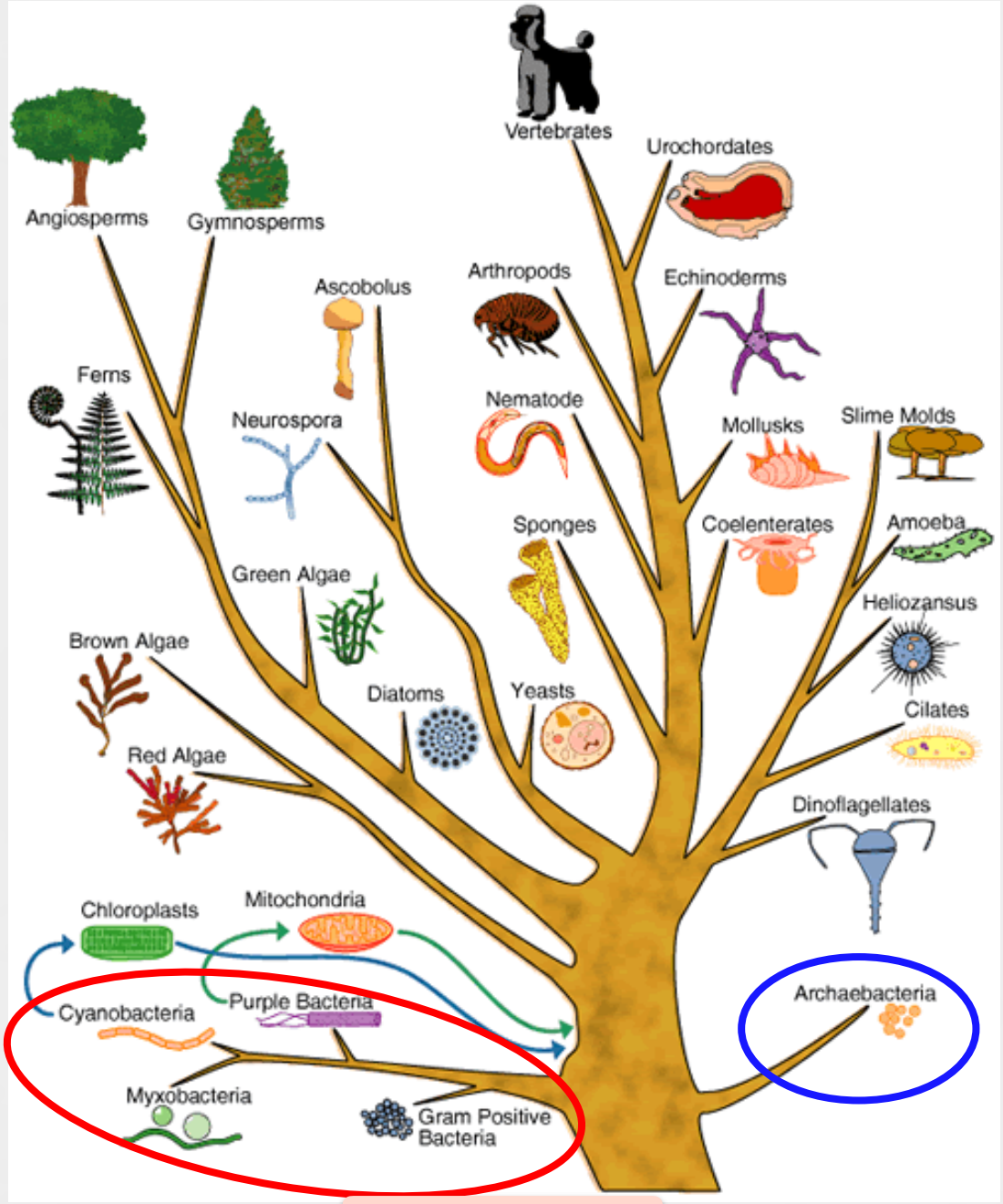
Bacteria

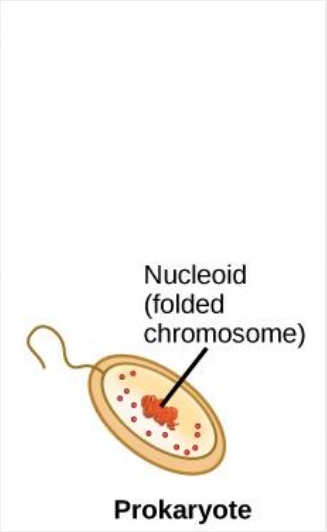
อ.ดร ธัชชา ศุกระจันทร์

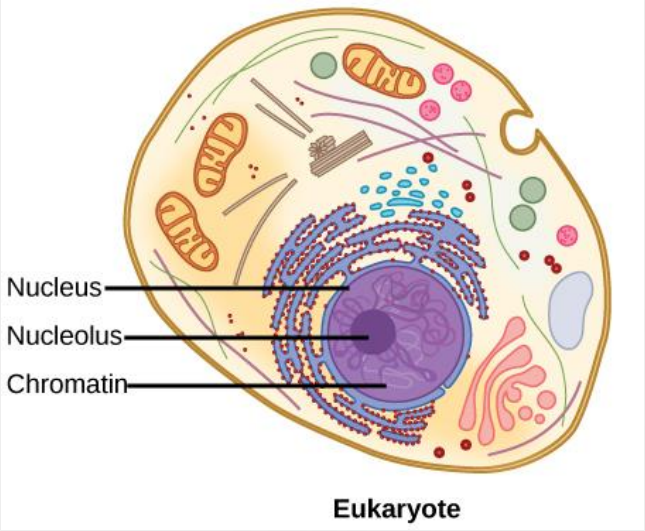
ชีววิทยาสำหรับครู 2



ชีววิทยาสำหรับครู 2

ทบทวนความแตกต่างระหว่าง Prokaryotic cell vs. Eukaryotic cell



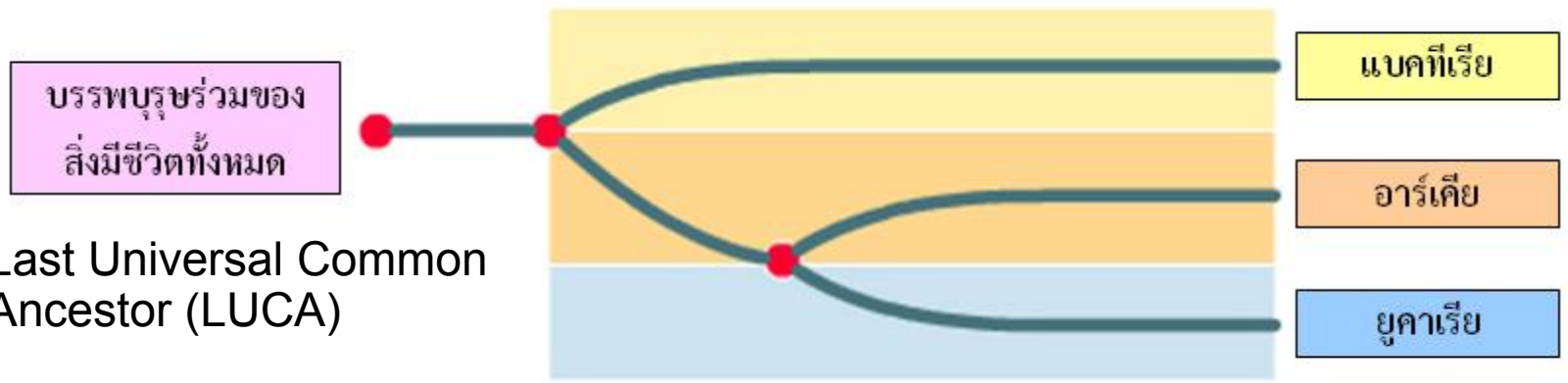


ลักษณะที่ใช้เปรียบเทียบ	Prokaryotic cell	Eukaryotic cell
เยื่อหุ้มนิวเคลียส	ไม่มีเยื่อหุ้ม	มีเยื่อหุ้ม
ขนาด	1-2 ไมโครเมตร	ใหญ่กว่า
ออร์แกเนลล์	ไม่มีเยื่อหุ้ม	มีเยื่อหุ้ม เช่น mitochondria
รูปร่างสารพันธุกรรม	วงกลม	แท่ง
ไรโบโซม	70S	80S
reproduction	Binary fission	mitosis and meiosis

Domain Archaea

- โดเมนอาร์เคีย ครั้งหนึ่งเคยถูกจัดกลุ่มไว้กับ Kingdom Monera ปัจจุบันได้รับการจัดแยกต่างหากออกเป็นอีกโดเมน เนื่องจากนักวิทยาศาสตร์ค้นพบข้อมูลใหม่ๆ เพิ่มเติม
- ไม่พบเยื่อหุ้มนิวเคลียส (no nuclear membrane)
- ไม่พบออร์แกเนลล์ที่มีเยื่อหุ้ม (no membrane-bound organelles)
- ไขมันที่เป็นองค์ประกอบของ Plasma membranes ต่างไปจากที่พบในแบคทีเรีย
- มักเป็นที่รู้จักทั่วในชื่อ “**extremophiles**” – เนื่องจากมักพบสิ่งมีชีวิตของโดเมนนี้ใน **<u>สภาวะแวดล้อมที่มีความรุนแรง</u>**

3 Domain system of classification



Last Universal Common Ancestor (LUCA)

ภาพที่ 1 การจัดจำแนกสิ่งมีชีวิตระบบใหม่เป็น 3 โดเมน

http://biology.ipst.ac.th/?p=959

Phylogeny based on differences in the sequences of nucleotides in the cell's ribosomal RNAs (rRNA)/cell's membrane lipid structure and its sensitivity to antibiotics

โดเมนอาร์เคีย: Archaea - Extremophiles

- สันนิษฐานว่า **อาร์เคียเป็นสิ่งมีชีวิตกลุ่มแรกที่เกิดขึ้นบนโลกเมื่อนานมาแล้ว ขณะที่โลกยังมีสภาพที่รุนแรงไม่เหมาะกับสิ่งมีชีวิต**
- **Extremophiles**
  - Thermophiles – อาศัยที่ 60-80°C (หรือสูงกว่า)
  - Acidophiles – อาศัยที่ pH 3 หรือต่ำกว่า
  - Xerophiles – อาศัยในที่แห้งแล้งมากๆ
  - Halophiles – อาศัยที่มีความเข้มข้นของเกลือสูงมาก
- น้ำพุร้อน ธารน้ำร้อนปล่องภูเขาไฟ/ใต้ทะเลลึก ทะเลเดดซี
- ปัจจุบันพบอาร์เคียในบริเวณอื่นๆ มากขึ้น เช่น บ่อหมัก น้ำปลา นาเกลือ มหาสมุทร ดิน บ่อน้ำเสีย ลำไส้เล็กของสัตว์ ที่สภาวะไม่รุนแรง (mild condition) ก็พบได้

http://www.dpchallenge.com/image.php?IMAGE_ID=448561

Archaea

Methanogenic archaea form a symbiosis with termites.

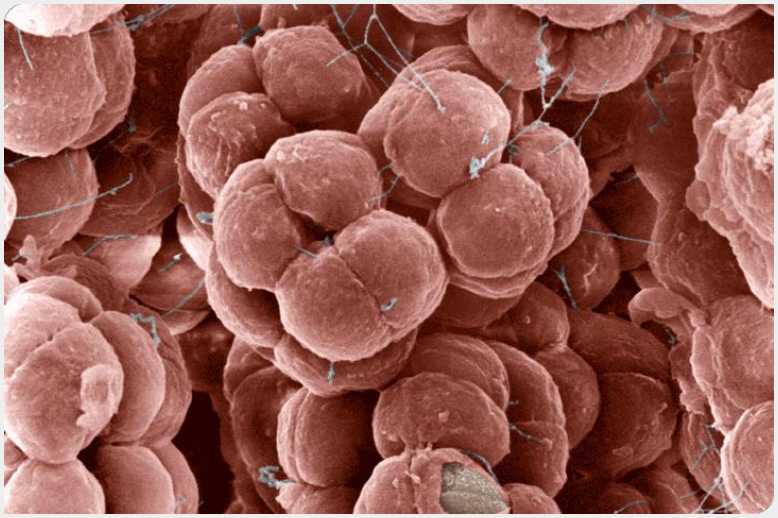
Sulfolobus infected with the DNA virus STSV1.[145] Bar is 1 micrometer.

