



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