

ดีเอ็นเอบาร์โค้ดเพื่อการระบุชนิดของสิ่งมีชีวิต

กรณีศึกษา : จีน Cytochrome c Oxidase I (COI) ในสัตว์

DNA Barcode for Identification of Living Species: Case Studies of Cytochrome c Oxidase I (COI) in Animals

พรณรงค์ สิริปิยะสิงห์¹ และอรุณรัตน์ ฌวีราช²

Pornarong Siripiyasing¹ and Arunrat Chaveerach²

สาระสังเขป

นักวิทยาศาสตร์ได้นำแนวคิดการติดฉลากบาร์โค้ดในสินค้ามาประยุกต์ใช้ในงานด้านวิทยาศาสตร์ โดยนำดีเอ็นเอ (DNA) ซึ่งเป็นสารพันธุกรรม ที่แสดงลักษณะเฉพาะของแต่ละสิ่งมีชีวิตหรือแต่ละบุคคล (Individual) มาเป็นเครื่องหมายในการระบุสิ่งมีชีวิตหรือเรียกว่า “ดีเอ็นเอบาร์โค้ด” (DNA barcode) เพื่อเพิ่มความรวดเร็วและถูกต้อง ในการระบุชนิด (Species) สิ่งมีชีวิต และยังช่วยเพิ่มประสิทธิภาพ การค้นคว้าวิจัยด้านวิวัฒนาการ ความหลากหลายทางชีวภาพ รวมถึงการอนุรักษ์ทรัพยากรธรรมชาติ บาร์โค้ดของสิ่งมีชีวิตต้องเป็นสมบัติเฉพาะตัวของสิ่งมีชีวิตชนิดนั้น แตกต่างจากสิ่งมีชีวิตอื่น ง่ายต่อการใช้ และมีความชัดเจน ดังนั้นการทำดีเอ็นเอบาร์โค้ดจึงเลือกใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่สั้น สะดวกกับการใช้งาน เหมาะสมและสามารถแสดงความแตกต่างระหว่างชนิดของสิ่งมีชีวิตสูง แต่มีความต่างระหว่างสิ่งมีชีวิตในชนิดเดียวกันต่ำ จีน (Gene) แรกที่นำมาใช้เป็นมาตรฐานเพื่อใช้เป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอแบบบาร์โค้ดในสัตว์ คือ ลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของจีน Cytochrome c Oxidase I (COI) ในไมโทคอนเดรีย (Mitochondria) ซึ่งลำดับนิวคลีโอไทด์มีความแตกต่างระหว่างชนิดมากกว่าในชนิดเดียวกัน การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ทำได้โดยตรงไปตรงมา เพราะมีการแทรกเข้ามาและการหลุดหายของนิวคลีโอไทด์น้อย จึงนำจีนนี้มาใช้เป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอแบบบาร์โค้ดเพื่อการระบุชนิดและจำแนกชนิดของสิ่งมีชีวิต เช่น นก แมลงไม่มีปีก แมงมุม ผีเสื้อเขตร้อน และแมลงศัตรูพืชกลุ่ม Leafminers เป็นต้น

คำสำคัญ : ดีเอ็นเอบาร์โค้ด จีน Cytochrome c Oxidase I (COI)

SUMMARY

Scientists has applied a product barcode concept for identification of living species by using DNA sequences as “DNA barcode”, a genetic unit for the specific living species marker. The principles of DNA barcode is providing rapid, accurate and automatable identification of living species. Moreover, molecular data are useful fundamental information for the study on evolution, species diversity, and natural resource management. Therefore, the appropriate sequences that proper as a barcode representative must not too long and extracted from the high interspecific and low intraspecific variation region. The first standard

¹ อาจารย์ สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม

² รองศาสตราจารย์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น



gene used for animals DNA barcode is the nucleotides from a part of Cytochrome Oxidase gene (COI) in mitochondria. This gene has high interspecific variation value; the comparison of nucleotides shows simple and correct results. In additional, this gene has low insertion and deletion ratio. Therefore, it is appropriate to use the DNA barcode for living species identification of many animal groups such as birds, insects, tropical butterflies and the invasive leafminer insects.

