



วารสารแก่นเกษตร
THAIJO

Content List Available at ThaiJo

Khon Kaen Agriculture Journal

Journal Home Page : <https://li01.tci-thaijo.org/index.php/agkasetkaj>



ผลของการจำกัดเบต้า-แคโรทีนในอาหารต่อลักษณะซาก คุณภาพเนื้อ และการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสร้างไขมันในโคลูกผสมวากิว

Effect of dietary beta-carotene restriction on carcass characteristics, meat quality, and lipogenic genes expression in Wagyu crossbred cattle

สุภาวิณี มหาสำราญ¹, วิราวรรณ นุชนารถ¹ และ ศิริรัตน์ บัวผัน^{1*}

Suphawinee Mahasamran¹, Wirawan Nuchchanart¹ and Sirirat Buaphan^{1*}

¹ ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม 73140

¹ Department of Animal Science, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon-Pathom 73140

บทคัดย่อ: การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการจำกัดปริมาณเบต้า-แคโรทีนในอาหารโคเนื้อระยะขุนต่อลักษณะซาก คุณภาพเนื้อ และการแสดงออกของยีนโดยใช้โคลูกผสมวากิว เพศผู้ตอน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ โควากิว x กำแพงแสน (WK) โควากิว x ลูกผสมบราห์มัน (WB) และ โควากิว x โฮลสไตน์ฟริเซียน (WH) สายพันธุ์ละ 6 ตัว จำนวนรวม 18 ตัว อายุเริ่มต้น 21 เดือน น้ำหนักตัว 466.22±38.21 กก. โคแต่ละสายพันธุ์ได้รับอาหารแตกต่างกัน 2 แบบ ได้แก่ อาหารที่จำกัดปริมาณเบต้า-แคโรทีน (D1) และอาหารที่มีเบต้า-แคโรทีนในระดับปกติ (D2) จัดกลุ่มทดลองแบบ 3x2 แฟลคทอเรียลในแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ เมื่อโคอายุ 26 เดือน ถูกนำเข้าแปรรูป ทำการเก็บตัวอย่างเนื้อ และเนื้อเยื่อตับ พบว่าสายพันธุ์โคและอาหารไม่มีอิทธิพลร่วมกันต่อลักษณะซาก คุณภาพเนื้อ และการแสดงออกของยีน LPL, ADH1C และ RALDH1 ($P>0.05$) อย่างไรก็ตาม พบอิทธิพลร่วมของสายพันธุ์โคและอาหารต่อการแสดงออกของยีน PPAR γ ($P<0.05$) โดยโคกลุ่ม WK ที่ได้รับอาหารแบบ D1 มีการแสดงออกของยีน PPAR γ สูงที่สุด เมื่อพิจารณาปัจจัยสายพันธุ์โค พบว่าโคกลุ่ม WH มีค่าแรงตัดผ่านเนื้อต่ำสุด (28.4N) และมีการแสดงออกของยีน RALDH1 สูงที่สุด ($P<0.05$) ซึ่งการแสดงออกของยีน RALDH1 มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับเปอร์เซ็นต์ไขมันในกล้ามเนื้อสันนอก ($r=0.602$, $P<0.01$) ส่วนโคกลุ่มที่ได้รับอาหารแบบ D1 มีการแสดงออกของยีน LPL และ ADH1C ($P<0.05$) ลดลง แสดงให้เห็นว่าอาหารระยะขุนที่จำกัดปริมาณเบต้า-แคโรทีน ส่งผลต่อการแสดงออกของยีน และการสะสมไขมันในกล้ามเนื้อของโคลูกผสมวากิว

คำสำคัญ: การแสดงออกของยีน; ไขมันแทรกในกล้ามเนื้อ; โคลูกผสมวากิว; เบต้า-แคโรทีน

ABSTRACT: The aim of this research was to investigate the effect of limiting dietary beta-carotene intake in feedlot steers on carcass characteristics, meat quality, and gene expression in three Wagyu crossbreds steer (6 Wagyu x Kamphaeng Saen (WK), 6 Wagyu x Brahman (WB), and 6 Wagyu x Holstein-Friesian (WH)). Eighteen steers (at 21 months of initial age, 466.22±38.21 kg of initial weight) were randomly assigned to either beta-carotene restriction diet (D1) or normal beta-carotene levels (D2) using a 3x2 factorial arrangement in a completely randomized design. At 26 months of age, steers were slaughtered and an analysis was conducted on meat samples and liver tissue. There was no interaction between breed and diet on carcass characteristics, meat quality, or expression of LPL, ADH1C, and RALDH1 genes ($P>0.05$). However, there was an interaction between breed and diet on PPAR γ expression ($P<0.05$). WK steers fed the D1 diet showed higher expression of the PPAR γ gene. Based on breed variables, the WH group had the lowest shear force (28.4N) and the greatest expression of the RALDH1 gene ($P<0.05$). There was a

* Corresponding author: sirirat.b@ku.th

Received: date; April 29, 2024 Revised: date; July 12, 2024

Accepted: date; July 15, 2024 Published: date; September 24, 2024

positive correlation ($r=0.620$, $P<0.01$) between RALDH1 and the percentage of intramuscular fat. Steers fed the D1 diet showed lower expression of LPL and ADH1C gene ($P<0.05$). The results indicated that restricting beta-carotene in the diet throughout the fattening stage affected the expression of several lipogenic genes as well as intramuscular fat accumulation in Wagyu crossbred steers.

Keywords: gene expression; intramuscular fat; Wagyu crossbreed feedlots; beta-carotene

บทนำ

ในปัจจุบันมีการนำความรู้ในด้านโภชนพันธุศาสตร์ (nutrigenomic) มาใช้ในการปรับปรุงการผลิตสัตว์ เพื่อให้ได้ผลผลิตสัตว์ที่มีปริมาณและคุณภาพเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ความต้องการในการผลิตโคเนื้อที่มีคุณภาพสูงเพื่อเพิ่มมูลค่าของเนื้อในปัจจุบันมีความต้องการมากขึ้น โดยเฉพาะโคเนื้อที่มีปริมาณไขมันแทรกในกล้ามเนื้อ ซึ่งจะช่วยเพิ่มคุณภาพของเนื้อโคทั้งในด้านมูลค่า ด้านรสชาติและความชุ่มฉ่ำของเนื้อ (Wang et al., 2016) โดยปัจจัยที่สามารถส่งผลต่อคุณภาพของเนื้อโคนั้นมาจากพันธุ การจัดการ และอาหาร สารอาหารที่โคเนื้อได้รับเป็นอีกปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงและควบคุมกระบวนการสร้างเนื้อเยื่อไขมันในกล้ามเนื้อโค (Ladeira et al., 2016) ซึ่งแหล่งของสารอาหารที่ต่างกันอาจมีผลต่อการแสดงออกของยีนที่ใช้ผลิตเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสะสมไขมันในกล้ามเนื้อได้ (Ladeira et al., 2018) ระดับของพลังงานในอาหารและกรดไขมันที่โคได้รับมีผลต่อการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ไขมัน โดย Zhang et al. (2015) พบว่าโคลูกผสมซิมเมนทอลที่ได้รับอาหารพลังงานสูงทำให้มีการแสดงออกของ lipoprotein lipase (LPL) สูงกว่าโคที่ได้รับอาหารมีพลังงานต่ำ และ Oliveira et al. (2014) รายงานว่าโคพันธุ์เรดนอร์ท (Red Norte) ที่ถูกเลี้ยงด้วยเมล็ดพืชน้ำมัน (ถั่วเหลืองบด) มีการแสดงออกของยีน peroxisome proliferator activated receptor (PPAR) เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับเมล็ดพืชน้ำมัน และ Teixeira (2016) พบว่าโคพันธุ์เนลลอร์และพันธุ์แองกัสมีการแสดงออกของ PPAR เพิ่มขึ้นในกลุ่มที่ถูกเลี้ยงด้วยข้าวโพดทั้งเปลือกซึ่งมีปริมาณของ polyunsaturated fatty acids (PUFAs) ในอาหารสูงกว่ากลุ่มที่ถูกเลี้ยงด้วยข้าวโพดบด ทั้งนี้ยังพบว่ากรดไขมันชนิด C18: 2 *trans*-10, *cis*-12 สามารถกระตุ้นการแสดงออกของยีน PPAR ได้ (Bionaz et al., 2013) นอกจากนี้ศึกษาของ Wang et al. (2016) รายงานว่าวิตามินเอมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงด้านพันธุศาสตร์นอกเหนือกระบวนการพันธุกรรม (epigenetic) ของยีน PPARs, CCAAT-enhancer binding protein (C/EBP α) และ alcohol Dehydrogenase 1 (ADH1) รวมถึงการควบคุมการแสดงออกของยีนซึ่งส่งผลต่อการสร้างเซลล์ไขมันในกล้ามเนื้อ

