กล้วยไม้ไทย กับ DNA Barcode

เมทินี กอกทองคำ
สาวิตรี สระศรีรัตน์
ศูนย์วิจัยและพัฒนา สง่า สรรพศรี
องค์การสวนพฤกษศาสตร์

เคยสงสัยกันหรือไม่ว่า หากลักษณะภายนอกที่เราเห็น หรือสัณฐานวิทยา (Morphology) ของสิ่งมีชีวิต ไม่สามารถบอกเราได้ว่าสิ่งมีชีวิตที่เห็นนั้นคืออะไร ชนิดไหน แล้วเราจะทำอย่างไรเพื่อทราบชนิดของสิ่งมีชีวิตนั้น

ในการระบุชนิดของสิ่งมีชีวิตนั้น โดยทั่วไปต้องอาศัยความรู้และความเชี่ยวชาญด้านสัณฐานวิทยา โดยการสังเกตและแยกความแตกต่างจากลักษณะภายนอกที่เห็นประกอบกัน ในส่วนของพืชนั้นได้แก่ รูปทรงของต้น ลักษณะของใบ ดอก ผล และเมล็ด เป็นต้น ซึ่งบางครั้งจะมีข้อจำกัดในการระบุชนิด เช่น ไม่พบดอกของพืช หรือต้นพืชมีความเสียหาย ทำให้ไม่เพียงพอในการระบุชนิด ในปัจจุบันจึงมีการประยุกต์งานด้านอณูพันธุศาสตร์ (Molecular Genetics) มาใช้ในชื่อว่า DNA Barcode หรือก็คือชุดของลำดับนิวคลีโอไทด์ ซึ่งประกอบไปด้วยเบส 4 เบส ได้แก่ Adenine (A), Thymine (T), Cytosine (C) และ Guanine (G) เรียงตัวกัน ซึ่งพืชแต่ละชนิดจะมีการเรียงตัวของเบสที่ต่างกัน โดยเราจะใช้ความแตกต่างนี้มาใช้ในการระบุชนิดของพืชได้ โดย DNA Barcode นี้มีแนวคิดมาจาก barcode ของสินค้าที่วางขายตามร้านทั่ว ๆ ไป ซึ่งสินค้าทุกชิ้นจะมี barcode ติดอยู่ด้านหลังผลิตภัณฑ์ และเมื่อเราไปซื้อสินค้า จะมีเครื่องอ่าน barcode ทำให้ทราบว่าสินค้าชนิดนั้นคืออะไร ราคาเท่าไหร่

วัตถุประสงค์หลักของ DNA barcode ก็คล้าย ๆ กัน คือ ต้องการใช้เป็นเครื่องมือในการระบุชนิดของพืช โดยนำเอาลำดับนิวคลีโอไทด์ของพืชที่เราไม่ทราบชนิดมาเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ที่เรามีอยู่ในฐานข้อมูลพืช (Standard Barcodes) ซึ่งการจะทำเช่นนั้นได้ ต้องเริ่มจากการเก็บรวบรวมนิวคลีโอไทด์ของพืชที่ทราบชนิดที่แน่นอนไว้ในฐานข้อมูลพืชในปริมาณที่มากพอเสียก่อน

