



ดีเอ็นเอบาร์โค้ด: เครื่องมือใหม่สำหรับการระบุชนิดทางชีวภาพ?

DNA Barcodes: A New Tool for Biological Identifications?

โองการ วนิชชีวะ¹

บทคัดย่อ

ดีเอ็นเอบาร์โค้ดเป็นแนวคิดใหม่ที่ใช้ความแตกต่างในของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่เรียงตัวอยู่บนสายดีเอ็นเอมาตรฐานหรือในจีนบางชนิดของสิ่งมีชีวิตที่มีขนาดสั้น ๆ มาช่วยในการสนับสนุนการจำแนกชนิดของสิ่งมีชีวิต ปัจจุบันได้มีการพยายามร่วมมือกันระหว่างสถาบันต่าง ๆ ทั่วโลกเพื่อจัดทำเป็นฐานข้อมูลดีเอ็นเอบาร์โค้ดของสิ่งมีชีวิตขึ้น พบว่าดีเอ็นเอบาร์โค้ดสามารถนำมาประยุกต์ใช้กับงานด้านความหลากหลายทางชีวภาพในหลากหลายมิติด้วยกัน อย่างไรก็ตามการประยุกต์ใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ดในสิ่งมีชีวิตยังมีข้อจำกัดหลายประการ เช่น ลำดับนิวคลีโอไทด์มาตรฐานที่จะนำมาประยุกต์ใช้ การได้มาของตัวอย่างสิ่งมีชีวิต และฐานข้อมูลที่น่าเชื่อถือเป็นข้อจำกัดอยู่ เป็นต้น ดังนั้นอาจสรุปได้ว่าดีเอ็นเอบาร์โค้ดเป็นเพียงเครื่องมือ เพื่อหาข้อมูลที่จะช่วยในการเสนอแนะและช่วยสนับสนุนการอยู่ของสิ่งมีชีวิตนั้น ๆ จำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องอาศัยวิธีการอื่น เข้ามาประกอบกันจึงจะทำให้ผลการศึกษาจำแนกชนิดของสิ่งมีชีวิตนั้น ๆ มีความน่าเชื่อถือ

ABSTRACT

DNA barcode is a new concept that applies gene or universal DNA sequences differences to support classification of organisms. At present, there has been collaboration between various institutions around the world to create a database of DNA barcode of life. DNA barcode can be applied to the biological diversity in a variety of different dimensions. However, the application of DNA barcodes still has several limitations, for example universal DNA sequences or standardized nucleotide sequences, acquisition of a life and limited of database. In conclusion, DNA barcode is just a tool that assists to support the existence of life which necessary come together with other methods to identify biological specimens are more reliable.

¹สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร บางเขน กรุงเทพฯ 10220

E-mail: vanijajiva@pnru.ac.th

คำสำคัญ: ดีเอ็นเอบาร์โค้ด ความหลากหลายทางชีวภาพ การระบุชนิด

Keywords: DNA barcode, Biodiversity, Species identification

บทนำ

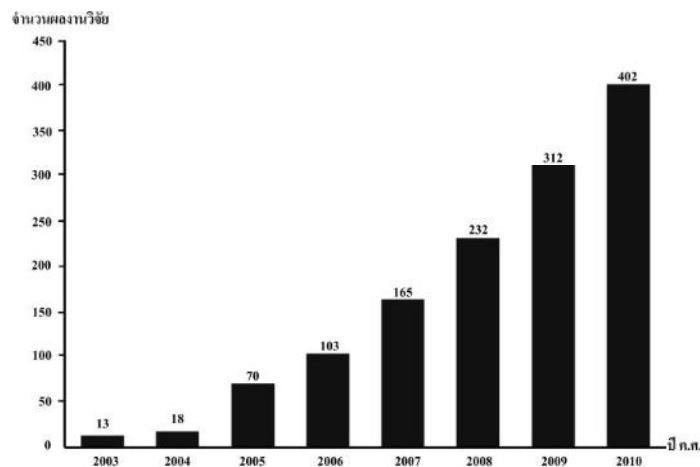
ความหลากหลายทางชีวภาพ (biodiversity) นับว่าเป็นทรัพยากรพื้นฐานและมรดกทางธรรมชาติที่สำคัญและมีผลต่อความมั่นคงของมนุษยชาติ ปัจจุบันการศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพได้ขยายไปในหลายมิติด้วยกัน ทั้งด้านการสำรวจ การอนุรักษ์ และการประยุกต์ใช้ทรัพยากรทางชีวภาพเพื่อให้เกิดประโยชน์สูงสุด การได้มาซึ่งข้อมูลพื้นฐานของความหลากหลายทางชีวภาพนั้นจำเป็นต้องอาศัยความรู้ด้านอนุกรมวิธาน (taxonomy) ในการจัดจำแนก (classification) ระบุชนิด (identification) รวมทั้งให้ชื่อ (nomenclature) ของสิ่งมีชีวิตเพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานสำคัญในการศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพในขั้นต่อไป นับตั้งแต่ Carolus Linnaeus ผู้ริเริ่มการประยุกต์ใช้ระบบการเรียกชื่อวิทยาศาสตร์แบบทวินาม (binomial nomenclature) ของสิ่งมีชีวิตเมื่อกว่า 250 ปีที่แล้วและยังคงใช้กันอยู่ต่อมาจนถึงปัจจุบันได้มีการค้นพบและให้ชื่อสิ่งมีชีวิตรวมแล้วมากกว่าล้านชนิด อย่างไรก็ตามข้อมูลที่ได้นับเป็นเพียงส่วนน้อยเมื่อเทียบกับสิ่งมีชีวิตบนโลกใบนี้ที่คาดว่าจะมีมากถึง 100 ล้านชนิด (May, 1988; Blaxter, 2004; Vernooey et al., 2010) ดังนั้นหากต้องการให้ได้ข้อมูลที่มีมหาศาลนี้ จำเป็นต้องอาศัยนักอนุกรมวิธาน (taxonomist) ที่มีความเชี่ยวชาญในสิ่งมีชีวิตเฉพาะกลุ่มจำนวนมหาศาลเช่นกัน แต่จากจำนวนของนักอนุกรมวิธานที่ลดลงในปัจจุบันจึงเป็นข้อจำกัดประการสำคัญ (Jinbo et al., 2011) นอกจากนี้หากสิ่งมีชีวิตเกิดการปรับตัวและการเปลี่ยนแปลงไปของโครงสร้างภายนอก (phenotypic plasticity) ทำให้ลักษณะ (character) ที่ใช้ในการ