Keywords : DNA Barcode, Cytochrome c Oxidase I Gene

บทนำ

การจำแนกประเภทของสิ่งมีชีวิตบนโลกมีมานาน เพื่อบอกความเหมือนหรือความแตกต่างและเพื่อให้สามารถระบุชนิดได้ โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานและกายวิภาค ในปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์คาดว่าสิ่งมีชีวิตในโลกนี้มีประมาณ ร้อยล้านชนิด แต่มีเพียงแค่ 1.75 ล้านชนิดเท่านั้นที่สามารถระบุและตั้งชื่อวิทยาศาสตร์ได้ (Hawksworth and Kalin-Arroyo, 1995) จะเห็นได้ว่ายังมีสิ่งมีชีวิตอีกจำนวนมากที่นักวิทยาศาสตร์ยังไม่สามารถระบุชนิดได้ เนื่องจากข้อจำกัดในหลายด้าน เช่น ข้อมูลเกี่ยวกับลักษณะของสิ่งมีชีวิตไม่เพียงพอ การเก็บรักษาตัวอย่างของสิ่งมีชีวิต ได้แก่ การต้องการทำตัวอย่างแห้ง ซึ่งทำให้สี หรือลักษณะบางประการที่แท้จริงหายไป

Dayrat (2005) ได้กล่าวไว้ว่าการพรรณนาสิ่งมีชีวิตอย่างถูกต้องเหมาะสมและการระบุสิ่งมีชีวิตนั้นเป็นสิ่งที่ยากลำบากในการศึกษาความหลากหลายของสิ่งมีชีวิต เพราะไม่สามารถตัดสินได้ว่ามีความแตกต่างระหว่างสิ่งมีชีวิตแต่ละตัวอย่างหรือไม่ การระบุชนิดของสิ่งมีชีวิตนั้นขึ้นอยู่กับความรู้ของนักอนุกรมวิธาน ซึ่งไม่ครอบคลุมทุกตัวอย่างทั้งหมดที่มีอยู่เพื่อแก้ปัญหาเหล่านี้ จึงได้เกิดแนวคิดของระบบการระบุชนิดสิ่งมีชีวิตที่เป็นมาตรฐาน โดยเทคนิคทางชีววิทยาระดับโมเลกุล ซึ่งถูกพัฒนาขึ้นในระหว่างปี ค.ศ. 1990 - 1999 โดยใช้เทคนิคการทำพอลิเมอร์เชนรีแอซัน (Polymerase Chain Reaction : PCR) วิธีการระบุชนิดโดยเทคนิคทางชีววิทยาระดับโมเลกุลนี้ได้ขยายแนวทางการใช้ให้กว้างขึ้น โดยการนำมาใช้ระบุชนิดของแบคทีเรีย การสำรวจความหลากหลายของสิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก และการวินิจฉัยเชื้อที่ก่อให้เกิดโรค ซึ่งทำให้ประหยัดเวลาโดยไม่ต้องเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ **วิธีการที่**

มีพื้นฐานอยู่บนหลักการทางชีววิทยาระดับโมเลกุลหลายๆวิธีได้นำมาใช้ในสิ่งมีชีวิตชั้นต่ำและประสบความสำเร็จ แต่วิธีการใช้ในสิ่งมีชีวิตชั้นต่ำเหล่านั้นยังไม่ประสบความสำเร็จในสิ่งมีชีวิตที่สูงกว่า (Frezal and Leblois, 2008) จึงได้มีการเสนอแนวความคิดเกี่ยวกับ การใช้ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ หรือที่เรียกว่า **"DNA barcode"** มาช่วยในการระบุชนิดสิ่งมีชีวิตชั้นสูง (Hebert et al., 2003) โดยแนวคิดนี้มาจากราคี๊ดของสินค้าในห้างสรรพสินค้าหรือร้านค้าสะดวกซื้อ พอเข้าเครื่องอ่านก็จะสามารถบอกได้ว่าสินค้านั้นคืออะไร ราคาเท่าใด ทำให้ทราบวันที่ผลิตและวันหมดอายุ เนื่องจากแถบเส้นบนบาร์โค้ดนั้นมีข้อมูลของสินค้าชนิดนั้นอยู่ ดีเอ็นเอของสิ่งมีชีวิตสามารถเปรียบเทียบได้ในทำนองเดียวกัน

