ในการศึกษาเพื่อให้สามารถระบุความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* (Aac) สาเหตุโรคผลเน่าแบคทีเรีย (bacterial fruit blotch) จึงได้แยกเชื้อแบคทีเรีย Aac จากส่วนผลและใบของแตงโม แตงเทศ แฟง และแตงกวาที่แสดงอาการโรคโดยมีแหล่งปลูกอยู่ในเขตจังหวัดขอนแก่น อุดรธานี กาฬสินธุ์ นครราชสีมา และยโสธร และแตงโมที่ไม่ทราบแหล่งปลูกซึ่งนำมาขายในตลาดต่าง ๆ ของ อ. เมือง จ. ขอนแก่น ได้จำนวน 857 ไอโซเลต คัดเลือกตัวแทนของเชื้อ Aac จากพืชอาศัยแต่ละชนิดพืชอาศัย อาการ และแหล่งปลูกจำนวน 183 ไอโซเลต มาศึกษาความหลากหลายหลายทางพันธุกรรมตามคุณสมบัติ 3 ประการ ดังต่อไปนี้

(1) **ความสามารถในการทำให้เกิดโรคและระดับความรุนแรงของโรค:** จากความสามารถในการทำให้เกิดโรคบนต้นกล้าแตงโม แตงเทศ และแตงกวา ที่อายุ 15 วัน สามารถแบ่งกลุ่มเชื้อแบคทีเรีย Aac ได้เป็น 4 กลุ่ม ประกอบด้วย กลุ่มที่ 1: ไม่ทำให้เกิดโรคบนต้นกล้าพืชทดสอบทุกชนิด กลุ่มที่ 2: ทำให้เกิดโรคบนต้นกล้าพืชทดสอบได้ทุกชนิด กลุ่มที่ 3: ทำให้เกิดโรคได้เฉพาะบนต้นกล้าแตงเทศและแตงกวาเท่านั้น และกลุ่มที่ 4: ทำให้เกิดโรคได้เฉพาะบนต้นกล้าแตงโมและแตงกวาเท่านั้น เมื่อจัดแบ่งกลุ่มตามระดับความรุนแรงของโรค (severe group) แบ่งได้ 14 กลุ่ม โดยเชื้อแบคทีเรีย Aac ไอโซเลตที่แยกได้จากแตงโมมีความแตกต่างกันมากที่สุดโดยจัดอยู่ใน severe group ได้ 12 กลุ่ม ไอโซเลตที่แยกได้จากสควอช แตงเทศ และ pickle melon แบ่งได้ 5, 5 และ 2 กลุ่มตามลำดับ เนื่องจากจำนวนไอโซเลตของเชื้อแบคทีเรีย Aac ที่แยกได้จากแฟง และแตงกวา มีจำนวนไม่มากจึงไม่สามารถระบุความหลากหลายทางพันธุกรรมในสายพันธุ์ของเชื้อแบคทีเรีย Aac ได้

(2) **ลักษณะโคโลนี:** ตัวแทนของเชื้อแบคทีเรีย Aac เมื่อนำมาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient agar (NA) เป็นเวลา 6 วัน ปรากฏลักษณะโคโลนีที่แตกต่างกันอย่างชัดเจน แบ่งออกได้เป็น 3 แบบ คือ แบบ A: ลักษณะคล้ายไข่ดาว แบบ B: กลม ขอบหยัก และแบบ C: กลม ผิวหน้าอาหารรอบโคโลนีขุ่น ซึ่งลักษณะของโคโลนีมีความสัมพันธ์กับความสามารถในการทำให้เกิดโรค โดยเชื้อแบคทีเรีย Aac ที่มีโคโลนีแบบ A จำกัดอยู่ในกลุ่มที่ไม่ทำให้เกิดโรคบนต้นกล้าพืชทดสอบทุกชนิด ขณะที่แบบ B และ C พบในไอโซเลตที่ทำให้เกิดโรคได้บนพืชทดสอบ

(3) **DNA fingerprint ของส่วน 16s rRNA gene:** เทคนิค Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis (ARDRA) สามารถแยกความแตกต่างภายในส่วนของ 16s rRNA gene ระหว่างกลุ่มที่ไม่ทำให้เกิดโรค และกลุ่มที่ทำให้เกิดโรคบนต้นกล้าพืชทดสอบได้หลังจากการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Rsa* I และ *Hind* III ในขณะที่ไม่พบความผันแปรของ DNA fingerprint ในส่วนของ 16s rRNA gene หลังจากการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Hae* III, *Msp* I และ *Taq* I

เทคนิค ARDRA ที่ใช้ในการศึกษาเฉพาะส่วน 16s rRNA gene สามารถบ่งชี้ความหลากหลายทางพันธุกรรมภายใน subspecies ของเชื้อแบคทีเรีย Aac ได้ อย่างไรก็ตามรูปแบบของ DNA fingerprint ในส่วนของ 16s rRNA gene ยังไม่สามารถเป็นตัวแทนของคุณสมบัติทางชีววิทยาโดยเฉพาะความรุนแรงของอาการโรคจากเชื้อแบคทีเรีย Aac ที่ทำให้เกิดโรคได้

To determination of genetic diversity of *Acidovorax avenae* subsp.*citrulli* (Aac), causal agent of bacterial fruit blotch, total 857 isolates of Aac were isolated from infected fruits, leaves of watermelon, melon, white gourd, squash, pickle melon and cucumber collected from production fields in Khon Kaen, Udon Thani, Kalasin, Nakhon Ratchasima, Yasothon provinces and unknown growing place but delivered to Khon Kaen fresh markets. The 183 isolates were selected as representative for determination their genetic diversity by three characteristics as follow,

(1) **pathogenicity and virulence capability**: Based on the pathogenicity on 15 days old watermelon, melon and cucumber seedlings, Aac isolates were divided into 4 groups consisted of group I: non-pathogenic to all test plants, group II: pathogenic to all test plant, group III: pathogenic only to melon and cucumber seedlings and group IV: pathogenic only to watermelon and cucumber seedlings. Based on disease severity index, the pathogenic isolates of Aac were sub-divided into 14 severity groups. Aac isolates from watermelon were the most diverse, belong to 12 severity groups. The isolates from squash, melon and pickle-melon were placed into 5, 5 and 2 severity groups, respectively. Since the number of Aac isolates from white gourd, pickle melon and cucumber were limited subsequently, their genetic diversity could not determined.

(2) **colony morphology**: The selected Aac isolates were cultured on nutrient agar (NA) at 28 °C for 6 days. The appearance of colony showed 3 types as follows, type A: typical "fried egg" appearance, type B: circular form and undulate margin and type C: circular form and diffuse colony. The colony typing is related to their pathogenicity, type A was restricted to the non-pathogenic group whereas type B and C belong to the pathogenic group.

(3) **DNA fingerprint of 16s rRNA gene**: The Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis (ARDRA) technique was used to determine the genetic diversity within the 16s rRNA gene of the selected's Aac isolates. DNA fingerprint after digested with restriction *Rsa* I and *Hind* III showed distinct pattern between non-pathogenic and pathogenic groups of Aac. Digestion with *Hae* III, *Msp*I and *Taq* I could not showed polymorphism within this gene of all selected Aac isolates.

ARDRA of 16s rRNA gene can indicate the genetic variation within subspecies of Aac. However, 16s rDNA fingerprint is not represented the biological properties, especially disease severity of pathogenic strains of Aac.