

ZUZANNA KOWALSKA, FILIP PNIEWSKI, ADAM LATAŁA

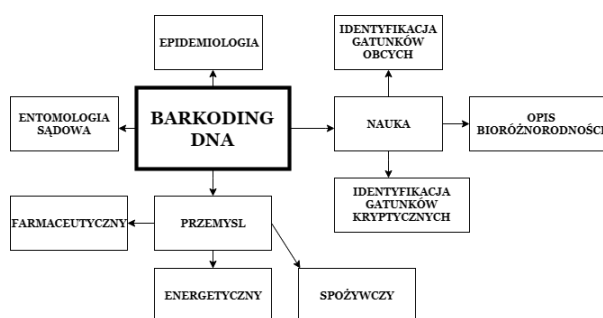
*Instytut Oceanografii
Wydział Oceanografii i Geografii
Uniwersytet Gdański
M. Piłsudskiego 46, 81-378 Gdynia
E-mail: zuzannakowalska0@gmail.com*

KODY KRESKOWE DNA – MOŻLIWOŚCI I ZASTOSOWANIE

WSTĘP

Paul Hebert w 2003 r. opracował nowe podejście do identyfikacji gatunków wykorzystując informację genetyczną zawartą w ich DNA. Jego metoda zakładała, że każdy organizm żywy ma w swoim genomie fragment, który może zostać wykorzystany jako swoisty znacznik. Technika nazwana barkodingiem DNA była odpowiedzią na problemy związane z oznaczaniem taksonów na podstawie cech morfologicznych, których analiza wymaga specjalistycznej wiedzy i ogromnego nakładu pracy oraz nie jest we wszystkich rozważanych przypadkach skuteczna (np. analizie poddawany jest fragment organizmu lub analizowany osobnik jest gatunkiem kryptycznym, nieznanym, bądź wykazywał cechy pleomorficzne) (HEBERT i współaut. 2003). Barkoding DNA z założenia miał być techniką łatwą w zastosowaniu, szybką, standardową w skali globalnej i wiarygodną. Bardzo szybko stał się metodą wspierającą klasyczne podejście do taksonomii (SCHMIDT i współaut. 2015, TIZARD i współaut. 2019). Rozwój referencyjnych baz danych, zawierających sekwencje identyfikujące taksony sprawił, że inicjatywa ta ma charakter globalny i umożliwia dostęp i porównywanie otrzymanych barkodów DNA badaczom z całego świata (RATNASINGHAM i HEBERT 2007). Obecnie główną bazą danych zawierającą sekwencje barkodów DNA jest BoLD (ang. The Barcode of Life Data System). Baza ta jest inicjatywą pomagającą w pozyskiwaniu, przechowywaniu i analizowaniu rekordów barkodów DNA wszystkim zainteresowanym naukowcom (RATNASINGHAM i HEBERT 2007).

Celem niniejszej pracy jest podsumowanie możliwości stosowania kodów kreskowych DNA jako uniwersalnego narzędzia stosowanego w tak różnych dziedzinach jak: handel, przemysł, medycyna czy nauka (Ryc. 1).



Rysunek 1. Możliwości zastosowania barkodingu DNA.

POZNANIE I OPIS BIORÓŻNORODNOŚCI ŚWIATA ORGANIZMÓW

Wielu badaczy z całego świata zajmuje się katalogowaniem organizmów występujących w środowisku. W wyniku licznych badań naukowych liczba znanych gatunków roślin czy zwierząt rośnie. Badacze chcą wiedzieć jakie taksony występują w środowisku oraz jak ich obecność może wpływać na funkcjonowanie ekosystemów. Badania zajmujące się różnorodnością biologiczną mają swoje praktyczne zastosowanie. W przypadku dużych inwestycji, jak np. budowa portów, akwakultur czy elektrowni wiatrowych,

niezbędne jest wykonanie analizy dotyczącej stanu środowiska, gatunków obecnych w ekosystemie oraz oceny wpływu inwestycji na bioróżnorodność gatunkową (BULL i współaut. 2016, KORSTIAN i współaut. 2016). Często takie analizy wykonywane są przy użyciu mikroskopii świetlnej, w oparciu o klucze do oznaczania, oraz obserwacje większych organizmów. Nowoczesne podejście oparte o cechy molekularne gatunków wydaje się być sposobem bardziej wiarygodnym i zdecydowanie szybszym. Obecnie rozwijają się nowe techniki sekwencjonowania (Sekwencjonowanie Nowej Generacji; ang. Next Generation Sequencing, NGS), które można wykorzystać do opisu różnorodności biologicznej w próbach środowiskowych (HAJIBA-BAEI i współaut. 2011). Bezpośrednia izolacja materiału genetycznego ze środowiska nie wymaga oględzin morfologicznych. Organizmy są rozpoznawane na podstawie nie tylko obecności w próbce, ale również „śladów” DNA, które zostały w osadzie, wodzie czy powietrzu.