ลำดับนิวคลีโอไทด์เป็นข้อมูลที่กำหนดลักษณะของสิ่งมีชีวิตว่า สิ่งมีชีวิตชนิดเดียวกันจะคล้ายกันมากกว่าสิ่งมีชีวิตที่ต่างชนิดกัน นอกจากนี้ความคล้ายคลึงหรือความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์จากสิ่งมีชีวิตต่างๆ ยังมีความเชื่อมโยงกับความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิตต่างๆ เหล่านั้นอีกด้วย นักวิทยาศาสตร์จึงได้นำแนวความคิดเกี่ยวกับ DNA barcode มาประยุกต์ใช้ในการระบุและจำแนกสิ่งมีชีวิต ซึ่งสามารถช่วยระบุตัวอย่างที่ยังไม่ทราบชนิด ทำให้พบสิ่งมีชีวิตชนิดใหม่มากขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่มีความซับซ้อน ยากต่อการระบุชนิดโดยสัณฐานวิทยา และเพื่อลดความผิดพลาดในการระบุชนิดของสิ่งมีชีวิตต่างๆ รวมถึงการศึกษาค้นคว้าวิจัยด้านวิวัฒนาการ ความหลากหลายทางชีวภาพและการอนุรักษ์ทรัพยากรธรรมชาติอีกด้วย (อรุณรัตน์ ฉวีราช, 2552; Hebert et al., 2003)

ในปี ค.ศ. 2003 ได้เกิดโครงการ **The Barcode of life** ขึ้นซึ่งมีจุดมุ่งหมายในการสร้างเครื่องมือที่เป็นสากลใน

การระบุสิ่งมีชีวิตพวยุคไรโอต โดยใช้หลักการทางชีววิทยา ระดับโมเลกุล ซึ่งเริ่มต้นโดยนักวิจัยของมหาวิทยาลัย Guelph ในประเทศแคนาดา และได้รับการสนับสนุนจาก หน่วยงานนานาชาติที่มีชื่อว่า **Consortium for the Barcode of Life (CBOL)** ในปี ค.ศ. 2004 เพื่อจัดทำมาตรฐาน และ คู่มือในการทำ DNA barcode นอกจากนี้ยังมีการรวบรวม และจัดทำฐานข้อมูลกลางของ DNA barcode ที่แสดงความ สัมพันธ์ของลำดับนิวคลีโอไทด์กับชนิดต่างๆ ของสิ่งมีชีวิต เพื่อทำให้ DNA barcode ประสบผลสำเร็จมากยิ่งขึ้น (Kress, 2002) หลังจากนั้นได้มีสมาชิกเข้าร่วมมากกว่า 150 องค์กรจาก 45 ประเทศ ซึ่งประกอบด้วย พิพิธภัณฑ์ สวนสัตว์ สวนพฤกษศาสตร์ หน่วยงานเก็บรักษาพันธุ์พืช มหาวิทยาลัย หน่วยงานรัฐบาล และบริษัทเอกชน

การทำ DNA barcode มีวัตถุประสงค์เพื่อใช้เป็น เครื่องมือช่วยในการระบุสิ่งมีชีวิต และมีความจำเป็นอย่างยี่ง ที่ต้องมีนักอนุกรมวิธานในการสร้างระบบอ้างอิงที่ถูกต้อง เพราะฐานข้อมูลจะต้องเป็นลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้จาก ตัวอย่างที่มีการระบุชนิดอย่างถูกต้องโดยนักอนุกรมวิธาน เท่านั้น DNA barcode จึงเป็นเครื่องมือวิเคราะห์อย่างง่ายที่มี พื้นฐานอยู่บนความรู้ของนักอนุกรมวิธานในการระบุชนิด ของสิ่งมีชีวิต ข้อมูล ณ เดือนมีนาคม ปี ค.ศ. 2008 มีลำดับ นิวคลีโอไทด์หรือข้อมูล DNA barcode อยู่ในฐานข้อมูล ของ The International Barcode of Life project (iBOL) ทั้งหมด 363,584 ลำดับ (จากสิ่งมีชีวิต 50,039 ชนิด) และ มี 136,338 ลำดับ (จากสิ่งมีชีวิต 13,761 ชนิด) เป็นข้อมูล เข้าเกณฑ์ของการใช้เป็น DNA barcode ได้ (Frezal and Leblois, 2008)