วิตามินเอเป็นสารประกอบที่สามารถละลายได้ในไขมัน เป็นสารอาหารรองที่สัตว์ไม่สามารถสังเคราะห์ขึ้นเองในร่างกายได้ จึงต้องได้รับจากอาหารเท่านั้น วิตามินเอในอาหารสามารถพบได้ 2 รูปแบบ คือ เรตินอล (retinol; true vitamin A) สามารถพบได้ในเนื้อสัตว์ และสารตั้งต้นของวิตามินเอ (provitamin A) พบได้ในพืชสีเขียวและสีเหลือง ซึ่งจะอยู่ในรูปของรงควัตถุหรือสารสี (pigments) เช่น แคโรทีนอยด์ เบต้า-แคโรทีน แกรมม่า-แคโรทีน และคริปโตแซนธิน ซึ่งสามารถพบได้มากในข้าวโพด (Norberg et al., 2023) โดยเบต้า-แคโรทีนเมื่อถูกออกซิไดซ์ (oxidize) จะได้เรตินอล 2 โมเลกุล โดยเกลื่อน้ำดีจะทำหน้าที่เปลี่ยนเบต้า-แคโรทีนให้อยู่ในรูปของวิตามินเอ (เรตินอล) ในทางเดินอาหารก่อนจะถูกดูดซึม และเมื่อเรตินอลถูกดูดซึม จะเกิดการออกซิไดซ์ที่ตับเป็นเรตินอลดีไฮด์ (retinaldehyde) และกรดเรติโนอิก (retinoic acid) โดยสารเมแทบอลิต์ของวิตามินเอสามารถควบคุมการทำงานทางสรีรวิทยาต่าง ๆ ของร่างกาย ซึ่งจำเป็นต่อการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน ระบบสืบพันธุ์ การมองเห็น การเพิ่มจำนวนเซลล์ และการเปลี่ยนสภาพของเซลล์ (differentiation) นอกจากนี้วิตามินเอ มีบทบาทในการควบคุมการเผาผลาญกลูโคสและกรดไขมัน ซึ่งสามารถทำได้โดยการควบคุมการแสดงออกของยีนด้วยกรดเรติโนอิกซึ่งเป็นสารเมแทบอลิต์ได้จากการเผาผลาญเรตินอล (Chen and Chen, 2014) สามารถส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ไขมัน และมีผลต่อการควบคุมการแสดงออกของยีนที่มีความสัมพันธ์กับการสังเคราะห์หรือสะสมไขมันในกล้ามเนื้อ (Wang et al., 2016) และวิตามินเอ ยังมีผลต่อกิจกรรมและระดับการแสดงออกของเมสเซนเจอร์อาร์เอ็นเอ (mRNA) และโปรตีนที่เป็นเอนไซม์สำหรับการสังเคราะห์กรดไขมันทั้งจากการศึกษาใน *in vitro* และ *in vivo* (Yang et al., 2021) การเสริมวิตามินเอในโคระยะแรกเกิดสามารถเพิ่มจำนวนเซลล์ และทำให้เกิดการเปลี่ยนสภาพของเซลล์ไขมันได้ แต่การจำกัดวิตามินเอในระยะขุนจะทำให้โคสามารถสะสมไขมันได้สูงกว่า การพัฒนาของเนื้อเยื่อไขมันในกล้ามเนื้อ (marbling) ยังขึ้นอยู่กับระยะเวลาและระดับของการจำกัดวิตามินเอในอาหาร (Peng et al., 2021) และจากการวิเคราะห์ห่อถัก

(meta-analysis) ของ Li et al. (2023) พบว่าวิตามินเอสามารถลดเปอร์เซ็นต์ไขมันในกล้ามเนื้อและคะแนนไขมันแทรกในกล้ามเนื้อของโคขุน โดยวิตามินเอจะยับยั้งการสังเคราะห์ไขมันในกล้ามเนื้อของโคด้วยกรดเรติโนอิกซึ่งเป็นสารเมแทบอไลต์ของวิตามินเอโดยสามารถควบคุมการเปลี่ยนสภาพ (differentiation) ของเซลล์ไขมันจากการยับยั้งการเปลี่ยนสภาพเซลล์ 3T3 ของเซลล์ไขมันตั้งต้น (preadipocytes) และเซลล์ไขมันที่เจริญเต็มที่ (adipocytes)

จากรายงานของ Kruk et al. (2018) พบว่าโคที่การได้รับวิตามินเอในอาหารแบบจำกัดในระยะขุน ทำให้เนื้อโคมีปริมาณไขมันแทรกในกล้ามเนื้อสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีวิตามินเอปกติ โดยมีปริมาณไขมันแทรกในกล้ามเนื้อเพิ่มขึ้น 46% เช่นเดียวกับ Arnett et al. (2009) พบว่าโคที่ได้รับอาหารที่มีการจำกัดวิตามินเอไม่ส่งผลต่อสมรรถภาพการผลิต แต่สามารถส่งผลต่อการสะสมไขมันในกล้ามเนื้อโค นอกจากนี้ปัจจัยจากสายพันธุ์ ยีน พันธุกรรม และเพศที่มีต่อการสะสมไขมันในกล้ามเนื้อ ยังพบว่าสารอาหารที่แม่โคได้รับในระหว่างตั้งท้อง อัตราส่วนอาหารข้นต่ออาหารหยาบที่โคได้รับในระยะขุน การเสริมหรือการจำกัดวิตามิน A, C และ D ในอาหารหรือการให้อาหารพลังงานสูง เป็นปัจจัยที่สามารถส่งผลต่อการสร้างและการพัฒนาของไขมันแทรกในกล้ามเนื้อได้ (Nguyen et al., 2021) ดังนั้นการศึกษานี้จึงมุ่งเน้นศึกษาการจำกัดปริมาณเบต้า-แคโรทีนในอาหารต่อลักษณะซาก คุณภาพเนื้อ และการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสร้างไขมันในโคขุนวากิว x ก้าแกงแสน โควากิว x ลูกผสมบราห์มัน และโควากิว x โฮลสไตน์ฟรีเซียน ภายใต้สภาพแวดล้อมการเลี้ยงของประเทศไทย

วิธีการศึกษา

การศึกษานี้ดำเนินการ ณ โรงเรือนทดลอง ฟาร์มโคเนื้อ ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม งานวิจัยนี้ได้รับการอนุมัติจากคณะกรรมการกำกับดูแลการดำเนินการต่อสัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (เลขที่ OACKU00759)

