

## บทคัดย่อ

การเกิดตำหนิแบบแถบลายสีขาว (white striping; WS) บนเนื้อส่วนนอกไก่เป็นปัญหาสำคัญของอุตสาหกรรมไก่เนื้อ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อป้องกันข้อบกพร่องที่เกี่ยวข้องกับการเกิดตำหนิ WS บนเนื้อส่วนนอกของไก่เนื้อโดยใช้เทคนิคไมโครอะเรย์ในการวิเคราะห์โปรไฟล์ทรานสคริปโตมของตัวอย่าง งานวิจัยนี้แบ่งออกเป็น 2 ส่วน โดยส่วนแรกเป็นการศึกษาอุบัติการณ์ของตำหนิแบบ WS ในไก่ที่เก็บจากโรงเชือดอุตสาหกรรม รวมทั้งวิเคราะห์ผลกระทบของการเกิดตำหนิต่อคุณภาพของเนื้ออกไก่ ผลการศึกษาตัวอย่างเนื้อตัวผู้สายพันธุ์ Ross 308 (n=184) ที่มีอายุระหว่าง 39 วัน ถึง 49 วัน พบว่า มีเนื้อไก่ 4 ชั้น (คิดเป็น 2.2%) ที่ไม่พบตำหนิดังกล่าว แต่พบว่ามีตัวอย่างเนื้อไก่จำนวน 102 ชิ้น (55%) 71 ชิ้น (39%) และ 7 ชิ้น (3.8%) จัดเป็น WS ระดับเล็กน้อย ปานกลาง และรุนแรงมาก ตามลำดับ ตัวอย่างเนื้อไก่ที่เป็น WS ระดับรุนแรงมากประกอบด้วยไขมันมากขึ้น แต่มีโปรตีนและเถ้าลดลง ( $p < 0.05$ ) ลักษณะภาพตัดขวางเส้นใยกล้ามเนื้อเมื่อส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน พบว่า ตัวอย่างที่มีตำหนิ WS แบบรุนแรงมากมีพื้นที่หน้าตัดใหญ่กว่าระดับรุนแรงเล็กน้อยและตัวอย่างที่ไม่ผิดปกติ ตัวอย่างเนื้อไก่ที่มีตำหนิมีค่า pH สูงแต่ปริมาณกรดแลคติกต่ำกว่าตัวอย่างที่ไม่มีตำหนิอย่างมีนัยสำคัญ ตัวอย่างที่มีตำหนิระดับรุนแรงมากเมื่อทำให้สุกมีค่า hardness springiness และ chewiness สูง แต่มีค่าแรงและพลังงานที่ใช้เคี้ยวผ่านตัวอย่างต่ำกว่าตัวอย่างที่ไม่มีตำหนิอย่างมีนัยสำคัญ จากการวิเคราะห์ ordinal logistic regression model (OLR) พบว่าหากเพิ่มอายุของไก่ 1 วัน หรือเพิ่มสัดส่วนเนื้ออกขึ้น 1 % จะทำให้มีโอกาสเกิด WS ระดับรุนแรงขึ้น 11.8% และ 51.5% ตามลำดับ ในงานวิจัยส่วนที่สองเป็นการเปรียบเทียบการแสดงออกของยีนในกล้ามเนื้อ *pectoralis major* ในกลุ่มตัวอย่างที่มีตำหนิ WS ระดับต่างๆ โดยใช้ total RNA จากกล้ามเนื้อของตัวอย่างที่มีตำหนิระดับเล็กน้อย (n=6) ระดับปานกลาง (n=6) และระดับรุนแรงมาก (n=4) สำหรับไฮบริดกับ Agilent SurePrint G3 Custom GE 8×60K chicken gene expression ไมโครอะเรย์ พบว่ามียีนที่แสดงออกแตกต่างกัน (DEGs) เมื่อเปรียบเทียบตัวอย่างระหว่างระดับรุนแรงต่อระดับเล็กน้อย (WS1) จำนวน 2,517 ยีน เปรียบเทียบระหว่างระดับรุนแรงต่อระดับปานกลาง (WS2) จำนวน 1,615 ยีน และเทียบระหว่างตัวอย่างปานกลางต่อระดับเล็กน้อย (WS3) จำนวน 2,483 ยีน นอกจากนี้ ยีนประมาณ 80% ของ DEGs ทั้งหมดมีค่า foldchange ระหว่าง 1.0 ถึง 1.5 นอกจากนี้ ยืนยันข้อมูลไมโครอะเรย์ด้วยเทคนิค quantitative real-time polymerase chain reaction (qPCR) จาก pathway analysis พบ metabolic pathway necroptosis และ vascular smooth muscle contraction เป็นกลไกทางชีวภาพสามอันดับแรก ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดตำหนิแบบ WS ที่รุนแรงต่างกัน นอกจากนี้ การเกิด WS ยังเกี่ยวข้องกับกลไกทางชีวภาพที่ทำหน้าที่เมื่อเซลล์ได้รับความเครียดจากภาวะออกซิเจนจำกัด และเกิดการอักเสบด้วย ในส่วนของ metabolic processes พบว่าการแสดงออกของยีน lactate dehydrogenase A และ phosphorylase kinase regulatory subunit beta ลดลงอย่างมีนัยสำคัญในตัวอย่างที่มี WS ระดับรุนแรงมาก สัมพันธ์กับปริมาณไกลโคเจนและกรดแลคติกที่ลดลง รวมถึงค่า pH ที่สูงขึ้นในเนื้อสัตว์ ผลงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าการเกิดตำหนิแบบ WS ในเนื้ออกไก่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงกลไกทางชีวภาพ โดยเฉพาะความผิดปกติของระบบเมตาบอลิซึมกลุ่มคาร์โบไฮเดรต และการซ่อมแซมของกล้ามเนื้อภายใต้สภาวะออกซิเจนจำกัดในอกไก่ที่มีขนาดใหญ่กว่าปกติอีกด้วย