จำแนกสิ่งมีชีวิตนั้น ๆ เปลี่ยนแปลงอาจส่งผลให้การระบุชนิดเกิดการผิดพลาดได้ รวมทั้งการจำแนกสิ่งมีชีวิตหลายชนิดจำเป็นต้องอาศัยอวัยวะสืบพันธุ์เข้ามาช่วย จึงต้องรอช่วงระยะเวลาสืบพันธุ์ของสิ่งมีชีวิตนั้น ๆ ซึ่งอาจต้องใช้ระยะเวลาในการตรวจสอบชนิดของสิ่งมีชีวิตนั้น ๆ นานมากขึ้น นอกจากนี้ปัจจุบันพบว่าสิ่งมีชีวิตหลายชนิดมีลักษณะที่เป็นสปีชีส์ซ่อนเร้น (cryptic species) ซึ่งเป็นลักษณะของกลุ่มของสิ่งมีชีวิตที่มีสัณฐานวิทยา (morphology) คล้ายกันแต่มีการแบ่งแยกกันในการสืบพันธุ์ และความต้องการพื้นฐานในระบบนิเวศพื้นฐาน เช่น อาหาร แหล่งที่อยู่ เป็นต้น โดยหากใช้ลักษณะภายนอกเข้ามาจำแนกเพียงอย่างเดียวมักจะถูกจัดให้อยู่ในชนิดเดียวกันเสมอ ดังนั้นจากสาเหตุข้างต้นทำให้นักวิทยาศาสตร์พยายามหาวิธีที่เป็นมาตรฐานสากลที่สามารถเข้ามาช่วยสนับสนุนการจำแนกรวมทั้งสามารถระบุชนิดของสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ ได้อย่างรวดเร็วและถูกต้องมากยิ่งขึ้น (Kress et al., 2005) กระทั่งปี ค.ศ. 2003 Hebert et al. ได้เสนอแนวความคิดของเครื่องมือที่ช่วยในการสนับสนุนการจำแนกชนิดและระบุชนิดของสิ่งมีชีวิตให้รวดเร็วรวมทั้งน่าเชื่อถือมากยิ่งขึ้น โดยอาศัยแนวคิดของแถบดีเอ็นเอบาร์โค้ดหรือบาร์โค้ดแห่งชีวิต ที่อาศัยลักษณะทางพันธุกรรมที่ต่างกันเข้ามาช่วยในการสนับสนุนการจำแนกและช่วยในการระบุชนิดของสิ่งมีชีวิตให้ชัดเจนมากยิ่งขึ้น รวมทั้งประยุกต์ใช้เป็นเครื่องมือช่วยในการวินิจฉัยทางชีวภาพได้ในหลายทิศทางไม่ว่าจะเป็นในด้านอนุกรมวิธาน และนิเวศวิทยา เป็นต้น (Hebert and Gregory, 2005; Schindel and Miller, 2005; Valentini et al., 2008)

ดีเอ็นเอบาร์โค้ดคืออะไร?

เมื่อเอ่ยถึง บาร์โค้ด (barcode) เรามักจะนึกถึงแถบของรหัสแท่งสีขาวดำสลับกัน ที่ใช้ในการตรวจสอบสินค้า ในร้านขายของหรือหนังสือต่าง ๆ ในห้องสมุด ซึ่งต้องอาศัยเครื่องสแกนหรือเครื่องอ่านบาร์โค้ดในการอ่านและถอดรหัสออกมา รวมทั้งในบัตรประชาชน ใบอนุญาตต่าง ๆ ทำให้เราสามารถระบุเอกลักษณ์ของตัวบุคคล และชนิดของสิ่งต่าง ๆ ได้รวดเร็วและแม่นยำ เช่นเดียวกับแนวความคิดของบาร์โค้ดดีเอ็นเอที่สามารถนำมาใช้ในการระบุชนิดของสิ่งมีชีวิต เสนอโดย Hebert et al. (2003) ซึ่งได้ทำการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ (nucleotide) บนจีน (gene) บริเวณ Cytochrome c oxidase subunit I (COI) มีขนาดประมาณ 648 คู่เบส (base pair: bp) ที่อยู่บนไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอ (mitochondria DNA; mtDNA) มาใช้จำแนกและระบุชนิดของผีเสื้อในลำดับ (order) Lepidoptera จำนวนกว่า 200 ชนิดพบว่าสามารถจำแนกชนิดของผีเสื้อในกลุ่มนี้ได้ถูกต้อง 100% จึงเกิดแนวคิดของการใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของดีเอ็นเอเป็นบาร์โค้ดในสิ่งมีชีวิตขึ้น โดยกล่าวว่าดีเอ็นเอบาร์โค้ดเป็นวิธีการระบุความแตกต่างในชนิดของสิ่งมีชีวิตที่อาศัยความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่เรียงตัวอยู่บนสายดีเอ็นเอมาตรฐานหรือในจีโนมของสิ่งมีชีวิตที่มีขนาดสั้น ๆ ไม่เกิน 1,000 คู่เบส มาใช้เป็นแถบป้าย (tag) บอกข้อมูลแสดงถึงเอกลักษณ์ของสิ่งมีชีวิตในแต่ละชนิดที่แตกต่างกันได้ ทำให้การระบุชนิดของตัวอย่างสิ่งมีชีวิตทำได้รวดเร็วขึ้น รวมทั้งสามารถเข้ามาช่วยสนับสนุนการค้นพบสิ่งมีชีวิตชนิดใหม่ และช่วยในการจำแนกสิ่งมีชีวิตประเภทสปีชีส์ซ่อนเร้นและสิ่งมีชีวิตที่ลักษณะภายนอกไม่สามารถบอกความแตกต่างออกจากกันได้

