



Studying the international way

Co-Kultivierung von *Halomonas gomseomensis* mit *Dunaliella salina*

IMC University von Applied Sciences Krems, Austria

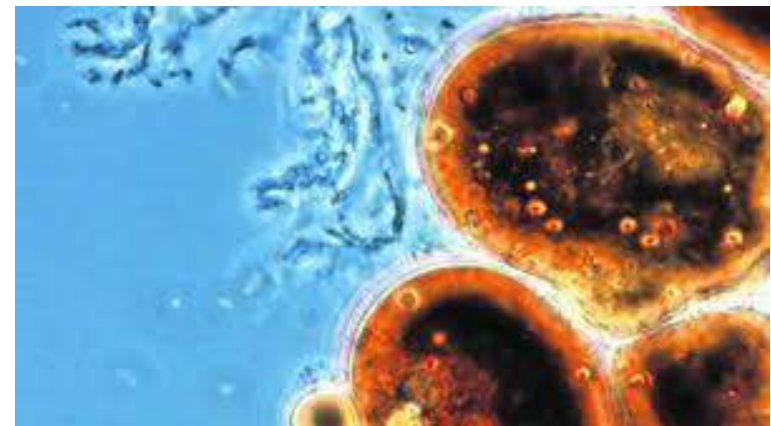
Bernhard Klausgraber

Dominik Schild

Co-Kultivierung

Oder ... das Leben mit einem Partner

| | Partner 1 | Partner 2 |
|----------------|-----------|-----------|
| Symbiose | 😊 | 😊 |
| Parasitismus | 😊 | 😓 |
| Kommensalismus | 😊 | 👋😊 |



- **Dunaliella salina**

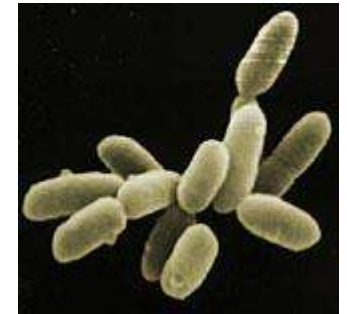
D.salina ist eine einzellige, grüne Alge und gehört zur Familie der Polyblepharidaceae. Sie überlebt auch Salzgehalte bis zu 25%, die optimale Konzentration liegt bei ca. 12%. Manchmal erscheint sie orange, da sie große Mengen Carotinoid bilden kann. Unter osmotischen Stress synthetisiert *D.salina* Glycerin.



<https://microbewiki.kenyon.edu>

- **Halomonas gomsiomensis**

ist ein halophiles gram-negatives Bakterium und gehört wie alle Halomaden zu den Proteobakterien. Diese Bakterien leben bei Salzkonzentrationen von bis zu 25% und sind in der Lage komplexe Kohlenstoffe wie Erdöle abzubauen.