สัตว์ทดลองและแผนการทดลอง

การศึกษาใช้โคเนื้อเพศผู้ตอน 3 สายพันธุ์ สายพันธุ์ละ 6 ตัว ได้แก่ โคลูกผสมวากิว x ลูกผสมบราห์มัน (WB) 6 ตัว โคลูกผสมวากิว x ก้าแกงแสน (WK) 6 ตัว และโคลูกผสมวากิว x โฮลสไตน์ฟรีเซียน (WH) 6 ตัว จำนวนทั้งหมด 18 ตัว ระยะขุนอายุ 21 เดือน น้ำหนักเริ่มต้น 466.22 ± 38.21 กก. โดยโคกลุ่ม WH มีสายเลือดวากิว 50% โฮลสไตน์ฟรีเซียน 41.25% และพื้นเมือง 8.75% โคกลุ่ม WK มีสายเลือดเป็นวากิว 50% ชาร์โรเลส์ 25% บราห์มัน 12.5% และ พื้นเมือง 12.5% โคกลุ่ม WB มีสายเลือดเป็นวากิว 50% บราห์มัน 25% และพื้นเมือง 25% โดยโคแต่ละสายพันธุ์ถูกสุ่มเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มละ 3 ตัว ได้รับอาหารที่มีระดับโปรตีนและโภชนะย่อยได้รวม (Total Digestible Nutrient; TDN) ในอาหารข้น เท่ากับ 14% และ 72.5% ตามลำดับ ได้แก่ D1 (อาหารที่จำกัดปริมาณเบต้า-แคโรทีน ใช้ฟางข้าวเป็นอาหารหยาบ) และ D2 (อาหารที่มีเบต้า-แคโรทีนในระดับปกติ ใช้หญ้าขนสดเป็นอาหารหยาบ) โดยอาหารแบบ D1 มีการจำกัดวัตถุดิบที่มีปริมาณของเบต้า-แคโรทีนสูง เช่น ข้าวโพด และกระถินปน จะได้รับฟางข้าวเป็นอาหารหยาบ ซึ่งมีปริมาณเบต้า-แคโรทีนต่ำกว่าหญ้าขนสด (Tabel 1) โคได้รับอาหารข้นระดับ 1.5% ของน้ำหนักตัว และได้รับอาหารหยาบแบบเต็มที่ โคได้รับอาหารวันละ 2 ครั้ง ในช่วงเวลา 08.00 น. และ 16.00 น. บันทึกปริมาณการกินได้ของอาหารในแต่ละวัน โดยทำการชั่งปริมาณอาหารข้นและอาหารหยาบที่ให้อาหารในแต่ละวัน และบันทึกปริมาณอาหารที่เหลือในตอนเช้าก่อนให้อาหารในวันถัดไป เพื่อใช้คำนวณหาปริมาณอาหารที่กินได้ต่อวัน โคถูกนำมาเลี้ยงในโรงเรือนแบบเปิด แบ่งเป็นคอกขังเดี่ยวพื้นปูนซีเมนต์ ขนาด 3×4 เมตร มีรางอาหารอยู่ด้านหน้าและรางน้ำอยู่ด้านหลัง ก่อนเข้าทดลองทำการถ่ายพยาธิให้โคทุกตัว ใช้ระยะเวลาทดลอง 6 เดือน เมื่อโคอายุ 26 เดือน ถูกนำเข้าแปรรูปที่โรงงานแปรรูปเนื้อโคบริษัท พรีเมียม บีฟ จำกัด

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในอาหารทดลอง

องค์ประกอบทางเคมีในอาหารข้นและอาหารหยาบ ได้แก่ วัตถุแห้ง โปรตีน ไขมัน และเถ้า ถูกวิเคราะห์ตามวิธี Proximate analysis (AOAC., 2019) วิเคราะห์ปริมาณเยื่อใยในรูปผนังเซลล์ (neutral detergent fiber) และเยื่อใยในรูปลิกนินเซลล์ลูโลส (acid detergent fiber) ตามวิธีของ Van Soest et al. (1991) วิเคราะห์ปริมาณพลังงานรวม (Gross energy) ด้วยเครื่อง bombs

calorimeter รุ่น Parr™ 6200 (Parr Instrument Company, Moline, USA) วิเคราะห์ปริมาณวิตามินเอในอาหารชั้น และอาหารหยาย ตามวิธี In house method based on Food Chemistry (Munzuroglu et al., 2003)

Table 1 Ingredients and chemical composition of experimental diet

Item	Diet 1 (D1)		Diet 2 (D2)	
	Concentrate	Rice straw	Concentrate	Para Grass
Ingredients (%)				
Maize	-		16.80	
Casava chip	38.60		24.50	
Soybean meal	16.50		16.30	
Palm kernel meal	19.10		14.60	
Palm Meal	13.50		13.40	
Leucaena leaf meal	-		2.20	
Bone meal	0.40		0.40	
Molasses	9.50		9.40	
Salt	1.00		1.00	
Sodium bicarbonate	0.30		0.30	
Premix ^a	1.00		1.00	
Chemical composition				
Dry matter (%)	89.52	90.82	89.40	29.70
Crude protein (%DM)	14.38	4.02	14.43	5.59
Fat (%DM)	3.99	1.53	4.04	2.45
Ash (%DM)	6.02	12.15	5.82	9.71
Non-fiber carbohydrate ^b (%DM)	53.90	11.51	54.94	15.52
Neutral detergent fiber (%DM)	21.70	70.79	20.77	66.73
Acid detergent fiber (%DM)	13.36	51.27	11.86	41.70
Gross energy (Kcal/kg)	4,556.17	4,059.9	4,450.62	4,240.00
Total digestible nutrients (%)	72.54	54.90	72.52	60.60
Vitamin A (μg/kg)	1,629.70	694.80	2,573.00	5,114.20

^a Agromix beef No. 46: vitamin A= 2,160,000 IU, vitamin E= 5,000 IU, vitamin B3= 100,000 IU, Mn= 8.5 g, Zn= 6.4 g, Cu= 1.6 g, Mg= 16 g, Co= 320 mg, I= 800 mg, Se= 32 mg (A.I.P. Co. Ltd, Nakhon Pathom, Thailand).

^b NFC = 100 - (%CP + %Fat + %NDF + %Ash) (Depeters et al., 2000)

การศึกษาลักษณะซากและคุณภาพเนื้อ

เมื่อโคถูกนำเข้าแปรรูป ทำการเก็บข้อมูลซากโคด้านน้ำหนักซากอ่อน น้ำหนักซากเย็น และเก็บตัวอย่างเนื้อสันนอก (*Longissimus dorsi*) ซีกขวาบริเวณซี่โครงที่ 12 และ 13 ของโคเพื่อวัดความหนาไขมันสันหลังของกล้ามเนื้อสันนอก โดยใช้เครื่องเวอร์เนียร์คาลิเปอร์ (Vernier caliper, model EC-9002V, Metrology, China) หลังจากนั้นบ่มซากที่อุณหภูมิ 2-4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 7 วัน ตัดชิ้นเนื้อความหนาประมาณ 2.5 ซม. และวางเนื้อให้สัมผัสกับอากาศที่อุณหภูมิ 2-4 องศาเซลเซียส 1 ชั่วโมง เพื่อ

ประเมินระดับไขมันแทรกตามมาตรฐานของ มกอช. 6001-2547 หลังจากนั้นทำการตัดเนื้อที่ได้จากการปรุงสุกให้มีขนาดกว้าง ยาว และหนา เท่ากับ 1 ซม. 2 ซม. และ 1 ซม. (ตามลำดับ) ตามแนวเส้นใยกล้ามเนื้อนำมาวัดแรงตัดผ่าน (shear force) โดยวางชิ้นเนื้อในแนวขวางด้วยเครื่อง Brookfield texture meter (model CT3 25k, USA) กำหนดความเร็วที่ใช้ในการตัดชิ้นเนื้อ 250 มม./วินาที (Boccard et al., 1981) และวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ของไขมันในตัวอย่างเนื้อ (Intramuscular fat, IMF) ตามวิธี Proximate analysis (AOAC, 2019)