อย่างไรก็ดี Valentini et al. (2008) ได้แย้งว่าแนวความคิดของ Hebert et al. (2003) ไม่ได้เป็นแนวความคิดใหม่แต่อย่างใดเป็นแค่เพียงการนำเสนอชื่อใหม่บนแนวความคิดเก่าเท่านั้น เนื่องจากทฤษฎีการใช้ความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์บนชิ้นส่วนของจีโนมบางชนิดมาช่วยในการจำแนกสิ่งมีชีวิตนั้นมีมานานกว่า 2 ทศวรรษ รวมทั้งคำว่าดีเอ็นเอบาร์โค้ดนั้นผู้ที่นำมาใช้คนแรก คือ Arnot ตั้งแต่ปี ค.ศ.1993 แต่ไม่ได้ได้รับความสนใจมากนัก กระทั่ง Hebert et al. (2003) ได้ตีพิมพ์ผลงานมีชื่อว่า “Biological identifications through DNA barcodes” ทำให้แนวความคิดนี้เป็นที่รู้จักและนิยมอีกครั้งจนปัจจุบันอาจเรียกได้ว่าเป็นยุคทองของดีเอ็นเอบาร์โค้ด จะเห็นได้จากผลงานวิจัยในการประยุกต์ใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ดในสิ่งมีชีวิตเพิ่มขึ้นอย่างมากในปัจจุบัน (รูปที่ 1) ซึ่งในปี ค.ศ.2004 ได้มีการจัดตั้งความร่วมมือภายใต้โครงการ Consortium for the Barcode of Life (CBOL) และจัดทำเป็นฐานข้อมูล The Barcode of Life Data System (BOLD) (<http://www.barcodinglife.org>) ด้วยความร่วมมือของ 150 สถาบันจาก 45 ประเทศทั่วโลกเพื่อจุดประสงค์ในการพัฒนาวิธีการที่เป็นมาตรฐานสากลในการศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ดและสร้างฐานข้อมูลดีเอ็นเอบาร์โค้ดของสิ่งมีชีวิตขึ้น และในปี ค.ศ. 2010 จากการร่วมมือของ 26 ประเทศทั่วโลก ได้พัฒนาโครงการ International Barcode of Life project (iBOL) (<http://www.ibolproject.org>) เพื่อจุดประสงค์ในการพัฒนาเทคนิค รวมทั้งเครื่องมือและกระบวนการศึกษาและสกัดดีเอ็นเอให้ง่าย รวดเร็ว พร้อมทั้งมีราคาถูกลง โดยตั้งเป้าหมายไว้ในห้าปีแรกในการจัดทำฐานข้อมูลของสิ่งมีชีวิตให้ได้ 500,000 ชนิด ซึ่งปัจจุบันได้มีการบันทึกข้อมูลไปแล้วกว่า 100,000 ชนิด (International Barcode of Life, 2011)



รูปที่ 1 จำนวนงานวิจัยที่ประยุกต์ใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ดในสิ่งมีชีวิต
(ค้นคำว่า DNA Barcode ในฐานข้อมูล Web of Science)

การประยุกต์ใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ดในสิ่งมีชีวิต

การได้มาของข้อมูลดีเอ็นเอบาร์โค้ดนั้นทำได้ง่ายขึ้นในปัจจุบัน เนื่องจากความก้าวหน้าของเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่ (Polymerase Chain Reaction: PCR) รวมทั้งเทคนิคการวิเคราะห์ลำดับเบสบนสายดีเอ็นเอ (DNA sequencing) ที่สามารถวิเคราะห์ได้ง่ายและรวดเร็วมากขึ้นจึงทำให้ข้อมูลของลำดับเบสบนสายดีเอ็นเอจากสิ่งมีชีวิตชนิดต่าง ๆ เพิ่มขึ้นมากขึ้น Dasmahapatra and Mallet (2006) พบว่าได้มีการประยุกต์ใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ดในกลุ่มของสิ่งมีชีวิตแล้วหลายกลุ่มด้วยกัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกลุ่มของสัตว์ที่นำเอาลำดับนิวคลีโอไทด์บนจีน *COI* เข้านามาช่วยสนับสนุนการจำแนกชนิดและการค้นพบสิ่งมีชีวิตใหม่ ๆ มากมาย กลุ่มหลัก ๆ ที่พบได้ในกลุ่มปลา (Fish-Bol; Ward et al., 2009), นก (ABBI; Herbert et al., 2004), สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Mammalia Barcode of Life), สิ่งมีชีวิตในทะเล (MarBol) และแมลง โดยเฉพาะอย่างยิ่งผีเสื้อกลุ่ม Lepidoptera พบว่าได้มีการศึกษาไปแล้วกว่า 50,000 ชนิด หรือราว 30% ของตัวอย่างที่มีอยู่ (Silva-Brandão et al., 2009; Jinbo et al., 2011)

ในพืชนั้นปัจจุบันการศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ดยังมีน้อย และเป็นที่ถกเถียงถึงความเป็นไปได้เนื่องจากลำดับเบสบนบริเวณจีน *COI* ไม่สามารถนำมาประยุกต์ใช้ได้พืช สาเหตุจากไมโทคอนเดรียในพืชมีอัตราการวิวัฒนาการต่ำ ทำให้ความผันแปรของลำดับเบสบน *COI* ระหว่างชนิดมีน้อยมากไม่เพียงพอในการนำมาใช้สนับสนุนการจำแนกชนิดในกลุ่มของพืชได้ (Cho et al., 2004) ระยะไม่กี่ปีที่ผ่านมากลุ่มศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ดในพืชจึงได้พยายามหาตำแหน่งของดีเอ็นเอมาตรฐานและจีนที่สามารถนำมาใช้ในดีเอ็นเอบาร์โค้ดในพืชและพบความเป็นไปได้ว่าตำแหน่งที่เหมาะสมกับการนำมาใช้เป็นบาร์โค้ดในพืชนั้นส่วนใหญ่จะตั้งอยู่บนจีนที่อยู่บนคลอโรพลาสต์ดีเอ็นเอ (chloroplast DNA; cpDNA) โดยจากการศึกษาของ CBOL Plant Working Group (2009) ในกลุ่มของพืช 907 ตัวอย่างจากจีนตำแหน่งต่างที่อยู่บนคลอโรพลาสต์ดีเอ็นเอ พบว่าหากใช้ตำแหน่งของจีน ribulose biphosphate carboxylase (*rbcl*) ร่วมกับ maturase K (*matK*) สามารถนำมาใช้เป็นดีเอ็นเอบาร์โค้ดมาตรฐานในพืชได้ อย่างไรก็ตามหากนำมาใช้ร่วมกันกับดีเอ็นเอมาตรฐานตำแหน่งอื่น ๆ เช่น

