



Becky Sommer (Autor)
**Methodenentwicklung zur Charakterisierung
sporenbildender Pilz-Seedingkulturen**



<https://cuvillier.de/de/shop/publications/252>

Copyright:
Cuvillier Verlag, Inhaberin Annette Jentsch-Cuvillier, Nonnenstieg 8, 37075 Göttingen,
Germany
Telefon: +49 (0)551 54724-0, E-Mail: info@cuvillier.de, Website: <https://cuvillier.de>



Inhaltsverzeichnis

| | | |
|----------|--|-----------|
| 1 | Einleitung und Zielsetzung | 1 |
| 2 | Aktueller Stand der Forschung und Technik | 5 |
| 2.1 | Modellorganismus - Aspergillus ochraceus..... | 5 |
| 2.2 | Fortpflanzung und Wachstum filamentöser Pilze..... | 7 |
| 2.2.1 | Asexuelle Sporenbildung | 7 |
| 2.2.2 | Wachstum unter submersen Kultivierungsbedingungen..... | 10 |
| 2.3 | Einfluss verschiedener Parameter auf die Sporenbildung und Sporeneigenschaften..... | 12 |
| 2.3.1 | Einfluss der Medienzusammensetzung | 12 |
| 2.3.2 | Einfluss der Osmolalität | 15 |
| 2.3.3 | Einfluss weiterer environomischer Parameter | 17 |
| 2.4 | Bestimmung der Zellviabilität..... | 21 |
| 2.4.1 | FDA-Assay..... | 21 |
| 2.4.2 | MTT-Assay..... | 22 |
| 2.4.3 | Lebend/Tot-Viabilitätstest | 23 |
| 2.4.4 | Keimungspotential von Sporen | 25 |
| 2.4.5 | Speicherstoffe in Sporen filamentöser Pilze | 26 |
| 3 | Material und Methoden..... | 29 |
| 3.1 | Verwendeter Mikroorganismus..... | 29 |
| 3.2 | Chemikalien..... | 29 |
| 3.3 | Medien und Lösungen..... | 29 |
| 3.3.1 | Festmedien | 29 |
| 3.3.1.1 | Komplexmedien | 29 |
| 3.3.1.2 | Minimalmedien..... | 30 |
| 3.3.2 | Flüssigmedien..... | 32 |
| 3.4 | Stammkonservierung | 32 |
| 3.5 | Optimierung der Sporenernte..... | 32 |
| 3.6 | Sporenanzucht unter variierten Sporulationsbedingungen | 33 |
| 3.6.1 | Variation der Inkubationsdauer | 34 |
| 3.6.2 | Variation der Inkubationstemperatur..... | 34 |
| 3.6.3 | Variation der Lichtbedingung | 34 |
| 3.6.4 | Variation der Inokulumkonzentration | 35 |
| 3.6.5 | Variation des Salzgehaltes des Mediums | 35 |
| 3.6.6 | Variation der Medienzusammensetzung..... | 36 |



| | | |
|------------|--|------------|
| 3.7 | <i>Charakterisierung der Seedingkulturen</i> | 36 |
| 3.7.1 | Bestimmung der Sporenkonzentration..... | 36 |
| 3.7.2 | Bestimmung der Sporenaktivität..... | 37 |
| 3.7.2.1 | MTT-Assay..... | 37 |
| 3.7.2.2 | FDA-Assay..... | 38 |
| 3.7.3 | Bestimmung des Keimungspotentials von Sporen | 39 |
| 3.7.4 | Bestimmung der Sporenbeschaffenheit..... | 41 |
| 3.7.4.1 | Lebend/Tot-Viabilitätstest | 41 |
| 3.7.4.2 | Bestimmung der Kohlenhydrat- und Polyolkonzentration | 42 |
| 3.7.5 | Biomassewachstum und Produktivität in submerser Kultivierung..... | 43 |
| 3.7.5.1 | Bestimmung der Biotrockenmasse (BTM)-Konzentration..... | 45 |
| 3.7.5.2 | Bestimmung der Edukt- und Produktkonzentration | 45 |
| 4 | Ergebnisse und Diskussion | 47 |
| 4.1 | <i>Optimierung der Sporenernte</i> | 47 |
| 4.2 | <i>Methodenetablierung zur Charakterisierung von Seedingkulturen</i> | 50 |
| 4.2.1 | Bestimmung membranintakter Sporen mittels Lebend/Tot-Viabilitätstest | 50 |
| 4.2.2 | Bestimmung der Biomasseaktivität in Submerskultur mittels FDA-Assay | 54 |
| 4.2.3 | Bestimmung der Zellviabilität mittels MTT-Assay | 57 |
| 4.3 | <i>Sporenbildung und Sporeneigenschaften als Funktion environomischer Parameter</i> | 61 |
| 4.3.1 | Sporenbildung..... | 62 |
| 4.3.1.1 | Einfluss der Inkubationsdauer..... | 62 |
| 4.3.1.2 | Einfluss der Temperatur..... | 63 |
| 4.3.1.3 | Einfluss der Lichtbedingung..... | 64 |
| 4.3.1.4 | Effekt erhöhter Salinität..... | 65 |
| 4.3.1.5 | Einfluss der Medienzusammensetzung | 67 |
| 4.3.1.6 | Einfluss der Inokulumkonzentration | 76 |
| 4.3.2 | Sporeneigenschaften | 78 |
| 4.3.2.1 | Effekt erhöhter Salinität..... | 78 |
| 4.3.2.2 | Einfluss der Zusammensetzung von Komplexmedien | 87 |
| 4.3.2.3 | Einfluss der Kohlenstoff- und Stickstoffquellen im Minimalmedium..... | 91 |
| 4.4 | <i>Vergleichende Bewertung der Methoden zur Charakterisierung von Seedingkulturen</i> | 100 |
| 5 | Zusammenfassung und Ausblick | 103 |
| 6 | Abkürzungen und Symbole | 107 |
| 7 | Literatur | 109 |