สำหรับบริเวณที่ใช้เป็น DNA barcode นั้นต้องมี คุณสมบัติ 3 ประการ ได้แก่

1. ลำดับนิวคลีโอไทด์ของจีโนมนั้นมีความแตกต่าง มากพอที่จะทำให้แยกสิ่งมีชีวิตต่างชนิดกันออกจากกันได้ แต่ต้องมีความแตกต่างภายในชนิดเดียวกันต่ำมากหรือ ไม่มีเลย

2. เป็นดีเอ็นเอที่มีบริเวณอนุรักษ์ที่สามารถให้ไพรเมอร์ที่เป็น universal primer เข้ามาจับเพื่อเพิ่ม

ปริมาณดีเอ็นเอบริเวณนั้นด้วยปฏิกิริยาพีซีอาร์ได้

3. มีขนาดที่เหมาะสมประมาณ 500 - 800 คู่เบส (base pair; bp)

ซึ่งการเลือกบริเวณที่จะนำมาใช้เป็น DNA barcode มีความสำคัญมาก หากเลือกบริเวณที่นำมาใช้เป็น DNA barcode ได้เหมาะสมกับชนิดของสิ่งมีชีวิตที่ศึกษาจะทำให้ เทคนิค DNA barcode เป็นเทคนิคที่สามารถนำไปใช้ได้ง่าย สะดวก และรวดเร็ว

การศึกษา DNA barcode ในสัตว์นั้น เริ่มโดย Hebert et al. (2003) ได้ใช้บริเวณดีเอ็นเอของจีน **Cytochrome c oxidase I (COI)** (ภาพที่ 1) ที่มีขนาด ประมาณ 650 bp ในตำแหน่งเบสที่ 58 - 705 ทางด้าน 5' ของจีน COI อ้างอิงตามจีโนมในไมโทคอนเดรียของหนู (Frezal and Leblois, 2008) ซึ่งค่อนข้างประสบความสำเร็จ อย่างมากในกลุ่มสัตว์ เนื่องจากจีน COI มีข้อดีกว่าจีนใน ไมโทคอนเดรียบริเวณอื่นๆ คือ มีขนาดสั้นประมาณ 650 bp สามารถเพิ่มปริมาณด้วย universal primer ได้อย่าง มีประสิทธิภาพ ครอบคลุมขอบเขตของความสัมพันธ์ทาง วิวัฒนาการในกลุ่มสัตว์ได้อย่างดี นอกจากนี้ลำดับดีเอ็นเอ ของจีน COI ยังให้ความแตกต่างในสัตว์ที่มีความสัมพันธ์ ใกล้ชิดกันมากได้อีกด้วย (Folmer et al., 1994; Zhang and Hewitt, 1997; Frezal and Leblois, 2008) ซึ่งจะเห็น ได้จากงานวิจัยของ Ekrem และคณะในปี พ.ศ. 2007 ที่ศึกษาแมลงในวงศ์ Chironomidae จำนวน 97 ตัวอย่าง จาก 47 ชนิด พบว่า universal primer สามารถใช้เพิ่ม ปริมาณจีน COI ได้ในทุกตัวอย่างและมีค่าความแตกต่าง ของลำดับนิวคลีโอไทด์ภายในชนิดเท่ากับ 0.87% ในขณะที่ ค่าความแตกต่างระหว่างชนิดเท่ากับ 14.7% (มัทนา จงก และคณะ, 2552) นอกจากนี้ในสัตว์พวก Lepidoptera (Hajibabaei et al., 2006a) พบว่า 97.9% จาก 521 ชนิดนั้น DNA barcode มีความแตกต่างกันอย่างชัดเจน ที่เหลือ 2.1% เกิดจากการที่สิ่งมีชีวิตบางชนิดมีลำดับดีเอ็นเอที่ คล้ายกันเกิดการซ้อนทับกัน ทำให้สิ่งมีชีวิตที่มีลำดับดีเอ็นเอ ซ้อนทับกันนั้นมีความเหมือนกันอย่างมาก นอกจากนี้ยังมีการ ศึกษาในนกของทวีปอเมริกาเหนือ ผลจากการศึกษาทำให้