Nuclear Ribosomal Internal Transcribed Spacer (nrITS) จะทำให้การใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ดสนับสนุนการระบุชนิดของพืชชัดเจนมากขึ้น (Kress et al., 2005; Kress and Erickson, 2007)

ในกลุ่มของราและยีสต์ซึ่งคาดว่าน่าจะมีจำนวนสมาชิกมากกว่า 15 ล้านชนิด (Hawksworth, 2004) กำลังเป็นที่เริ่มสนใจในการประยุกต์ใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ดเข้ามาช่วยสนับสนุนการจำแนกสิ่งมีชีวิตในกลุ่มนี้เช่นกันโดยเริ่มมีการจัดตั้งเป็นโครงการ All Fungi Barcoding (<http://www.allfungi.org/>) อย่างไรก็ตามพบว่าจีน COI ไม่สามารถนำมาประยุกต์เป็นบาร์โค้ดในสิ่งมีชีวิตกลุ่มนี้ได้เช่นเดียวกันกับในกลุ่มของพืช จึงได้มีการศึกษาหาตำแหน่งจีนหรือดีเอ็นเอบริเวณอื่น ๆ ที่จะสามารถนำมาใช้เป็นบาร์โค้ดในสิ่งมีชีวิตกลุ่มนี้ได้ และพบว่าดีเอ็นเอมาตรฐานบริเวณ nrITS สามารถนำมาใช้เป็นบริเวณที่เป็นดีเอ็นเอบาร์โค้ดในกลุ่มของราและยีสต์ได้ (Seifert, 2009; Zhao et al., 2011)

ในพวกจุลชีพ (microorganism) ได้แก่ แบคทีเรีย (bacteria) และโพรติสต์ (protists) พบว่าการศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ดในกลุ่มสิ่งมีชีวิตนี้ยังมีน้อยมาก (Piganeau et al., 2011) จากการศึกษาของ Scicluna et al. (2006) พบว่าตำแหน่งของดีเอ็นเอบริเวณ 18S ribosomal DNA (18s rDNA) สามารถนำมาใช้บอกความแตกต่างระหว่างชนิดของเชื้อ *Blastocystis hominis* ที่เป็นปรสิตในมนุษย์ได้ และ Sogin et al. (2006) นำมาประยุกต์ใช้จำแนกชนิดของจุลชีพที่พบในท้องทะเลลึกได้ รวมทั้ง Piganeau et al. (2011) พบว่าบริเวณของจีนตำแหน่ง 18s rDNA สามารถนำมาใช้สนับสนุนการจำแนกจุลชีพที่มีลักษณะเป็นสปิชีส์ซ่อนเร้นได้ อย่างไรก็ตามเนื่องด้วยขนาดเล็กมาก (<1 มิลลิเมตร) รวมทั้งจำนวนชนิดที่มีมหาศาลที่เป็นส่วนประกอบสำคัญในระบบนิเวศและ

ความหลากหลายทางชีวภาพที่สำคัญ อีกทั้งหลายชนิดเป็นสาเหตุสำคัญของโรคหลายชนิดที่พบในมนุษย์ การจัดทำแนกกลุ่มสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กเหล่านี้ออกจากกันจึงนับว่ามีความสำคัญอย่างมาก และนับเป็นความท้าทายอย่างมากในปัจจุบัน (Frézal and Leblois, 2008; Siddall et al., 2009)

ประโยชน์ที่ได้จากการใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ด

ปัจจุบันพบว่าฐานข้อมูลจากดีเอ็นเอบาร์โค้ดในสิ่งมีชีวิตไม่เพียงแค่นักอนุกรมวิธานที่จะสามารถนำฐานข้อมูลเหล่านี้มาใช้ได้โดยตรงเพื่อสนับสนุนการจำแนกชนิดของสิ่งมีชีวิต กลุ่มนักวิทยาศาสตร์สาขาอื่น ๆ รวมถึงสาธารณะชนคนทั่วไปก็สามารถได้รับประโยชน์ในด้านต่าง ๆ จากฐานข้อมูลบาร์โค้ดแห่งชีวิตนี้ด้วยเช่นกันดัง ตารางที่ 1 (Peter, 2007) นอกจากนี้ผลจากการใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ดสามารถนำมาประยุกต์ใช้กับงานด้านความหลากหลายทางชีวภาพในมิติต่าง ๆ ซึ่งก่อให้เกิดผลสำเร็จในหลายด้านด้วยกัน ตัวอย่างเช่น

-ด้านการเกษตร โดยนอกจากจะนำดีเอ็นเอบาร์โค้ดมาช่วยจำแนกพืชที่มีการดัดแปลงพันธุกรรม (GMO: Genetic modified organism) ออกจากสิ่งมีชีวิตตามธรรมชาติแล้ว ยังมีการประยุกต์ใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ดในการควบคุมศัตรูพืช ซึ่งสามารถระบุสิ่งมีชีวิตที่ก่อให้เกิดโรคหรือสร้างปัญหาให้กับเกษตรกรได้ ทำให้สามารถจัดการกับสิ่งมีชีวิตนั้น ๆ ได้ง่ายและรวดเร็วขึ้นรวมทั้งสร้างความเชื่อถือในการนำสินค้าเกษตรเข้าสู่ตลาดสากล (Zhu et al., 2008; Staudacher et al., 2011)