- Prokaryote, ขนาด 0.1-15 μm (หรือมากกว่า)
- ออร์แกเนลล์ไม่มีเยื่อหุ้ม (membrane bounded organelles)
- various shapes: spheres, rods, spirals or plates
- โครงสร้างคล้ายแบคทีเรียบ g+ เกือบทั้งหมดมี cell wall
- บางชนิดพบ flagella,
- cell membrane เป็น phospholipid ที่มีลักษณะเฉพาะ
- Single circular chromosome
- เมตาบอลิซึมหลากหลาย ช่วยหมุนเวียนวัฏจักรของสสาร
- พบในสิ่งแวดล้อม mild/extreme condition พบ 10% ของจุลินทรีย์ในลำไส้มนุษย์
- อาร์เคียบางชนิดมีไวรัสเป็นปรสิต
- อ่านเพิ่มเติมได้ที่ https://en.wikipedia.org/wiki/Archaea

Example of Archaea

Sulfolobus

- Volcanic spring
- pH 2-3
- Temp 75-86 C
- **Thermoacidophile**



Halococcus

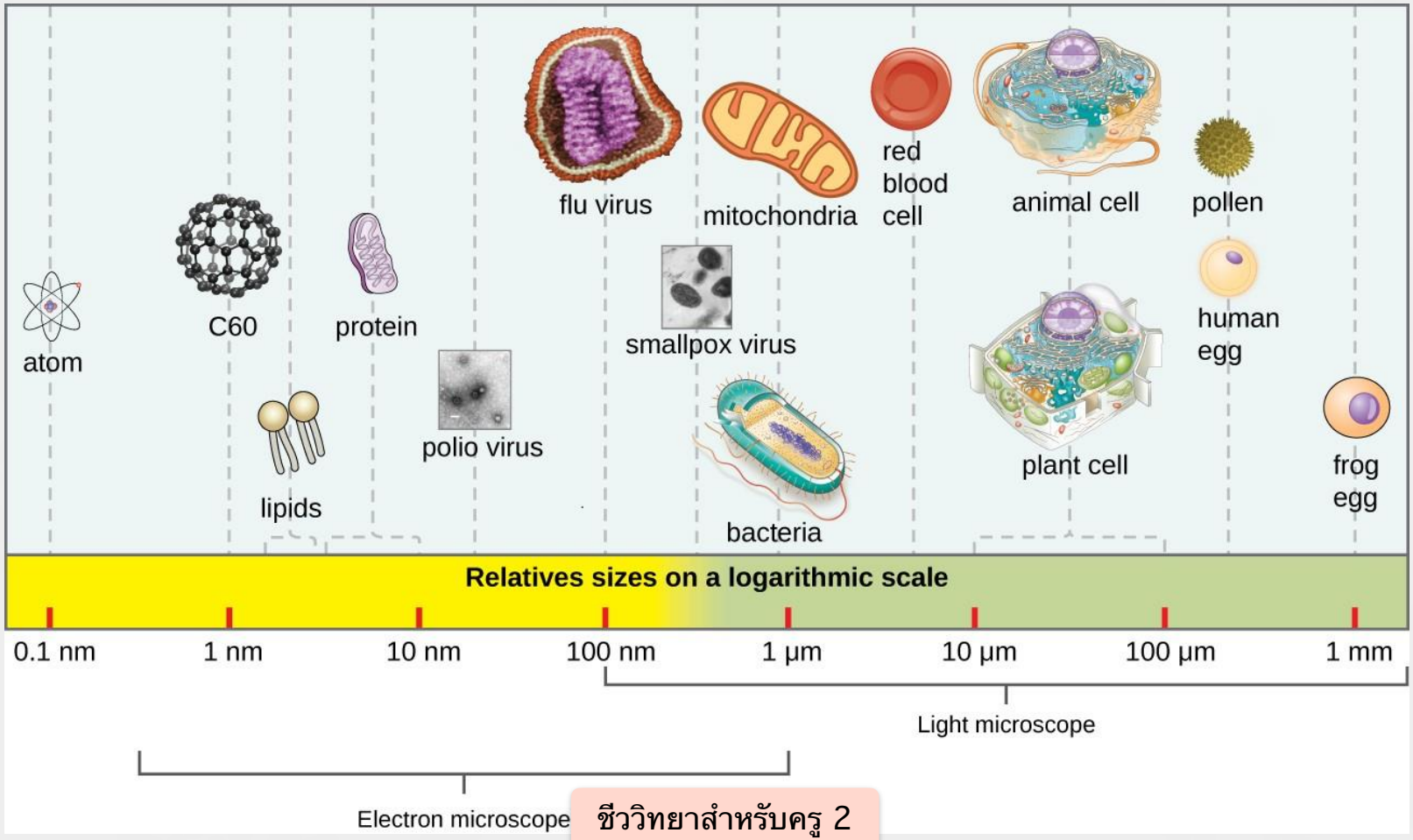
- High salinity water
- 32% NaCl
- **Halophiles**

Archaea vs. Bacteria vs. Eukaryote

Property	Archaea	Bacteria	Eukarya
Cell Membrane	Ether-linked lipids, pseudopeptidoglycan	Ester-linked lipids, peptidoglycan	Ester-linked lipids, various structures
Gene Structure	Circular chromosomes, similar translation and transcription to Eukarya	Circular chromosomes, unique translation and transcription	Multiple, linear chromosomes, similar translation and transcription to Archaea
Internal Cell Structure	No membrane-bound organelles or nucleus	No membrane-bound organelles or nucleus	Membrane-bound organelles and nucleus
Metabolism	Various, with methanogenesis unique to Archaea	Various, including photosynthesis, aerobic and anaerobic respiration, fermentation, and autotrophy	Photosynthesis and cellular respiration
Reproduction	Asexual reproduction, horizontal gene transfer	Asexual reproduction, horizontal gene transfer	Sexual and asexual reproduction
Protein synthesis initiation	Methionine	Formylmethionine	Methionine
RNA polymerase	Many	One	Many
Toxin	Sensitive to diphtheria toxin	Resistant to diphtheria toxin	Sensitive to diphtheria toxin

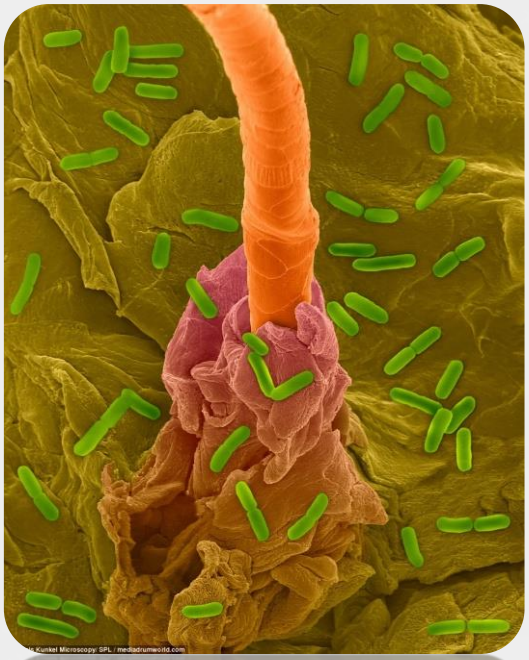
โดเมนแบคทีเรีย (Domain Bacteria)

- สิ่งมีชีวิตเซลล์เดียว ขนาดเล็ก ~ 2 ไมโครเมตร โครงสร้างเซลล์ไม่ซับซ้อน
- **Prokaryotic cell** คือไม่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียส (nuclear membrane)



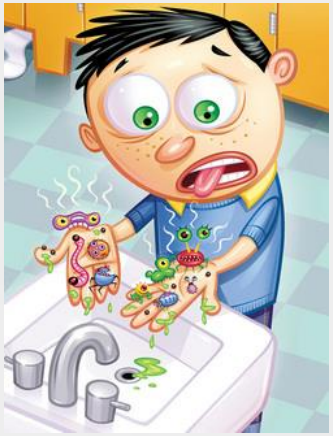
โดเมนแบคทีเรีย (Domain Bacteria)

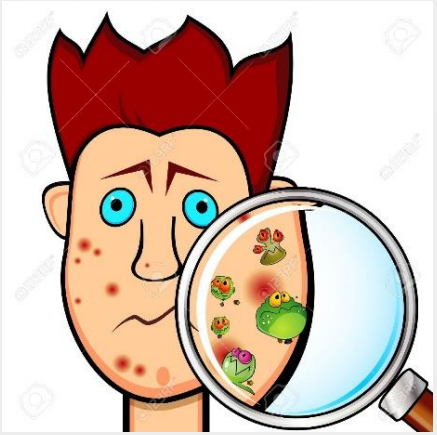
- สิ่งมีชีวิตเซลล์เดียว ขนาดเล็ก ~ 2 ไมโครเมตร โครงสร้างเซลล์ไม่ซับซ้อน
- **Prokaryotic cell** คือไม่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียส (nuclear membrane)
- ออร์แกเนลล์ไม่มีเยื่อหุ้ม (membrane bounded organelles)
- สารพันธุกรรมเป็น DNA รูปร่างเป็นวงกลม
- ผนังเซลล์พบสารเปบติโดไกลแคน (peptidoglycan)
- มักสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (Asexual reproduction)
- ส่วนใหญ่มีประโยชน์ บางชนิดก่อโรค
- พบได้ทุกที่ รวมถึงภายในร่างกายมนุษย์
- เมแทบอลิซึมหลากหลายมาก
  - Chemoheterotroph ได้พลังงานจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารอินทรีย์ เช่น น้ำตาล แป้ง เซลลูโลส บางชนิดย่อยน้ำมัน ยาฆ่าแมลงได้
  - บางชนิดสังเคราะห์แสงได้ เช่น green sulfur bacteria, purple bacteria



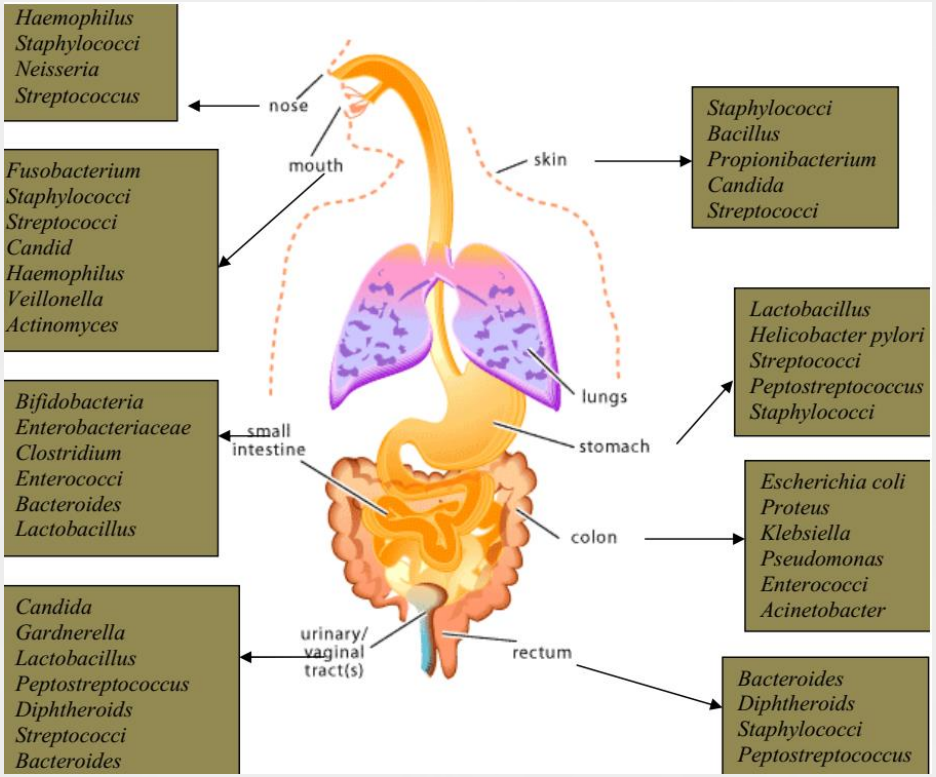
พบแบคทีเรียได้ทุกที่ แม้กระทั่งภายในร่างกายมนุษย์!

ผิวหนัง ปาก ลำไส้ ทางเดินหายใจ ระบบสืบพันธุ์





ยกเว้นอวัยะภายใน ระบบเลือด และน้ำเหลือง



จุลินทรีย์ประจำถิ่น หรือ Normal flora

คือ จุลินทรีย์ที่พบอาศัยกับสิ่งมีชีวิต โดยปกติไม่ก่อให้เกิดโทษ

ยกเว้นบางชนิดที่เมื่อร่างกายเจ้าบ้านอ่อนแอจะทำให้เกิดโรค เรียก เชื้อฉวยโอกาส

เรามองไม่เห็นเพราะขนาดเล็กมาก

Bacteria-แบคทีเรีย

- เนื่องจากขนาดเล็ก มองด้วยตาเปล่าไม่เห็น การศึกษาแบคทีเรียจึงต้องทำการเพาะเลี้ยงบน **อาหารเลี้ยงเชื้อ** ซึ่งมักใช้ภาชนะ **จานอาหารเลี้ยงเชื้อ** ที่เรียกว่า **Petri dish**
- อาหารเลี้ยงเลี้ยงแบคทีเรีย = สารอาหารที่จำเป็น + วุ้น (agar)
- ลักษณะการเจริญเติบโตของแบคทีเรียบนอาหารเลี้ยงเชื้อ เรียก **โคโลนี (colony)**
- โคโลนีของแบคทีเรียแต่ละชนิดมีลักษณะแตกต่างกันไปในด้านต่างๆ เช่น สี รูปร่าง ความนูน ลักษณะขอบ ผิวหน้า ฯลฯ