ทราบว่านกทุกชนิดมีลำดับดีเอ็นเอของจีน COI ที่ต่างกัน โดยความแตกต่างเฉลี่ยระหว่างชนิดมีค่าเท่ากับ 7.93% ส่วนความแตกต่างเฉลี่ยภายในชนิดนั้นเท่ากับ 0.43% และจากการวิจัยนี้พบนกชนิดใหม่ 4 ชนิด เนื่องจากมีนก 4 ตัวอย่างที่มีลำดับนิวคลีโอไทด์ต่างออกไป จึงได้ทำการศึกษาลักษณะสัณฐาน พฤติกรรม และเสียงร้องใหม่ และได้จัดนกที่มีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ต่างต่างนั้นเป็นนกชนิดใหม่ 4 ชนิด (Hebert et al., 2004) นอกจากทำให้มีการระบุชนิดใหม่ในนกแล้วยังได้มีการทบทวนการระบุชนิดในผีเสื้อ neotropical skipper (*Astraptes fulgerator*) บริเวณ Guanacaste ของประเทศคอสตาริกา โดย Hebert et al., (2004) ได้ทำการศึกษาผีเสื้อ 466 ตัวอย่างโดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์จีน COI และลักษณะทางสัณฐาน เช่น มีสมมาตรของตัวอ่อนระยะดักแด้ที่แตกต่างกัน พบว่าลำดับดีเอ็นเอของ *A. fulgerator* มีความแตกต่างภายในชนิดที่บ่งบอกได้ว่าเป็นชนิดใหม่อย่างน้อย 10 ชนิด และจากงานวิจัยนี้ยังทำให้ทราบว่า สิ่งมีชีวิตบริเวณเขตร้อน (tropical region) มีการระบุชนิดที่คลุมเครือ ต้องมีการหาหลักฐานเพิ่มเติมทั้งจากวิธีการทางอนุกรมวิธาน และข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ เพื่อให้สามารถระบุชนิดและจัดหมวดหมู่ได้อย่างถูกต้อง ต่อมา Brower (2005) ได้ทำการศึกษาใน *A. fulgerator* พบว่ามีอย่างน้อย 3 กลุ่ม (section) แต่ไม่เกิน 7 กลุ่ม ที่ยังมีการระบุชนิดด้วยลักษณะสัณฐานที่คลุมเครือซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Hebert et al., (2004) ทำให้ต้องมีการศึกษาวิจัยและวิจารณ์ร่วมกันใหม่

นอกจากนี้ยังมีการใช้จีน COI เป็น DNA barcode ในการจำแนกฟอสซิลของนก *Moa* ซึ่งสูญพันธุ์ไปแล้วจำนวน 10 ชนิด 28 ตัวอย่าง พบว่าทุกชนิดมีลำดับนิวคลีโอไทด์ของจีน COI ซึ่งเป็นเอกลักษณ์และมีค่าความแตกต่างเฉลี่ยภายในชนิดตั้งแต่ 0 - 1.24% (Lambert et al., 2005) และยังมีการศึกษาในตัวอย่างสัตว์ที่ถูกเก็บรักษาในพิพิธภัณฑ์ เช่น ในสัตว์กลุ่มผีเสื้อกลางคืนและในสัตว์ตระกูลแมลงซึ่งดีเอ็นเอที่ใช้การทำให้ซีอาร์มีคุณภาพต่ำ ทำให้สามารถเพิ่มปริมาณจีน COI ได้เพียงประมาณ