การศึกษาการแสดงออกของยีน

เก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อตับที่หลังจากที่โคถูกแปรรูป โดยทำการตัดชิ้นเนื้อเยื่อตับปริมาณ 1.5 กรัม ใส่ลงในหลอดเก็บตัวอย่าง (cryopreservation tube) แล้วใส่ลงในไนโตรเจนเหลวอุณหภูมิ -169 องศาเซลเซียสอย่างรวดเร็วเพื่อทำการเก็บรักษาสภาพกรดไรโบนิวคลีอิก (RNA) หลังจากนั้นตัวอย่างจะถูกย้ายไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เพื่อรักษาสภาพ นำตัวอย่างไปสกัด RNA (TRIZOL® Reagent) ทำความบริสุทธิ์ของ RNA (Thermo scientific GeneJET RNA Cleanup and concentration Micro Kit) ทดสอบคุณภาพของ RNA โดยการทำให้เจลอิเล็กโตรโฟรีซิส ด้วย 2% Agarose ใน Tris-borate EDTA buffer (TBE buffer) หลังจากนั้นทำการสังเคราะห์ cDNA จาก RNA (Thermo scientific RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit) และวิเคราะห์การแสดงออกของยีนด้วยวิธี Real-time PCR (Thermo scientific Maxima SYBR Green qPCR Master Mix(2X)) ใช้ไพรเมอร์ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้จำนวน 4 ยีน ได้แก่ ไลโปโปรตีนไลเปส (Lipoprotein lipase; LPL), เพอร์รีออกซิโซม โปรลิเฟอเรเตอร์-แอกติเวทรีเซปเตอร์ แกรมมา (Peroxisome proliferator-activated receptor γ ; PPAR γ), แอลกอฮอล์ ดีไฮโดรจีเนส 1 ซี (Alcohol Dehydrogenase 1C; ADH1C), เรตินอลดีไฮด์ ดีไฮโดรจีเนส 1 (Retinaldehyde dehydrogenases1; RALDH1) โดยมียีนเบต้า-แอกติน (β -actin) เป็น Housekeeping gene (Table 2) ใช้วิธีคำนวณค่าการแสดงออกของยีนจากค่า threshold cycle (Ct) ที่ได้จากกราฟวิเคราะห์ด้วยวิธี real-time PCR ตามวิธีการคำนวณ $R = 2^{-(\Delta CT, sample - \Delta CT, control)}$ (Livak and Schmittgen, 2001)

Table 2 Primer sequences designed for real-time PCR

Gene	Forward	Reverse
LPL	TCCTGGAGTGACCGAATC	AGGCAGCCACGAGTTTT
PPAR γ	CATTTCCTCCGCACTA	GGGATACAGGCTCCACTT
ADH1C	ATGGTGGCCACAGGAATCTG	CAATGCTCTCCACAATGCCG
RALDH1	CCGTGTGGGTGAAGTCTAT	CCCAGTTCTCGACCATTTCCTCA
β -actin	ACCATCGCAATGAGCG	CACCGTGTGGCGTAGAG

Knutson (2017) and Yang et al. (2020)

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาลักษณะซาก คุณภาพเนื้อ และการวิเคราะห์การแสดงออกของยีนถูกนำมาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance; ANOVA) ตามแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design; CRD) ที่จัดทรีทเมนต์แบบ 3x2 factorial โดยมีปัจจัยหลักเป็นสายพันธุ์โค 3 สายพันธุ์ และอาหาร 2 แบบ เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มทดลองด้วยวิธี Tukey's honestly significant difference ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ค่ะเนนไขมันแทรกวิเคราะห์โดยใช้วิธี nonparametric Kruskal-Wallis test และวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของลักษณะซาก คุณภาพเนื้อ และการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ไขมันโดยใช้วิธี Pearson's correlation test โดยโปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติสำเร็จรูป SAS (SAS Institute Inc., 2014)

ผลการศึกษาและวิจารณ์

ลักษณะซากและคุณภาพเนื้อ

จากการศึกษาครั้งนี้ไม่พบอิทธิพลร่วมของสายพันธุ์โคและอาหารต่อลักษณะ และคุณภาพเนื้อของโคขุนลูกผสมวากิว ($P>0.05$) (Table 3) เมื่อพิจารณาแยกปัจจัยพบว่าสายพันธุ์โคมีผลต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อ ($P<0.05$) โดยโคกลุ่ม WH มีความนุ่มมากที่สุด โดยมีค่าแรงตัดผ่านเนื้อต่ำกว่าโคกลุ่มอื่น (28.38 N) ในขณะที่โคกลุ่ม WK มีแรงตัดผ่านเนื้อสูงที่สุด (45.80 N) แต่ไม่แตกต่างจากโคกลุ่ม WB ทั้งนี้ปัจจัยที่มีผลต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อเป็นผลมาจากหลายปัจจัย เช่น ลักษณะของเส้นใยกล้ามเนื้อ ปริมาณแทรกของไขมันในกล้ามเนื้อ เพศ อายุ และสายพันธุ์ การศึกษาในโคเขตร้อน (*Bos indicus*) พบว่าเนื้อจะมีความนุ่มน้อยกว่าโคเขตหนาว (*Bos taurus*) รวมถึงโคเขตหนาวสามารถสะสมไขมันแทรกได้ดีกว่าโคเขตร้อน (Ibrahim et al., 2008) การศึกษานี้โคกลุ่ม WH เป็นโคลูกผสมที่มีสายเลือดของโคเขตหนาวได้แก่ สายเลือดวากิว 50% โฮลสไตน์ฟริเซียน 41.25% และพื้นเมือง 8.75% ซึ่งมีสายเลือดเป็นโคเขตหนาวมากกว่าโคกลุ่ม WK (มีสายเลือดเป็นโควากิว 50% ชาร์โรเลส์ 25% บราห์มัน 12.5% และ พื้นเมือง 12.5%) และโคกลุ่ม WB (มีสายเลือดเป็นโควากิว 50% บราห์มัน 25% และพื้นเมือง 25%) ทั้งนี้ปัจจัยทางพันธุกรรมที่แตกต่างกันสามารถส่งผลให้รูปแบบการสังเคราะห์ไขมัน การสะสมไขมัน และการสังเคราะห์เส้นใยกล้ามเนื้อแตกต่างกัน ทำให้มีผลต่อรสชาติ กลิ่น ลักษณะเนื้อ และเนื้อสัมผัสของเนื้อสัตว์ได้ ทั้งนี้สายพันธุ์ของโคยังมีผลต่อตำแหน่งในการสะสมไขมันในร่างกายได้ โดยในโควากิว ไขมันจะถูกสะสมอยู่ในกล้ามเนื้อและกลายเป็นไขมันแทรกในกล้ามเนื้อ ในขณะที่โคพันธุ์แองกัสจะเกิดการสะสมไขมันในรูปของไขมันใต้ผิวหนัง (Kutay et al., 2024) นอกจากนี้การศึกษานี้พบว่าโคกลุ่ม WH มีคะแนนไขมันแทรกระดับ 4 และ 5 คะแนน คิดเป็น 33.33% ส่วนโคกลุ่ม WK และ WB มีคะแนนไขมันแทรกระดับ 4 และ 5 คะแนน คิดเป็น 16.67% ซึ่งคะแนนไขมันแทรกในเนื้อจะมีความเกี่ยวข้องกับเปอร์เซ็นต์ไขมันในกล้ามเนื้อสันนอก และส่งผลต่อรสชาติ ความชุ่มฉ่ำ และความนุ่มของเนื้อที่เพิ่มมากขึ้น ทำให้โคเนื้อกลุ่ม WH มีค่าแรงตัดผ่านเนื้อที่ต่ำกว่ากลุ่มอื่น ในขณะที่ปัจจัยจากสายพันธุ์ไม่มีผลต่อน้ำหนักซากอ่อน น้ำหนักซากเย็น เปอร์เซ็นต์ไขมันในกล้ามเนื้อสันนอก ความหนาไขมันสันหลัง และคะแนนไขมันแทรก ($P>0.05$)

Table 3 Effect of dietary beta-carotene restriction on carcass characteristics and meat quality of Wagyu crossbred steers