**คำสำคัญ:** ตำหนิแบบแถบลายสีขาว, เนื้ออก, เนื้ออกไก่, การถดถอยโลจิสติก (ordinal logistic regression) ไมโครอะเรย์ โปรไฟล์ทรานสคริปโตม

## ABSTRACT

Development of white striping (WS) defect has been in great concern of poultry industry. The overall goal of this study was to obtain better understanding regarding biological pathways associated with development of WS in the breast muscle. The current investigation was divided into two parts. The first part was aimed at estimating incidence of WS defect in commercial broilers. The second part was to compare gene expression patterns in chicken skeletal muscle associated with WS defects. In the first part, commercial broilers (n=184, male Ross 308) slaughtered at the ages varying from 39d to 49d were collected. Impact of WS development on meat quality indices was also evaluated. The meat samples were classified as non-defective, mild WS, moderate WS and severe WS based upon numbers and thickness of white striation appeared on the surface of the meat. Of 184, only 4 (2.2%) samples were grouped as non-defective whereas 102 (55%), 71 (39%) and 7 (3.8%) were mild, moderate and severe, respectively. Severe WS samples showed elevated fat content but reduced protein and ash content ( $p<0.05$ ). Muscle fiber cross-sectional area of moderate and severe WS, as observed under scanning electron microscope, was larger than those of mild and non-defective samples. The meat classified as WS samples exhibited a higher ultimate pH but lower lactic acid content compared to those of non-defective meat. Increases in hardness, springiness, and chewiness, but decreases in shear force and shear energy were observed in cooked severe WS samples ( $p<0.05$ ). Based upon an ordinal logistic regression, an increase in slaughter age and percentage of breast weight by one unit elevated the likelihoods of increasing WS severity by 11.8% and 51.5%, respectively. In the second part, gene expression patterns of *pectoralis major* muscle associated with WS severity were profiled using Agilent SurePrint G3 Custom GE 8x60K chicken gene expression microarray. Total RNA was isolated from the muscle samples of 49d broiler breast classified as mild (n=6), moderate (n=6) and severe WS (n=4). The transcriptome profiling revealed that 2,517, 1,615 and 2,483 transcripts were differentially expressed (DEGs) in comparisons between severe WS and mild WS (WS 1), between severe WS and moderate WS (WS 2), and between moderate WS and mild WS (WS 3), respectively. Approximately 80% of the DEGs in all comparisons showed absolute foldchange ranging between 1.0 and 1.5. Microarray data was confirmed using quantitative real-time polymerase chain reaction (qPCR). Pathway analysis highlighted metabolic pathway, necroptosis and vascular smooth muscle contraction as the top pathways associated with WS severity. Upstream and downstream of responsive pathways for stress under hypoxic condition and inflammations were revealed. Declined expressions of lactate dehydrogenase A and phosphorylase kinase regulatory subunit beta were identified in severe WS compared with mild WS corresponding with reduced muscular glycogen and lactic acid content as well as increased ultimate meat pH in the severe WS. Overall, the current findings supported altered biological mechanistic pathways, particularly carbohydrate metabolism, occurred under limited oxygen supply within the enlarged breast muscle of the broilers exhibiting severe WS defect.

**Keywords:** white striping, commercial broilers, breast meat, meat defect, ordinal logistic regression, microarray, transcriptome profile