

เอกสารอ้างอิง

- ฐานเศรษฐกิจ. 2552. ทำไมข้าวเหนียวจึงมีราคาแพง. หนังสือพิมพ์ฐานเศรษฐกิจ ฉบับที่ 2469. แหล่งที่มา <http://203.155.19.145/detailNews.php?id=T012245j&issue=2469>. 12 ตุลาคม 2552.
- ดำเนิน กาละดี และคณะ. 2545. โครงการอนุรักษ์พันธุ์ข้าวเหนียวดำ. **Management Information System Faculty of Agriculture Chiangmai University**. แหล่งที่มา: http://e-service.agri.cmu.ac.th/project/view_project_show.asp?id=115. 30 กรกฎาคม 2552.
- รัชชัย แก้วตาทำ, เพทาย พงษ์เพียรจันทร์ และ พันทิพา พงษ์เพียรจันทร์. 2547. ผลของแกมมา-โอไรซานอลต่อการตอบสนองของภูมิคุ้มกันในหนูถีบจักรเพศผู้. **วารสารเกษตร** 20(2): 103-119.
- ผลิใบ. 2545. พันธุ์พืชขึ้นทะเบียนและพันธุ์พืชรับรอง. **จดหมายข่าวผลิใบ** 9(5): 7.
- พันทิพา พงษ์เพียรจันทร์. 2551. เปิบข้าวเหนียวดำแล้วแก้ข้า. หน่วยวิจัยข้าวเก่า สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. ใน: นสพ. คม ชัด ลึก วันจันทร์ ที่ 31 มีนาคม พ.ศ. 2551.
- ย้ายรอย (นามแฝง). 2550. หวนคืนสู่ข้าวเก่าคุณค่าที่กำลังหายไปจากแผ่นดิน. **ผู้นำท้องถิ่น** 7(73): 134-135.
- วิไลลักษณ์ พละกลาง. 2541. ลักษณะประจำพันธุ์ข้าวพื้นเมืองไทย. ศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี. สถาบันวิจัยข้าวกรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- สุกัญญา สุนทรศ. 2549. อิเล็กโทรโฟรีซิส. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ.
- อรอนงค์ นัยวิกุล. 2547. ข้าว: วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- Abbasi, F. and Komatsu, S. 2004. A proteomic approach to analyze salt-responsive proteins in rice leaf sheath. **Proteomics** 4: 2072-2081.
- Abdel-Aal, E.M., Young, J.C. and Rabalski, I. 2006. Anthocyanin composition in black, blue, pink, purple and red cereal grains. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 54: 4696-4704.
- Alamgir, M. 1995. Electrophoresis characterization of root membrane proteins of one wheat and four cultivars of rice seedling growth under salinity stress. **Chittagong University Studies Science** 19(2): 225-233.
- Berkelman, T. and Stenstedt, T. 1998. **2-D electrophoresis**. Amersham Bioscience, Sweden.
- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry** 72: 248-254.
- Cabrera, L., Fossen, T. and Andersen, O.M. 2000. Colour and stability of the six common anthocyanidin 3-glucosides in aqueous solutions. **Food Chem** 68: 101-107.
- Cai-lin, G., Ze-gang, W., Ding-zhen, W., Yan, D., Yu-long, W., Qi, S. and Shi-shi, D. 2009. Proteomic Study for Responses to Cadmium Stress in Rice Seedlings. **Rice Science** 16(1): 33-44.

- Chen, L.J. and Hrazdina, G. 1981. Structural aspects of anthocyanin-flavonoid complex formation and its role in plant color. **Phytochemistry** 20: 297-303.
- Chen, P., Kuo, W., Chiang, C., Chiou, H., Hsieh, Y. and Chuc, S. 2006. Black rice anthocyanins inhibit cancer cells invasion via repressions of MMPs and u-PA expression. **Chemico-Biological Interactions** 163: 218–229.
- Gregorio, G.B. 2002. Progress in breeding for trace minerals in staple crops. **Journal of Nutrition** 132: 500 – 502.
- Gregorio, G.B., Dharmawansa, S. and Mendoza, R. D. 1997. Screening rice for salinity tolerance. IRRI. Discussion paper Series No. 22. **International Rice Research Institute**, Manila, the Philippines. pp. 1-30.
- Kennedy, G. and Burlingame, B. 2003. Analysis of food composition data on rice from a plant genetic resources perspective. **Food Chemistry** 80: 589 –596.
- Komatsu, S. and Tanaka, N. 2005. Rice proteome analysis: a step toward functional analysis of the rice genome. **Proteomics** 5(4): 938-949.
- Komatsu, S., Kojima, K., Suzuki, K., Ozaki, K. and Higo, K. 2003. Rice Proteome Database based on two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis: its status in 2003. **Nucleic Acids Research** 32: 388-392.
- Mazza, G. and Miniati, E. 1993. **Anthocyanins in fruits, vegetables, and grains**. CRC Press, Boca Raton, pp. 85–87.
- Nam, S.H., Choi, S.P., Kang, M.Y., Koh, H.J., Kozukue, N. and Friedman, M. 2006. Antioxidative activities of bran extracts from twenty one pigmented rice cultivars. **Food Chemistry** 94: 613–620.
- Naqvi, S.M.S., Ozalp, C.V., Oktem, H.A. and Yucel, M. 1992. Study of proteins synthesized in rice root under salt stress condition. **International Rice Research Newsletter** 17(1): 15-16.
- O' Farrell, H.P. 1975. High resolution two-dimensional electrophoresis proteins. **Journal of Biological Chemistry** 250:4007-4021.
- Pei, N. C., Wu, H. K., Chui, L. C., Hui, L. C., Yih, S. H. and Shu, C. C. 2006. Black rice anthocyanins inhibit cancer cells invasion via repressions of MMPs and u-PA expression. **Chemico-Biological Interaction** 163: 218-229.
- Renesto, P., Azza, S., Dolla, A., Fourquet, P., Vestris, G., Gorve, J-P. and Raoult, D. 2005. Proteome analysis of *Rickettsia conorii* by two-dimensional gel electrophoresis coupled with mass spectrometry. **FEMS Microbiology Letters** 245: 231-238.
- Shen, S., Matsubae, M., Tanaka, N. and Komatsu, S. 2002. A proteomic analysis of leaf sheaths from rice. **Journal of Biochemistry** 132(4): 613-620.

