

การจัดจำแนกจุลินทรีย์โดยใช้คุณลักษณะผสมผสาน (Polyphasic taxonomy) จากข้อมูลด้านสัณฐานวิทยา สรีรวิทยา และลำดับนิวคลีโอไทด์ส่วน 16S rRNA gene ได้นำมาใช้ในการทดสอบจำแนกชนิดเชื้อ *Streptomyces* spp. ที่เป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* (Aac) สาเหตุโรคมลเน่าแบคทีเรีย เมื่อนำเชื้อ *Streptomyces* จำนวน 16 ไอโซเลต ทำการยืนยันผลการทดสอบในการยับยั้งเชื้อ Aac โดยวิธี Bioassay สามารถคัดเลือกเชื้อ *Streptomyces* spp. ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ Aac ได้ดี จำนวน 7 ไอโซเลต ได้แก่ *Strep.-13*, *Strep.-15*, *Strep.-22*, *Strep.-33*, *Strep.-78*, *Strep.-84* และ *Strep.-87* เมื่อนำมาทดสอบควบคุมโรคมลเน่าแบคทีเรียของแตงโมโดยวิธีเคลือบเมล็ดและวิธีฉีดพ่นในเรือนทดลองพบว่าเชื้อ *Streptomyces* spp. ทุกไอโซเลตไม่ก่อโรคกับพืชทดสอบ และไม่ส่งผลกระทบต่อการทำงานของเอนไซม์การออกของเมล็ดโดยวิธีเคลือบเมล็ดเชื้อไอโซเลต *Strep.-84* และ *Strep.-87* สามารถลดอัตราการเกิดโรคมลเน่าแบคทีเรียระยะกล้าของแตงโมได้ดีที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนการควบคุมโรคโดยวิธีฉีดพ่นไอโซเลต *Strep.84* และ *Strep.-87* สามารถลดระดับความรุนแรงของโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และสรีรวิทยาของเชื้อ *Streptomyces* spp. ทั้ง 7 ไอโซเลต พบว่าเป็นแบคทีเรียแกรมบวก ส่วนของเส้นใยที่เจริญเข้าไปในอาหารไม่มีการแตกหักเป็นท่อน แต่ขนาดและลักษณะโคโลนี สีของเส้นใยซูอาภาส รูปแบบสายสปอร์ มีลักษณะที่แตกต่างกันความสามารถเจริญได้บนอาหาร Arginine-glyceral mineral salt agar, Czapek's solution agar และ Yeast extract-malt extract agar, การใช้แหล่งคาร์บอน พบว่ามีเพียงไอโซเลต *Strep.-33* ที่มีความสามารถในการสร้าง melanoid pigment และทนเกลือระดับ 4 เปอร์เซ็นต์ ลักษณะที่เหมือนกันทุกไอโซเลต คือ ความสามารถในการสร้างเอนไซม์ catalase, amylase, chitinase, avicellase และ cellulase สามารถรีดิวซ์ไนเตรท, การสร้างสารยับยั้งเชื้อรา และถูกยับยั้งการเจริญเมื่อเลี้ยงบนอาหารที่เติม streptomycin 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ ส่วน 16S rRNA gene พบว่าจำนวนลำดับนิวคลีโอไทด์ของไอโซเลต *Strep.-13*, *Strep.-15*, *Strep.-22*, *Strep.-33*, *Strep.-78*, *Strep.-84* และ *Strep.-87* คือ 1,551, 1,507, 1,519, 1,519, 1,503, 1,509 และ 1,511 นิวคลีโอไทด์ตามลำดับ เมื่อดำเนินการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ดังกล่าวเปรียบเทียบกับข้อมูลส่วน 16S rRNA gene ในฐานข้อมูล EMBL-GenBank และรายงานวิจัยต่าง ๆ พบว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ดังกล่าวไม่เหมือนกับ *Streptomyces* ชนิดใดในฐานข้อมูล แต่พบว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งหมดมีความสัมพันธ์จัดอยู่ในวงศ์ Streptomycetaceae