-ด้านสุขอนามัย พบว่าสาเหตุสำคัญที่ก่อให้เกิดโรคต่าง ๆ ในมนุษย์เป็นผลมาจากการติดเชื้อจากสิ่งมีชีวิตที่เกิดจากพาหะ เช่น มาเลเรียที่เกิดจากยุงที่เป็นพาหะสำคัญ ซึ่งผลจากการใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ดจะ

ช่วยให้ทราบพาหะที่เป็นตัวการสำคัญ เพื่อช่วยในการจัดการพาหะเหล่านี้ได้อย่างรวดเร็วยิ่งขึ้น เป็นต้น (Cywinska et al., 2006; Alcaide et al., 2009)

-ด้านการรักษาทรัพยากรธรรมชาติอย่างยั่งยืน เนื่องจากปัจจุบันสิ่งมีชีวิตหลายชนิดลดลงมากจากสาเหตุการพัฒนาทางเศรษฐกิจที่รวดเร็ว ทำให้มีการทำลายป่าและแหล่งน้ำส่งผลให้สิ่งมีชีวิตหลายชนิดเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ ซึ่งการประยุกต์ใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ดนั้นจะช่วยระบุชนิดสิ่งมีชีวิตชนิดต่าง ๆ ได้ เพื่อนำมาใช้จำแนกสิ่งมีชีวิตที่กำลังใกล้สูญพันธุ์และหายาก โดยปัจจุบันได้มีการจัดทำโครงการการหาฐานข้อมูลของสิ่งมีชีวิตที่ใกล้สูญพันธุ์ (endanger species) เพื่ออนุรักษ์สายพันธุ์เหล่านี้ไว้ (Dubey et al., 2011; Bucklin et al., 2011; Muellner et al., 2011)

-ด้านการจัดการแหล่งน้ำ โดยการนำเอาดีเอ็นเอบาร์โค้ดมาใช้ตรวจสอบสิ่งมีชีวิตที่ใช้เป็นดัชนีบ่งบอกของแหล่งน้ำสะอาดได้ ทำให้เพิ่มความมั่นใจในการใช้แหล่งน้ำนั้นเพื่อการอุปโภคบริโภค (Sweeney et al., 2011; Pilgrim et al., 2011) เป็นต้น

ข้อจำกัดการประยุกต์ใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ด

แม้ว่าดีเอ็นเอบาร์โค้ดสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการการศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพในหลายมิติด้วยกันนั้น แต่ก็ยังเป็นที่ถกเถียงกันถึงความเป็นไปได้และความน่าเชื่อถือของข้อมูลที่ได้ รวมทั้งข้อจำกัดต่าง ๆ ของการประยุกต์ใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ด ได้แก่

-ตำแหน่งของจีนหรือส่วนของดีเอ็นเอที่นำมาใช้เป็นบาร์โค้ดในการบอกความแตกต่างระหว่างชนิดสิ่งมีชีวิต นับเป็นข้อจำกัดสำคัญประการหนึ่ง เนื่องจากตำแหน่งจีนหรือดีเอ็นเอมาตรฐานที่นำมาใช้เป็นบาร์โค้ดนั้นต้องมีความหลากหลายหรือมีความแปรปรวนของลำดับนิวคลีโอไทด์สูงในสิ่งมีชีวิตต่าง

ชนิดกัน (interspecific variation) แต่ต้องมีความแปรปรวนในระดับชนิดเดียวกัน (intraspecific variation) ถ้าหรือมีความคงที่ในสิ่งมีชีวิตเดียวกัน จึงจะนำมาเป็นบาร์โค้ดในกลุ่มสิ่งมีชีวิตนั้น ๆ ได้ นอกจากนี้ตำแหน่งของจีนหรือส่วนของดีเอ็นเอที่นำมาใช้เป็นบาร์โค้ดต้องเป็นมาตรฐานเดียวกันที่สามารถประยุกต์ได้กับทุกกลุ่มของสิ่งมีชีวิต ซึ่งตำแหน่งของจีนหรือส่วนของดีเอ็นเอที่มีคุณสมบัติดังกล่าวยังคงเป็นที่ถกเถียงถึงความเป็นไปได้กันอยู่ในปัจจุบัน (Valentini et al., 2009) อย่างไรก็ตามหากมีการประยุกต์ใช้ตำแหน่งจีนหรือดีเอ็นเอมาตรฐานหลาย ๆ ตำแหน่งร่วมกันจะทำให้ผลการสนับสนุนการจำแนกที่ได้น่าเชื่อถือกว่าใช้จีนหรือดีเอ็นเอมาตรฐานเพียงตำแหน่งเดียว (Kress and Erickson, 2008; Von Crautlein et al., 2011)

-การได้มาของตัวอย่างสิ่งมีชีวิต (voucher specimen) นับว่าเป็นข้อจำกัดในการได้มาของข้อมูลดีเอ็นเอบาร์โค้ด โดยขั้นตอนแรกที่สำคัญในการศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ด คือการสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างของสิ่งมีชีวิต แม้ว่าการสกัดดีเอ็นเอจะใช้ชิ้นส่วนของตัวอย่างไม่มากแต่บางครั้งก็อาจทำลายความสมบูรณ์ทางสัณฐานวิทยาของตัวอย่างสิ่งมีชีวิตไป โดยเฉพาะในกลุ่มของสิ่งมีชีวิตที่มีขนาดเล็ก เช่น ในกลุ่มของแมลงที่จำเป็นต้องใช้ส่วนอกหรือขาในการสกัดดีเอ็นเอ ทำให้โครงสร้างของตัวอย่างไม่สมบูรณ์ เป็นต้น ซึ่งขณะนี้ได้มีการพยายามหาวิธีการให้ได้ดีเอ็นเอโดยการทำลายชิ้นส่วนต่าง ๆ ของตัวอย่างให้น้อยที่สุด นอกจากนี้อายุของตัวอย่างสิ่งมีชีวิตก็มีผลต่อการนำไปสกัดดีเอ็นเอเนื่องจากในตัวอย่างที่เก่ามาก ๆ อาจไม่สามารถสกัดดีเอ็นเอได้ ทั้งนี้ขึ้นกับวิธีการรักษาตัวอย่าง โดยหากกระบวนการรักษาตัวอย่างผ่านการใช้ความร้อนหรือสารเคมีบางชนิดอาจทำให้ไม่สามารถสกัดดีเอ็นเอได้ (Hunter et al., 2008; Jinbo et al., 2011)

