

Prokaryotic growth measurements

Methods for measuring bacterial growth in cultures

- Viable count (plate count)
- Turbidimetry
- Total count (microscopic)
- Electronic counting
- Dry weight

From Farooq Azam

Challenges of measuring bacterial growth in the sea

- Simultaneous growth and death
- Growth probably not balanced (not all components can be used as indicators)
- Sparse populations
- Low growth rates
- Bacteria co-occur with other organisms and with detritus

From Farooq Azam

Prerequisites of a method to measure growth

- should be specific for bacteria
- should not alter growth rate
- sensitive enough for use in seawater samples
- rapid to minimize changes during incubations
- independent calibration should be possible
- (you shouldn't need to know the growth rate to measure it)

From Farooq Azam

Radiotracer methods for growth rate measurements

- Add nM ^3H -TdR or ^3H -leu
- Taken up by Bacteria (Archaea) high affinity salvage systems
- At nM, other plankton don't significantly take up (μ -autoradiography)
- Calibrated w/ seawater cultures (assumes no cell death)

From Farooq Azam

17.2.1 Incorporazione di timidina

La 3 H-timidina viene incorporata nel DNA cellulare per azione dell'enzima timidino-chinasi, in quantità proporzionale alla velocità di riproduzione delle cellule batteriche.

Nella modalità illustrata, che prevede basse concentrazioni di timidina aggiunta e brevi tempi di incubazione, il metodo è specifico per i procarioti che sono gli unici a disporre dei meccanismi enzimatici che permettono l'incorporazione diretta della timidina nel materiale genetico.

Con coefficienti riportati in letteratura o determinati sperimentalmente è poi possibile convertire la quantità di 3 H-timidina incorporata in numero di cellule batteriche prodotte, e queste ultime in biomassa (espressa come quantità di carbonio per unità di volume).



17.2.2 Incorporazione di leucina

Incubando i procarioti in presenza di leucina marcata (3 H-leucina) è possibile determinare sperimentalmente la velocità di incorporazione della molecola nel materiale proteico cellulare e stimare quindi la velocità di sintesi proteica.

Quest'ultima, in base al rapporto relativamente costante tra proteine e biomassa, pari al 60% del peso secco (Simon e Azam, 1989), potrà essere convertita in produzione di biomassa totale, espressa anche in termini di carbonio.