การจัดจำแนกชนิดเชื้อ *Streptomyces* ที่เป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อ Aac โดยใช้คุณลักษณะแบบผสมผสาน ที่ใช้ข้อมูลทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยาและลำดับนิวคลีโอไทด์ส่วน 16S rRNA gene ร่วมกันระบุชนิดที่ใกล้เคียงได้ 1 ไอโซเลต คือ *Strep.-84* ใกล้เคียงกับ *Streptomyces aureofaciens* มีค่า similarity coefficient เท่ากับ 0.89 ส่วนไอโซเลต *Strep.-13*, *Strep.-15*, *Strep.-22*, *Strep.-33*, *Strep.-78* และ *Strep.-87* ระบุได้ว่าเป็นชนิดที่แตกต่างกัน และคาดว่าจะเป็เชื้อ *Streptomyces* ชนิดใหม่

Polyphasic taxonomy approach (base on properties of morphology, physiology and 16S rRNA gene sequence analysis) was investigation for identification of *Streptomyces* spp., antagonistic to *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* (Aac). Total 16 isolates of *Streptomyces* were retested for inhibition the growth of bacteria Aac by biological assay method. The results showed that 12 isolates of *Streptomyces* were stable and strong inhibited the growth of Aac. Selected 7 isolates as follows *Strep.*-13, *Strep.*-15, *Strep.*-22, *Strep.*-33, *Strep.*-78, *Strep.*-84 and *Strep.*-87 were tested to control bacterial fruit blotch disease of watermelon in greenhouse condition by seed coating and spraying method, All tested, *Streptomyces* isolate did not induce disease symptoms on watermelon seedlings or reduce germination percentage of watermelon seeds. Ability to control target disease was difference between isolation of *Streptomyces* spp. And application method. For seed coating method the result showed that *Streptomyces*.-84 was decreased number of seedling disease significantly. For spraying method, the *Streptomyces*.-84 and -87 were highly significant reduced disease severity on watermelon plants.

Investigation on morphological and chemical properties revealed that all selected *Streptomyces* spp. Isolate were Gram-positive bacteria, which have no fragmentation of substrate mycelium. Colony characteristic and spore chain type were diversified. The growth characteristics on tree media namely Arginine-glyceral-mineral salt agar, Czapek's solution agar and Yeast extract-malt extract agar of selected 7 of *Streptomyces* spp. were different. They showed distinctively in ability to utilization of carbon source and 1 isolate (*Strep.*-33) showed ability to produce melanin pigment and growth on medium containing 4% sodium chloride. However, all *Streptomyces* spp. isolate produced catalase, amylase, chitinase, avicellase and cellulose, reduce nitrate and no resistance to streptomycin (100 µ/ml).

Study on nucleotide sequence of 16s rRNA gene was analysis. An obtained full length of 16s rRNA gene from *Strep.*-13, *Strep.*-15, *Strep.*-22, *Strep.*-33, *Strep.*-78, *Strep.*-84 and *Strep.*-87 were 1,551, 1,507, 1,519, 1,519, 1,503, 1,509 and 1,511 nucleotides, respectively. Nucleotide sequence alignment was done with *Streptomyces* nucleotide sequences retrieved from the Ribosomal Database Project and EMBL-GenBank databases. Results revealed that they were not completely similar with any *Streptomyces* species in databases, but belonged to the Streptomycetaceae.

Classification of antagonistic *Streptomyces* spp. by polyphasic taxonomy approach,(based on properties of morphology, physiology and 16S rRNA gene sequence analysis) all seven antagonistic *Streptomyces* strains were identified as **new and distinctively species of *Streptomyces***. The most closely related with *Streptomyces*-84 was *Streptomyces aureofaciens* with similarity coefficient 0.89.