- Wiboonsirikula, J., Hataa, S., Tsunob, T., Kimuraa, and Adachia, S. 2007. Production of functional substances from black rice bran by its treatment in subcritical water. **LWT** 40: 1732–1740.
- Witzmann, F.A. and Li., J. 2002. Cutting-Edge Technology II. Proteomics: core technologies and applications in physiology. American **Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology** 282: G735–G741.
- Woo, S., choi, J., Park, S.P., Kim, S.Y., Cho, K., Kim, J., Kim, Y. H. and Park, Y. M. 2007. Proteomic analysis storing developing protein in rice (*Oryza sativa* L.). In: **Proceedings the 2nd International Rice for the Future**. pp. 123. Queen Sirikit national convention center Bangkok, Thailand.
- Yarmush, M.L. and Jayaraman, A. 2002. Advances in proteomic technologies. **Annual Review of Biomedical Engineering** 4: 349-373.
- Zang, X. and Komasu, S. 2006. A proteomics approach for identifying osmotic-stress-related proteins in rice. **Phytochemistry** 68: 426–437.
- Zhang, M. W., Guo, B. J., Zhang, R. F., Chi, J. W., Wei, Z. C., Xu, Z. H., Zhang, Y. and Tang, X. J. 2006. Separation, Purification and Identification of Antioxidation Composition in Black Rice. **Science Direct** 5(6): 431-440.



ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
การเตรียมสาร

๒๒

1. การเตรียมสารละลายธาตุอาหารเพาะเลี้ยงข้าว

ตารางที่ 1 การเตรียมสารละลายธาตุอาหารเพาะเลี้ยงพืช (Gregorio *et al.*, 1997 ดัดแปลงจาก Yoshida *et al.*, 1976)

สารละลายธาตุอาหาร (stock nutrient solution)			การเตรียม (กรัม/0.5 ลิตร)
ธาตุอาหารหลัก (Macronutrient)			
1.	N	Ammonium nitrate (NH ₄ NO ₃)	45.7
2.	P	Sodium phosphate monobasic monohydrate (NaH ₂ PO ₄ ·H ₂ O)	16.55
3.	K	Potassium sulfate (K ₂ SO ₄)	35.57
4.	Ca	Calciumchloride (CaCl ₂ ·H ₂ O)	53.46
5.	Mg	Magnesium sulfate (MgSO ₄ ·7H ₂ O)	162.0
ธาตุอาหารรอง (Micronutrient) ซึ่งสารแต่ละตัวละลายในน้ำกลั่น แล้วนำมาผสมกัน เติม H ₂ SO ₄ 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ครบ 500 มิลลิลิตร			
6.	Mn	Manganous chloride, 4-hydrate (MnCl ₂ ·4H ₂ O)	0.75
7.	Mo	Ammonium molydate, 4-hydrate [(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ ·4H ₂ O]	0.037
8.	Zn	Zinc sulfate, 7-hydrate (ZnSO ₄ ·7H ₂ O)	0.0175
9.	B	Boric acid (H ₃ BO ₃)	0.467
10.	Cu	Cupric sulfate, 5-hydrate (CuSO ₄ ·5H ₂ O)	0.0155
11.	Fe	Ferric chloride, 6-hydrate (FeCl ₃ ·6H ₂ O)	3.85
12.		Citric acid, monohydrate (C ₆ H ₈ O ₇ ·H ₂ O)	5.95

เตรียมธาตุอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงข้าวโดยดวงสารละลายจาก stock nutrient solution (ตารางที่ 1) มาขยคละ 70 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ครบ 50 ลิตร

2. ขั้นตอนการหาปริมาณโปรตีนโดยวิธี Bradford (1976)

- 2.1 ปีเปิดตัวอย่างมา 5 ไมโครลิตร จากนั้นเติมน้ำกลั่น 15 ไมโครลิตร แล้วเติมสารละลายสี (dyesolution) 1,000 ไมโครลิตร นำส่วนผสมที่ได้ไปผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex
- 2.2 วัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสง (optical absorbance) ที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร โดยใช้โบวยซีรัมอัลบูมิน (BSA) เป็นโปรตีนมาตรฐาน นำค่าที่ได้มาเทียบหาปริมาณโปรตีนจากกราฟมาตรฐาน
- 2.3 ทำกราฟมาตรฐานโดยเตรียมโปรตีนมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 0, 2, 4, 6, 8, 10 และ 12 ไมโครกรัมจากโปรตีนโบวยซีรัมอัลบูมิน ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 20 ไมโครลิตรต่อหลอดทดลอง 1 หลอด แล้วเติม Dye concentrate 1,000 ไมโครลิตรจากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร

3. การเตรียมโปรตีนมาตรฐาน

ปีเปต์สารละลายใส่หลอดทดลองตามตารางที่ 2 และผสมสารละลายให้เข้ากันจากนั้นนำไปวัดการดูดกลืน คลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร

ตารางที่ 2 การเตรียมโปรตีนมาตรฐาน

หลอดที่	โบวายซีรั่ม อัลบูมิน (BSA) (ไมโครลิตร)	น้ำกลั่น (ไมโครลิตร)	Dye solution (ไมโครลิตร)	วัดค่า OD ที่ 595 nm ครั้งที่ 1	วัดค่า OD ที่ 595 nm ครั้งที่ 2	วัดค่า OD ที่ 595 nm ค่าเฉลี่ย
1	0	20	1,000	0.000	0.000	0.000
2	2	18	1,000	0.141	0.147	0.144
3	4	16	1,000	0.225	0.227	0.226
4	6	14	1,000	0.338	0.338	0.338
5	8	12	1,000	0.444	0.446	0.445
6	10	10	1,000	0.547	0.549	0.548
7	12	8	1,000	0.630	0.634	0.632

4. การเตรียมเจลลิอะครีลาไมด์

ตารางที่ 3 ปริมาณสารที่ใช้ในการเตรียม Separating gel 10 %

สารเคมี	ปริมาณสารที่ใช้
Distilled water	4 ml
40 % Acrylamide/Bis	2.1 ml
1.5M Tris HCl, pH 8.8	2.1 ml
TEMED	7 µl
10 % APS	70 µl

5. สารเคมีที่ใช้ในการแยกโปรตีนด้วยวิธี SDS-PAGE

5.1 1.5 M Tris-HCl, pH 8.8

Tris base	18.1	กรัม
SDS	0.2	กรัม
น้ำปราศจากอออน	75	มิลลิลิตร
ปรับ pH เป็น 8.8 ด้วยกรดไฮโดรคลอริก		
ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นหรือน้ำปราศจากอออนให้ครบ 100 มิลลิลิตร		
เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง		

5.2 10X Running buffer

Tris base	30.2	กรัม
glycine	144	กรัม
SDS	10	กรัม

ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นหรือน้ำปราศจากไอออนให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร
ห้ามปรับปริมาตรด้วยกรดหรือเบส (เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง)

5.3 10 เปอร์เซนต์ APS (Ammonium persulfate)