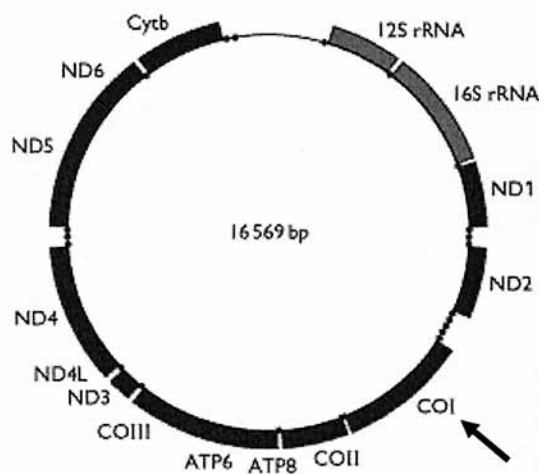
100 bp ซึ่งจากการศึกษาพบว่าสามารถเพิ่มปริมาณจีน COI ในสัตว์กลุ่มผีเสื้อกลางคืนสำเร็จมากกว่า 90% และในสัตว์ตระกูลแมลงสำเร็จเพียง 50% และเมื่อนำข้อมูลลำดับดีเอ็นเอขนาดสั้นนั้นไปใช้ในการระบุชนิด พบว่าสามารถระบุชนิดได้ถูกต้องมากกว่า 90% จึงทำให้ทราบว่าจีน COI แม้เพียงช่วงสั้นๆ ก็ยังคงมีประสิทธิภาพสูงในการระบุชนิดของสัตว์ ถึงแม้ว่าสัตว์เหล่านั้นเป็นตัวอย่างสิ่งมีชีวิตที่ต้องเก็บไว้ในฟอร์มาลิน เอทานอล หรือแม้แต่ในตัวอย่างที่ทำให้แห้ง ซึ่งอาจจะทำให้ดีเอ็นเอที่นำไปใช้ในการทำพีซีอาร์มีการแตกหักก็ตาม (Hajibabaei et al., 2006) นอกจากมีการนำลำดับนิวคลีโอไทด์ของจีน COI มาใช้ในสัตว์แล้ว ยังได้มีการนำมาใช้ในเชื้อที่ก่อให้เกิดโรค Clonorchiasis ซึ่งพบในประเทศจีน ฮองกง มาเก๊า และเกาหลี กระจายไปถึงลาวและเวียดนาม โรคนี้เกิดจากเชื้อ *Clonorchis sinensis* โดยเชืื่อนี้ในประเทศเกาหลีและประเทศจีนมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันมาก ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ 18S rDNA ITS1 ITS2 และ COI ของเชื้อ *Clonorchis sinensis* จากประเทศเกาหลี จำนวน 1 ตัวอย่างและจากประเทศจีนจำนวน 2 ตัวอย่าง ผลจากการวิจัยพบว่า ตัวอย่างจากทั้ง 2 ประเทศ มีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่มีความคล้ายคลึงกัน พบความแตกต่างเล็กน้อยระหว่างเชื้อทั้ง 3 ในบริเวณดังกล่าว นอกจากนี้ยังพบการเพิ่มขึ้นและขาดหายไป ITS1 งานวิจัยนี้ทำให้ทราบว่าไม่มีความแตกต่างของเชื้อชนิดนี้ในประเทศเกาหลีและประเทศจีน แต่เมื่อพิจารณาเชื้อจากประเทศไทยร่วมด้วย พบว่ามีความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ของบริเวณ ITS2 และจีน COI ของเชื้อในประเทศไทย

DNA barcode สามารถนำมาใช้ในการระบุชนิดของอาหารทะเล โดยการนำตัวอย่างที่ขายในท้องตลาดมาวิเคราะห์เพื่อระบุชนิดด้วยลำดับนิวคลีโอไทด์ของจีน COI ซึ่งพบว่า สามารถระบุชนิดได้อย่างถูกต้องถึง 97% จากตัวอย่างทั้งหมด 91 ตัวอย่าง ซึ่งใน 25% ของตัวอย่างทั้งหมดนั้นเป็นตัวอย่างอาหารทะเลที่มีความสำคัญต้องติดตามการระบุชนิดให้ถูกต้อง (Wong and Hanner, 2008)

สรุปผลการวิจัย

ปัจจุบันจีน COI ได้รับการพิสูจน์แล้วว่ามีความเหมาะสมที่จะใช้เป็น DNA barcode ในการระบุชนิดของสัตว์ได้อย่างกว้างขวาง ตัวอย่างเช่น หอยทาก แมลงไม่มีปีก ผีเสื้อ นก แมงมุม ปลา มด สัตว์ทะเล พวกไดอะตอม สิ่งมีชีวิตกลุ่มรา (Fungi) เช่น เพนนิซิลิน และโพรตีส ซึ่งสามารถช่วยลดความผิดพลาดและเพิ่มความเร็วในการจำแนกสิ่งมีชีวิต และยังช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการค้นคว้าวิจัยด้านวิวัฒนาการ ความหลากหลายทางชีวภาพ รวมถึงการอนุรักษ์ทรัพยากรธรรมชาติ ส่วนการใช้ DNA barcode ในสิ่งมีชีวิตในอาณาจักรอื่นนั้นยังอยู่ในระหว่างดำเนินการเพื่อหาบริเวณหรือจีนที่เหมาะสม