ตารางที่ 1 ผู้ใช้งานและการประยุกต์ใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ด (ที่มา: Peter, 2007)

User	Identification need	Typical source of information for identification	Identification skills	Interest in taxonomy	Potential direct beneficiary of DNA identification?
Taxonomist	Assessments of diversity and distributions	Specialised literature, museum collections, field guides, databases, colleagues	High	High	Yes (for routine identification & sub-optimal specimens)
Non-taxonomic professionals	Ecologist/life scientist	Assessments of diversity and distributions, verification of research sample identity	Specialised literature, museum collections, field guides, databases, taxonomists, colleagues	Variable (low-high)	Variable (low-high)
	Conservationist	Assessments of diversity and distributions, identification of specimens to conserve	Field guides, images, databases, taxonomists, colleagues	Variable (low-high)	Variable (low-high)
	Legal (police, customs)	Identifications based on fragmentary material, forensic samples, wildlife crime/illicit trade	Field guides, images, targeted key, databases, taxonomists	Variable (low-high)	Variable (low-mid)
	Human/animal health	Identification of species with harmful attributes or medicinal properties	Field guides, images, targeted key, databases, taxonomists	Variable (low-high)	Variable (low-mid)
	Environmental protection	Identification of indicator species, identification of invasive/pest species	Field guides, images, targeted key, databases, taxonomists	Variable (low-high)	Variable (low-mid)
	Biodiversity utilisation (e.g. agriculture, fish management, forestry, horticulture)	Identification of species with useful attributes, identification of species that impede utilisation (pests/invasives etc)	Field guides, images, targeted key, databases, specialist colleagues, taxonomists	Variable (low-high)	Variable (low-mid)
Public	Amateur naturalist	Assessments of distributions and diversity	Specialised literature, museum collections, field guides, databases, taxonomists	High	High
	Passively interested public	Occasional curiosity driven interest	Field guides, images	Low	Low
	Uninterested public	-	Nothing	Low	Low

- ฐานข้อมูลนั้นบ่งชี้ยังเป็นข้อจำกัดสำคัญอีกข้อหนึ่ง เนื่องจากความถูกต้องในการใช้ระบุชนิดของสิ่งมีชีวิต ซึ่งเป็นข้อถกเถียงสำคัญโดยเฉพาะอย่างยิ่งกับนักอนุกรมวิธานที่มีข้อสงสัยว่า ความแตกต่างของดีเอ็นเอเพียงสายสั้น ๆ เป็นเพียงการนำลักษณะพันธุกรรมมาตรวจสอบโดยปราศจากลักษณะสัณฐานวิทยา (genetic without phenetic) นับว่าเป็นข้อมูลที่น้อยมากและไม่น่าจะเพียงพอในการนำมาใช้จำแนกชนิดของสิ่งมีชีวิต (Vilgalys, 2003) ในทางกลับกันหากข้อมูลบาร์โค้ดที่ได้จากตัวอย่างของสิ่งมีชีวิตที่มีการวินิจฉัยและจำแนกชนิดโดยนักอนุกรมวิธานที่เชี่ยวชาญในสิ่งมีชีวิตกลุ่มนั้น ๆ และมีการเก็บตัวอย่างของสิ่งมีชีวิตที่มีการสกัดดีเอ็นเอไว้ในพิพิธภัณฑ์ที่มีระบบติดตามได้ ทำให้ข้อมูลที่อยู่ในฐานข้อมูลต่าง ๆ น่าเชื่อถือได้ ดังนั้นหากจำแนกไว้ผิดแต่ต้นข้อมูลที่ได้อาจคลาดเคลื่อน แต่หากข้อมูลที่ทำได้เป็นระบบที่ถูกต้องอย่างดีแล้วนั้น เมื่อต้องการตรวจสอบชนิดของสิ่งมีชีวิตในกลุ่มนั้น ๆ แม้ว่าตัวอย่างที่เก็บมาอาจไม่สมบูรณ์แต่ผลจากการตรวจดีเอ็นเอบาร์โค้ดจะช่วยให้อ้างอิงในการจำแนกชนิดที่น่าเชื่อถือมากขึ้น ดังนั้นฐานข้อมูลจึงนับว่าเป็นสิ่งสำคัญในการที่จะทำให้การจำแนกสิ่งมีชีวิตโดยวิธีการใช้บาร์โค้ดของดีเอ็นเอน่าเชื่อถือหรือไม่ (Godfray et al., 2007; Zahariev et al., 2009) นอกจากนี้ยังมีข้อถกเถียงของการใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ดในการระบุว่า สิ่งมีชีวิตนั้น ๆ เป็นสิ่งมีชีวิตชนิดใหม่หรือไม่นั้นข้อมูลของดีเอ็นเอบาร์โค้ดเพียงอย่างเดียวไม่สามารถนำมาบอกได้ว่าสิ่งมีชีวิตนั้น ๆ เป็นสิ่งมีชีวิตชนิดใหม่ได้ เช่นจากการศึกษาของ Hebert et al. (2004) พบว่ามีนก 4 ตัวอย่างที่มีลำดับนิวคลีโอไทด์บนจีน *COI* แตกต่างจากนกชนิดอื่น ๆ จึงได้ทำการศึกษาเพิ่มเติมถึงลักษณะสัณฐานวิทยา พฤติกรรม รวมทั้งเสียงร้องพบว่าแตกต่างจากนกชนิดอื่นเช่นกัน จึงสรุปว่าน่าจะเป็นนกชนิดใหม่ 4 ชนิด

