

STRESZCZENIE

Rozprawa doktorska przedstawia rozwój grzybów strzępkowych o różnych mechanizmach tworzenia form morfologicznych w hodowlach wgłębnych oraz podejmuje problematykę sterowania morfologią tychże mikroorganizmów poprzez dodatek mineralnych mikrocząstek, czyli tzw. *microparticle-enhanced cultivation* (MPEC). Grzyby strzępkowe są producentami wielu enzymów oraz metabolitów pierwotnych i wtórnych, wykorzystywanych w medycynie czy produkcji żywności. Morfologia grzybów strzępkowych jest natomiast jednym z głównych czynników wpływających na przebieg bioprocessów. Z tego względu zagadnienie sterowania morfologią grzybni cieszy się niesłabnącym zainteresowaniem. Hodowle typu MPEC to jedno z narzędzi inżynierii morfologii, mającej na celu wywołanie wzrostu odpowiednich form morfologicznych mikroorganizmów strzępkowych, bez ingerencji w ich metabolizm oraz fizjologię, z zachowaniem optymalnych dla produkcji wybranego bioproduktu parametrów procesowych (np. temperatura, pH, skład podłoża).

W literaturze istnieje wiele doniesień na temat hodowli typu MPEC grzybów strzępkowych z klasy *Ascomycetes*. Szczególnie skupiono się na rodzaju *Aspergillus* wykazującym mechanizm aglomeracji strzępek podczas tworzenia form morfologicznych. Jednakże na temat grzybów nieaglomerujących należących do klasy *Zygomycetes* oraz klasy *Basidiomycetes* artykułów istnieje niewiele. Z tego powodu zdecydowano się zgłębić temat hodowli typu MPEC grzybów strzępkowych wykazujących różne mechanizmy tworzenia form morfologicznych.

Celem przedstawionej rozprawy doktorskiej jest opracowanie ilościowego opisu wzrostu grzybów strzępkowych o różnych mechanizmach tworzenia form morfologicznych we wgłębnych hodowlach standardowych oraz w hodowlach typu MPEC, na podstawie eksperymentów z udziałem *Aspergillus terreus*, *Penicillium rubens*, *Chaetomium globosum* i *Mucor racemosus* hodowanych w kolbach wstrząsanych i bioreaktorze zbiornikowym mieszadłowym.

Teza niniejszej pracy brzmi zaś następująco. Wpływ mikrocząstek na wzrost grzybów strzępkowych jest uzależniony od mechanizmu rozwoju danego mikroorganizmu oraz wielkości obiektów, z którymi oddziałują.

Na rozprawę doktorską składa się osiem rozdziałów. Pierwszy z nich to przegląd literatury, w którym przybliżone zostały grzyby strzępkowe i ich hodowle typu MPEC. Drugi zawiera cel i zakres pracy, trzeci materiały i metody. W czwartym rozdziale opisano wyniki

przeprowadzonych eksperymentów, w piątym przedstawiono model kinetyczny wczesnych stadiów wzrostu różnych gatunków grzybów strzępkowych, szósty rozdział zaś to dyskusja wyników. Wnioski umieszczono w rozdziale siódmym, a w ostatnim, ósmym rozdziale zawarto bibliografię.

W ramach badań przeprowadzono hodowle czterech wybranych grzybów strzępkowych (*A. terreus*, *P. rubens*, *Ch. globosum* i *M. racemosus*) w dwóch wersjach: standardowej oraz z dodatkiem mikrocząstek tlenku glinu Al_2O_3 o średnicy 10 μm (MPEC). Hodowle wykonano zarówno w kolbach wstrząsanych jak i bioreaktorze.

Podczas hodowli pobierano próby, z których przygotowywano przyżyciowe preparaty grzybni. Następnie prowadzono obserwacje za pomocą mikroskopu optycznego z kontrastem fazowym. Widoczne obiekty mycelialne fotografowano, a zdjęcia mikroskopowe poddawano cyfrowej analizie obrazu. W jej wyniku otrzymywano parametry morfologiczne: średnie pole powierzchni rzutu (A), liczbę morfologii (Mo), wydłużenie (E) oraz szorstkość (R). Parametry te były podstawą do opracowania ilościowego opisu wzrostu grzybów strzępkowych o różnych mechanizmach tworzenia form morfologicznych we wgłębnych hodowlach standardowych oraz w hodowlach typu MPEC.

Analiza obrazów mikroskopowych oraz parametrów morfologicznych pozwoliła na sformułowanie wniosków. Mechanizm tworzenia form morfologicznych danego mikroorganizmu determinuje sposób oddziaływania mikrocząstek. W przypadku grzybów aglomerujących dodatek mikrocząstek do hodowli typu MPEC prowadzi do zmniejszenia wielkości aglomeratów. Dla grzybów nieaglomerujących zaś dodatek mikrocząstek ma działanie odwrotne, ponieważ wymusza aglomerację. Co więcej, mikrocząstki oddziałują inaczej z obiektami różnych wielkości. Z jednej strony ułatwiają aglomerację małych obiektów mycelialnych. Z drugiej strony rozrywają struktury większych aglomeratów i utrudniają łączenie się dużym obiektom mycelialnym. Ponadto, zaproponowany model kinetyczny opisał przebieg wczesnych stadiów wzrostu grzybów strzępkowych o różnych mechanizmach wzrostu, co świadczy o jego uniwersalności. Wyznaczone parametry kinetyczne modelu różniły się między sobą w zależności od gatunku grzyba oraz typu zastosowanej hodowli (standardowej lub MPEC).