Items	Breed (B)			Diet (D)		SEM	P-value		
	WB	WK	WH	D1	D2		B	D	B x D
Dry matter intake (kg/day)	9.35	9.89	9.26	8.97 ^b	10.03 ^a	0.543	0.481	0.035	0.403
Hot carcass weight (kg)	297.57	312.62	312.00	305.62	309.17	18.104	0.652	0.815	0.699
Cold carcass weight (kg)	289.22	299.95	300.91	299.02	301.03	1.755	0.658	0.194	0.524
Back fat thickness (cm)	1.87	1.53	1.39	1.55	1.64	0.261	0.220	0.695	0.553
Shear force (N)	39.49 ^{ab}	45.80 ^a	28.38 ^b	36.19	39.59	4.866	0.012	0.410	0.653
Intramuscular fat; IMF (%)	10.31	9.05	13.06	11.93	9.68	2.531	0.305	0.299	0.952
Marbling score	3	3	4	4	3	0.770	0.105	0.190	0.450
Marbling score (%)									
Grade 1	0	33.33	0	11.11	11.11	-	-	-	-
Grade 2	33.33	16.67	0	11.11	22.22	-	-	-	-
Grade 3	33.33	16.67	33.33	22.22	33.33	-	-	-	-
Grade 4	16.67	16.67	33.33	11.11	33.33	-	-	-	-
Grade 5	16.67	16.67	33.33	44.44	0	-	-	-	-

^{a, b} Mean values in the same row with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$)

WB; Wagyu x Brahman, WK; Wagyu x Kamphaeng Saen, WH; Wagyu x Holstein-Friesian

D1; beta-carotene restriction, D2; normal level of beta-carotene

เมื่อพิจารณาปัจจัยอาหารพบว่าโคลูกผสมวากิวที่ได้รับอาหารแบบ D1 (จำกัดปริมาณเบต้า-แคโรทีน) มีปริมาณวิตามินเอที่วิเคราะห์ได้ เท่ากับ 2,324.5 มก./กก.อาหาร (3,874.2 IU/กก.) ซึ่งมีปริมาณของวิตามินเอระดับที่สูงกว่าที่ NRC (2016) กำหนดไว้ในโคระยะขุนที่ 2,200 IU/กก. เนื่องจากพรีมิกซ์ที่ใช้ในอาหารไม่ได้มีการจำกัดปริมาณของวิตามินเอ และอาหารแบบ D2 (เบต้า-แคโรทีนปกติ) มีปริมาณวิตามินเอที่วิเคราะห์ได้ เท่ากับ 7,687.2 มก./กก.อาหาร (12,812 IU/กก.อาหาร) พบว่าอาหารแบบ D1 ส่งผลให้โคมีการกินได้ของวัตถุดิบต่ำกว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารแบบ D2 ($P < 0.05$) (Table 3) เนื่องจากอาหารแบบ D1 มีฟางข้าวเป็นอาหารหยาบ ซึ่งฟางข้าวเป็นผลพลอยได้จากการเก็บเกี่ยวข้าวทำให้มีคุณภาพต่ำกว่าหญ้าสด ซึ่งการได้รับอาหารหยาบที่มีคุณภาพต่ำมีผลทำให้การกินได้ การย่อยได้ และพลังงานที่โคได้รับลดลง (Lukkananukool et al., 2023) นอกจากนี้ฟางข้าวยังมีลักษณะฟามและแข็งกว่าหญ้าสดในอาหารแบบ D2 ทำให้ความน่ากินของอาหารแบบ D2 มีมากกว่า แต่อาหารที่โคลูกผสมวากิวได้รับไม่ส่งผลต่อส่งผลกระทบต่อลักษณะซากและคุณภาพเนื้อของโค ($P > 0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในโคขุนลูกผสมแองกัสเพศผู้ตอนที่ไม่ได้รับการเสริมวิตามินเอระยะหลังหย่านมจนถึงระยะขุน พบว่ามีน้ำหนักรูปร่างและพื้นที่หน้าตัดเนื้อสัน และความหนาไขมันสันหลังใกล้เคียงกับกลุ่มที่ได้รับการเสริมวิตามินเอระดับ 42,180 IU/ตัว/วัน (Arnett et al., 2008) นอกจากนี้โคลูกผสมวากิวที่ได้รับอาหารแบบ D1 มีคะแนนไขมันแทรกที่ระดับ 5 คิดเป็น 44.44% ส่วนโคที่ได้รับอาหารแบบ D2 ไม่พบเนื้อโคที่มีคะแนนไขมันแทรกระดับ 5 ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในโคพันธุ์แองกัสที่ได้รับอาหารที่จำกัดเบต้า-แคโรทีนเป็นเวลา 10 เดือน พบว่าโคมีไขมันในกล้ามเนื้อเพิ่มขึ้น โดยมีลายของไขมันแทรกในกล้ามเนื้อเพิ่มขึ้น 22% และขนาดลายของไขมันแทรกเพิ่มขึ้น 14% แต่การจำกัดเบต้า-แคโรทีนไม่ส่งผลต่อขนาดของเซลล์ไขมันในกล้ามเนื้อหรือได้ผิวหนัง หรือความหนาของไขมันใต้ผิวหนัง (Kruk et al., 2018)

การแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ไขมัน

จากการศึกษาพบว่าไม่มีอิทธิพลร่วมของสายพันธุ์โคและอาหารต่อการแสดงออกของยีน LPL ADH1C และยีน RALDH1 ($P>0.05$) แต่พบว่าส่งผลต่อการแสดงออกของยีน PPAR γ ($P<0.05$) (Table 4) โดยโคกลุ่ม WK ที่ได้รับอาหารที่แบบ D1 มีการแสดงออกของยีน PPAR γ สูงที่สุด โดยยีน PPAR γ สามารถถูกกระตุ้นการแสดงออกเพิ่มขึ้นเมื่อได้รับอาหารที่จำกัดปริมาณวิตามินเอ (Vega et al., 2009) ในทางกลับกันการศึกษาในโคสายพันธุ์แองกัส และพันธุ์ซิมเมนทอลพบว่าผลจากการจำกัดวิตามินเอในอาหารและสายพันธุ์โคไม่มีผลต่อการแสดงออกของยีน PPAR γ (Knutson, 2017) แสดงให้เห็นว่าพันธุกรรมของโคมีความแตกต่างกันในด้านการแสดงออกของยีน ซึ่งยีน PPAR γ มีบทบาทสำคัญในการควบคุมการสร้างเซลล์ไขมัน และการสะสมไขมัน (Kersten, 2014) โคที่ได้รับอาหารที่มีเบต้า-แคโรทีนต่ำ จะมีการแสดงออกของยีน PPAR γ สูงกว่า ทั้งนี้ความสามารถในการสะสมไขมันในกล้ามเนื้อของโคยังขึ้นอยู่กับอิทธิพลทางพันธุกรรม โดยโคที่สายพันธุ์ต่างกันจะมีความสามารถในการสะสมไขมันได้แตกต่างกัน (Park et al., 2018) ดังนั้นโคกลุ่ม WK ที่ได้รับอาหารที่จำกัดปริมาณเบต้า-แคโรทีน มีการแสดงออกของยีน PPAR γ สูง อาจไม่ได้บ่งชี้ว่าจะสามารถสะสมไขมันได้มากกว่าโคกลุ่มอื่น

Table 4 Effect of dietary beta-carotene restriction on lipogenic gene expression of Wagyu crossbred steers

Items	Breed (B)			Diet (D)		SEM	P-value		
	WB	WK	WH	D1	D2		B	D	B x D
LPL	0.942	0.589	0.893	0.555 ^b	1.067 ^a	0.215	0.263	0.013	0.999
PPAR γ	0.873	1.557	1.099	1.314	1.040	0.222	0.026	0.152	0.023
ADH1C	1.789	0.888	1.328	0.697 ^b	1.964 ^a	0.351	0.071	<0.01	0.560
RALDH1	0.996 ^b	1.108 ^{ab}	1.995 ^a	1.332	1.400	0.372	0.038	0.827	0.471

^{a, b} Mean values in the same row with different superscripts differ significantly ($P<0.05$)