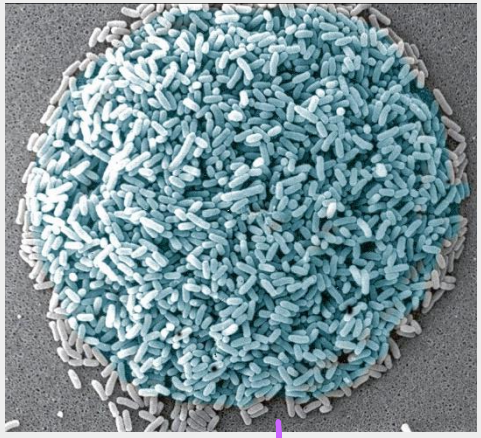
เมื่อทาบฝ่ามือลงบนอาหารเพาะเลี้ยง

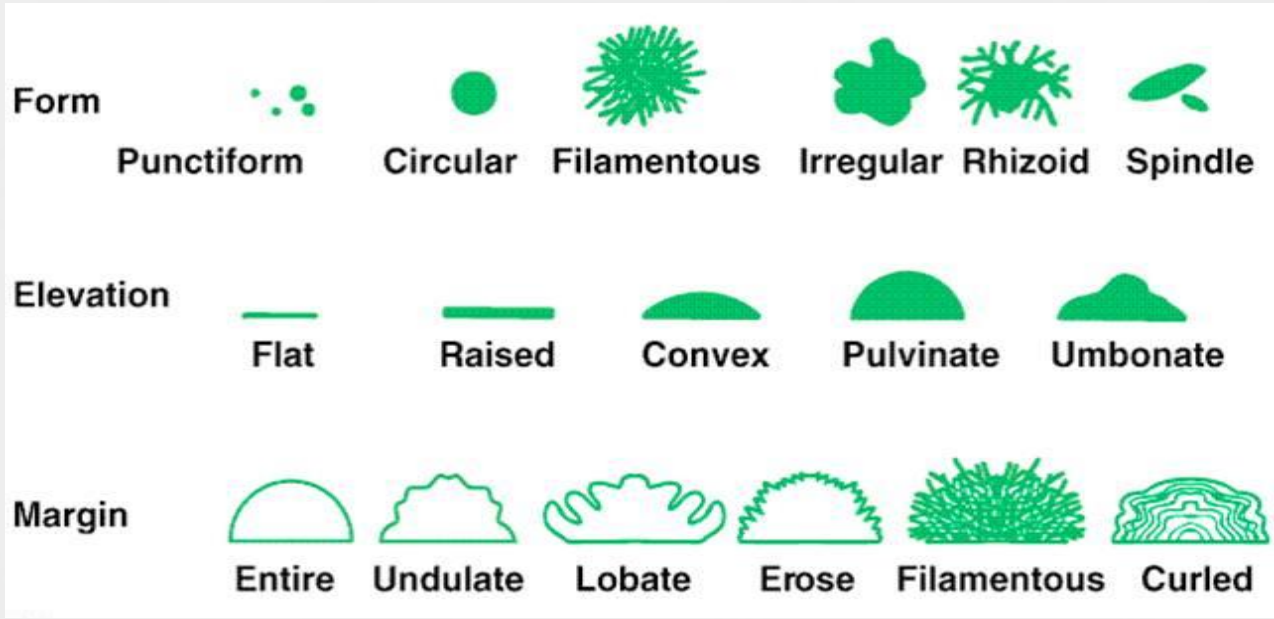
สารอาหารที่จำเป็น + วุ้น

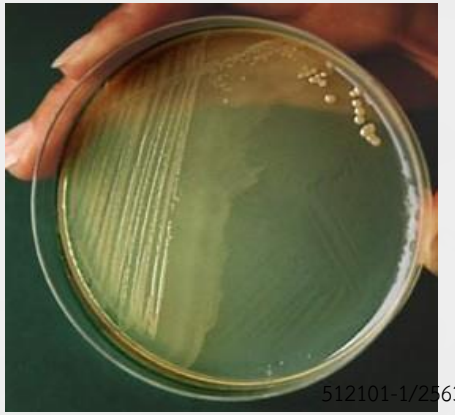
ทาบอะไรลงบนอาหารเพาะเลี้ยง??

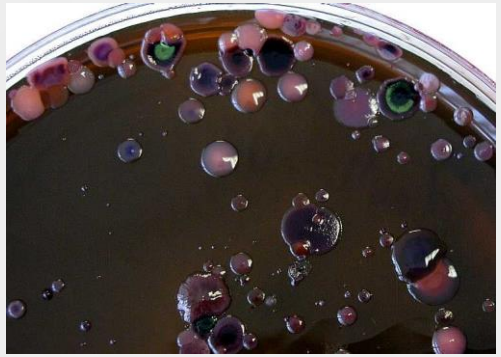
สารอาหารที่จำเป็น + วุ้น

ลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียแบบต่างๆ

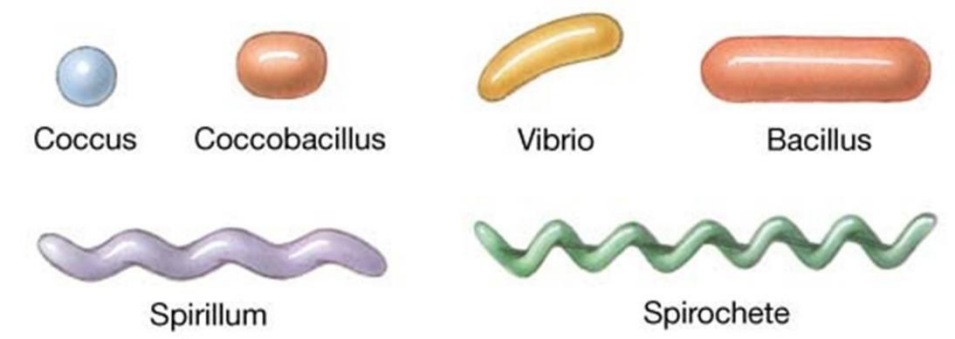




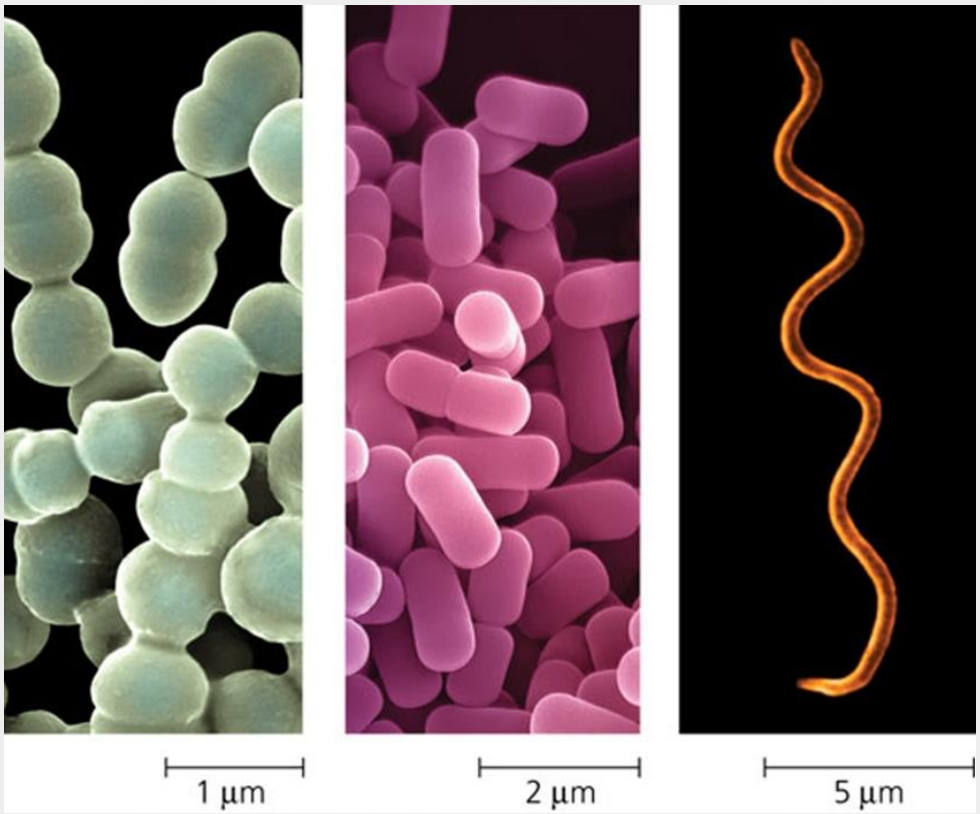




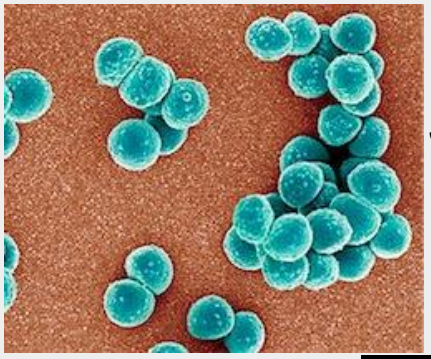
รูปร่างและการจัดเรียงตัวของเซลล์แบคทีเรีย



- รูปร่าง
  - กลม/ท่อน/เกลียว
- การจัดเรียงตัว
  - เดี่ยว/คู่/กลุ่ม/ต่อกันเป็นสาย
- โคโลนีประกอบด้วยเซลล์แบคทีเรียจำนวนมากมาย