The Mitochondrial Genome



ภาพที่ 1 Cytochrome c Oxidase I (COI)

(ที่มา : <http://irfanrahmat.wordpress.com/2008/10/26/>.)

เอกสารอ้างอิง

- มัทนา จงกา, ดวงมล แม่นศิริ และ สุรพล แสนสุข. (2552). “ดีเอ็นเอบริเวณยีน matK สำหรับใช้เป็นดีเอ็นเอบาร์โค้ดเพื่อระบุชนิดพืชสกุล *Alpinia* Roxb.” **การประชุมทางวิชาการเสนอผลงานวิจัย ระดับบัณฑิตศึกษา ครั้งที่ 12 (สาขาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ)**. ขอนแก่น. หน้า 1403-1412 มหาวิทยาลัยขอนแก่น,
- อรุณรัตน์ ฉวีราช. (2552). **อนุกรมวิธานระดับโมเลกุลของพืช**. ขอนแก่น : โครงการผลิตตำรา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- Brower, A.V.Z. (2005). Problems with DNA barcodes for species delimitation: ten species of *Astraptes fulgerator* reassessed (Lepidoptera: Hesperidae). **Systematics and Biodiversity** 4(2): 127-132.
- Dayrat, B. (2005). Towards integrative taxonomy. **Biological Journal of the Linnean Society** 85: 407-415.
- Frezal, L. and Leblois, R. (2008). Four years of DNA barcoding: Current advances and prospects. **Infection, Genetics and Evolution** 8 : 727-736.
- Hajibabaei, M., Smith, M.A., Janzen, D.H., Rodriguez, J.J., Whitfield, J.B. and Hebert, P.D.N. (2006). A minimalist barcode can identify a specimen whose DNA is degraded. **Molecular Ecology Notes** 6: 959-964.
- Hajibabaei, M., Janzen, D.H., Burns, J.M., Hallwachs, W. and Hebert, P.D.N. (2006). a. DNA barcodes distinguish species of tropical Lepidoptera. **Proceedings of the National Academy of Sciences** 103 : 968-971.
- Hawksworth, D.L. and Kalin-Arroyo, M.T. (1995). **Magnitude and distribution of biodiversity in Global biodiversity assessment**. Cambridge University Press publishes, Cambridgeshire.



- Herbert, P.D.N., Ratnasingham, S. And deWaard, J.R. (2003). Barcoding animal life: cytochrome oxidase subunit 1 divergences among closely related species. **Proceedings of the Royal Society B** 270: S96-S99.
- Herbert, P.D.N., Penton, E.H., Burns, J.M., Janzen, D.H. and Hallwachs, W. (2004) : Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the semitropical skipper butterfly *Astraptes fulgerator*. **Proceedings of the National Academy of Science** 101(41): 14812-14817.
- Kress, W.J., Prince, L.M. and Williams, K.J. (2002). The phylogeny and a new classification of the (Zingiberaceae): evidence from Gingers molecular data. **American Journal of Botany** 89(11): 1682-1696.
- Lambert, D.M., Baker, A., Huynen, L., Haddrath, O., Herbert, P.D.N. and Millar, C.D. (2005). Is a Large-Scale DNA-Based Inventory of Ancient Life Possible. **Journal of Heredity** 96(3): 279-284.
- Nugraha, I.R. (2008). Sifat Fisik dan kandungan genom mitokondria dan kloroplas dan kaitannya dengan hipotesis tentang asal genom organel. : retrived June 28, 2010, from **CAMPURAN** web site: <http://irfanrahmat.wordpress.com/2008/10/26>.
- Wong, H.K.E. and Hanner, H.R. (2008). DNA barcoding detects market substitution in North American seafood. **Foodresearch International** 41: 828-837.