IDENTYFIKACJA GATUNKÓW OBCYCH I KRYPTYCZNYCH

Co może się stać, gdy w środowisku pojawiają się organizmy, które naturalnie w nim nie występują? Czy ekosystem jest na tyle elastyczny, aby poradzić sobie z zaistniałą zmianą? Czy środowisko ulegnie zmianom i przekształceniom? W przeszłości góry i oceany stanowiły swoistego rodzaju barierę dla większości gatunków, dzięki czemu różne ekosystemy mogły ewoluować we względnej izolacji, ale migracje ludności przyniosły wiele zamierzonych i niezamierzonych introdukcji. Ludzie wprowadzali nowe gatunki, aby zaspokoić swoje potrzeby fizjologiczne i społeczne (BAX i współaut. 2003, PIMENTEL i współaut. 2005). Introdukowane były zarówno rośliny, jak i zwierzęta. Mimo wszystko częstotliwość takich działań była niewielka w porównaniu z dzisiejszymi, które spowodowane są żeglugą morską o charakterze handlowym czy turystycznym (BAX i współaut. 2003).

Gatunki inwazyjne transformują m. in. środowisko morskie. Najbardziej „szkodliwe” mogą wypierać gatunki rodzime, zmieniając strukturę zbiorowisk oraz sieć troficzną, a później podstawowe procesy, takie jak sedymentacja czy obieg materii (CLAVERO i GARCÍA-BERTHO 2005). Inwazje gatunków są głównym zagrożeniem dla bioróżnorodności i mogą nieść za sobą skutki ekologiczne i ekonomiczne. Następstwa inwazji mogą być widoczne lokalnie, ale także mogą być odczuwane w skali globalnej (MOLNAR i współaut. 2008). Bezpieczeństwo biologiczne staje

się jednym z ważniejszych problemów międzynarodowych, bowiem wiąże się to z ryzykiem chorób zakaźnych przenoszonych przez gatunki obce (ARMSTRONG i BALL 2005), jak w przypadku karalucha *Periplaneta japonica* odnotowanego w Nowym Yorku. Zwierzęta te obniżają jakość powietrza w pomieszczeniach przez uwalnianie substancji chemicznych (uważanych za alergenów), które wywołują astmę, a także alergię. Łączone są również z licznymi patogenami, jak np. *Klebsiella pneumoniae* (EVANGELISTA i współaut. 2013), mogącymi powodować zapalenie płuc, zakażenia w obrębie kości, stawów, przewodu pokarmowego czy układu moczowego, prowadząc w drastycznych przypadkach do sepsy (VIRELLA 2000). Takson ten jest trudny do odróżnienia od gatunku rodzimego; dopiero identyfikacja na poziomie molekularnym potwierdziła przypuszczenia o inwazji *Periplaneta japonica*, a także była wskazówką do sposobu wyeliminowania szkodnika, który ze względu na odporność na wysokie i niskie temperatury jest trudny do zwalczania. Techniki molekularne są wartościowym narzędziem, umożliwiającym wczesną identyfikację organizmów inwazyjnych w środowisku.

Taksonomiczne wyzwania stwarzają również gatunki kryptyczne, które pomimo bariery rozrodowej są bardzo trudne do rozróżnienia morfologicznie, nawet dla doświadczonego taksonoma (BICKFORD i współaut. 2007). Identyfikacja gatunków kryptycznych jest ważna pod względem praktycznym, zdrowotnym, ekonomicznym oraz oczywiście poznawczym. Błędne przypisanie gatunku może przynosić poważne problemy w wielu aspektach życia człowieka czy przemysłu, jak np. w leczeniu chorób wywołanych pasożytami i wirusami, w zarządzaniu rybołówstwem czy zwalczaniu szkodników (BICKFORD i współaut. 2007).