0.1 กรัม APS เติมน้ำให้ครบ 1 มิลลิลิตร

5.4 5X Sample buffer

1 M Tris-HCl (pH 6.8)	0.6	มิลลิลิตร
50 เปอร์เซนต์ glycerol	5.0	มิลลิลิตร
10 เปอร์เซนต์ SDS	2.0	มิลลิลิตร
1 เปอร์เซนต์ bromophenol blue	1.0	มิลลิลิตร
น้ำปราศจากไอออน	0.9	มิลลิลิตร

6. สารเคมีที่ใช้ย้อมสีแถบโปรตีนด้วยสีซิลเวอร์ ไนเตรท

6.1 Fixation solution

Ethanol	100	มิลลิลิตร
glacial acetic acid	20	มิลลิลิตร

ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นหรือน้ำปราศจากไอออนให้ครบ 250 มิลลิลิตร

6.2 Sensitizing solution

Ethanol	75	มิลลิลิตร
Sodium thiosulphate (5% w/v)	10	มิลลิลิตร
Sodium acetate	17	กรัม

ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นหรือน้ำปราศจากไอออนให้ครบ 250 มิลลิลิตร
ก่อนใช้เติม giutardialdehyde (25% w/v) 1.25 มิลลิลิตร

6.3 Silver nitrate reagent

Silver nitrate solution (2.5% w/v)	25	มิลลิลิตร
------------------------------------	----	-----------

ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นหรือน้ำปราศจากไอออนให้ครบ 250 มิลลิลิตร

6.4 Developer

Sodium carbonate	6.25	กรัม
------------------	------	------

ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นหรือน้ำปราศจากไอออนให้ครบ 250 มิลลิลิตร
ก่อนใช้เติม 37% Formaldehyde 70 ไมโครลิตร

7. ข้อมูลสารเคมี

7.1 Acrylamide และ bis

สถานะเป็นของแข็งจะเสถียร ถ้าเป็นสารละลายไม่ควรเก็บนานเกิน 1-2 เดือน (ที่ 4 องศาเซลเซียส) มีผลต่อระบบประสาท (neurotoxin) สามารถดูดซึมเข้าทางผิวหนังและสูดหายใจเอาผงเข้าไป ดังนั้นจึงไม่ควรทำให้สารฟุ้งกระจาย เมื่อเป็นเจลที่สมบูรณ์จะไม่เป็นพิษ ในการทิ้งสารละลายจึงควรทำให้อยู่ในสภาพของเจลเสียก่อน ถ้าถูกผิวหนังควรล้างด้วยสบู่และน้ำในปริมาณมากๆ

7.2 TEMED (N,N,N',N'-tetramethylethylenediamine)

สารละลายใสไม่มีสี มีอายุการใช้งานนาน 6 เดือน หลัง 10-12 เดือนคุณภาพจะลดต่ำลงจึงต้องเพิ่มปริมาณในปฏิกิริยา polymerization เมื่อถูกออกซิไดซ์จะมีสีเหลือง

7.3 Ammonium persulfate (APS)

สถานะเป็นของแข็งที่เสถียร เก็บได้นาน 1 ปี เมื่อนำมาละลายน้ำแล้วประสิทธิภาพจะลดต่ำลง เมื่อละลายน้ำสามารถเก็บได้นานประมาณ 1 สัปดาห์ ดังนั้นจึงควรเตรียมก่อนใช้ทุกครั้ง

7.4 SDS (Sodium dodecyl sulfate)

สารลดแรงตึงผิว (Anionic detergent) ที่มีประจุลบ เมื่อจับกับโปรตีนจะทำให้โมเลกุลของโปรตีนนั้นมีประจุเป็นลบทั้งหมด โดย SDS 1.4 กรัม สามารถจับกับโปรตีนได้ 1 กรัม ซึ่งมีสัดส่วนคงที่ทำให้แรงดึงของกระแสไฟฟ้าที่กระทำต่อมวลของโปรตีนคงที่

ภาคผนวก ข

ข้อมูลดิบ

1. การเก็บรวบรวมเมล็ดพันธุ์ข้าวเหนียวดำ

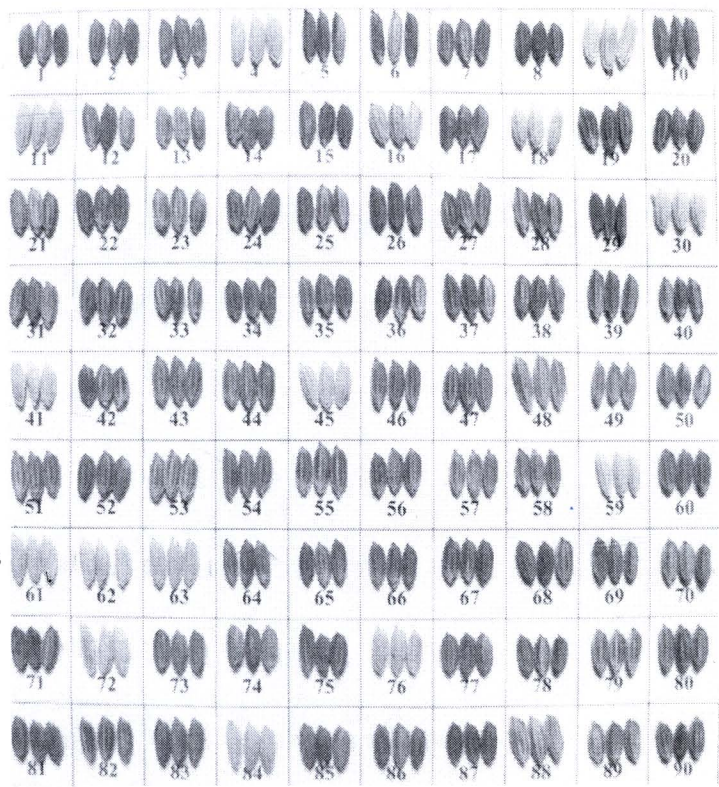
ตารางที่ 4 รายละเอียดของพันธุ์ข้าวเหนียวดำที่รวบรวมได้ทั้ง 90 สายพันธุ์

[illegible]

ตารางที่ 4 แสดงรายละเอียดของพันธุ์ข้าวเหนียวดำที่รวบรวมได้ทั้ง 90 สายพันธุ์ (ต่อ)