WB; Wagyu x Brahman, WK; Wagyu x Kamphaeng Saen, WH; Wagyu x Holstein-Friesian

D1; beta-carotene restriction, D2; normal level of beta-carotene

นอกจากนี้โคกลุ่ม WH พบว่ามีการแสดงออกของยีน RALDH1 สูงกว่าโคกลุ่ม WB อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (Table 4) ซึ่งยีน RALDH1 จะทำหน้าที่ในการผลิตเอนไซม์ retinaldehyde dehydrogenase1 เพื่อออกซิเดชันเรตินอลดีไฮด์ให้เป็นกรดเรติโนอิก (Napoli, 2012) ซึ่งเรตินอลดีไฮด์มีผลต่อการสลายไขมันในสัตว์ผ่านการจับกับ retinol-binding proteins (RBP4) และยับยั้งการตอบสนองของ receptor-c และ Retinoid X receptor (RXR) ที่กระตุ้นการทำงานของ PPAR ในร่างกาย ซึ่งกระบวนการนี้จะยับยั้งการสร้างไขมันและสะสมไขมัน มีงานวิจัยในหนูพบว่า การยับยั้งการแสดงออกของยีน RALDH1 (gene knockout) สามารถต้านการพ่นน้ำตาลกลูโคส และทำให้สัตว์ไม่อ้วนจากการได้รับอาหารที่มีไขมันสูงได้ (Reichert et al., 2011) และผลจากการทดลองในหนูโดยการให้เรตินอลดีไฮด์ หรือสารยับยั้งเอนไซม์ RALDH1 พบว่าขนาดของเซลล์ของไขมันในร่างกายลดลง อัตราการเผาผลาญสูงขึ้น และมีความไวต่ออินซูลินเพิ่มขึ้น (Ziouzenkova et al., 2007) แสดงให้เห็นว่าเรตินอลดีไฮด์เป็นสารที่สามารถควบคุมกระบวนการเมแทบอลิซึมของไขมันในร่างกายของสัตว์ แต่เมื่อมีการแสดงออกของยีน RALDH1 เพิ่มขึ้นปริมาณของเรตินอลดีไฮด์จะลดลง เนื่องจากเกิดการออกซิเดชันเรตินอลดีไฮด์ไปเป็นกรดเรติโนอิกได้เพิ่มขึ้น และยังเพิ่มโอกาสในการสังเคราะห์หรือสะสมไขมันได้เพิ่มขึ้น การศึกษาในโคพันธุ์แองกัสที่ได้รับอาหารที่มีปริมาณวิตามินเอต่ำพบว่าการแสดงออกของยีน RALDH1 มากที่สุดในช่วงกลางของระยะขุน (Knutson, 2017) ดังนั้นโค WH ที่มีการแสดงออกของยีน RALDH1 สูง มีโอกาสที่จะสามารถออกซิไดซ์เรตินอลดีไฮด์ได้สูงขึ้น จึงมีโอกาที่จะสร้างและสะสมไขมันในเซลล์ได้สูงกว่าโคกลุ่มผสมวากิวกลุ่มอื่น ๆ

เมื่อพิจารณาปัจจัยอาหารพบว่าส่งผลต่อการแสดงออกของยีน LPL ($P<0.05$) และ ADH1C ($P<0.01$) โดยโคที่ได้รับอาหารแบบ D1 มีการแสดงออกของยีน LPL และ ADH1C ต่ำกว่ากลุ่มที่ได้รับแบบ D2 (Table 4) โคกลุ่มที่ได้รับอาหารแบบ D1 จะได้รับปริมาณเบต้า-แคโรทีนต่ำกว่า ซึ่งยีน LPL มีหน้าที่ดูดซึมเรตินอลที่ได้จากการออกซิไดซ์เบต้า-แคโรทีนเข้าสู่เซลล์ไขมัน ผ่านการทำงานของเอนไซม์เรตินิลเอสเทอร์ไฮโดรเลส (retinyl ester hydrolase; REH) โดยพบว่าเมื่อมีการแสดงออกของยีน LPL การสะสมเรตินอลในเซลล์สามารถเพิ่มขึ้นได้ 2 เท่า (Schreiber et al., 2012) ดังนั้นเมื่อโคได้รับเบต้า-แคโรทีนต่ำจึงทำให้ LPL มีการแสดงออกของยีนต่ำกว่ากลุ่มที่ได้รับเบต้า-แคโรทีนปกติ เนื่องจากมีสารตั้งต้นที่จะใช้ดูดซึมเข้าสู่เซลล์ได้น้อยกว่า ทั้งนี้การแสดงออกของ LPL ยังถูกควบคุมการแสดงออกของยีนโดยอินซูลิน ซึ่งจะส่งผลต่อการสร้างเซลล์ไขมันและสะสมไขมันในเซลล์ไขมันที่โตเต็มที่ ส่วนยีน ADH1C มีหน้าที่ในการผลิตเอนไซม์ ADH1C เพื่อใช้ในการออกซิเดชันเรตินอลให้เป็นเรตินอลดีไฮด์ (Molotkov et al., 2002) โดยเอนไซม์ ADH1C และ RALDH1 มีหน้าที่สำคัญในการรักษาสภาวะสมดุลของเรตินอยด์ในร่างกาย จากการศึกษาแสดงให้เห็นว่าโคกลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีการจำกัดเบต้า-แคโรทีน ทำให้โคได้รับเรตินอลต่ำกว่าส่งผลทำให้มีระดับของเรตินอลดีไฮด์และกรดเรติโนอิกในร่างกายต่ำกว่าโคกลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีเบต้า-แคโรทีนปกติ จึงทำให้การผลิตเอนไซม์ ADH1C มีระดับต่ำกว่าด้วย อาจมีเรตินอลดีไฮด์ที่ได้จากการออกซิเดชันเรตินอลโดยเอนไซม์ ADH1C ในร่างกายน้อยกว่า ซึ่งเรตินอลดีไฮด์สามารถยับยั้งการสร้างไขมันหรือสะสมไขมันในตัวสัตว์ (Ziouzenkova et al., 2007)

สัมพันธภาพสัมพันธ์ระหว่างลักษณะซาก คุณภาพเนื้อกับการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ไขมัน

จากการศึกษาการแสดงออกของยีน ADH1C PPAR และ RALDH1 พบว่าไม่มีความสัมพันธ์กัน ($P>0.05$) แต่การแสดงออกของยีน LPL มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับการแสดงออกของยีน ADH1C ($P<0.05$) (Table 5) จากรายงานของ Zhao et al. (2016) กล่าวว่าแสดงออกของยีน LPL จะทำหน้าที่ในการเข้ารหัสจับกับโปรตีนที่มีหน้าที่ในการเปลี่ยนแปลงสภาพของเซลล์และการเผาผลาญไขมัน นอกจากนี้ในเซลล์ไขมัน lipoprotein lipase ทำหน้าที่ในการดูดซึมเรตินอลเข้าสู่เซลล์ (Blaner et al., 1994) โดยผ่านการทำงานของ retinyl ester hydrolase (REH) ซึ่งจะทำหน้าที่ขนส่งเรตินอยด์ให้กล้ามเนื้อ เนื้อเยื่อไขมัน และหัวใจ (van Bennekum et al., 1999) ดังนั้นระดับของเบต้า-แคโรทีนหรือวิตามินเอในอาหารจึงเป็นตัวกำหนดการแสดงออกของยีน LPL ได้ นอกจากนี้การจำกัดเบต้า-แคโรทีนในอาหารส่งผลให้การแสดงออกของยีน ADH1C ลดลง (Ward et al., 2012) แต่ในทางกลับกันถ้ามีการแสดงออกของยีน ADH1C เพิ่มขึ้น ร่างกายจะสามารถเปลี่ยนเรตินอลเป็นเรตินอลดีไฮด์ได้มากขึ้น (Duester, 2000) โดยเรตินอลดีไฮด์สามารถยับยั้งกระบวนการสร้างเซลล์ไขมัน (Ziouzenkova et al., 2007) โดยยับยั้งการทำงานของยีน RXR ที่บริเวณ PPAR response element (PPRE) ซึ่งยีน RXR ทำให้เกิดกระบวนการสังเคราะห์เซลล์ไขมัน รวมถึงช่วยเริ่มการเปลี่ยนสภาพของเซลล์ให้เป็นเซลล์ไขมัน (Canan Koch et al., 1999) และจากการศึกษาครั้งนี้พบว่ายีน LPL และ ADH1C มีการแสดงออกลดลงในโคที่ได้รับอาหารที่มีการจำกัดเบต้า-แคโรทีน จึงอาจส่งผลให้เกิดการสะสมไขมันในกล้ามเนื้อเพิ่มขึ้น