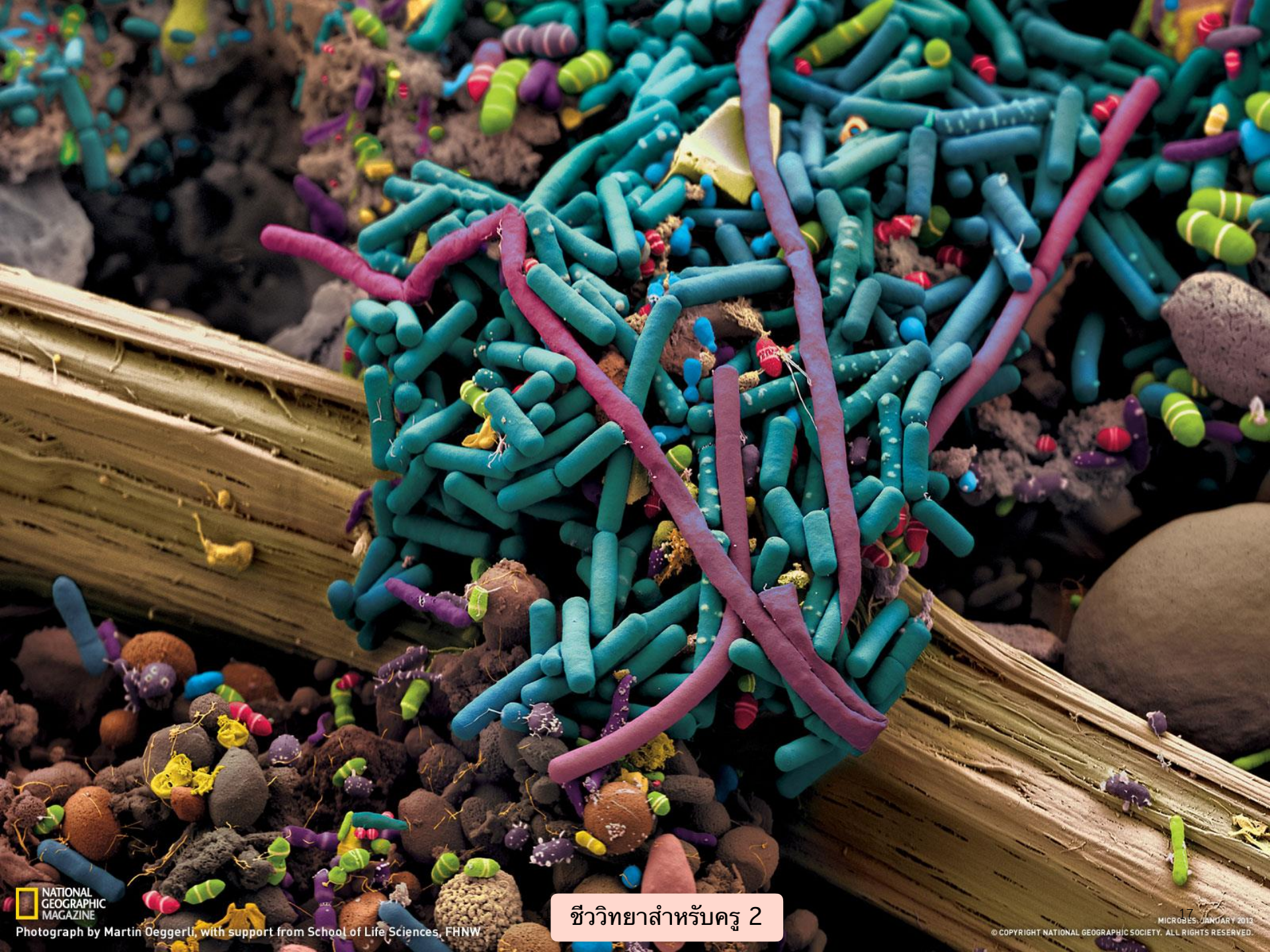


กลม ท่อน เกลียว



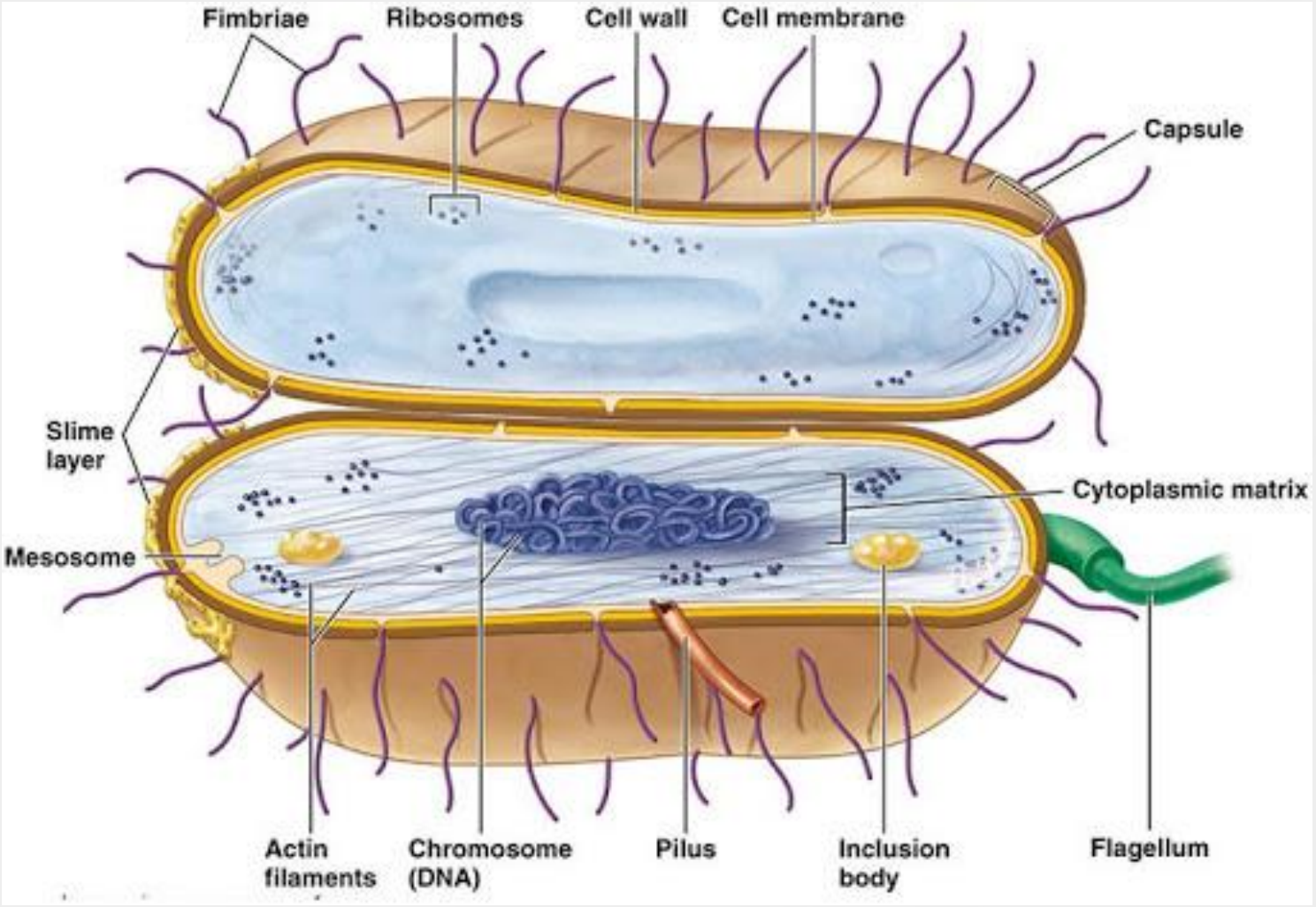
Staphylococcus
กลุ่ม/กลม

Streptococcus
สาย/กลม



ชีววิทยาสำหรับครู 2

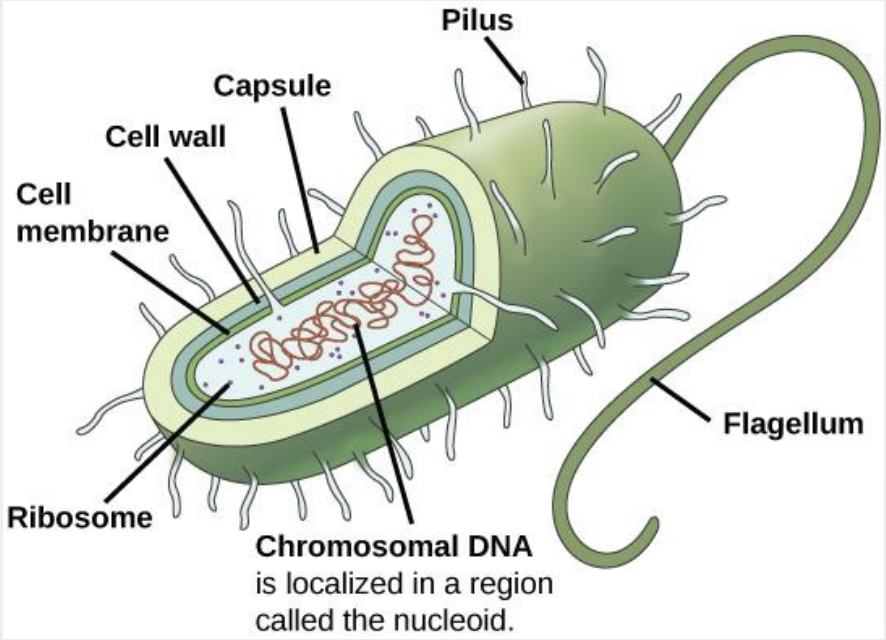
MICROBES. JANUARY 2013
© COPYRIGHT NATIONAL GEOGRAPHIC SOCIETY. ALL RIGHTS RESERVED.



โครงสร้างของแบคทีเรีย

(บางโครงสร้างพบในแบคทีเรียบางชนิดเท่านั้น)

Prokaryotic cell



รยางค์

flagella
pili, fimbriae

ส่วนที่ห่อหุ้มเซลล์

Capsule, slime layer

Cell wall

Cell membrane

โปรโตพลาสซึม

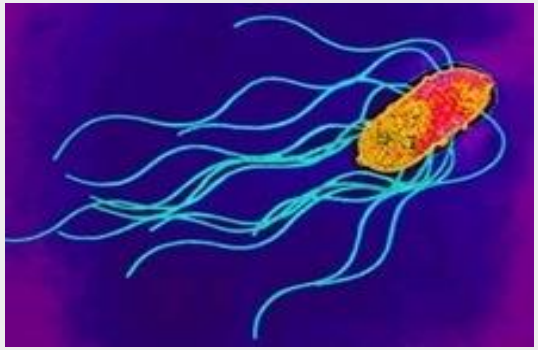
ribosome

granules

DNA, plasmid

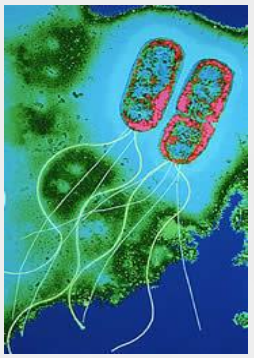
Flagella

- คล้ายแส้
- ช่วยให้เคลื่อนที่ได้
- จำนวน ตำแหน่งที่พบต่างกัน



Salmonella enterica

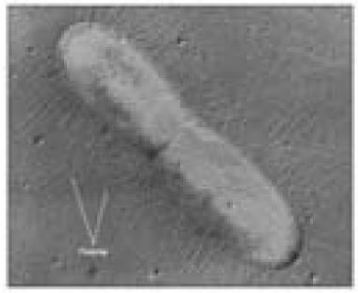
Vibrio cholerae



Pseudomonas sp.

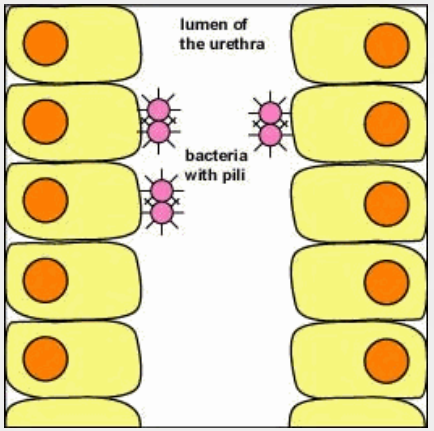
Fimbriae

- ขนาดเล็กกว่าแฟลกเจลลา
- จำนวนมากกว่า
- ช่วยให้แบคทีเรียยึดเกาะเนื้อเยื่อ



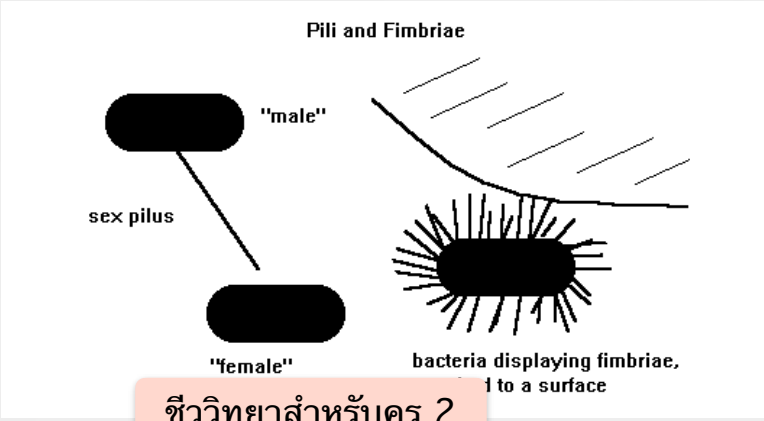
Neisseria gonorrhoeae

ก่อโรคหนองใน เกาะกับทางเดินปัสสาวะ



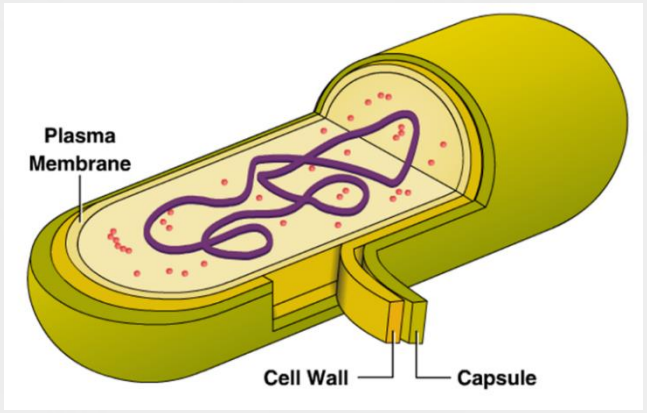
Pili

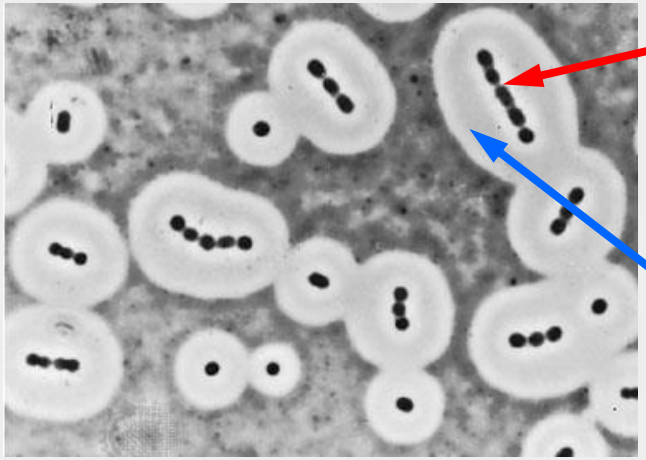
- ยาวกว่า fimbriae
- จำนวนน้อยกว่า fimbriae
- ช่วยสืบพันธุ์
- แอนติเจน
- ให้ไวรัสเกาะ

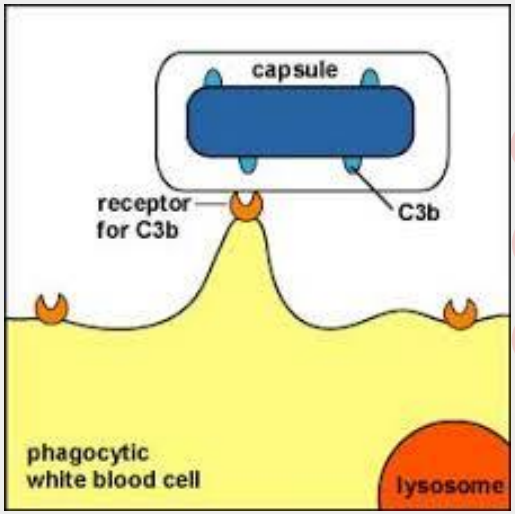


แคปซูล (capsule), เมือก (slime)

- สารเหนียวคล้ายเจล เคลือบหรือปกคลุมเซลล์
- ป้องกันเซลล์ให้ทนสิ่งแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม
- สะสมอาหารหรือของเสีย
- พบในแบคทีเรียที่ทำให้อาหารเน่าเสีย
  แบคทีเรียก่อโรคบางชนิด เช่น *Krebsiella pnuemoniae*
  ทำให้ปอดอักเสบ/ปอดบวม