No.	ชื่อพันธุ์	แหล่งที่มา	สีข้าวเปลือก	สีข้าวกล้อง	สีของใบข้าว	%การงอก
76	ก่ำกุดชุม	อ.กุดชุม จ.ร้อยเอ็ด	ดำ	ก่ำล้วน	เขียว	100
77	ก่ำกุดชุม	อ.กุดชุม จ.ร้อยเอ็ด	ฟาง	ก่ำผ่า	เขียว	100
78	ข้าวก่ำ	จ. ยโสธร	ดำ	ก่ำล้วน	เขียว	100
79	ข้าวก่ำ	จ. ยโสธร	ดำ	ก่ำผ่า	ม่วง	100
80	เมืองสรวง	อ.เมืองสรวง จ.ร้อยเอ็ด	ดำ	ก่ำล้วน	ม่วง	100
81	ข้าวก่ำ	บ้านท่า ต.หนองเม็ก อ.หนองสองห้อง จ.ขอนแก่น (จากคุณเพ็ง ปิจจชัย)	ดำ	ก่ำล้วน	เขียว	100
82	ข้าวก่ำ	บ้านหนองคูบัว ต.ตะกั่วป่า อ.หนองสองห้อง จ.ขอนแก่น (จากคุณสุข พิมายนอก)	ฟาง+ดำ	ก่ำล้วน	เขียว	100
83	ข้าวก่ำ	อ.ห้วยทับทัน จ.ศรีสะเกษ (จากคุณสมจิตร วงศ์ภักดี)	ดำ	ก่ำล้วน	ม่วง	100
84	ข้าวก่ำ	อ.ห้วยทับทัน จ.ศรีสะเกษ (จากคุณสมจิตร วงศ์ภักดี)	ฟาง	ก่ำผ่า	เขียว	100
85	ข้าวก่ำ	บ้านแสนสุข ต.กุดข้าว อ. กุฉินารายณ์ จ.กาฬสินธุ์ (จากคุณประภัสสร เจียมตัว)	ดำ	ก่ำล้วน	เขียว	100
86	ข้าวก่ำ	บ้านแสนสุข ต.กุดข้าว อ. กุฉินารายณ์ จ. กาฬสินธุ์ (จากคุณบรรณ แสงนาโก)	ดำ	ก่ำล้วน	เขียว	100
87	LLR6 ข้าวเหนียวดำ	ดร. จีรวัฒน์ สนิทชน หมวคพิชไร์ คณะเกษตรศาสตร์ ม. ขอนแก่น	ดำ	ก่ำล้วน	เขียว	50
88	LLR15 ข้าวเหนียวดำ	ดร. จีรวัฒน์ สนิทชน หมวคพิชไร์ คณะเกษตรศาสตร์ ม. ขอนแก่น	ฟาง	ก่ำผ่า	เขียว	100
89	LLR26 ข้าวก่ำ	ดร. จีรวัฒน์ สนิทชน หมวคพิชไร์ คณะเกษตรศาสตร์ ม. ขอนแก่น	ดำ	ก่ำล้วน	เขียว	50
90	LLR30 ข้าวก่ำ12	ดร. จีรวัฒน์ สนิทชน หมวคพิชไร์ คณะเกษตรศาสตร์ ม. ขอนแก่น	ดำ	ก่ำล้วน	ม่วง	100

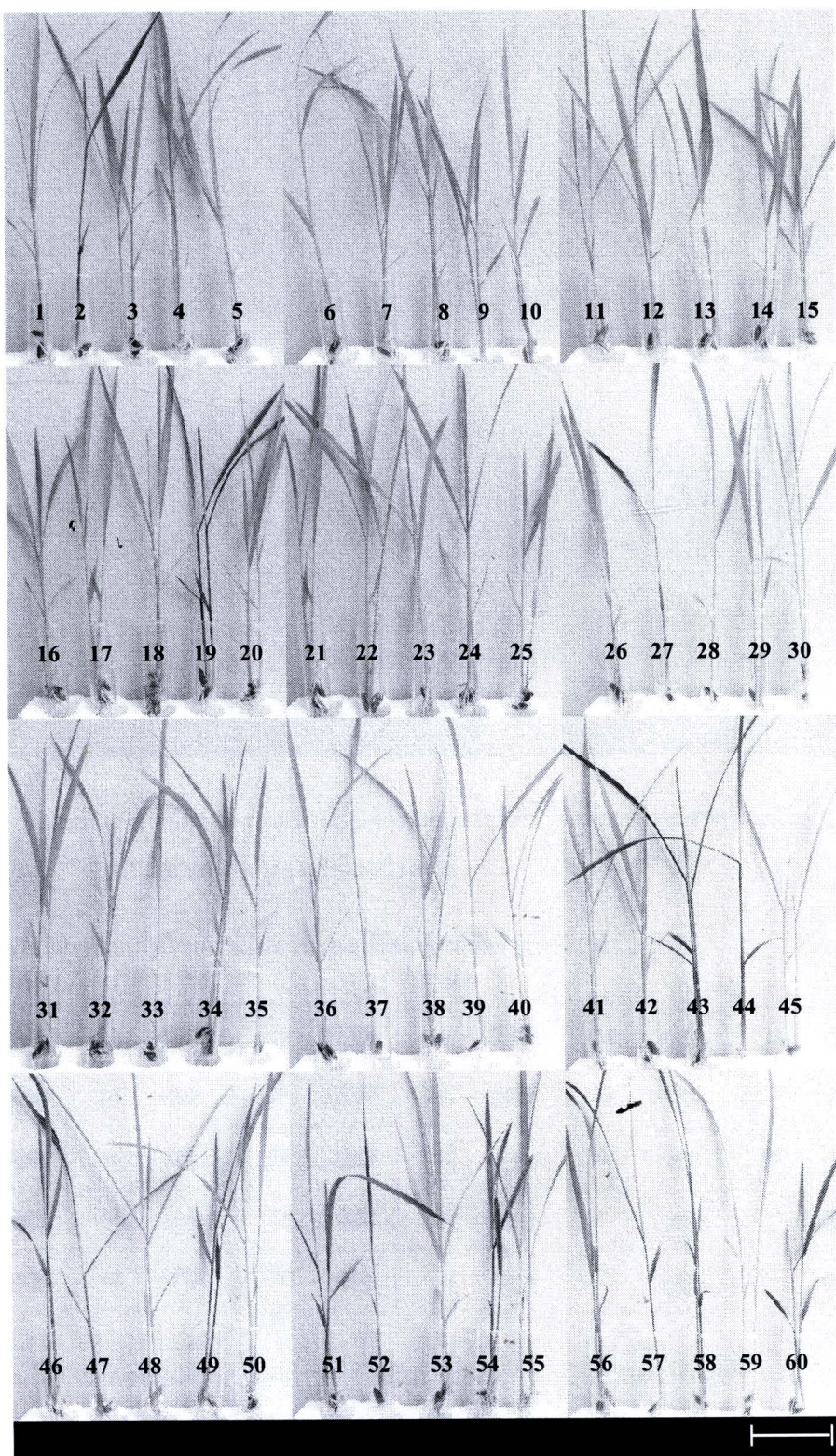
หมายเหตุ: หมายเลข 1-72 ขอเมล็ดพันธุ์จาก ศูนย์วิจัยข้าวชุมแพ จังหวัดขอนแก่น
หมายเลข 73-86 ขอจากการเพาะปลูกในปี 2551-2552
หมายเลข 87-90 ขอเมล็ดพันธุ์จาก ดร. จีรวัฒน์ สนิทชน หมวคพิชไร์ คณะเกษตรศาสตร์ ม.ขอนแก่น