Identyfikacja gatunków zwierząt i roślin ma dla nauk biologicznych kluczowe znaczenie. Wielu organizmów nie można przypisać do gatunku ze względu na ich niewielkie rozmiary, brak charakterystycznych cech morfologicznych czy ze względu na złożony cykl życiowy, lub też dlatego, że analizie poddawany jest jedynie fragment tkanek badanego organizmu (HEBERT i GREGORY 2005). Technika barkodingu DNA radzi sobie ze wszystkimi tymi problemami, dając w wielu przypadkach jednoznaczny wynik w krótkim czasie. U roślin standardowe kodowanie kreskowe DNA polega na stosowaniu różnych kombinacji od jednego do czterech plastydowych regionów DNA (rbcL, matK, trnH-psbA, trnL) i/lub regionu niekodującego DNA między genami podjednostek rybosomu (ITS) (MANZANILLA i współaut. 2019). Pojawiają się

ponadto propozycje uniwersalnych markerów dla świata roślin, jak UPA (23S rRNA), które charakteryzują się wysokim sukcesem amplifikacji i można je stosować u wszystkich fotoautotrofów (SHERWOOD i PRESTING 2007). Dodatkowo, standardowy marker COI dla świata zwierząt ułatwia poznanie ich bioróżnorodności (HEBERT i współaut. 2003).

PRZEMYSŁ FARMACEUTYCZNY

Rośliny lecznicze są od tysięcy lat szeroko wykorzystywane na świecie przez różne cywilizacje. Stosowanie ziół było częścią kultury i religii dla wielu pokoleń (VELDMAN i współaut. 2014). Wytwarza się z nich często produkty w postaci preparatów leczniczych, maści, suplementów diety i ziół np. w formie suszu (CHEN i współaut. 2009). Tradycyjna medycyna została skomercjalizowana w ciągu ostatnich lat, natomiast większość roślin leczniczych jest nadal zbierana z dzikich upraw (VELDMAN i współaut. 2014). Uprawa się kilka popularnych gatunków roślin leczniczych, ale w większości krajów jest to tylko niewielki procent gatunków używanych w lekach ziołowych (VELDMAN i współaut. 2014). Surowce pozyskiwane z upraw transportuje się do fabryk i przetwórn. Dokładność identyfikacji w momencie zbierania i przetwarzania roślin jest niezwykle ważna, ze względu na możliwość fałszowania wyników czy zastępowania surowców innymi (SCHORI i SHOWALTER 2011). W niektórych przypadkach zastąpienie jednego gatunku innym może mieć minimalny wpływ na skuteczność produktu, podczas gdy w innych, korzystny wpływ może zostać całkowicie utracony. Co więcej, zastępowanie roślin w pewnych rodzinach (szczególnie Apiaceae i Solanaceae) może skutkować powstaniem alergii, zatruc lub stanowić śmiertelne zagrożenie dla osób stosujących uzyskane z nich preparaty czy suplementy (SCHORI i SHOWALTER 2011). Barkodowanie DNA jest już powszechnie stosowaną techniką do ustalenia tożsamości roślin leczniczych, umożliwiającą przemysłowi farmaceutycznemu zastosowanie znanych i skutecznych gatunków, nie narażając przy tym zdrowia i życia konsumentów.

PRZEMYSŁ ENERGETYCZNY

Globalna gospodarka wymaga stosowania kopalnych węglowodorów, od produkcji tworzyw sztucznych i nawozów, po dostarczanie energii potrzebnej do oświetlenia, ogrzewania i transportu. Wraz z rosnącą liczbą ludności na świecie i rozwijającą się gospodarką następuje wzrost zużycia paliw kopalnych. Ponadto, dochodzi do wzrostu stężenia CO₂ w atmosferze i możliwości znacznych zmian