หลักการและวิธีหลัก ๆ ในการจัดทำ DNA Barcode ได้แก่

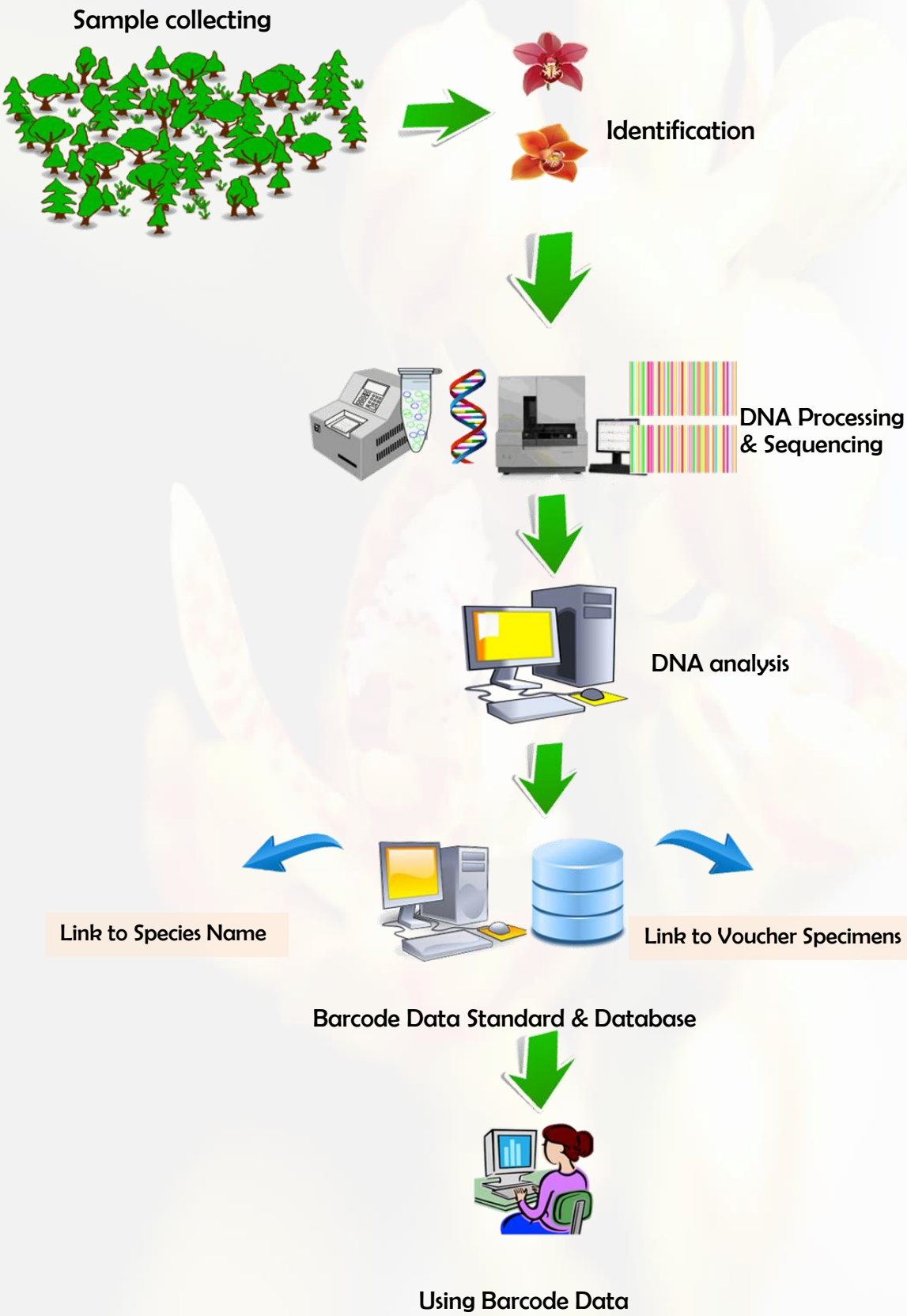
1. การเก็บตัวอย่างและการระบุชนิดพืช เราต้องทราบชื่อชนิดที่ถูกต้องของพืชนั้นก่อน โดยขั้นตอนนี้ต้องอาศัยผู้เชี่ยวชาญด้านอนุกรมวิธาน (Taxonomy) ในการระบุชนิดพืชที่ถูกต้อง โดยพืชแต่ละชนิดควรมีตัวอย่างจากหลายแหล่งประชากร เพื่อเป็นตัวแทนของพืชชนิดนั้นๆ

2. กระบวนการในห้องปฏิบัติการเกี่ยวกับ DNAได้แก่ การสกัดดีเอ็นเอ (DNA extraction) การเพิ่มปริมาณปริมาณดีเอ็นเอ (PCR) ซึ่งในขั้นตอนนี้ จะมีการพิจารณาเลือกบริเวณดีเอ็นเอมาตรฐาน (Standard DNA marker) ที่เหมาะสม และใช้ไพรเมอร์ (primers) ที่จำเพาะกับบริเวณดีเอ็นเอมาตรฐานในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ในการศึกษา DNA Barcode ในพืชนั้นยังไม่มีดีเอ็นเอมาตรฐานที่เหมาะสมสำหรับพืชทุกชนิด บางงานวิจัยเสนอให้ใช้ยีนที่ชื่อ *matK* และ *rbcL* ในคลอโรพลาสต์เป็นดีเอ็นเอมาตรฐาน แต่ในกล้วยไม้กลับพบว่ายีน *rbcL* มีความแปรผันไม่มากพอที่จะใช้ระบุชนิดกล้วยไม้ได้ และเสนอให้มีการใช้บริเวณ *trnH-psbA* แทน ดังนั้น จึงต้องมีการทดสอบเพื่อหาบริเวณดีเอ็นเอที่เหมาะสมกับพืชแต่ละชนิด แล้วตรวจสอบผลิตภัณฑ์ PCR ด้วยเทคนิคอิเล็กโทรโฟเรซิส (Electrophoresis) หลังจากนั้นทำดีเอ็นเอให้บริสุทธิ์(DNA purification) และขั้นตอนสุดท้ายคือการวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ (Nucleotide sequencing) โดยเครื่องอ่านลำดับดีเอ็นเอ (DNA sequencer)