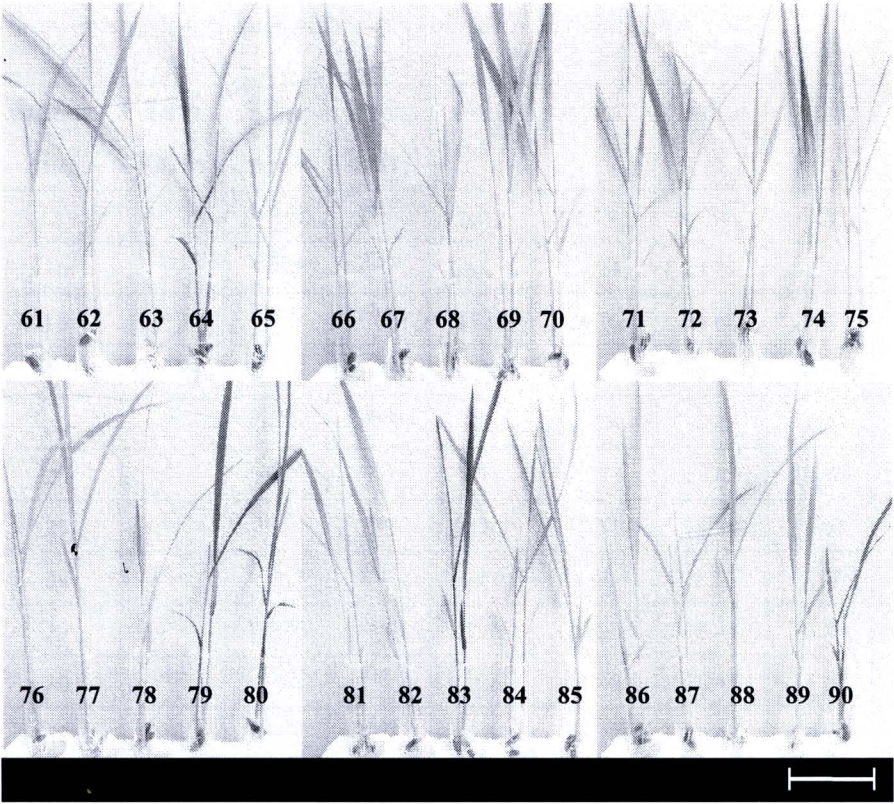
ภาพที่ 9 ข้าวเปลือกของข้าวเหนียวดำ 90 สายพันธุ์



ภาพที่ 10 ข้าวเปลือกและข้าวกล้องของข้าวเหนียวดำ 90 สายพันธุ์



ภาพที่ 11 การปลูกทดสอบเปอร์เซ็นต์การงอกและสีของใบข้าวเหนียวดำ 90 สายพันธุ์
(สเกลบาร์เท่ากับ 3 เซนติเมตร)



ภาพที่ 11 การปลูกทดสอบเปอร์เซ็นต์การงอกและสีของใบข้าวเหนียวดำ 90 สายพันธุ์ (สเกลบาร์เท่ากับ 3 เซนติเมตร) (ต่อ)

2. การศึกษาปริมาณแอนโทไซยานินในส่วนของเปลือกหุ้มเมล็ดข้าวเหนียวดำ

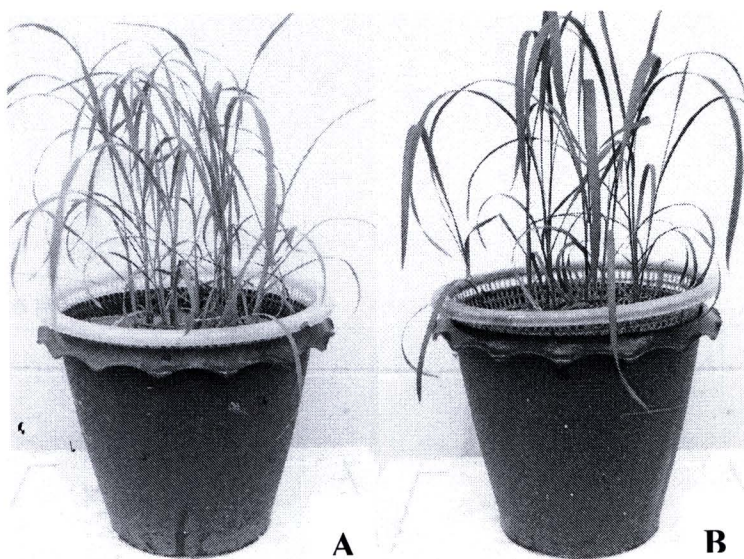
3	16	18	19	20	26
27	28	29	30	32	42
44	46	50	52	53	54
55	56	58	59	63	64
65	68	70	71	72	76

ภาพที่ 12 เมล็ดข้าวกล้องของข้าวเหนียวดำ 30 สายพันธุ์ เพื่อนำมาวัดปริมาณแอนโทไซยานินในส่วนของเปลือกเมล็ด โดยคัดเลือกจากความเข้มของสีของเชื้อหุ้มเมล็ด