klimatu za pośrednictwem gazów cieplarnianych (HUGHES 2010). Wreszcie, ropa jest ograniczonym zasobem, który w końcu się wyczerpie lub stanie się zbyt drogi do odzyskania (HANNON i współaut. 2010). Czynniki te napędzają rozwój odnawialnych źródeł energii, które mogą zastąpić paliwa kopalne i umożliwiają większy dostęp do zasobów paliw dla wszystkich, a jednocześnie znacznie zmniejszają emisję dwutlenku węgla do atmosfery. Wiele technologii wykorzystujących odnawialne źródła energii zostało przetestowanych i chociaż żadna pojedyncza strategia nie zaspokoi całkowitego zapotrzebowania energetycznego, wydaje się, że można zastosować ich kombinację, która znacznie zmniejszy zależność ludzkości od paliw kopalnych (HANNON i współaut. 2010). Produkcja biopaliw jest jednym z wielu pomysłów, zmierzających do ograniczenia zużycia ropy, chroniąc jednocześnie środowisko. Do produkcji takiego rodzaju paliwa wykorzystuje się przede wszystkim rośliny zarówno lądowe, jak i morskie (BOROWITZKA i MOHEIMANI 2013). Glony wydają się być lepszym surowcem chociażby z tego względu, że uprawa roślin lądowych wymaga ogromnej powierzchni gruntów rolnych (HANNON i współaut. 2010). Produkcja zielonej energii z glonów wymaga dokładnego określenia ich gatunku oraz ustalenia zawartości lipidów w komórkach w różnych fazach hodowli (BOROWITZKA i MOHEIMANI 2013). Zanieczyszczenia hodowli masowych czynnikami biologicznymi są głównym zagrożeniem w produkcji biopaliw (CARNEY i współaut. 2016). Skażenie organizmami eukariotycznymi i bakteryjnymi wpływa na zmniejszanie biomasy glonów. Określenie, jakie organizmy niepożądane występują w bioreaktorach i jaki mają wpływ na proces produkcji jest kluczowym zadaniem, aby przedsięwzięcie było opłacalne (RADAKOVITS i współaut. 2010, CARNEY i współaut. 2016). Dlatego też stosuje się techniki oparte na DNA (w tym barkodowanie DNA) do identyfikacji taksonu, który zawiera dużo komórek tłuszczowych i będzie najlepszy do produkcji wysokoenergetycznego paliwa. Kodowanie kreskowe DNA stosuje się również do identyfikacji zanieczyszczeń czynnikami biologicznymi w hodowlach masowych.

PRZEMYSŁ SPOŻYWCZY

Surowce wysokiej jakości mają podstawowe znaczenie dla produkcji żywności o odpowiedniej wartości odżywczej i pożądanym smaku. Dla przemysłu spożywczego opracowano szereg procesów technologicznych i biotechnologicznych w celu zachowania i poprawy właściwości organoleptycznych

produktów. Kontrole jakości są przeprowadzane za pomocą różnych testów laboratoryjnych, które stanowią obowiązkowy punkt wyjścia dla właściwego systemu sprawdzania produktów spożywczych. Zapotrzebowanie na niezawodne systemy kontrolowania składu żywności spowodowało utworzenie różnych analitycznych podejść do tego problemu (BOTTERO i DALMASSO 2011, FAJARDO i współaut. 2010, HELLBERG i MORRISEY 2011). Sprawdzenie autentyczności żywności polega głównie na analizie białek i/lub sekwencji DNA. Metody oparte na badaniu białek obejmują testy immunologiczne, techniki elektroforetyczne i chromatograficzne. . Choć metody te są skuteczne w testowaniu świeżych produktów to w przypadku analiz silnie przetworzonej żywności mają niską efektywność. W tych przypadkach techniki oparte na DNA są bardziej skuteczne i mogą być stosowane do różnych typów żywności (LOCKLEY i BARDSLEY 2000). Ponadto, DNA jest łatwe do izolowania i dzięki niemu można uzyskać więcej informacji dotyczących składu i produkcji produktów spożywczych (HELLBERG i MORRISEY 2011).

Metody identyfikacji oparte na DNA pozwalają na szybkie i ostateczne uwierzytelnianie przetworzonych produktów z owoców morza pozbawionych charakterystycznych cech morfologicznych (np. filetów i produktów z owoców morza). Wprowadzanie niecertyfikowanych produktów rybnych (zastępowanie tańszymi zamiennikami) jest zgłaszane w wielu krajach i dotyczy różnych gatunków ryb, mięczaków czy skorupiaków (CARVALHO i współaut. 2015).

Dzięki najnowszym osiągnięciom w biologii molekularnej markery DNA stały się najbardziej skutecznym narzędziem w analizie DNA odmian roślin i ras zwierząt, a także są wykorzystywane do sprawdzenia składu i jakości surowców w przemyśle spożywczym (MAFRA i współaut. 2008).

