 5.902	0.000	28.204	1,198
4.00	1.70 \pm 2.959	6.90 \pm 5.794	0.000	63.889	1,198
5.00	1.66 \pm 2.288	7.10 \pm 6.938	0.000	55.452	1,198
6.00	1.12 \pm 2.354	7.13 \pm 7.438	0.000	59.342	1,198
7.00	0.99 \pm 2.402	5.63 \pm 6.683	0.000	42.694	1,198
8.00	0.35 \pm 1.175	2.67 \pm 4.332	0.000	26.712	1,198
9.00	0.15 \pm 0.999	4.77 \pm 6.752	0.000	45.813	1,198
10.00	0.07 \pm 0.498	3.05 \pm 6.029	0.000	24.264	1,198
11.00	0.02 \pm 0.200	1.57 \pm 4.118	0.000	14.137	1,198
12.00	0.00 \pm 0.000	0.43 \pm 2.244	0.057	3.672	1,198
13.00	0.09 \pm 0.726	0.73 \pm 2.947	0.036	4.447	1,198
>13.00	0.06 \pm 0.600	3.98 \pm 9.770	0.000	16.038	1,198

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ –นามสกุล	นายคนัย เพียรจริง
วัน เดือน ปี ที่เกิด	13 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2516
สถานที่เกิด	โรงพยาบาลสวรรค์ประชารักษ์ จ.นครสวรรค์
ประวัติการศึกษา	จบการศึกษาระดับประถมศึกษาจาก โรงเรียนเขากบ (วิวัฒน์สุขวิทยา) จ.นครสวรรค์ จบการศึกษาระดับมัธยมศึกษาจาก โรงเรียนนครสวรรค์ จ.นครสวรรค์ จบการศึกษาระดับปริญญาตรีจากคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์