นอกจากนี้การแสดงออกของยีน LPL PPAR γ และ ADH1C ไม่มีความสัมพันธ์กับน้ำหนักซากอ่อน น้ำหนักซากเย็น เปอร์เซ็นต์ไขมันในกล้ามเนื้อ คะแนนไขมันแทรก ความหนาไขมันสันหลัง และค่าแรงตัดผ่านเนื้อ ($P>0.05$) อย่างไรก็ตามพบว่าการแสดงออกของยีน RALDH1 มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับเปอร์เซ็นต์ไขมันในกล้ามเนื้อ ($P<0.01$) (Table 5) แสดงให้เห็นว่าเมื่อมีการแสดงออกของยีน RALDH1 เพิ่มขึ้นโคจะมีโอกาสในการสะสมไขมันในกล้ามเนื้อเพิ่มขึ้น โดยหน้าที่ของยีน RALDH1 คือการออกซิเดชันเรตินอลดีไฮด์ให้เป็นกรดเรติโนอิก ซึ่งการออกซิไดซ์สารเรตินอลดีไฮด์มีผลทำให้เกิดการสะสมไขมันได้ดีขึ้น การศึกษาในหนูที่มีภาวะเป็นโรคอ้วนจะมีปริมาณเรตินอลและเรตินอลดีไฮด์ในร่างกายลดลงประมาณ 60% และ 82% ตามลำดับ เมื่อเทียบกับหนูที่มีลักษณะผอม (Ziouzenkova et al., 2007) ดังนั้นเมื่อมีการแสดงออกของยีน RALDH1 สูงก็จะส่งผลให้การสะสมไขมันเพิ่มขึ้นด้วย และจากการศึกษาในโคเนื้อพันธุ์แอ่งก้นพบว่าโคที่มีการแสดงออกของยีน RALDH1 สูงที่สุดเป็นกลุ่มที่มีการสะสมไขมันแทรกในกล้ามเนื้อมากกว่าโคกลุ่มอื่น (Knutson, 2017) ซึ่งจากในการศึกษานี้โคกลุ่ม WH มีการแสดงออกของยีนดังกล่าวสูงกว่าโค WB อย่างชัดเจน อาจบ่งชี้ได้ว่าโคกลุ่ม WH สามารถสะสมไขมันได้ดีกว่าโคกลุ่ม WB

Table 5 Correlation coefficient between carcass characteristics and lipogenic gene expression

	Hot carcass	Cold carcass	Shear force	%IMF	Backfat thickness	Marbling score	LPL	PPAR γ	ADH1C	RALDH1
Hot carcass		0.995**	-0.204	0.176	-0.187	-0.055	-0.040	0.406	-0.042	0.157
Cold carcass	0.995**		-0.222	0.139	-0.173	-0.101	-0.034	0.416	-0.018	0.172
Shear force	-0.204	-0.222		-0.402	-0.056	-0.222	0.032	0.196	0.017	-0.354
%IMF	0.176	0.139	-0.402		0.061	0.748**	-0.183	-0.152	0.127	0.620**
Backfat thickness	-0.187	-0.173	-0.056	0.061		0.003	0.314	-0.142	0.354	-0.143
Marbling score	-0.055	-0.101	-0.222	0.748**	0.003		-0.089	-0.302	-0.042	0.296
LPL	-0.040	-0.034	0.032	-0.183	0.314	-0.089		-0.357	0.565*	0.092
PPAR γ	0.406	0.416	0.196	-0.152	-0.142	-0.302	-0.357		-0.419	-0.163
ADH1C	-0.042	-0.018	0.017	0.127	0.354	-0.042	0.565*	-0.419		0.244
RALDH1	0.157	0.172	-0.354	0.620**	-0.143	0.296	0.092	-0.163	0.244	

**; significantly different ($P < 0.01$), *; significantly different ($P < 0.05$)

LPL; Lipoprotein lipase, PPAR γ ; Peroxisome proliferator-activated receptor γ , ADH1C; Alcohol Dehydrogenase 1C, RALDH1; Retinaldehyde dehydrogenases1

สรุป

การจำกัดปริมาณของเบต้า-แคโรทีนในอาหารโคระยะขุนไม่ส่งผลเชิงลบต่อลักษณะซาก และคุณภาพเนื้อ ของโคขุนลูกผสม วากิว นอกจากนี้การจำกัดปริมาณของเบต้า-แคโรทีนยังทำให้เนื้อโคมีคะแนนไขมันแทรกระดับ 5 คิดเป็น 44.44% ของกลุ่มที่ได้รับการจำกัดปริมาณของเบต้า-แคโรทีนในอาหาร รวมทั้งส่งผลให้การแสดงออกของยีน LPL และ ADH1C ลดลง อย่างไรก็ตามสายพันธุ์โคและอาหารที่โคได้รับมีอิทธิพลร่วมกันต่อการแสดงออกของยีน PPAR γ ส่วนยีน RALDH1 มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับเปอร์เซ็นต์ไขมันในกล้ามเนื้อสันนอก และโคลูกผสมวากิว x โฮลสไตน์ฟริเซียนมีการแสดงออกของยีน RALDH1 สูงที่สุด

คำขอบคุณ

คณะวิจัยขอขอบคุณสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน) ที่สนับสนุนทุนวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- AOAC. 2019. The association of official analytical chemists. Official Methods of Analysis of AOAC International 21st ed. Washington D.C.
- Arnett, A.M., M.J. Daniel, and Michael E. Dikeman. 2008. Restricting vitamin A in cattle diets improves beef carcass marbling and USDA quality and yield grades. Kansas Agricultural Experiment Station Research Reports. 1: 24-27.
- Arnett, A.M., M.E. Dikeman, M.J. Daniel, K.C. Olson, J. Jaeger, and J. Perrett. 2009. Effects of vitamin A supplementation and weaning age on serum and liver retinol concentrations, carcass traits, and lipid composition in market beef cattle. Meat Science. 81(4): 596-606.
- Bionaz, M., S. Chen, M.J. Khan, and J.J. Loo. 2013. Functional role of PPARs in ruminants: Potential targets for fine-tuning metabolism during growth and lactation. PPAR Research. 684159.
- Blaner, W.S., J.C. Obunike, S.B. Kurlandsky, M. Al-Haideri, R. Piantedosi, R.J. Deckelbaum, and I.J. Goldberg. 1994. Lipoprotein lipase hydrolysis of retinyl ester possible implications for retinoid uptake by cells. Journal of Biological Chemistry. 269(24): 16559-16565.
- Boccard, R., L. Buchter, E. Casteels, E. Cosentino, E. Dransfield, D.E. Hood, and C. Touraille. 1981. Procedures for measuring meat quality characteristics in beef production experiments. Report of a working group in the Commission of the European Communities (CEC) beef production research programme. Livestock Production Science. 8(5): 385-397.
- Canan Koch, S.S., L.J. Dardashti, R.M. Cesario, G.E. Croston, M.F. Boehm, R.A. Heyman, and A.M. Nadzan. 1999. Synthesis of retinoid X receptor-specific ligands that are potent inducers of adipogenesis in 3T3-L1 cells. Journal of Medicinal Chemistry. 42(4): 742-750.
- Chen, W., and G. Chen. 2014. The roles of vitamin A in the regulation of carbohydrate, lipid, and protein metabolism. Journal of Clinical Medicine. 3: 453-479.
- DePeters, E.J., J.G. Fadel, and A. Arosemena. 2000. Composition and digestibility of beet pulp with and without molasses and dried using three methods. Animal Feed Science and Technology. 85(1-2): 121-129.
- Duester, G. 2000. Families of retinoid dehydrogenases regulating vitamin A function: production of visual pigment and retinoic acid. European Journal of Biochemistry. 267: 4315-4324.
- Ibrahim, R.M., D.E. Goll, J.A. Marchello, G.C. Duff, V.F. Thompson, S.W. Mares, and H.A. Ahmad. 2008. Effect of two dietary concentrate levels on tenderness, calpain and calpastatin activities, and carcass merit in Waguli and Brahman steers. Journal of Animal Science. 86: 1426-1433.
- Kersten, S. 2014. Integrated physiology and systems biology of PPAR α . Molecular Metabolism. 3(4): 354-371.
- Knutson, E.E. 2017. The effect of vitamin a restriction on marbling and adipogenic gene expression in commercial Angus and Simmental steers. North Dakota State University, USA.
- Kruk, Z.A., M.J. Bottema, L. Reyes-Veliz, R.E.A. Forder, W.S. Pitchford, and C.D.K. Bottema. 2018. Vitamin A and marbling attributes: Intramuscular fat hyperplasia effects in cattle. Meat Science. 137: 139-146.
- Kutay, H., Z. Şahan. İ.P. Açı, and M. Durmuş. 2024. Factors affecting meat quality in farm animals. In BIO Web of Conferences. 85: 01066.