3. การวิเคราะห์ข้อมูล เพื่อวิเคราะห์ความผันแปรของลำดับนิวคลีโอไทด์และสร้าง Phylogenetic tree โดยใช้โปรแกรม เช่น Clustal X, Clustal W, Bioedit, MEGA, PULP, MrBayes เป็นต้น เสร็จแล้วบันทึกไว้ในฐานข้อมูล (Database)

ในการนำไปประยุกต์ใช้นั้นต้องมี Standard Barcodes มากพอ กล่าวคือ ต้องมี DNA barcode ของกล้วยไม้ชนิดที่ทราบชื่อที่แน่นอนแล้ว โดยการนำลำดับเบสในตำแหน่งที่กำหนด มาเปรียบเทียบกับ Standard Barcodes ในฐานข้อมูล (Database) ก็จะสามารถระบุชนิดกล้วยไม้นั้นได้

ขั้นตอนการสร้าง DNA Barcode



สิงโตนักกล้าม (*Bulbophyllum lasiochilum*)

DNA barcode กับ กล้วยไม้ไทย

กล้วยไม้ เป็นพืชในวงศ์ Orchidaceae ซึ่งเป็นวงศ์ที่มีสมาชิกมากที่สุดวงศ์หนึ่ง เชื่อว่าหลาย ๆ ท่านคงรู้จักกล้วยไม้กันเป็นอย่างดี กล้วยไม้มีจำนวนชนิดประมาณ 25,000 ชนิดทั่วโลก ในประเทศไทยมีกล้วยไม้มากกว่า 1,200 ชนิด และในสวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ได้รวบรวมกล้วยไม้ไว้กว่า 400 ชนิด

ในปัจจุบันพบว่ากล้วยไม้หลายชนิดอยู่ในภาวะถูกคุกคามจากการเก็บกล้วยไม้ป่ามาขายหรือมาเป็นต้นพันธุ์ในการผลิตเพื่อจำหน่าย ตลอดจนการลดลงหรือการถูกเปลี่ยนแปลงแหล่งที่อยู่อาศัยตามธรรมชาติของกล้วยไม้ซึ่งหลายชนิด เป็นไม้ที่หายาก เช่น เอื้องกุหลาบน่าน (*Aerides rosea*), เอื้องเข็มม่วง (*Asscocentrum ampullaceam*) และเอื้องผาเวียง (*Dendrobium albosanguineum*) เป็นต้นดังนั้นจึงควรมีการอนุรักษ์และจัดทำ DNA Barcode ของกล้วยไม้ไว้ เพื่อใช้เป็นเครื่องมือยืนยันชนิดของกล้วยไม้และช่วยในการระบุชนิดกล้วยไม้ให้สะดวกแม่นยำขึ้นและยังสามารถนำข้อมูลที่ได้ไปศึกษาถึงความสัมพันธ์ทางวงศ์วานวิวัฒนาการ (Phylogeny) ของกลุ่มพืชต่อได้

เอื้องพวงหยก (*Dendrobium findlayanum*)

ฟ้ามุ่ยน้อย (*Vanda coerulescens*)

สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ ได้เล็งเห็นความสำคัญและได้เริ่มทำการวิจัยเพื่อจัดทำทะเบียนเครื่องหมายพันธุกรรมกล้วยไม้ไทย ในปี 2557 โดยเริ่มจากการศึกษาเพื่อจัดทำ DNA Barcode ของกล้วยไม้ที่รวบรวมไว้ในสวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ ซึ่งขณะนี้ดำเนินการได้ประมาณ 200 ชนิด คิดเป็นร้อยละ 50 จาก จำนวนกล้วยไม้ที่มีรวบรวมไว้ประมาณ 400 ชนิด

ข้อมูลอ้างอิง

Kress, W.J., Erickson, D.L. 2012. DNA Barcodes Methods and Protocols. New York: Human Press.

Renaud, L., Michelle, v.d.B., Diego, B., Jorge, W., Franco, P., Guillaume, G., Olivier,M., Sylvie, D., Timothy, G.B., Vincent, S. 2008. DNA barcoding the floras of biodiversity hotspots. PNAS 105, 8: 2923-2928.

วุฒิพงศ์ มหาคำ. 2011. DNA barcodes ของพืช: หลักการพื้นฐาน การประยุกต์ใช้ และข้อจำกัด. วารสารพฤกษศาสตร์ไทย 3, 1: 1-30.

ปรัชญา ศรีสง่า และคณะ. 2011. รายชื่อพรรณไม้ในสวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์. เชียงใหม่: องค์การสวนพฤกษศาสตร์.