EPIDEMIOLOGIA

Ze względu na prostotę i wiarygodność technika barkodingu DNA znalazła zastosowanie w badaniach epidemiologicznych. Służy do wykrywania pasożytów, np. *Blastocystis* czy *Schistosoma mansoni*. *Blastocystis* należy do pasożytów jelitowych szerokiej gamy gatunków gospodarzy, w tym ludzi; jest niezwykle trudny do wytepienia i wyizolowania (UDONSOM i współaut. 2018). Ponadto, *Blastocystis* obejmuje liczne podtypy (prawdopodobnie gatunki), z których wiele zidentyfikowano dopiero niedawno, a molekularne badania epidemiologiczne ujawniły znaczącą różnicę w rozmieszczeniu podtypów między gatunkami gospodarza i regionami

geograficznymi (STENSVOLD 2013). Natomiast schistosomatoza jelitowa wywoływana przez *Schistosoma mansoni* stanowi poważny problem zdrowia publicznego w Afryce (STANDLEY i współaut. 2010).

Analiza za pomocą barkodingu DNA doprowadziła do znaczącego postępu w diagnostyce i badaniach *Blastocystis* i *Schistosoma mansoni* w ciągu ostatnich kilku lat, umożliwiając dokładną identyfikację i charakterystykę molekularną dzięki wysokiej sile różnicującej. W identyfikacji podtypów wykorzystuje się geny małej podjednostki rybosomu (SSU) lub geny mitochondrialne kodujące oksydazę cytochromową (COI) (SCICLUNA i współaut. 2006, STANDLEY i współaut. 2010). Amplifikacja regionu, a następnie sekwencjonowanie pojedynczego startera produktu PCR zapewnia wystarczającą liczbę danych do jednoznacznego przypisania izolatów do określonych podtypów. Barkodingu DNA może odpowiedzieć na pytania związane z drogami przenoszenia pasożyta oraz właściwościami różnych gatunków (SCICLUNA i współaut. 2006).

Wirus ptasiej grypy (H5N1) przenoszony jest przez żywe ptactwo, a choroba wywołana tym wirusem jest w dużym odsetku śmiertelna (CLAAS i współaut. 1998). Zakażenie następuje poprzez kontakt zdrowego osobnika (w tym człowieka), z osobnikiem zakażonym. Ze względu na śmiertelność i łatwość zakażenia bardzo istotne jest rozwinięcie techniki identyfikacji nosicieli. Identyfikacja osobników opiera się na izolacji DNA z próbek kału lub tkanek (LEE i współaut. 2010). Nie jest to technika inwazyjna, nie powoduje śmierci ptaka, natomiast jest w stanie stwierdzić, które z badanych zwierząt są nosicielami wirusa, co umożliwia kontrolę nad jego rozprzestrzenianiem i wykrywaniem ognisk chorobowych (LEE i współaut. 2010).

ENTOMOLOGIA SĄDOWA

Według Międzynarodowej Unii Ochrony Przyrody (IUCN), obecny wskaźnik wymierania gatunków jest 1000 razy większy od oczekiwanego. To dramatyczne zjawisko ma wiele przyczyn, warto jednak zauważyć, że utrata różnorodności biologicznej powodowana jest przede wszystkim działalnością człowieka (ROLO i współaut. 2013). W ostatnich latach entomologia kryminalistyczna jest stosowana między innymi w przestępstwach związanych z nielegalnym kłusownictwem, handlem i posiadaniem gatunków chronionych, a także okrucieństwem wobec zwierząt i ludzi (ROLO i współaut. 2013). Owady i ich larwy dostarczają informacji o czasie zgonu czy przenoszeniu zwłok. Znajomość gatunku i jego morfologii oraz czasu trwania poszcze-

gólnych etapów rozwojowych muchy jest kluczowa w ocenie kryminalistycznej (DRABER-MOŃKO i współaut. 2009, MEIKLEJOHN i współaut. 2013). Pomimo znacznego potencjału kryminalistycznego, ich stosowanie jest ograniczone, ponieważ cechy morfologiczne tych owadów różnią się na każdym etapie ich życia (MEIKLEJOHN i współaut. 2013). Identyfikacja nekrofagicznych owadów z rzędu Diptera tradycyjnie odbywała się na podstawie charakterystycznych cech budowy, jednak obecnie coraz powszechniej stosuje się barkoding DNA i uniwersalny dla wszystkich zwierząt marker COI (DRABER-MOŃKO i współaut. 2009, MEIKLEJOHN i współaut. 2013, ROLO i współaut. 2013). Kodowanie kreskowe DNA rozwiązuje problemy z analizą cech morfologicznych owadów w różnych etapach rozwoju i sprawia, że obecność larw czy dorosłych osobników staje się wiarygodnym dowodem przestępstwa.