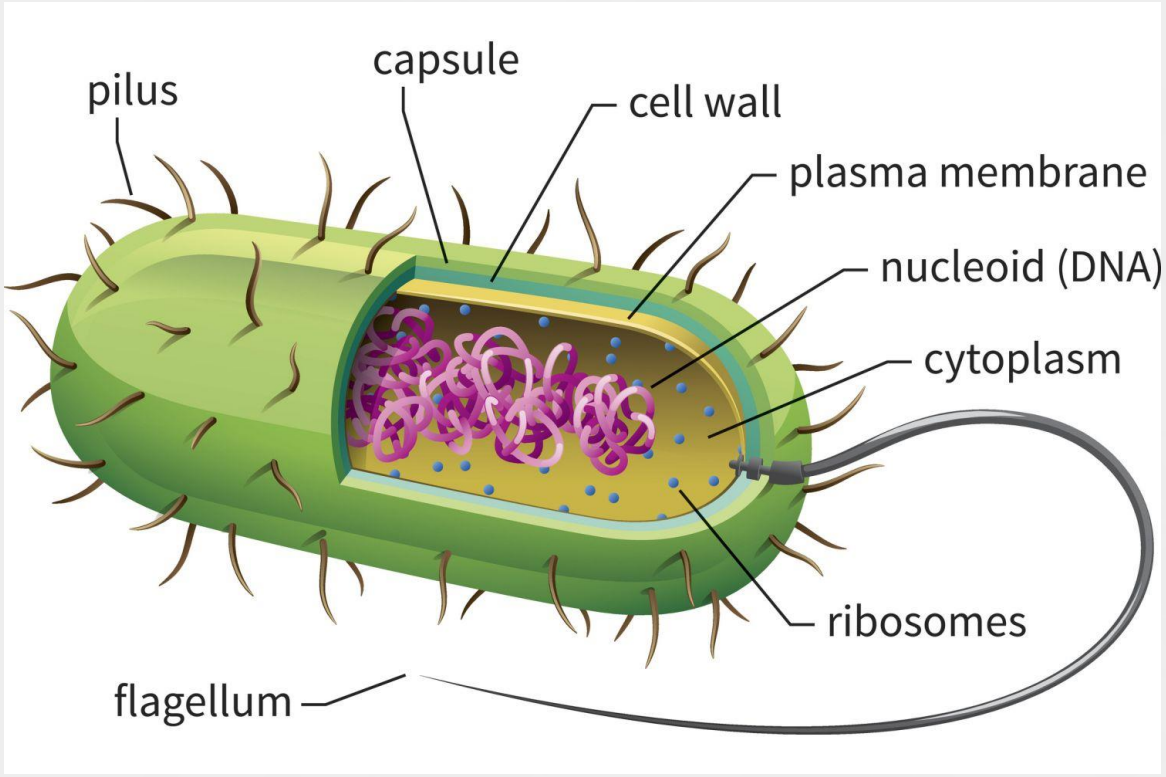


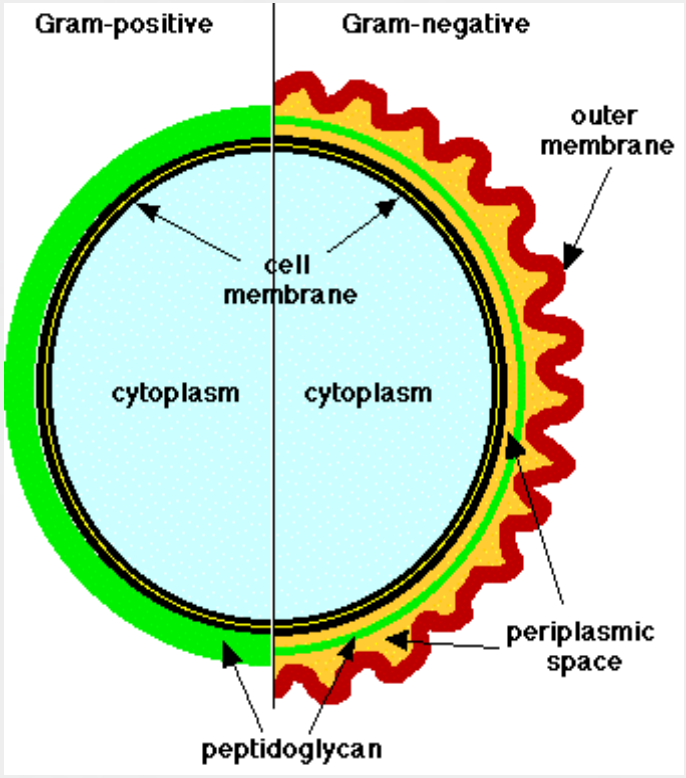




แคปซูลช่วยป้องกันไม่ให้เม็ดเลือดขาวจับเซลล์แบคทีเรีย

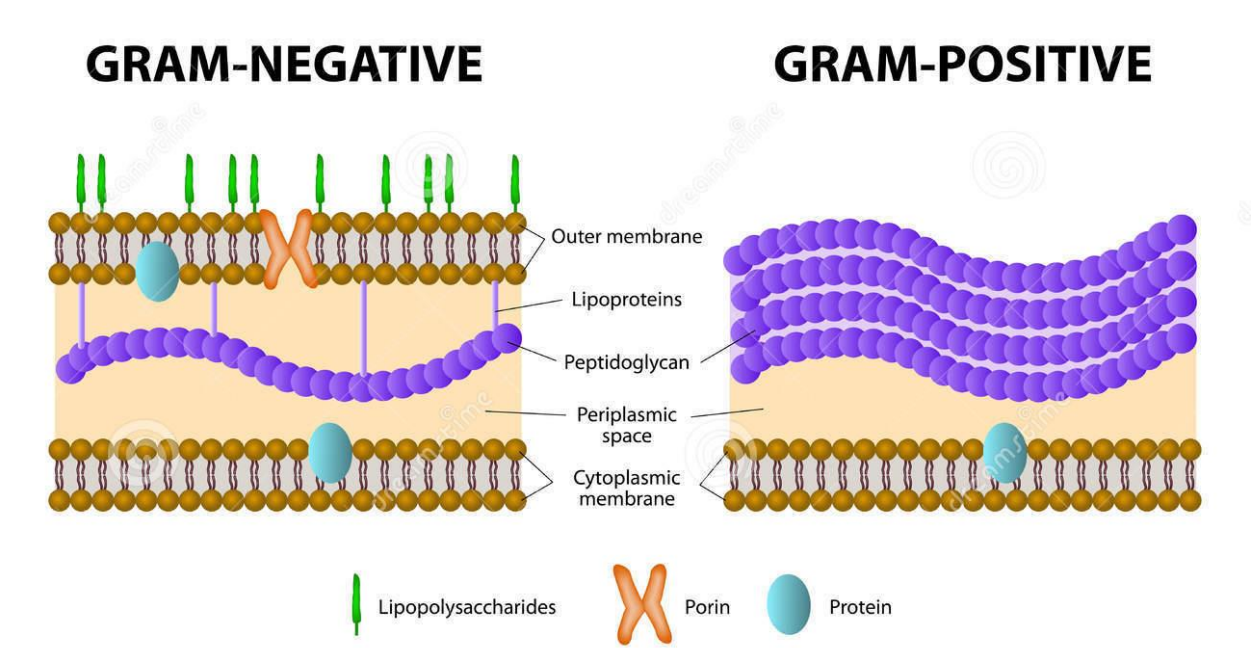
ผนังเซลล์ (cell wall)



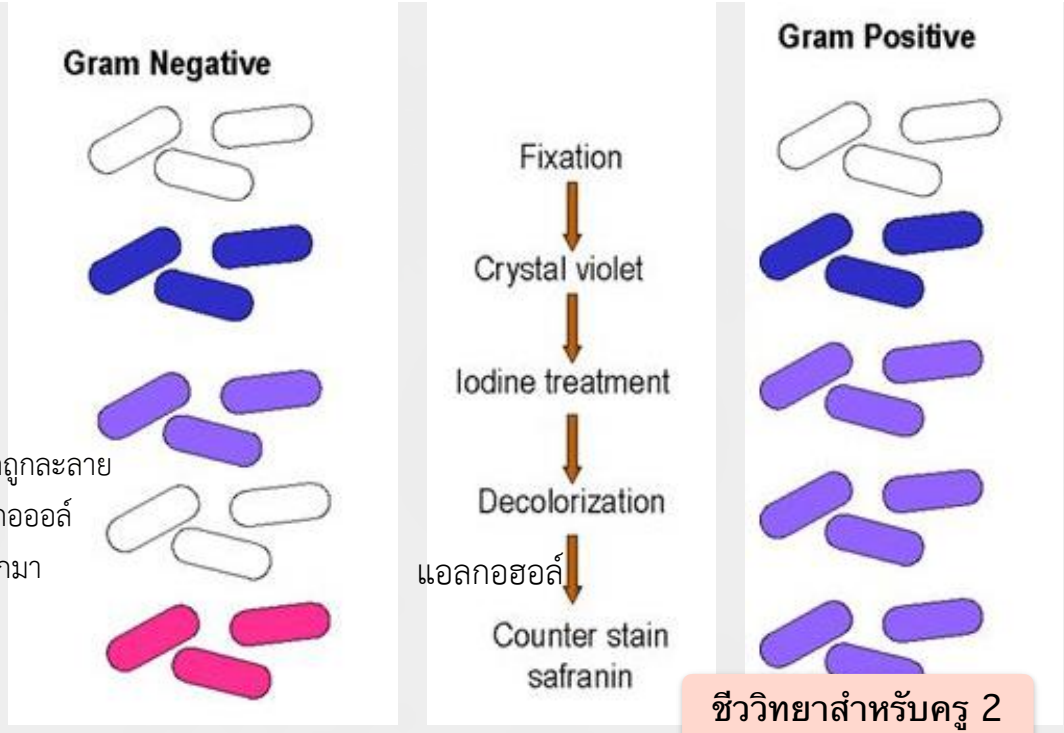


- หน้าที่รักษารูปร่าง ป้องกันและรักษาความดันภายในเซลล์ ปกป้องเซลล์ สังเคราะห์สารบางชนิด
- มีความสำคัญในการแบ่งเซลล์ ไม่มีผนังเซลล์ไม่แบ่งตัว
- ประกอบด้วย peptide, polysaccharide และ lipid ในสัดส่วนที่ต่างกันทำให้ย้อมติดสีย้อมได้ต่างกัน → ศึกษาแบคทีเรียได้ง่ายขึ้น → เช่น **Gram stain technique**

Cell wall structure

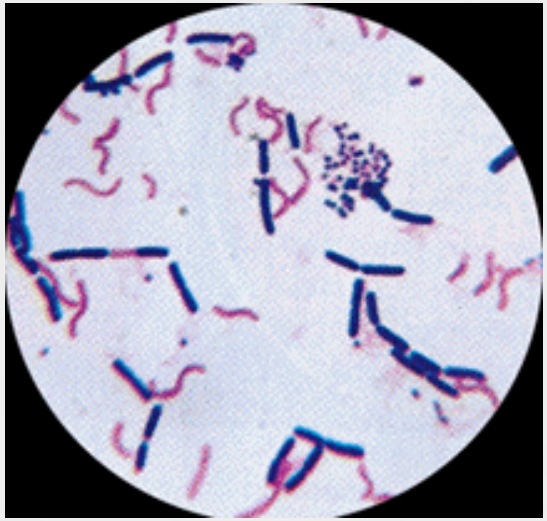


เพราะองค์ประกอบทางเคมีที่แตกต่างกันของ cell wall ทำให้ความสามารถในการติดสี crystal violet เมื่อชะล้างด้วยแอลกอฮอล์ต่างกันไป



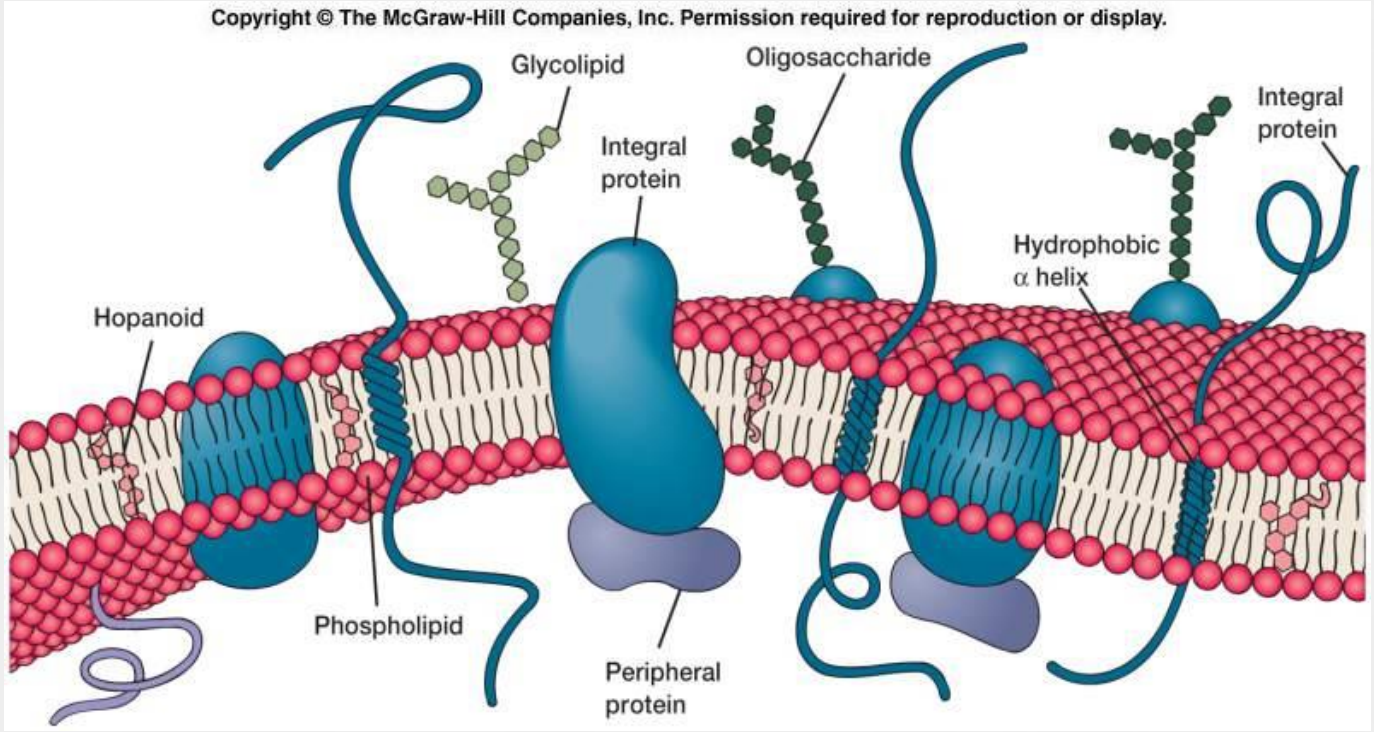
ไขมันมากถูกละลายด้วยแอลกอออล์สีหลุดออกมา

แอลกอฮอล์



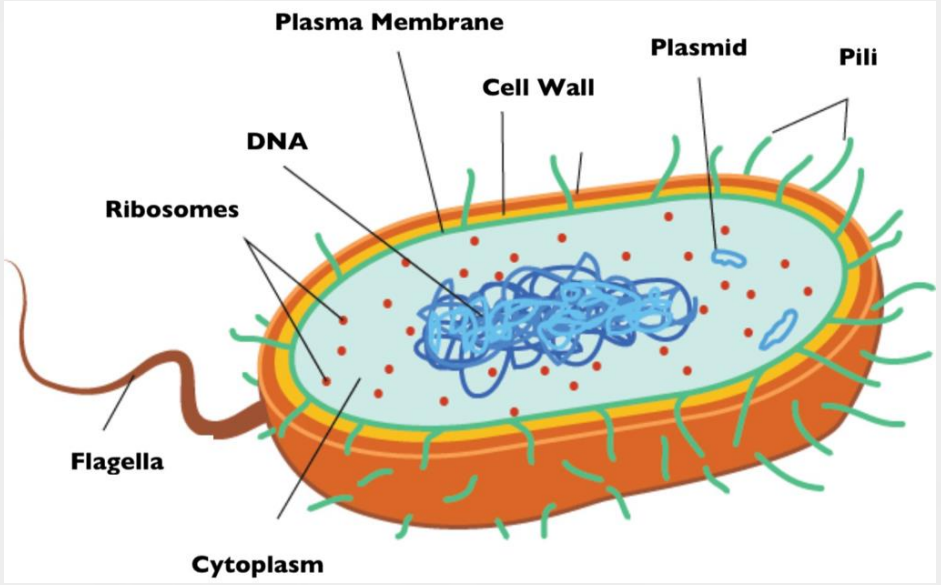
Gram staining

เยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane)