ดังนั้นการที่จะทำให้ข้อมูลดีเอ็นเอบาร์โค้ดมีประโยชน์และใช้งานได้จริง รวมทั้งให้ผลการสนับสนุนที่เชื่อถือได้นั้นระบบฐานข้อมูลรวมกับการทำงานของนักอนุกรมวิธานที่เชี่ยวชาญในกลุ่มสิ่งมีชีวิตนั้น ๆ จึงมีความสำคัญอย่างยิ่ง ซึ่งปัจจุบันการจัดทำระบบและฐานข้อมูลของดีเอ็นเอบาร์โค้ดได้ให้ความสำคัญของขั้นตอนนี้มาก ดังนั้นบุคคลสำคัญที่ขาดไม่ได้ในขั้นตอนเริ่มต้นของการเก็บข้อมูลที่กำลังทำกันอยู่ทั่วโลกในปัจจุบัน นั่นคือนักอนุกรมวิธานผู้ซึ่งจะทำให้ข้อมูลและฐานข้อมูลที่ได้นำไปใช้จริงในอนาคตอันใกล้นี้ (Kress and Erickson, 2008; Jinbo et al., 2011)

บทสรุป

ดีเอ็นเอบาร์โค้ดเป็นแนวคิดใหม่ที่ใช้ความแตกต่างในของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่เรียงตัวอยู่บนบนสายดีเอ็นเอมาตรฐานหรือในจีนบางชนิดของสิ่งมีชีวิตที่มีขนาดสั้น ๆ มาช่วยในการสนับสนุนการจำแนกชนิดของสิ่งมีชีวิต ปัจจุบันกำลังเป็นที่สนใจของวิทยาศาสตร์ทั่วโลกและในอนาคตอันใกล้ดีเอ็นเอบาร์โค้ดจะเข้ามามีบทบาทอย่างมากในกระบวนการศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพ โดยหลายประเทศกำลังให้ความสนใจและเห็นความสำคัญจากข้อมูลพื้นฐานนี้ ประเทศไทยแม้จะตั้งอยู่ในบริเวณที่จัดว่ามีความหลากหลายทางชีวภาพในระดับต้น ๆ ของโลก แต่ยังไม่มีการจัดเก็บข้อมูลอย่างเป็นระบบของทรัพยากรในชาติสิ่งนี้เองอาจทำให้ต่างชาตินำทรัพยากรด้านความหลากหลายที่มีอยู่ไปใช้ประโยชน์เช่นเดียวกับที่ผ่านมาที่มักนำเอาประโยชน์ทางหลากหลายทางชีวภาพของเราไปแสวงหาประโยชน์เสมอ ดังนั้นดีเอ็นเอบาร์โค้ดจึงควรจะเป็นวาระแห่งชาติและเป็นเรื่องเร่งด่วนที่ผู้เกี่ยวข้องควรจะทำให้ความสำคัญในการได้มาและจัดการข้อมูลเหล่านี้อย่างเป็นระบบก่อนที่จะความหลากหลายของประเทศจะหมดไป หรือถูกต่างชาตินำ

สิ่งมีชีวิตนั้นไปทำดีเอ็นเอบาร์โค้ดแล้วไปจดเป็นสิทธิบัตรของตน ปัจจุบันการศึกษาของดีเอ็นเอบาร์โค้ดยังอยู่ในขั้นต้นเท่านั้น อาจกล่าวได้ว่าดีเอ็นเอบาร์โค้ดเป็นเพียงเครื่องมือเพื่อหาข้อมูลที่ใช้ในการเสนอแนะและช่วยสนับสนุนการมีอยู่ของสิ่งมีชีวิตนั้น ๆ หากแต่ต้องมีการศึกษาลักษณะอื่น ๆ ของสิ่งมีชีวิตนั้น ๆ ร่วมด้วย จึงจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องอาศัยนักอนุกรมวิธานนำข้อมูลต่าง ๆ ไม่ว่าจะเป็นลักษณะทางสัณฐานวิทยา นิเวศวิทยาและข้อมูลอื่น ๆ เข้ามาประกอบกันจึงจะทำให้ผลการศึกษามีความน่าเชื่อถือมากที่สุด

เอกสารอ้างอิง

- Alcaide, M., Rico, C., Ruiz, S., Soriguer, R., Munoz, J. and Figuerola, J. (2009). Disentangling Vector-Borne Transmission Networks: A Universal DNA Barcoding Method to Identify Vertebrate Hosts from Arthropod Bloodmeal. *PLOS ONE* 4: e7092.
- Arnot, D.E., Roper, C. and Bayoumi, R.A. (1993). Digital codes from hypervariable tandemly repeated DNA sequences in the *Plasmodium falciparum* circumsporozoite gene can genetically barcode isolates. *Molecular Biochemistry and Parasitology* 61: 15–24.
- Blaxter, M.L. (2004). The promise of a DNA taxonomy. *Philosophical Transactions of the Royal Society B Biological Sciences* 359: 669–679.
- Bucklin, A., Steinke, D. and Blanco-Bercial L. (2011). DNA Barcoding of Marine Metazoa. *Annual Review of Marine Science* 3: 471-508.
- CBOL Plant Working Group (2009). A DNA barcode for land plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 106: 12794–12797.
- Cho, Y., J., Mower, P., Qiu, Y.-L. and Palmer J. D. (2004) Mitochondrial substitution rates are extraordinarily elevated and variable in a genus of flowering plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 101: 17741–17746.
- Cywinska, A., Hunter, F. F. and Hebert, P. D. N. (2006). Identifying Canadian mosquito species through DNA barcodes. *Medical and Veterinary Entomology* 20: 413–424.
- Dasmahapatra, K.K. and Mallet, J. (2006). DNA barcodes: recent successes and future prospects. *Heredity* 97: 254–255.
- Dubey, B., Meganathan, P. R. and Haque, I. (2011). DNA mini-barcoding: An approach for forensic identification of some endangered Indian snake species. *Forensic Science international-genetic* 5: 181-184.
- Frézal, L, and Leblois, R. (2008) Four years of DNA barcoding: current advances and prospects. *Infection, Genetics and Evolution* 8: 727–736.