- Kultivierung von **Dunaliella salina**

unter monoseptischen Konditionen

D.Salina ist eine einzellige, grüne Alge und gehört zu

- Kultivierung von **Halomonas**

unter monoseptischen Konditionen



<https://microbewiki.kenyon.edu>

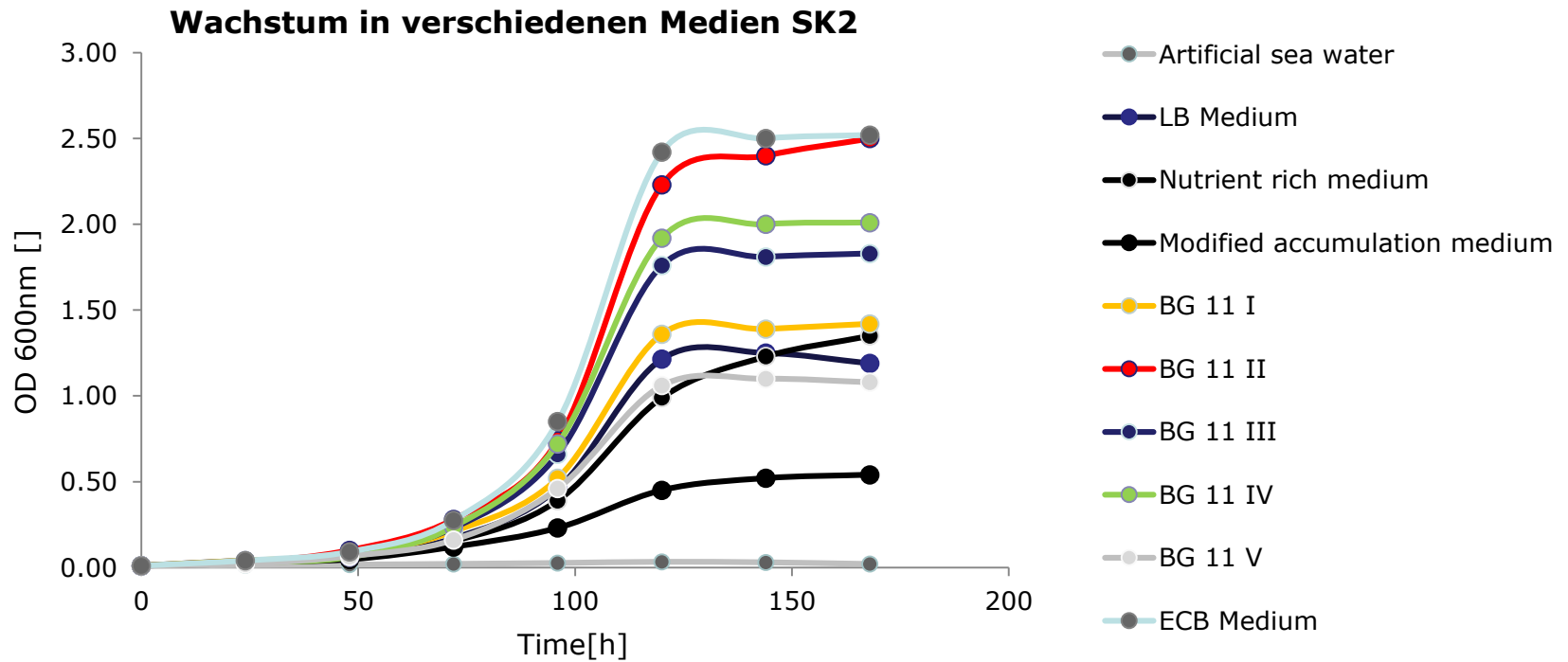


- beide Organismen wurden in Schüttelkolben kultiviert um ihr Wachstumsverhalten zu bestimmen
- beide Organismen wurden im Bioreaktor kultiviert
- Die Organismen wurden in Co-Kultivierung im Bioreaktor vermehrt
- Ernte der Organismen und Gewinnung der Sekundärmetaboliten
- Analytik mit HPLC-MS