- เยื่อบางๆ ห่อหุ้มโครงสร้างต่างๆที่อยู่ในไซโตพลาสซึม
- ขาดผนังเซลล์แบคทีเรียจะมีชีวิตได้ แต่ถ้าขาดเยื่อหุ้มเซลล์แบคทีเรียจะตาย
- โปรตีน 50-70%, ไขมัน 30-40% คาร์โบไฮเดรตเล็กน้อย
- ควบคุมการผ่านเข้าออกของสาร ทั้ง diffusion และ active transport
- สังเคราะห์สารต่างๆ และหลั่งเอนไซม์ รับสัมผัสต่างๆ (receptor)
- ในแบคทีเรียที่สังเคราะห์แสงได้ เยื่อหุ้มเซลล์เป็นตำแหน่งของรงควัตถุ และเอนไซม์ที่จำเป็นในการสังเคราะห์แสง

https://www.pinterest.com/pin/438678819946690761/

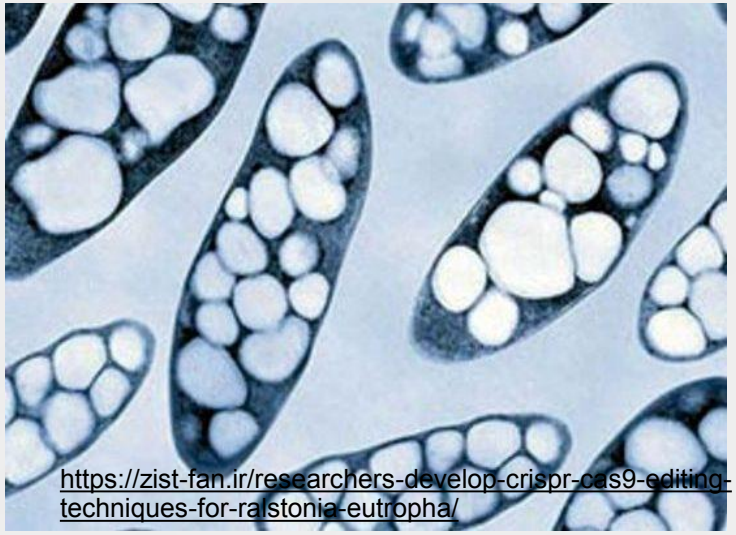


ไรโบโซม (ribosome)

- สร้างโปรตีนและเอนไซม์ เม็ด ไม่มีเยื่อหุ้ม
- เส้นผ่านศูนย์กลาง 20 nm
- กระจายในเซลล์
- โปรตีน 30% และ rRNA 70%
- ขนาด 70S หน่วยย่อย 50S และ 30S

อาหารสะสม

- แบคทีเรียแต่ละชนิดจะมีอาหารสะสมแตกต่างกันไป สารบางอย่างพบในแบคทีเรียบางชนิดเท่านั้น
- Cytoplasmic inclusions
- ตรวจสอบได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์ หรือการย้อมสี

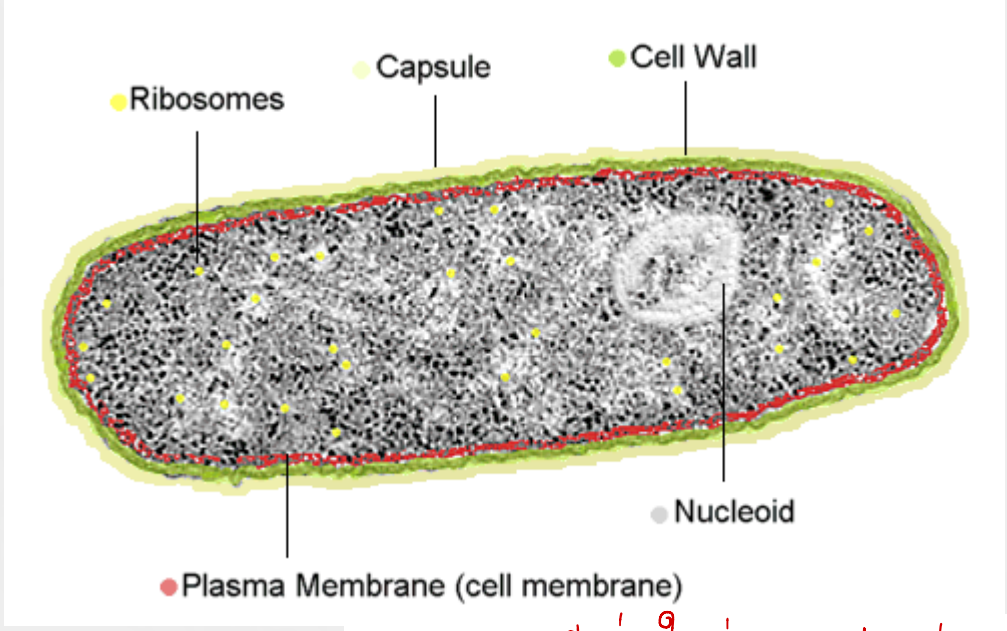


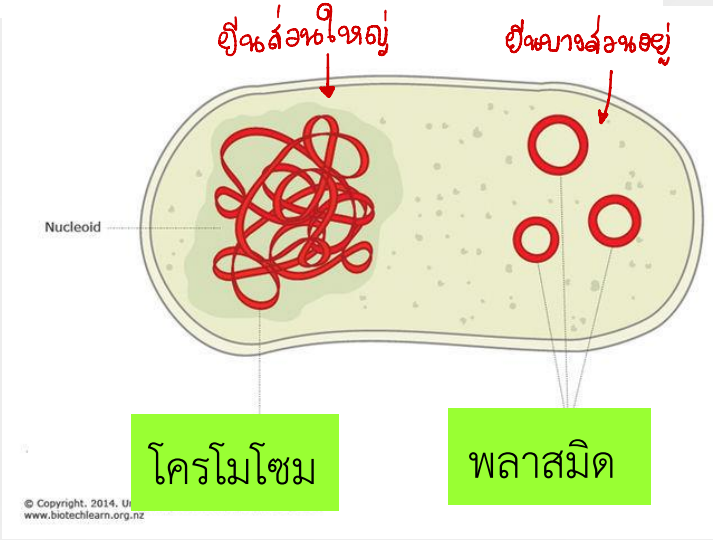
https://zist-fan.ir/researchers-develop-crispr-cas9-editing-techniques-for-ralstonia-eutropha/

Ralstonia eutropha แบคทีเรียที่พบในดินสะสมสาร polyhydroxyalkanoate (PHA) ที่เป็นพลาสติกชีวภาพ

สารพันธุกรรม

- เรียก นิวคลีออยด์ (nucleoid)
- DNA วงกลม พันกันเป็นเกลียวคู่
- ไม่มีเยื่อหุ้ม
- ยีนส่วนใหญ่อยู่บนโครโมโซม
- ยีนบางส่วนอยู่นอกโครโมโซม บนโครงสร้างที่เรียก พลาสมิด (plasmid)
- พลาสมิด (plasmid) = extra chromosomal DNA
  - ขนาดเล็กกว่า 2% ของ DNA ทั้งหมด
  - มีกลไกควบคุมการสังเคราะห์ plasmid ใหม่ด้วยตัวเอง
  - บางชนิดสามารถเข้าแทรกรวมกับ genomic DNA ของเซลล์ได้อีกด้วย แล้วจำลองตัวเองไปพร้อมกับ genomic DNA ได้

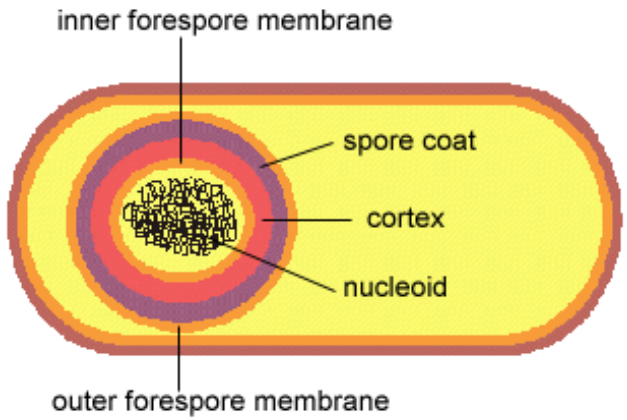




เอนโดสปอร์ (endospore)

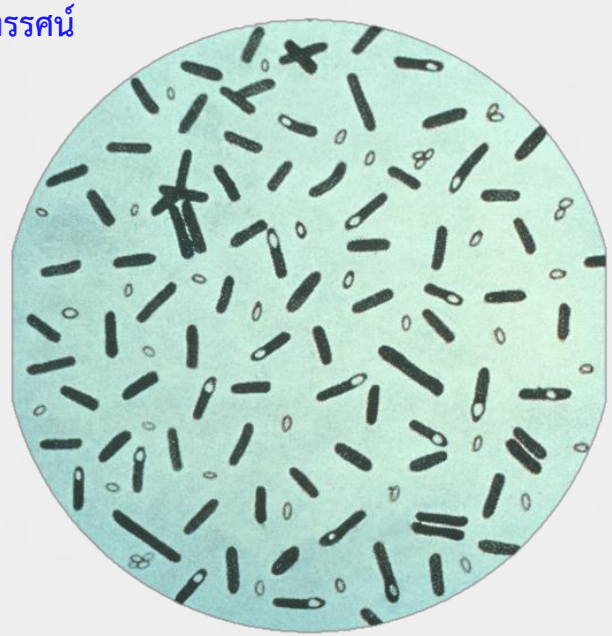
- สปอร์ (spore) ที่สร้างขึ้นภายในเซลล์
- พบในหลายจีนัสเช่น *Bacillus, Clostridium*
- 1 cell สร้าง 1 สปอร์ ไม่ถือว่าเป็นการสืบพันธุ์
- ทนทานต่อสภาวะไม่เหมาะสม
- มักสร้างในระยะตอนปลายของการเจริญ
- รูปร่างและตำแหน่งของสปอร์ในเซลล์จะแตกต่างกันไป
- ใช้จัดจำแนกแบคทีเรียได้
- ทนความแห้ง สีย้อม สารเคมีฆ่าเชื้อ รังสี และความร้อน (80°C 10 นาที)