- Ladeira, M.M., J.P. Schoonmaker, M.P. Gionbelli, J.C. Dias, T.R. Gionbelli, J.R.R. Carvalho, and P.D. Teixeira. 2016. Nutrigenomics and beef quality: a review about lipogenesis. *International Journal of Molecular Sciences*. 17(6): 918.
- Ladeira, M.M., J.P. Schoonmaker, K.C. Swanson, S.K. Duckett, M.P. Gionbelli, L.M. Rodrigues, and P.D. Teixeira. 2018. Nutrigenomics of marbling and fatty acid profile in ruminant meat. *Animal*. 12(2): 282-294.
- Li, W., F. Wang, F. Sun, Y. Qu, C. Liu, Y. Han, H. Wang, B. Jiang, P. Zhong, J. Wang, and X. Song. 2023. Effects of vitamin A on intramuscular fat development in beef cattle: A meta-analysis. *Frontiers in Veterinary Science*. 10: 1105754.
- Livak, K.J., and T.D. Schmittgen. 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta$ CT method. *Methods*. 25(4): 402-408.
- Lukkananukool, A., S. Polyorach, K. Sommart, and C. Chaosap. 2023. Effect of different roughage sources in fermented total mixed ration and energy intake on meat quality, collagen solubility, troponin T degradation, and fatty acids of Native Thai cattle *longissimus* Muscle. *Foods*. 12(18): 3402.
- Molotkov, A., X. Fan, and G. Dueter. 2002. Excessive vitamin A toxicity in mice genetically deficient in either alcohol dehydrogenase Adh1 or Adh3. *European journal of biochemistry*. 269(10): 2607-2612.
- Munzuroglu, O., F. Karatas, and H. Geckil. 2003. The vitamin and selenium contents of apricot fruit of different varieties cultivated in different geographical regions. *Food Chemistry*. 83: 205-212.
- Napoli, J.L. 2012. Physiological insights into all-trans-retinoic acid biosynthesis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*. 1821(1): 152-167.
- Nguyen, D.V., O.C. Nguyen, and A.E. Malau-Aduli. 2021. Main regulatory factors of marbling level in beef cattle. *Veterinary and Animal Science*. 14: 100219.
- Norberg, A., M.L. Nelson, and D.A. Llewellyn. 2023. Feeding beef cattle III: vitamin A effects on beef quality and neonatal supplementation. Washington State University. Washington D.C. USA.
- NRC. 2016. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 8th Revised Edition, National Academies Press, Washington DC.
- Oliveira, D.M., A. Chalfun-Junior, M.L. Chizzotti, H.G. Barreto, T.C. Coelho, L.V. Paiva, C.P. Coelho, P.D. Teixeira, J.P. Schoonmaker, and M.M. Ladeira. 2014. Expression of genes involved in lipid metabolism in the muscle of beef cattle fed soybean or rumen-protected fat, with or without monensin supplementation. *Journal of Animal Science*. 92: 5426–5436.
- Park, S.J., S.H. Beak, S.Y. Kim, I.H. Jeong, M.Y. Piao, H.J. Kang, D.M. Fassah, S.W. Na, S.P. Yoo, and M. Baik. 2018. Genetic, management, and nutritional factors affecting intramuscular fat deposition in beef cattle—A review. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 31(7): 1043-1061.
- Peng, D.Q., S.B. Smith, and H.G. Lee. 2021. Vitamin A regulates intramuscular adipose tissue and muscle development: promoting high-quality beef production. *Journal of Animal Science and Biotechnology*. 12: 34.
- Reichert, B., R. Yasmeen, S.M. Jeyakumar, F. Yang, T. Thomou, H. Alder, and O. Ziouzenkova. 2011. Concerted action of aldehyde dehydrogenases influences depot-specific fat formation. *Molecular Endocrinology*. 25(5): 799-809.

- SAS Institute Inc. 2014. SAS® OnDemand for Academics: User's Guide. Cary, NC: SAS Institute Inc.
- Schreiber, R., U. Taschler, K.P. Landl, N. Wongsiriroj, R. Zimmermann, and A. Lass. 2012. Retinyl ester hydrolases and their roles in vitamin A homeostasis, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA). Molecular and Cell Biology of Lipids*. 1821: 113-123.
- Teixeira, P.D. 2016. The subspecies and diet affects the expression of genes involved in lipid metabolism and the chemical composition of skeletal muscle in beef cattle. Federal University of Lavras, Lavras, Brazil.
- van Bennekum, A.M., Y. Kako, P.H. Weinstock, E.H. Harrison, R.J. Deckelbaum, I.J. Goldberg, and W.S. Blazer. 1999. Lipoprotein lipase expression level influences tissue clearance of chylomicron retinyl ester. *Journal of Lipid Research*. 40(3): 565-574.
- Van Soest, P.V., J.B. Robertson, and B.A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*. 74(10): 3583-3597.
- Vega, V.A., A.C. Anzulovich, S.M. Varas, M.R. Bonomi, M.S. Giménez, and L.B. Oliveros. 2009. Effect of nutritional vitamin A deficiency on lipid metabolism in the rat heart: Its relation to PPAR gene expression. *Nutrition*. 25(7-8): 828-38.
- Wang, B., Q. Yang, C.L. Harris, M.L. Nelson, J.R. Busboom, M.J. Zhu, and M. Du. 2016. Nutrigenomic regulation of adipose tissue development—role of retinoic acid: a review. *Meat Science*. 120: 100-106.
- Ward, A.K., J.J. McKinnon, S. Hendrick, and F.C. Buchanan. 2012. The impact of vitamin A restriction and ADH1C genotype on marbling in feedlot steers. *Journal of Animal Science*. 90(8): 2476-2483.
- Yang, C., A.A. Ahmad, P.J. Bao, X. Guo, X.Y. Wu, J.B. Liu, M. Chu, C.N. Liang, J. Pei, R.J. Long, and P. Yan. 2020. Increasing dietary energy level improves growth performance and lipid metabolism through up-regulating lipogenic gene expression in yak (*Bos grunniens*). *Animal Feed Science and Technology*. 263: 114455.
- Yang, F.C., F. Xu, T.N. Wang, and G.X. Chen. 2021. Roles of vitamin A in the regulation of fatty acid synthesis. *World Journal of Clinical Cases*. 9(18): 4506-4519.
- Zhang, H.B., X.F. Zhang, Z.S. Wang, X.W. Dong, C. Tan, H.W. Zou, Q.H. Peng, B. Xue, L.Z. Wang, and G.Z. Dong. 2015. Effects of dietary energy level on lipid metabolism-related gene expression in subcutaneous adipose tissue of yellow breed x simmental cattle. *Journal of Animal Science*. 86: 392-400.
- Zhao, W., G. Shi, H. Gu, and B.N. Nguyen. 2016. Role of PPAR γ in the nutritional and pharmacological actions of carotenoids. *Research and Reports in Biochemistry*. 6: 13-24.
- Ziouzenkova, O., G. Orasanu, M. Sharlach, T.E. Akiyama, J.P. Berger, J. Viereck, J.A. Hamilton, G. Tang, G.G. Dolnikowski, S. Vogel, G. Duester, and J. Plutzky. 2007. Retinaldehyde represses adipogenesis and diet-induced obesity. *Journal of Natural Medicines*. 13: 695-702.