- Godfray, H.C.J., Clark, B. R., Kitching, I. J., Mayo, S. J. and Scoble, M. J. (2007). The Web and the structure of taxonomy. *Systematic Biology* 56: 943-955.
- Hawksworth, D.L. (2004) Fungal diversity and its implications for genetic resource collections. *Studies in Mycology* 50: 9-18.
- Hebert, P. D. N., Cywinska, A., Ball, S. L. and De Waard, J. R. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London B* 270: 313-322.
- Hebert, P. D. N., Stoeckle, M. Y., Zemlak, T. S. and Francis, C. M. (2004). Identification of birds through DNA barcodes. *Plos Biology* 2: 1657-1663.
- Hebert, P. D. N. and Gregory, T. R. (2005). The promise of DNA barcoding for taxonomy. *Systematic Biology* 54: 852-859.
- Hunter, S.J., Goodall, T.I., Walsh, K.A., Owen, R. and Day, J.C. (2008). Nondestructive DNA extraction from blackflies (Diptera: Simuliidae): retaining voucher specimens for DNA barcoding projects. *Molecular Ecology Resources* 8: 56-61.
- International Barcode of Life (2011) International Barcode of Life. [Cited 15 May 2011.] Available from URL: <http://ibol.org/>
- Jinbo, U., Kato, T. and Ito, M. (2011). Current progress in DNA barcoding and future implications for entomology. *Entomological Science* 14:107-124.
- Kress, J.W., Wurdack, K.J., Zimmer, EA, Weigt, L.A. and Janzen, D.H. (2005) Use of DNA barcodes to identify flowering plants. *The Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 102: 8369-8374.
- Kress, W.J. and Erickson, D.L. (2008) DNA Barcoding--a Windfall for Tropical Biology? *Biotropica* 40: 405-408
- May, R.M. (1988). How many species are there on earth? *Science* 241: 1441-1449.
- Muellner, A. N., Schaefer, H. and Lahaye, R. (2011). Evaluation of candidate DNA barcoding loci for economically important timber species of the mahogany family (Meliaceae). *Molecular Ecology Resources* 11: 450-460.
- Peter, M.H. (2007). DNA barcoding: potential users. *Genomics, Society and Policy* 3: 44-47.
- Piganeau, G., Eyre-Walker, A., Grimsley, N. and Moreau, H. (2011). How and Why DNA Barcodes Underestimate the Diversity of Microbial Eukaryotes. *Plos one* 6: e16342.
- Pilgrim, E.M., Jackson, S.A., Swenson, S., Turcsanyi, I., Friedman, E., Weigt, L., Bagley, M.J. (2011). Incorporation of

- DNA barcoding into a large-scale bio monitoring program: opportunities and pitfalls. *Journal of the north American Benthological Society* 30: 217-231.
- Schindel, D.E. and Miller, S.E. (2005). DNA barcoding a useful tool for taxonomists. *Nature* 435: 17.
- Scicluna, S.M., Tawari, B. and Clark, C.G. (2006). DNA barcoding of *Blastocystis*. *Protist* 157: 77-85.
- Seifert, K.A. (2009). Progress towards DNA barcoding of fungi. *Molecular Ecology Resources* 9: 83-89.
- Siddall, M.E., Fontanella, F.M., Watson, S.C., Kvist, S. and Eresus, C. (2009). Barcoding bamboozled by bacteria: convergence to Metazoan Mitochondrial primer targets by marine microbes. *Systematics Biology* 58: 445-451.
- Silva-Brandão K.L., Lyra M.L. and Freitas, A.V.L. (2009). Barcoding Lepidoptera: current situation and perspectives on the usefulness of a contentious technique. *Neotropical Entomology* 38: 441-451.
- Sogin, M. L., Morrison, H. G. Huber, J. A., Welch, D. M., Huse, S. M., Neal, P. R., Arrieta, J. M. and Herndl, G. J. (2006). Microbial diversity in the deep sea and the underexplored "rare biosphere." *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103: 12115-12120.
- Staudacher, K., Pitterl, P., Furlan, L., Cate, P. C. and Traugott, M. (2011). PCR-based species identification of *Agriotes* larvae. *Bulletin of entomological research* 101: 201-210.
- Sweeney, B.W., Battle, J.M., Jackson, J.K. and Dapkey, T. (2011). Can DNA barcodes of stream macroinvertebrates improve descriptions of community structure and water quality? *Journal of the north American benthological society* 30: 195-216.
- Valentini, A., Pompanon, F., and Taberlet, P. (2008). DNA barcoding for ecologists. *Trends in Ecology and Evolution* 24: 110-117.
- Vernooy, R., Haribabu, E., Muller, M. R., Vogel, J. H. and Hebert, P. D. N. (2010). "Barcoding Life to Conserve Biological Diversity: Beyond the Taxonomic Imperative". *Plos Biology* 8: e1000417.
- Vilgalys, R. (2003). Taxonomic misidentification in public DNA databases. *New Phytologist* 160:4-5.
- Von Crautlein, M, Korpelainen H, Pietilainen M, Rikkinen J. (2011). DNA barcoding: a tool for improved taxon identification and detection of species diversity. *Biodiversity and Conservation* 2: 373-389.

- Zaharieva, M., Dahl, V., Chen, W. and Levesque, C.A. (2009). Efficient algorithms for the discovery of DNA oligonucleotide barcodes from sequence databases. *Molecular Ecology Resources* 9: 58-64.
- Zhao, P., Luo, J. and Zhuang, W.Y. (2011). Practice towards DNA barcoding of the nectriaceous fungi. *Fungal diversity* 46: 183-191.
- Zhu, D.B., Tang, Y.B., Xing, D. and Chen, W.R. (2008). PCR-free quantitative detection of genetically modified organism from raw materials: An electrochemi luminescence-based bio bar code method. *Analytical Chemistry* 80: 3566-3571.