สปอร์จากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน



โครงสร้างของสปอร์

ภาพแสดงตำแหน่งของสปอร์

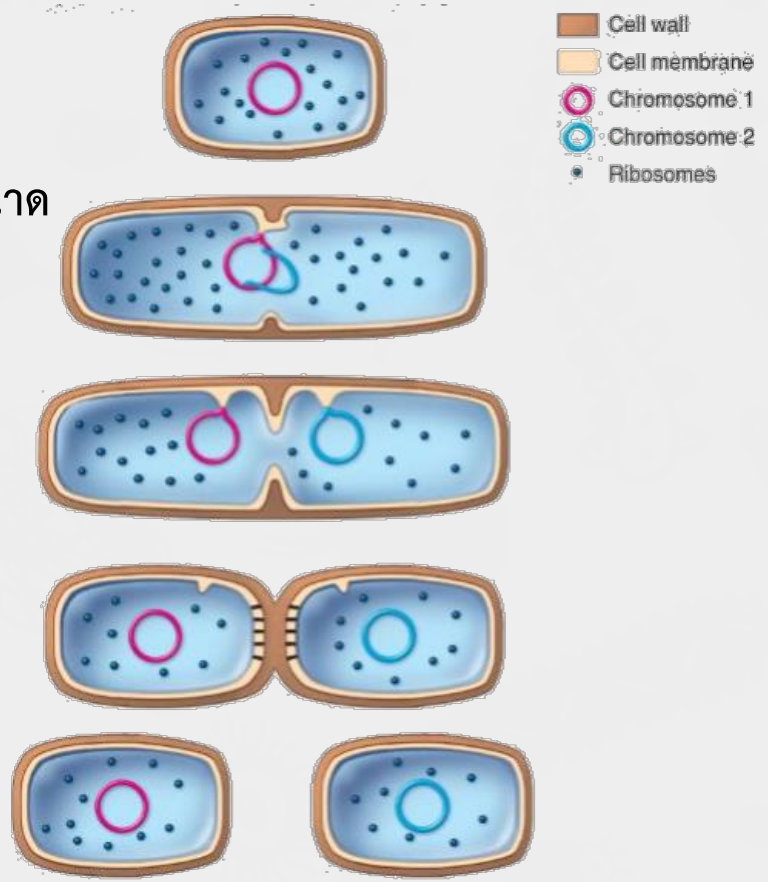


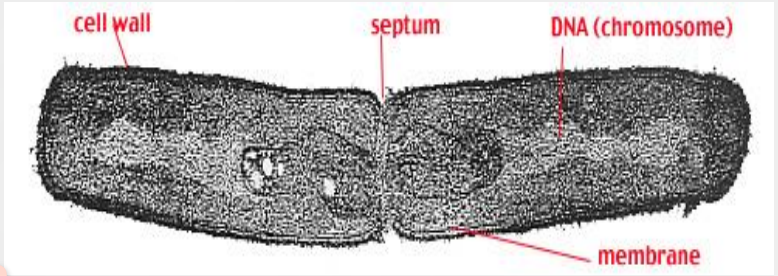
สปอร์ติดสีย้อมยากกว่าเนื้อเซลล์

การสืบพันธุ์ของแบคทีเรีย

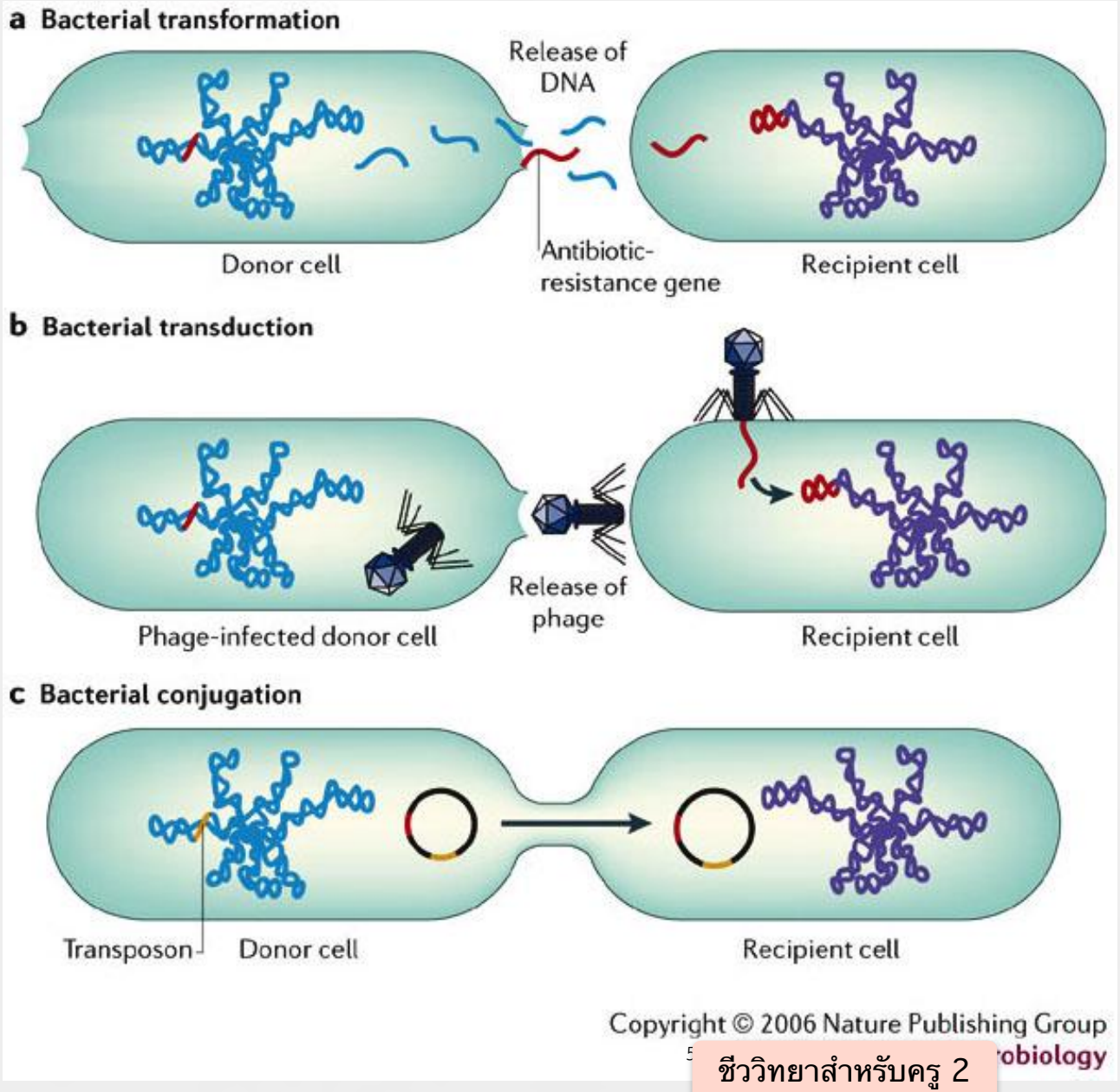
- การเจริญเติบโตของแบคทีเรีย = **เพิ่มจำนวนมากกว่าขนาด**
- แบ่งเซลล์จาก 1 เป็น 2 = **binary fission** เกิด เป็น 2 เซลล์ที่มีขนาดเท่ากัน
- การจำลองตัวเองของ DNA (DNA replication)
- การเพิ่มขนาดของเซลล์ (cell elongation)
- บางชนิดใช้วิธีการอื่น
  - การแตกหน่อ (budding)
  - การแตกหักของเซลล์ (fragmentation)
- **การเพิ่มจำนวนประชากรจะเป็นแบบ<u>ทวีคูณ</u> ดังนี้**

  1 2 2^2 2^3 2^4 2^5 2^6..... 2^n





วิธีการถ่ายทอดสารพันธุกรรมของแบคทีเรีย



ชิ้น DNA ถูกส่งผ่านเข้าสู่แบคทีเรียตัวรับผ่านเยื่อหุ้มเซลล์

Transformation

ชิ้น DNA ถูกส่งผ่านเข้าสู่แบคทีเรียตัวรับโดยมีไวรัสเป็นพาหะ

Transduction

การส่งถ่ายชิ้น DNA เกิดผ่านโครงสร้าง ที่เรียก conjugation tube

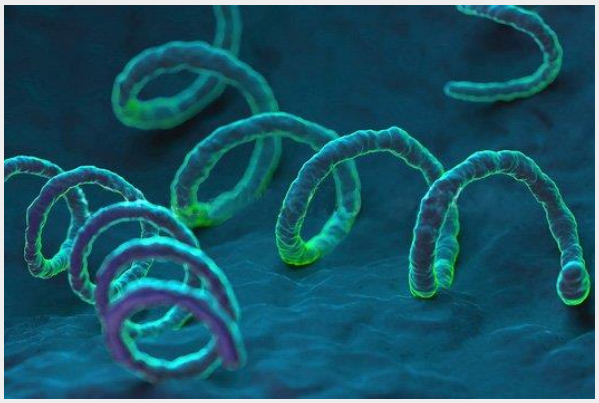
Conjugation

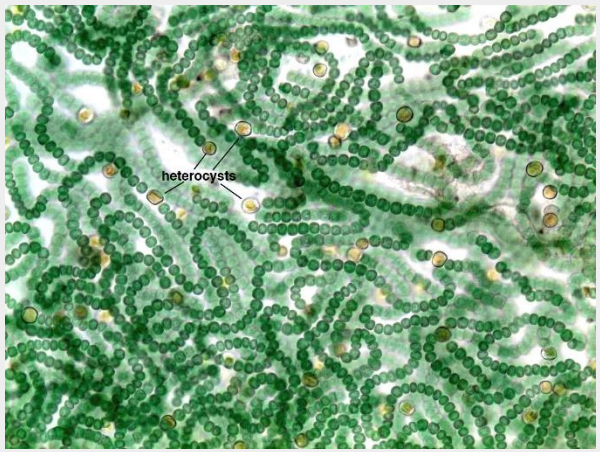
อนุกรมวิธานของแบคทีเรีย (Bacterial taxonomy)

- International Journal of Systematic and Evolution Microbiology (IJSEM)
- การแบ่งกลุ่มไม่ชัดเจนเหมือนสิ่งมีชีวิตชั้นสูง
- ลักษณะที่ใช้ในการจัดกลุ่ม
  - คุณสมบัติทางสัณฐาน: รูปร่าง ลักษณะโครงสร้างของผนังเซลล์
  - คุณสมบัติในการติดสีย้อมที่ต่างกัน : Gram staining, acid fast, spore
  - การทดสอบทางชีวเคมี: ใช้คุณสมบัติกิจกรรมของเอนไซม์ที่แตกต่างกัน
  - Protein analysis: ความแตกต่างของโปรตีน เช่น โครงสร้าง
  - Amino acid sequencing: ลำดับของกรดอะมิโน
  - Nucleic acid sequencing: ลำดับนิวคลีโอไทด์ หรือ ลำดับเบนบน DNA
    - sequences of nucleotides in the cell → **ribosomal RNAs** (rRNA)

5 กลุ่มใหญ่ของแบคทีเรีย

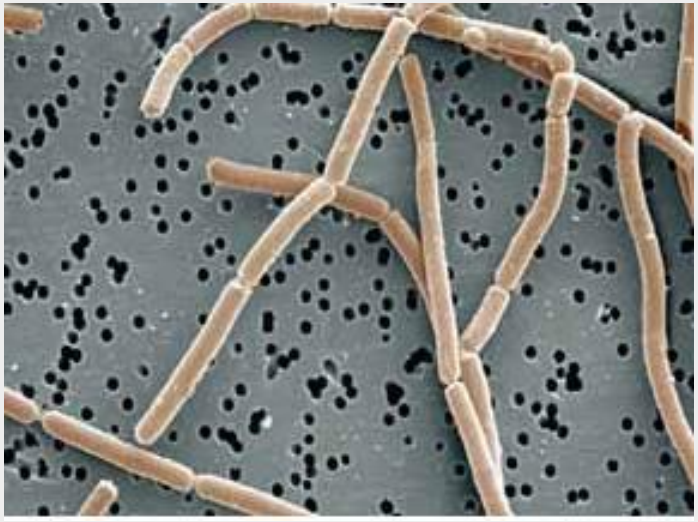
- 1. Proteobacteria
  - แบคทีเรียแกรมลบ พบมากที่สุด metabolism หลากหลาย
  - เช่น *Rhizobium* sp. ในปมรากถั่ว, Purple sulfur bacteria
- 2.Chlamydias
  - แบคทีเรียแกรมลบ ปรสิตในเซลล์สัตว์
  - เช่น *Chlamydia trachomatis* ทำให้เกิดโรคหนองใน
- 3. Spirochetes
  - แบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างเป็นเกลียว
  - *Leptospira interogans* โรคฉี่หนู หรือ เลปโตสไปโรซิส
  - *Treponema palidum* โรคซิฟิลิส
- 4. Cyanobacteria
  - แบคทีเรียแกรมลบ สังเคราะห์แสง เชื่อว่า เป็นพวกแรกที่สร้าง O_2 ได้
  - *Nostoc, Anabaena* ที่พบในแหนแดง ช่วยตรึงไนโตรเจน
  - *Spirulina* อาหารเสริมโปรตีนสูง
- 5.Gram-positive bacteria
  - แบคทีเรียแกรมบวก พบได้ทั่วไป
  - *Lactobacillus* spp. ผลิตกรดแลคติก
  - *Streptpomyces* spp. ผลิตยาปฏิชีวนะสเตร็ปโตมัยซิน เตตราไซคลิน





ประโยชน์และโทษของแบคทีเรีย

- **ประโยชน์**
  - เป็นเชื้อ**จุลินทรีย์ประจำถิ่น (normal flora)** แข่งขันกับเชื้อก่อโรค→ช่วยป้องกันร่างกาย
  - **ย่อยสลาย**ซากสิ่งมีชีวิตให้เน่าเปื่อยผุพังเป็นอาหารของพืช เป็นตัวการสำคัญในการก่อให้เกิดการ**หมุนเวียนวัฏจักรของสาร** เพิ่มแร่ธาตุในดิน เช่น ไรโซเบียม
  - ใช้ใน**อุตสาหกรรม** เช่น การหมักนมเปรี้ยว น้ำส้มสายชู
  - ใช้ใน**การศึกษาวิจัย** เพราะเลี้ยงง่ายและวงจรชีวิตสั้น สืบพันธุ์ได้รวดเร็ว (ข้ามคืน)
  - **Recombinant protein factory/GMOs** ใช้ผลิตสารต่างๆ เช่น อินซูลิน วัคซีน และผลิตเซลล์แบคทีเรียที่มีโปรตีนสูง
- **โทษ**
  - ผลิตสารพิษที่เป็นอันตราย
  - ทำให้เกิดโรคต่างๆ เช่น ไข้, บาดทะยัก, สิว ท้องเดิน เป็นต้น



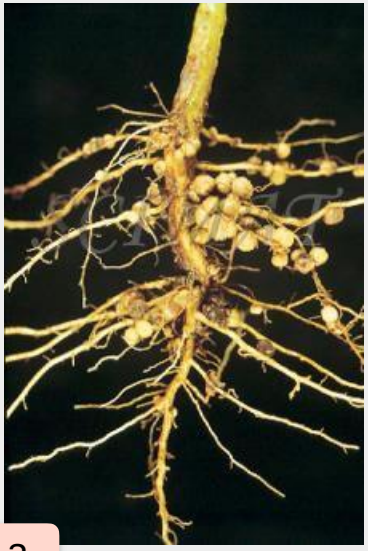
Lactobacillus spp.
ผลิตกรดเลคติคจากน้ำตาลในนม

“natto” ถั่วหมักญี่ปุ่น ทำจากถั่วเหลืองย่อยด้วย protease จากแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* var. natto