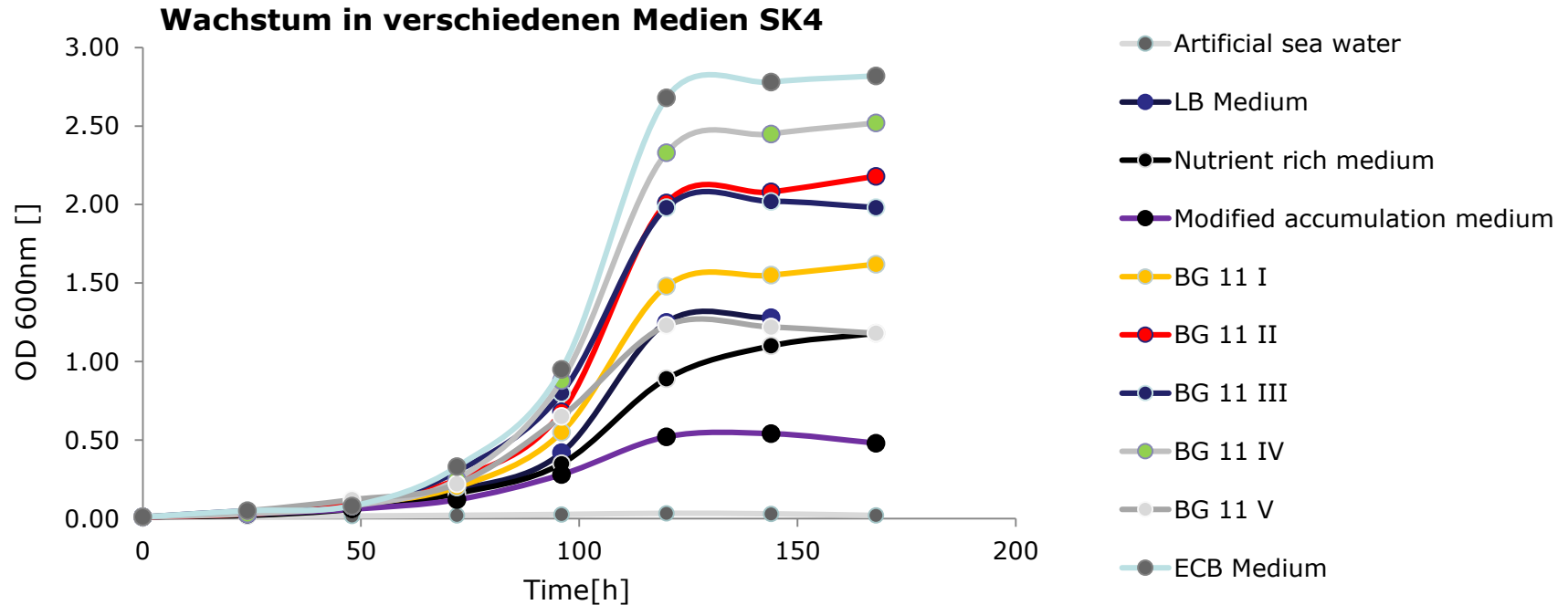
Wachstumstests

- wurden im Schüttelkolben durchgeführt
- Medienzusammensetzung auf der nächsten Folie
- Mit 6 Stämmen *Halomonas* und 5 *Dunaliella*
- Die besten wurden auf Basis der Wachstumsrate ausgewählt
- Die Temperatur wurde auf 30°C festgelegt
- Die Schüttler wurden auf 120 rpm (basierend auf einem niedrigen O₂-Verbrauch)