PODSUMOWANIE

Zalety barkodingu DNA takie jak: łatwość wykonania badań, szybkość otrzymania wyników i ich wiarygodność spowodowały, że narzędzie to ma szerokie zastosowanie nie tylko w dziedzinach nauki, ale również w przemyśle, medycynie, handlu czy sądownictwie. Analizowane są fragmenty tkanek, ślady zwierząt i roślin, które sprawiają, że metoda ta nie jest szkodliwa dla organizmów żywych. Przedstawione zastosowania kodowania DNA pokazują, że narzędzie to jest uniwersalne i może być używane także w przypadkach, gdzie klasyczne analizy są zbyt kosztowne, przestarzałe, mało wiarygodne, czasochonne bądź wymagają doświadczonego specjalistów. Wraz ze wzrostem zasobów informacji w bazach danych oraz rozwojem przemysłu, medycyny czy nauki, narzędzie to będzie coraz szerzej wykorzystywane i zdecydowanie ułatwi pracę wielu analitykom i naukowcom, a także poprawi jakość życia ludzi.

Streszczenie

Barkoding DNA jest technika, której celem jest ułatwienie identyfikacji wszystkich organizmów występujących w przyrodzie. Wykorzystuje ona krótką sekwencję nukleotydów charakterystyczną dla danego organizmu jako jego znacznik i umożliwia określenie gatunku bądź rodzaju badanego organizmu, jego postaci larwalnej, czy materiału kopalnego. Kodowanie kreskowe DNA stało się techniką molekularną wspierającą tradycyjne podejście do taksonomii, a także ze względu na łatwość stosowania, wiarygodność uzyskanych wyników posiada liczne zastosowania w różnych dziedzinach, które wydają się ważne i ułatwiają pracę czy życie ludzi. W artykule opisano możliwości i zalety wykorzystania techniki kodowania DNA w dziedzinach takich jak: nauka, przemysł, epidemiologia, entomologia sądowa, gdzie szybka analiza taksonomiczna jest niezwykle ważna. Technika ta posia-

da liczne możliwości zastosowania a wraz z rozwojem przemysłu i nauki stosowanie takich systemów diagnostyki taksonomicznej zyska większą popularność.