ตารางที่ 5 ข้อมูลของปริมาณแอนโทไซยานิน (%) ของข้าวเหนียวดำ 30 สายพันธุ์

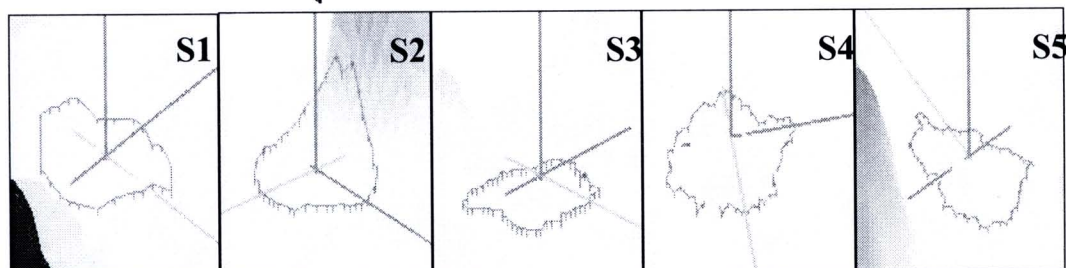
ตัวอย่าง ที่	หมายเลข พันธุ์	สีข้าว เปลือก	สีข้าว กล้อง	สีของ ใบข้าว	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน
1	3	ดำ	กำลัง	เขียว	5.01	1.83	6.7209	4.52	2.48
2	16	ฟาง	กำลัง	เขียว	36.78	34.94	29.57	33.76	3.74
3	18	ฟาง	กำลัง	เขียว	26.39	26.76	24.68	25.94	1.10
5	19	ดำ	กำลัง	ม่วง	37.63	24.31	30.06	30.66	6.68
4	20	ดำ	กำลัง	เขียว	8.3	11.24	17.47	12.33	4.68
6	26	ดำ	กำลัง	เขียว	17.1	22.72	15.88	18.56	3.64
7	27	ดำ	กำลัง	ม่วง	24.92	17.35	13.56	18.61	5.78
8	28	ดำ	กำลัง	เขียว	0.61	4.64	4.27	3.17	2.22
9	29	ดำ	กำลัง	เขียว	17.96	20.28	18.45	18.89	1.22
10	30	ฟาง	กำลัง	เขียว	11.6	11.48	18.45	13.84	3.98
11	32	ดำ	กำลัง	เขียว	25.53	25.78	28.47	26.59	1.63
12	42	ดำ	กำลัง	เขียว	9.4	14.9	16	13.43	3.53
13	44	ดำ	กำลัง	ม่วง	5.98	17.23	9.89	11.03	5.71
14	46	ดำ	กำลัง	ม่วง	17.1	14.29	17.59	16.32	1.78
15	50	ดำ	กำลัง	เขียว	5.49	10.5	12.46	9.48	3.59
16	52	ดำ	กำลัง	เขียว	8.06	11.73	7.82	9.20	2.19
17	53	ฟาง+ดำ	กำลัง	เขียว	14.9	12.21	12.7	13.27	1.43
18	54	ดำ	กำลัง	ม่วง	7.94	8.55	8.06	8.18	0.32
19	55	ดำ	กำลัง	เขียว	1.71	1.71	4.39	2.60	1.54
20	56	ดำ	กำลัง	ม่วง	3.91	6.59	11.97	7.49	4.10
21	58	ดำ	กำลัง	ม่วง	4.39	2.68	4.88	3.98	1.15
22	59	ฟาง	กำลัง	เขียว	9.53	9.89	4.88	8.10	2.79
23	63	ฟาง	กำลัง	เขียว	13.07	9.4	13.68	12.05	2.31
24	64	ดำ	กำลัง	เขียว	15.88	21.62	15.27	17.59	3.50
25	65	ดำ	กำลัง	เขียว	8.92	7.33	9.04	8.43	0.95
26	68	ดำ	กำลัง	เขียว	18.32	15.88	18.69	17.63	1.52
27	70	ดำ	กำลัง	เขียว	5.37	8.55	8.43	7.45	1.80
28	71	ดำ	กำลัง	เขียว	3.29	4.03	12.21	6.51	4.95
29	72	ฟาง	กำลัง	เขียว	24.19	15.15	21.75	20.36	4.67
30	76	ดำ	กำลัง	เขียว	35.8	32.62	29.69	32.70	3.05

3. การศึกษาเปรียบเทียบแบบแผนโปรตีนในใบข้าวเหนียวขาวและข้าวเหนียวดำ โดยใช้เทคนิค 2D-PAGE

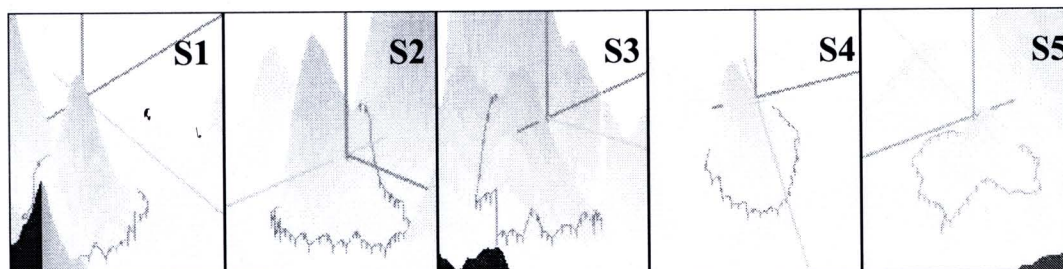


ภาพที่ 13 ข้าวเหนียวขาว ใบสีเขียว สายพันธุ์ กข 6 (A) และข้าวเหนียวดำ ใบสีม่วง หมายเลข 19 (B) ที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหารเพาะเลี้ยงข้าว (Gregorio *et al.*, 1997 ดัดแปลงจาก Yoshida *et al.*, 1976)