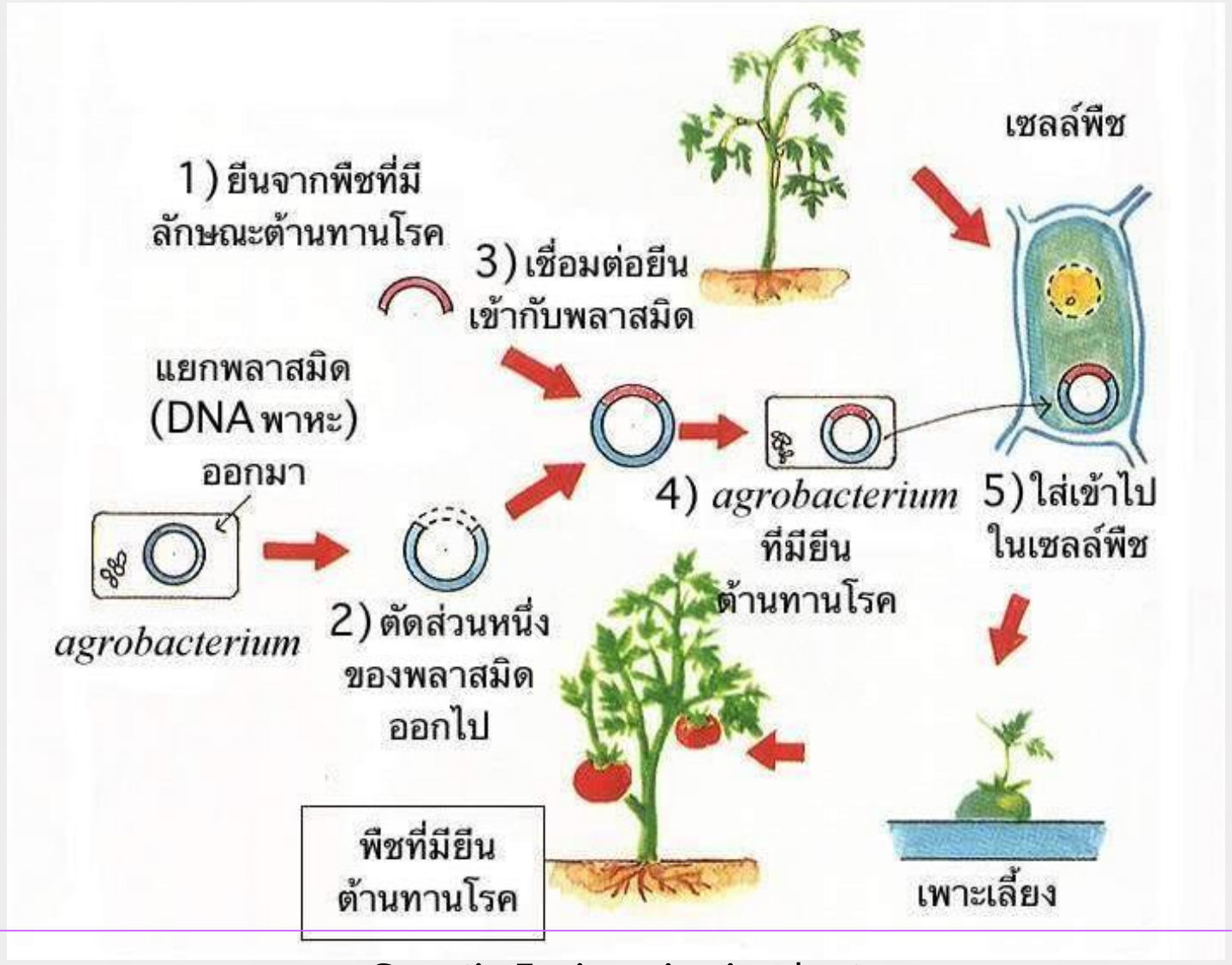
Probiotics

yogurt

นมเปรี้ยว



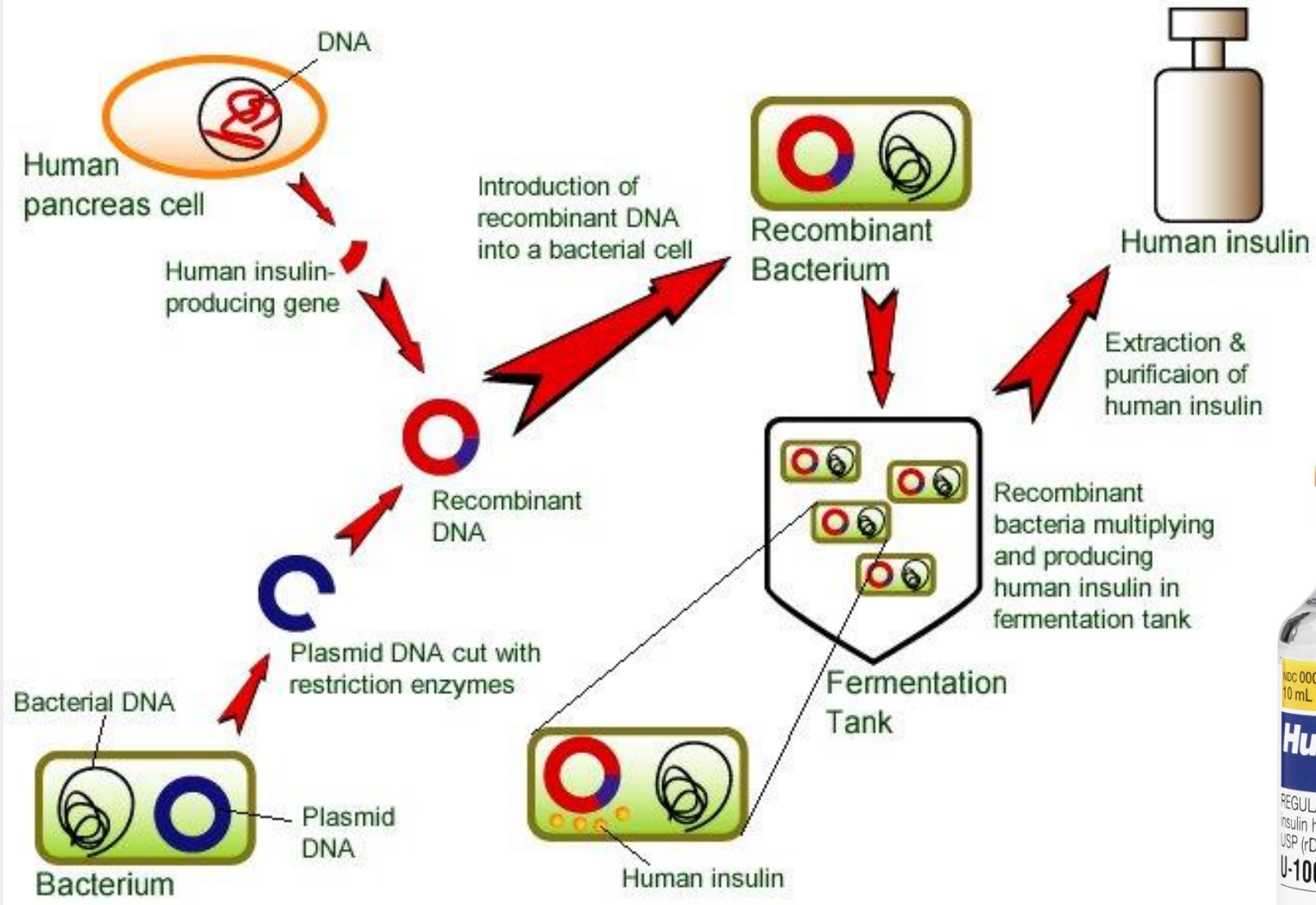
ปมรากถั่วที่มี *Rhizobium* ตรึง N_2 จากอากาศ



Genetic Engineering in plant

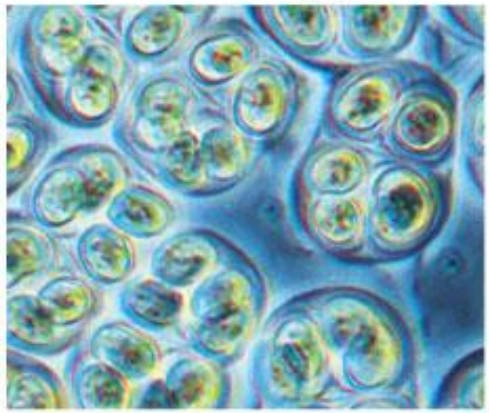
เทคนิคการสร้างพืชดัดแปลงพันธุกรรม GMO โดยอาศัยการทำงาน plasmid และแบคทีเรีย *Agrobacterium tumefaciens*

Human Insulin Production

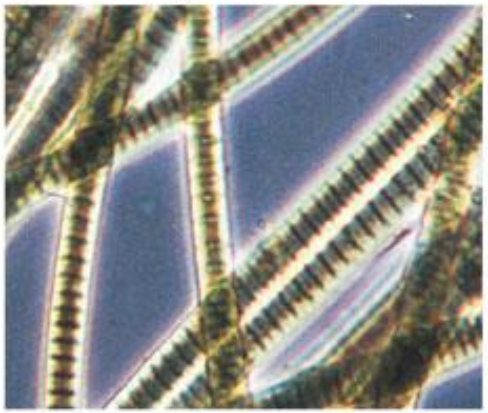


Cyanobacteria

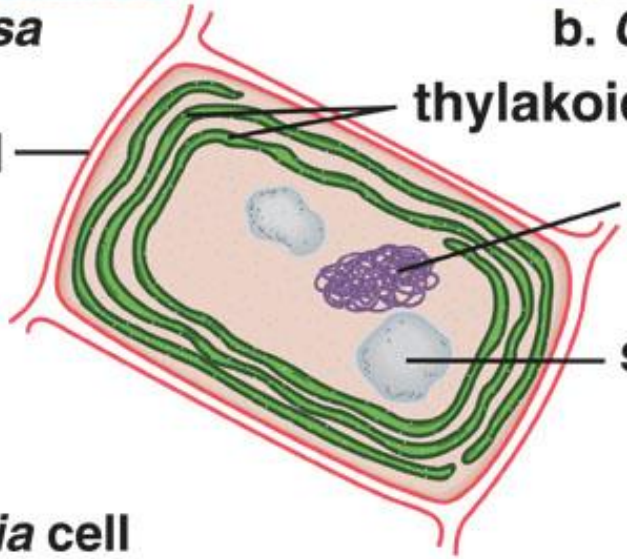
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.



a. *Gloeocapsa*



b. *Oscillatoria*

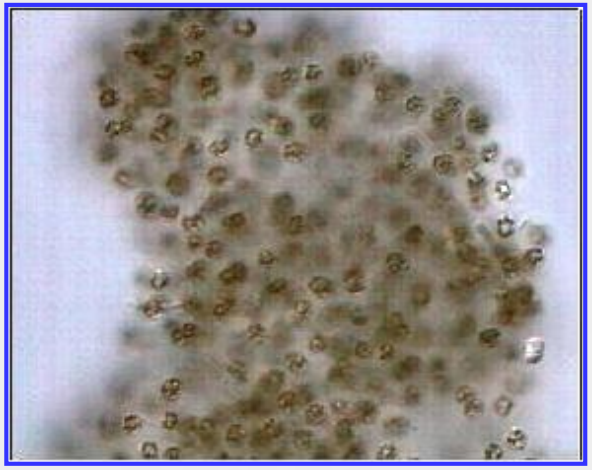


c. *Oscillatoria* cell

Spirulina หรือ สาหร่ายเกลียวทอง

มีโปรตีนในเซลล์สูง อาหารเสริมสุขภาพ

Anabaena สามารถตรึงไนโตรเจนได้ ด้วยเอนไซม์ nitrogenase เป็นปุ๋ยชีวภาพ



Microcystis aeruginosa สร้างสารพิษ microcystin กระตุ้นให้เกิดมะเร็งตับ มีมากทำให้แหล่งน้ำเน่าเสียสมดุลนิเวศ ใช้ประโยชน์ไม่ได้ ไม่สวยงาม

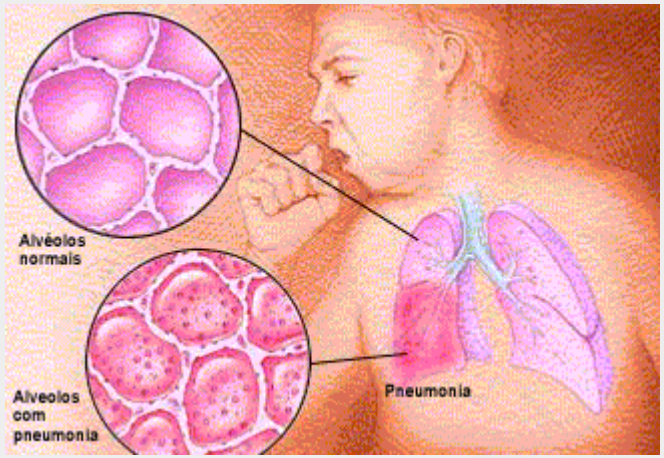
ประโยชน์และโทษ

- **ประโยชน์**
  - เป็นผู้ผลิตอาหาร และก๊าซออกซิเจนให้แก่ระบบนิเวศในแหล่งน้ำ
  - ช่วยตรึงไนโตรเจนในดินให้เปลี่ยนเป็นปุ๋ยไนเตรตได้ เช่น นอสตอก (*Nostoc*) อานาบีนา (*Anabaena*) ออสซิลลาทอเรีย (*Oscillatoria*)
  - เป็นอาหารโปรตีนสูง เช่น สไปรูลินา หรือสาหร่ายเกลียวทอง

- **โทษ**
  - เมื่อเจริญเติบโตมากเกินไปจะส่งผลเสียต่อสิ่งแวดล้อม
  - บางชนิดสร้างสารพิษ

ฟันผุ ***Streptococcus***

โรคทางเดินอาหารแบบต่างๆ เช่น อาหารเป็นพิษ ท้องร่วง ท้องเสีย จาก *Salmonella, Vibrio, E.coli, Clostridium botulinum* >> ในอาหารกระป๋อง



โรคปอดบวม

Streptococcus pnuemoniae,
Krebsiella pnuemoniae

สิวที่เกิดจาก *Propionibacterium acnes*

โรคบาดทะยัก จากเชื้อ *Clostridium tetani*

การศึกษาแบคทีเรีย

- **ใช้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง**
  - Oil immersion lens ที่100x objective lens
    - ศึกษา cell size, shape, การจัดเรียงตัว
  - นำมาย้อมสีเพื่อเพิ่ม contrast ทำให้เห็นเซลล์แบคทีเรียชัดเจนขึ้น
  - Electron microscope
- **นำมาเพาะเลี้ยงในอาหาร**
  - แยกให้เป็นเชื้อบริสุทธิ์ โคโลนีเดี่ยว (single colony)
  - ทดสอบคุณสมบัติต่างๆ

จานเลี้ยงเชื้อ (Petri dish)

ที่มีโคโลนี (colony) ของแบคทีเรียเจริญบนอาหารผสมวุ้น

การแยกเชื้อแบคทีเรียให้เป็นสายพันธุ์บริสุทธิ์

ด้วยการใช้เทคนิค single colony streaking ด้วยการใช้ห่วงถ่ายเชื้อ (loop) เพื่อให้ได้โคโลนีเดี่ยว (single colony)