LITERATURA

- ARMSTRONG K. F., BALL S. L., 2005. *DNA barcodes for biosecurity: invasive species identification*. Philosoph. Transact. Royal Soc. B: Biol. Sci. 360, 1813-1823.
- BAX N., WILLIAMSON A., AGUERO M., GONZALEZ E., GEEVES W., 2003. *Marine invasive alien species: a threat to global biodiversity*. Marine Policy 27, 313-323.
- BICKFORD D., LOHMAN D. J., SODHI N. S., NG P. K., MEIER R., WINKER K., DAS I., 2007. *Cryptic species as a window on diversity and conservation*. Trends Ecol. Evol. 22, 148-155.
- BOROWITZKA M. A., MOHEIMANI N. R., 2013. *Algae for biofuels and energy*. Springer, Dordrecht.
- BOTTERO M. T., DALMASSO A., 2011. *Animal species identification in food products: Evolution of biomolecular methods*. Veterinary J. 190, 34-38.
- BULL J. W., JOBSTVOGT N., BÖHNKE-HENRICH A., MASCARENHAS A., SITAS N., BAULCOMB C., CARTER-SILK E., 2016. *Strengths, weaknesses, opportunities and threats: A SWOT analysis of the ecosystem services framework*. Ecosystem Services 17, 99-111.
- CARNEY L. T., WILKENFELD J. S., LANE P. D., SOLBERG O. D., FUQUA Z. B., CORNELIUS N. G., LANE T. W., 2016. *Pond crash forensics: presumptive identification of pond crash agents by next generation sequencing in replicate raceway mass cultures of *Nannochloropsis salina**. Algal Res. 17, 341-347.
- CARVALHO D. C., PALHARES R. M., DRUMMOND M. G., FRIGO T. B., 2015. *DNA Barcoding identification of commercialized seafood in South Brazil: A governmental regulatory forensic program*. Food Control 50, 784-788.
- CHEN S., SONG J., YAO H., SHI L., LUO K., HAN J., 2009. *Strategy and key technique of identification of Chinese herbal medicine using DNA barcoding*. Chinese J. Nat. Med. 7, 322-327.
- CLAAS E. C., OSTERHAUS A. D., VAN BEEK R., DE JONG J. C., RIMMELZWAAN G. F., SENNE D. A., WEBSTER R. G., 1998. *Human influenza A H5N1 virus related to a highly pathogenic avian influenza virus*. Lancet 351, 472-477.
- CLAVERO M., GARCÍA-BERTHOUE E., 2005. *Invasive species are a leading cause of animal extinctions*. Trends Ecol. Evol. 20, 110.
- DRABER-MOŃKO A., MALEWSKI T., POMORSKI J., ŁOŚ M., ŚLIPIŃSKI P., 2009. *On the morphology and mitochondrial DNA barcoding of the flesh fly *Sarcophaga (Liopygia) argyrostoma* (Robin-eau-Desvoidy, 1830)(Diptera: Sarcophagidae) – an important species in forensic entomology*. Annales Zoologici 59, 465-494.
- EVANGELISTA D., BUSS L., WARE J. L., 2013. *Using DNA barcodes to confirm the presence of a new invasive cockroach pest in New York City*. J. Econom. Entomol. 106, 2275-2279.
- FAJARDO V., GONZÁLEZ I., ROJAS M., GARCÍA T., MARTÍN R., 2010. *A review of current PCR-based methodologies for the authentication of meats from game animal species*. Trends Food Sci. Technol. 21, 408-421.
- HAJIBABAEI M., SHOKRALLA S., ZHOU X., SINGER G. A., BAIRD D. J., 2011. *Environmental barcoding: a next-generation sequencing approach for biomonitoring applications using river benthos*. PLoS One 6, e17497.