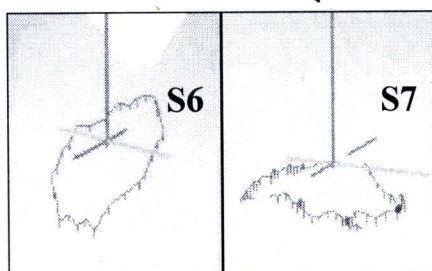
A. ข้าวเหนียวขาว สายพันธุ์ กข 6



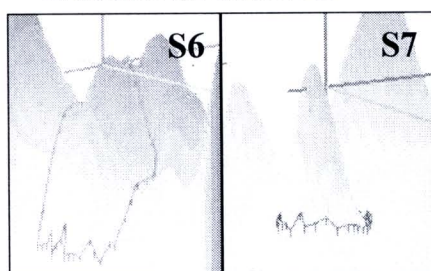
B. ข้าวเหนียวดำ หมายเลข 19



A. ข้าวเหนียวขาว สายพันธุ์ กข 6

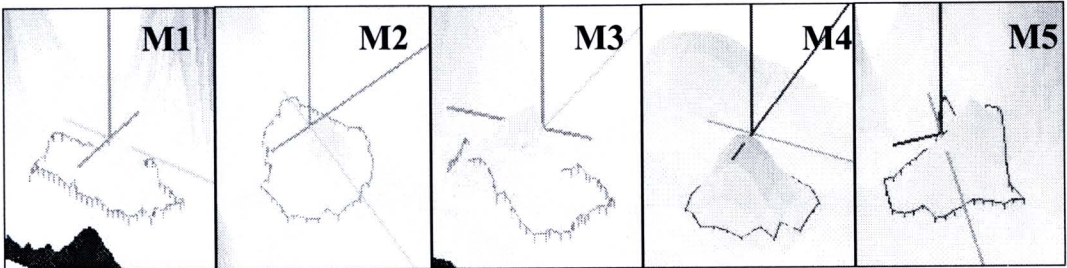


B. ข้าวเหนียวดำ หมายเลข 19

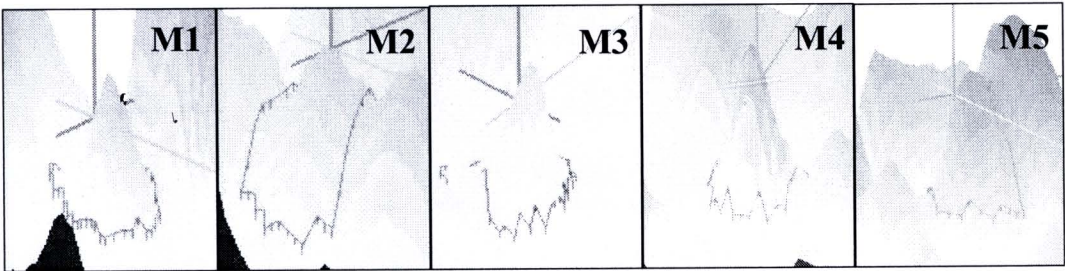


ภาพที่ 14 โปรตีนที่ไม่พบในใบข้าวเหนียว สายพันธุ์ กข 6 (A) และพบเฉพาะในใบข้าวเหนียวดำหมายเลข 19 (B) เมื่อวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม Image Master 2D Platinum version 5 (S และหมายเลข คือ สัญลักษณ์แทนจุดโปรตีนแต่ละชนิดที่พบเฉพาะ)

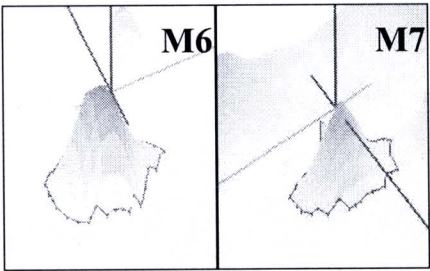
A. ข้าวเหนียวขาว สายพันธุ์ กข 6



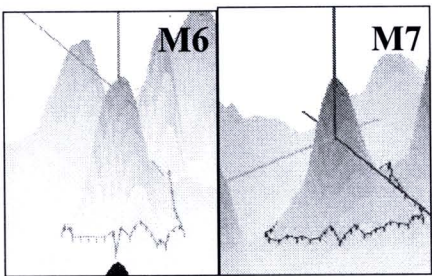
B. ข้าวเหนียวดำ หมายเลข 19



A. ข้าวเหนียวขาว สายพันธุ์ กข 6

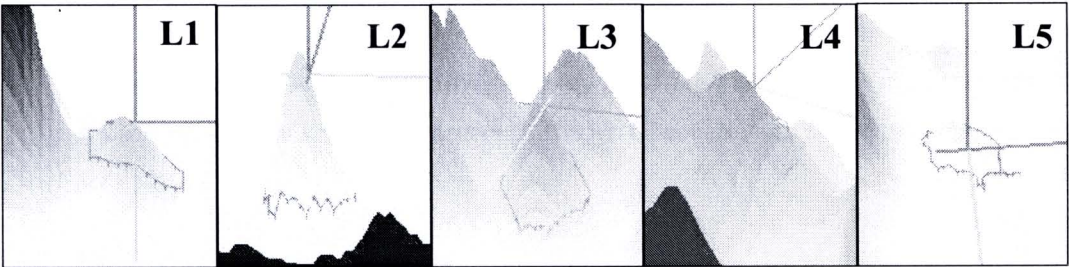


B. ข้าวเหนียวดำ หมายเลข 19

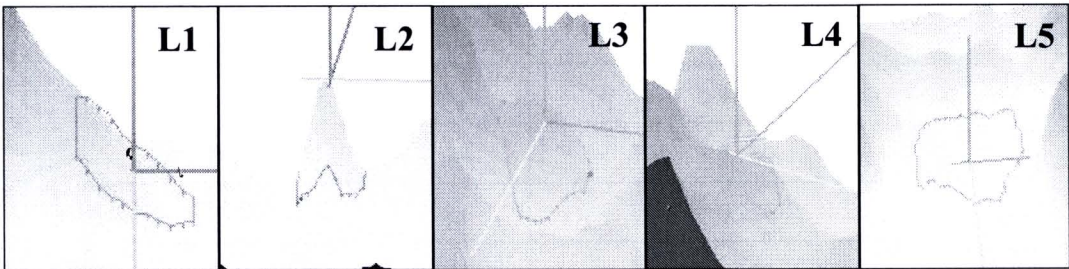


ภาพที่ 15 โปรตีนพบมากกว่าในใบข้าวเหนียวขาว (A) และข้าวเหนียวดำ (B) เมื่อวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม Image Master 2D Platinum version 5 (M และหมายเลข คือ สัญลักษณ์แทนจุดโปรตีนแต่ละชนิดที่พบมากกว่า)

A. ข้าวเหนียวขาว สายพันธุ์ กข 6



B. ข้าวเหนียวดำ หมายเลข 19



ภาพที่ 16 โปรตีนที่น้อยกว่าในข้าวเหนียวขาว (A) และข้าวเหนียวดำ (B) เมื่อวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม Image Master 2D Platinum version 5 (L และหมายเลข คือ สัญลักษณ์แทนจุดโปรตีนแต่ละชนิดที่น้อยกว่า)

ตารางที่ 6 ค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ของจุดโปรตีนที่พบเฉพาะในข้าวเหนียวดำ (A) โปรตีนที่พบในข้าวเหนียวดำมากกว่าข้าวเหนียวขาว (B) และโปรตีนที่พบในข้าวเหนียวดำ น้อยกว่าข้าวเหนียวขาว (C) หมายเลขโปรตีน (Spot no.) ค่ามวลโมเลกุล (MW) ค่าไอโซอิเล็กทริก (pI) ร้อยละปริมาตรของข้าวเหนียวขาว (% volume, %S) ร้อยละของปริมาตรของข้าวเหนียวดำ (% volume, %C) อัตราส่วนระหว่าง %S และ %C (%S : %C)

A. โปรตีนที่พบเฉพาะในข้าวเหนียวดำ

Spot no.	MW (kDa)	pI	%S	%C	%C:%S
S1	15	6.2	-	0.245	-
S2	19	6.5	-	0.464	-
S3	22	6.4	-	0.180	-
S4	17	8.6	-	0.251	-
S5	26	6.4	-	0.127	-
S6	13	6.5	-	0.762	-
S7	12	5.8	-	0.272	-

B. โปรตีนที่พบในข้าวเหนียวดำมากกว่าข้าวเหนียวขาว

Spot no.	MW (kDa)	pI	%S	%C	%C:%S
M1	18	6.2	0.071	0.274	3.9
M2	22	6.2	0.056	0.244	4.4
M3	12	5.4	0.055	0.224	4.1
M4	23	6.3	0.056	0.116	2.1
M5	23	6.1	0.054	0.131	2.4
M6	21	5.8	0.223	0.343	1.5
M7	16	5.9	0.147	0.257	1.7

C. โปรตีนที่พบในข้าวเหนียวดำน้อยกว่าข้าวเหนียวขาว

Spot no.	MW (kDa)	pI	%S	%C	%S:%C
L1	19	5.7	0.236	0.084	2.8
L2	21	5.5	0.212	0.143	1.5
L3	36	5.7	0.198	0.066	3
L4	36	5.5	0.162	0.017	9.5
L5	30	6.6	0.156	0.084	1.8

ตารางที่ 7 ชนิดของโปรตีนที่พบเฉพาะในใบข้าวเหนียวดำ หมายเลข 19 [หมายเลขโปรตีน (Spot no.) ค่ามวลโมเลกุล (MW) ค่าไอโซอิเล็กทริก (pI) ชื่อโปรตีน (Protein Ident) แหล่งที่พบ (From) ค่ามวลโมเลกุลของโปรตีนในฐานข้อมูล (MW Ident) ค่าไอโซอิเล็กทริก ของโปรตีนในฐานข้อมูล (pI Ident) หน้าที่ของโปรตีน (Function)]

Spot no	MW (kDa)	pI	Protein Ident	From	MW Ident (kDa)	pI Ident	Function
S1	15	6.2	CRS2-like protein	ข้าวजाโปนิกา	14.979	6.24	ไม่ทราบหน้าที่
S2	19	6.5	Montothiol glutaredoxin-S1	ข้าวजाโปนิกา	18.892	6.45	อาจเกี่ยวข้องกับการสลาย GSH-thiol disulfides
S3	22	6.4	Putative germin-like protein 8-1	ข้าวजाโปนิกา	21.168	6.45	มีบทบาทในการต้านทานโรคพืชแบบกว้าง
S4	17	8.6	V-type proton ATPase 16 kDa proteolipid subunit	ข้าวजाโปนิกา	16.667	8.61	เป็นองค์ประกอบสำคัญในส่วน Vo complex ของ ATPase
S5	26	6.4	Expansin-B1	ข้าวजाโปนิกา	26.532	6.40	อาจทำให้เกิดการสูญเสียและการขยายออกของผนังเซลล์ ซึ่งไม่เกี่ยวกับกิจกรรมของ enzyme
S6	13	6.5	Ribulose bisphosphate carboxylase small chain	ข้าวอินดิกา	34.039	6.16	กระตุ้นปฏิกิริยา carboxylation of D-ribulose 1,5-bisphosphate และ oxidative pentose substrate.
S7	12	5.8	Mitochondrial import inner membrane translocase subunit Tim9	ข้าวजाโปนิกา	10.840	5.83	เป็นองค์ประกอบของ chaperone ใน MT เกี่ยวข้องกับการขนส่งนำเข้าโปรตีนสู่ MT

ตารางที่ 8 ชนิดของโปรตีนที่พบในใบข้าวเหนียวดำ หมายเลข 19 มากกว่าข้าวเหนียวขาว [หมายเลขโปรตีน (Spot no.) ค่ามวลโมเลกุล (MW) ค่าไอโซอิเล็กทริก (pI) ชื่อโปรตีน (Protein Ident) แหล่งที่พบ (From) ค่ามวลโมเลกุลของโปรตีนในฐานข้อมูล (MW Ident) ค่าไอโซอิเล็กทริก ของโปรตีนในฐานข้อมูล (pI Ident) หน้าที่ของโปรตีน (Function)]

Spot no	MW (kDa)	pI	Protein Ident	From	MW Ident (kDa)	pI Ident	Function
M1	18	6.2	Nuclear transcription factor Y subunit B-3	ข้าวเจ้าโปนิก้า	19.180	6.29	เป็น transcription factor และอาจควบคุมการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์แสง
M2	22	6.2	Germin-like protein 8-6	ข้าวเจ้าโปนิก้า	21.963	6.20	มีบทบาทในการต้านทานโรคพืชแบบกว้าง
M3	12	5.4	Cysteine proteinase inhibitor 5	ข้าวเจ้าโปนิก้า	13.144	5.41	เป็นตัวยับยั้ง Enzyme cysteine proteinases เกี่ยวข้องกับการป้องกันแมลงและโรคพืช
M4	23	6.3	Germin-like protein 8-11	ข้าวเจ้าโปนิก้า	22.002	6.26	มีบทบาทในการต้านทานโรคพืชแบบกว้าง
M5	23	6.1	Transcription factor LAX PANICLE	ข้าวเจ้าโปนิก้า	23.092	6.12	เป็น transcription factor
M6	21	5.8	Ribosome-recycling factor, chloroplastic	ข้าวเจ้าโปนิก้า	21.712	5.83	เกี่ยวกับการขนส่ง RNA ของ ribosome
M7	16	5.9	NAD(P)H-quinone oxidoreductase subunit J	ข้าวเจ้าโปนิก้า	18.783	5.83	อาจเกี่ยวกับการขนส่งอิเล็กตรอน ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง

ตารางที่ 9 ชนิดของโปรตีนที่พบในใบข้าวเหนียวดำ หมายเลข 19 น้อยกว่าข้าวเหนียว [หมายเลขโปรตีน (Spot no.) ค่ามวลโมเลกุล (MW) ค่าไอโซอิเล็กทริก (pI) ชื่อโปรตีน (Protein Ident) แหล่งที่พบ (From) ค่ามวลโมเลกุลของโปรตีนในฐานข้อมูล (MW Ident) ค่าไอโซอิเล็กทริกของโปรตีนในฐานข้อมูล (pI Ident) หน้าที่ของโปรตีน (Function)]

Spot no	MW (kDa)	pI	Protein Ident	From	MW Ident (kDa)	pI Ident	Function
L1	19	5.7	Cytochrome b6-f complex iron-sulfur subunit (chloroplastic)	ข้าวजाโปนิกา	19.081	5.57	อาจเกี่ยวกับการขนส่งอิเล็กตรอน ในกระบวนการสังเคราะห์แสง
L2	21	5.5	Germin-like protein 3-5	ข้าวजाโปนิกา	20.892	5.51	อาจเกี่ยวกับกระบวนการป้องกันของพืช โดยไม่เกิดกิจกรรมออกซาลาเลทออกซิเดชัน แม้ว่า active site จะ conserve
L3	36	5.7	Putative cyclin-D7-1	ข้าวजाโปนิกา	35.983	5.78	ไม่ทราบหน้าที่
L4	36	5.5	Nicotianamine synthase 3	ข้าวอินดิกา	36.984	5.53	อาจทำหน้าที่เป็นตัวรับรู้ระดับ Fe ในพืช หรืออาจเกี่ยวกับการขนส่ง Fe
L5	30	6.6	Probable succinyl-CoA ligase [GDP-forming] subunit alpha, (mitochondrial)	ข้าวजाโปนิกา	31.168	6.65	ไม่ทราบหน้าที่