- HANNON M., GIMPEL J., TRAN M., RASALA B., MAYFIELD S., 2010. *Biofuels from algae: challenges and potential*. *Biofuels* 1, 763-784.
- HEBERT P. D., GREGORY T. R., 2005. *The promise of DNA barcoding for taxonomy*. *System. Biol.* 54, 852-859.
- HEBERT P. D., CYWINSKA A., BALL S. L., DEWAARD J. R., 2003. *Biological identifications through DNA barcodes*. *Proc. Royal Soc. London Series B, Biol. Sci.* 270, 313-321.
- HELLBERG R. S. R., MORRISSEY M. T., 2011. *Advances in DNA-based techniques for the detection of seafood species substitution on the commercial market*. *JALA: J. Assoc. Lab. Automat.* 16, 308-321.
- HUGHES L., 2000. *Biological consequences of global warming: is the signal already apparent?* *Trends Ecol. Evol.* 15, 56-61.
- KORSTIAN J. M., HALE A. M., BENNETT V. J., WILLIAMS D. A., 2016. *Using DNA barcoding to improve bat carcass identification at wind farms in the United States*. *Conserv. Genet. Resour.* 8, 27-34.
- LEE D. H., LEE H. J., LEE Y. J., KANG H. M., JEONG O. M., KIM M. C., PARK S. Y., 2010. *DNA barcoding techniques for avian influenza virus surveillance in migratory bird habitats*. *J. Wildlife Diseases* 46, 649-654.
- LOCKLEY A. K., BARDSLEY R. G., 2000. *DNA-based methods for food authentication*. *Trends Food Sci. Technol.* 11, 67-77.
- MAFRA I., FERREIRA I. M., OLIVEIRA M. B. P., 2008. *Food authentication by PCR-based methods*. *Europ. Food Res. Technol.* 227, 649-665.
- MANZANILLA V., TEIXIDOR I. T., MARTIN G., HOLLINGSWORTH P., KOOL A., 2019. *Tracking the global supply chain of herbal medicines with novel genomic DNA barcodes*. <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/744318v1>.
- MEIKLEJOHN K. A., WALLMAN J. F., DOWTON M., 2013. *DNA barcoding identifies all immature life stages of a forensically important flesh fly (Diptera: Sarcophagidae)*. *J. Forensic Sci.* 58, 184-187.
- MOLNAR J. L., GAMBOA R. L., REVENGA C., SPALDING M. D., 2008. *Assessing the global threat of invasive species to marine biodiversity*. *Front. Ecol. Environ.* 6, 485-492.
- PIMENTEL D., ZUNIGA R., MORRISON D., 2005. *Update on the environmental and economic costs associated with alien-invasive species in the United States*. *Ecol. Econom.* 52, 273-288.
- RADAKOVITS R., JINKERSON R. E., DARZINS A., POSEWITZ M. C., 2010. *Genetic engineering of algae for enhanced biofuel production*. *Eukaryotic Cell* 9, 486-501.
- RATNASINGHAM S., HEBERT P. D., 2007. *BOLD: The barcode of life data system*. *Mol. Ecol. Notes* 7, 355-364.
- ROLO E. A., OLIVEIRA A. R., DOURADO C. G., FARINHA A., REBELO M. T., DIAS D., 2013. *Identification of sarcosaprophagous Diptera species through DNA barcoding in wildlife forensics*. *Forensic Sci. Int.* 228, 160-164.
- SCHMIDT S., SCHMID-EGGER C., MORINIÈRE J., HASZPRUNAR G., HEBERT P. D., 2015. *DNA barcoding largely supports 250 years of classical taxonomy: identifications for C entral European bees (*H ymenoptera*, *A poidea partim*)*. *Mol. Ecol. Resour.* 15, 985-1000.
- SCHORI M., SHOWALTER A. M., 2011. *DNA barcoding as a means for identifying medicinal plants of Pakistan*. *Pakistan J. Bot.* 43, 1-4.
- SCICLUNA S. M., TAWARI B., CLARK C. G., 2006. *DNA barcoding of Blastocystis*. *Protist* 157, 77-85.
- SHERWOOD A. R., PRESTING G. G., 2007. *Universal primers amplify a 23S rDNA plastid marker in eucaryotic algae and cyanobacteria*. *J. Phycol.* 43, 605-608.
- STANDLEY C. J., KABATEREINE N. B., LANGE C. N., LWAMBO N. J. S., STOTHARD J. R., 2010. *Molecular epidemiology and phylogeography of Schistosoma mansoni around Lake Victoria*. *Parasitology* 137, 1937-1949.
- STENSVOLD C. R., 2013. *Blastocystis: genetic diversity and molecular methods for diagnosis and epidemiology*. *Tropical Parasitol.* 3, 26.
- TIZARD J., PATEL S., WAUGH J., TAVARES E., BERGMANN T., GILL B., BAKER A., 2019. *DNA barcoding a unique avifauna: an important tool for evolution, systematics and conservation*. *BMC Evolut. Biol.* 19, 52.
- UDONSOM R., PRASERTBUN R., MAHITTIKORN A., MORI H., CHANGBUNJONG T., KOMALAMISRA C., POPRUK S., 2018. *Blastocystis infection and subtype distribution in humans, cattle, goats, and pigs in central and western Thailand*. *Infect. Genet. Evol.* 65, 107-111.
- VELDMAN S., OTIENO J., GRAVENDEEL B., VAN ANDEL T., DE BOER H., 2014. *Conservation of endangered wild harvested medicinal plants: use of DNA barcoding*. *Plant Bioresour Appl. Food Med. Cosmet.* 81, 88.
- VIRELLA G., 2000. *Mikrobiologia i choroby zakaźne*. Urban & Partner, Wrocław, 181.

KOSMOS Vol. 68, 4, 651–657, 2019

ZUZANNA KOWALSKA, FILIP PNIEWSKI, ADAM LATAŁA

Institute of Oceanography, University of Gdansk, 46 M. Piłsudskiego Str., 81-378 Gdynia, E-mail: zuzannakowalska0@gmail.com

DNA BARCODES – POSSIBILITIES AND APPLICATION

Summary

DNA barcoding is a technique which purpose is to facilitate the identification of all the organisms occurring in the world. It uses a short characteristic sequence for taxon and allows determining the species or type of the examined fragment of the organism, its larval form or fossil material. This technique has become a molecular tool supporting the traditional approach to taxonomy. Due to its efficiency and credibility of the obtained results, this technique has numerous applications in various fields. This work describes the possibilities and advantages of DNA barcoding in areas such as: science; industry; epidemiology; forensic entomology, where fast taxonomic analysis is extremely important. This technique has numerous applications. With the development of industry and science, the use of such taxonomic diagnostics systems will become more popular.

Key words: DNA barcodes, DNA barcoding, species identification