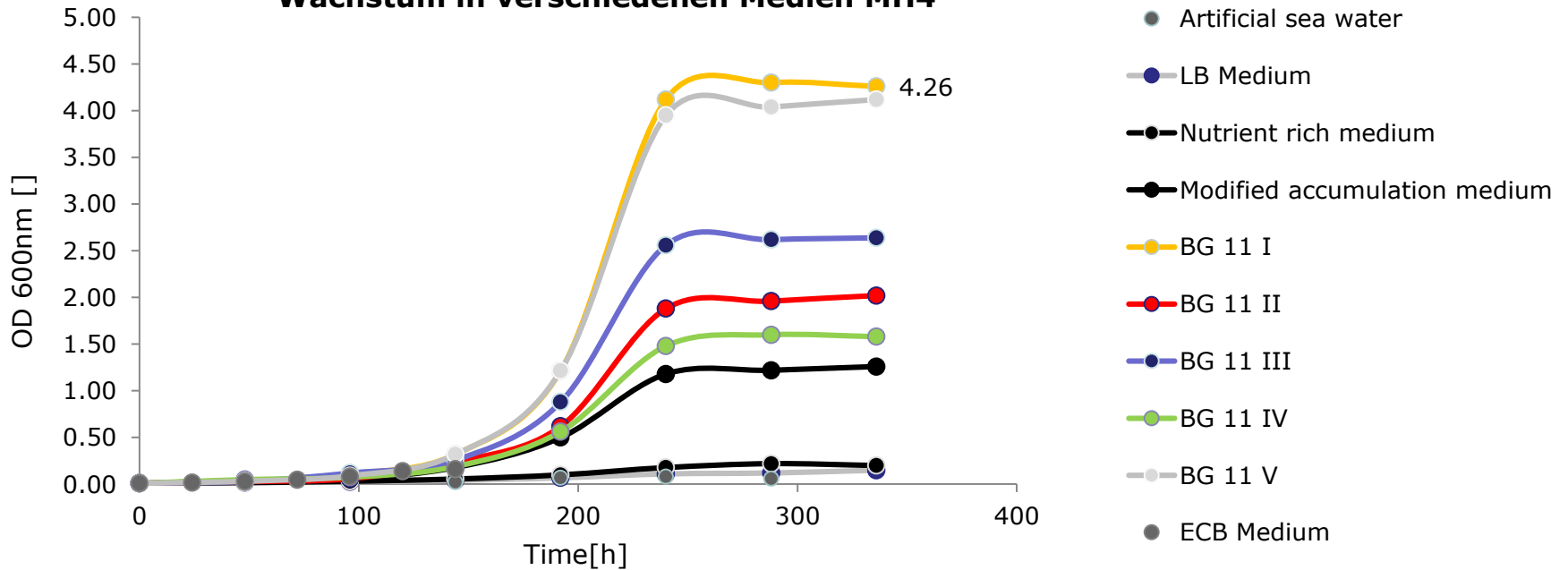


Wachstum von *Halomonas gomesi* in Schüttelkulturen



- Wachstum von *Halomonas gomeseomensis* in Schüttelkulturen

Wachstum in verschiedenen Medien MH4



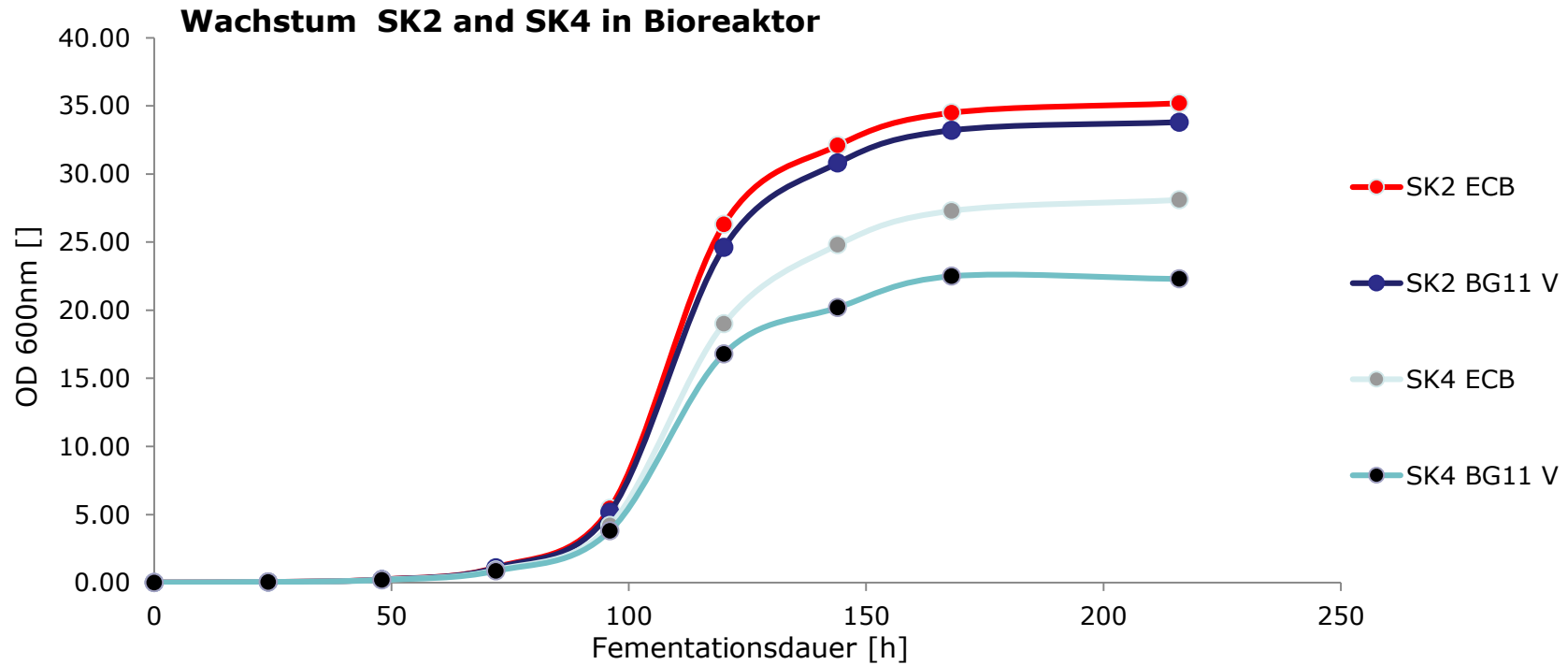
| Operating Parameter | | |
|---------------------|----------|-----------------|
| Parameter | Setvalue | Tested Range |
| DO | 30% | 10% - 70% |
| pH | 7 | 5,5 - 8,5 |
| Temperature | 32°C | 28° - 40° |
| Aeration | 1 vvm | 0,5 vvm - 2 vvm |



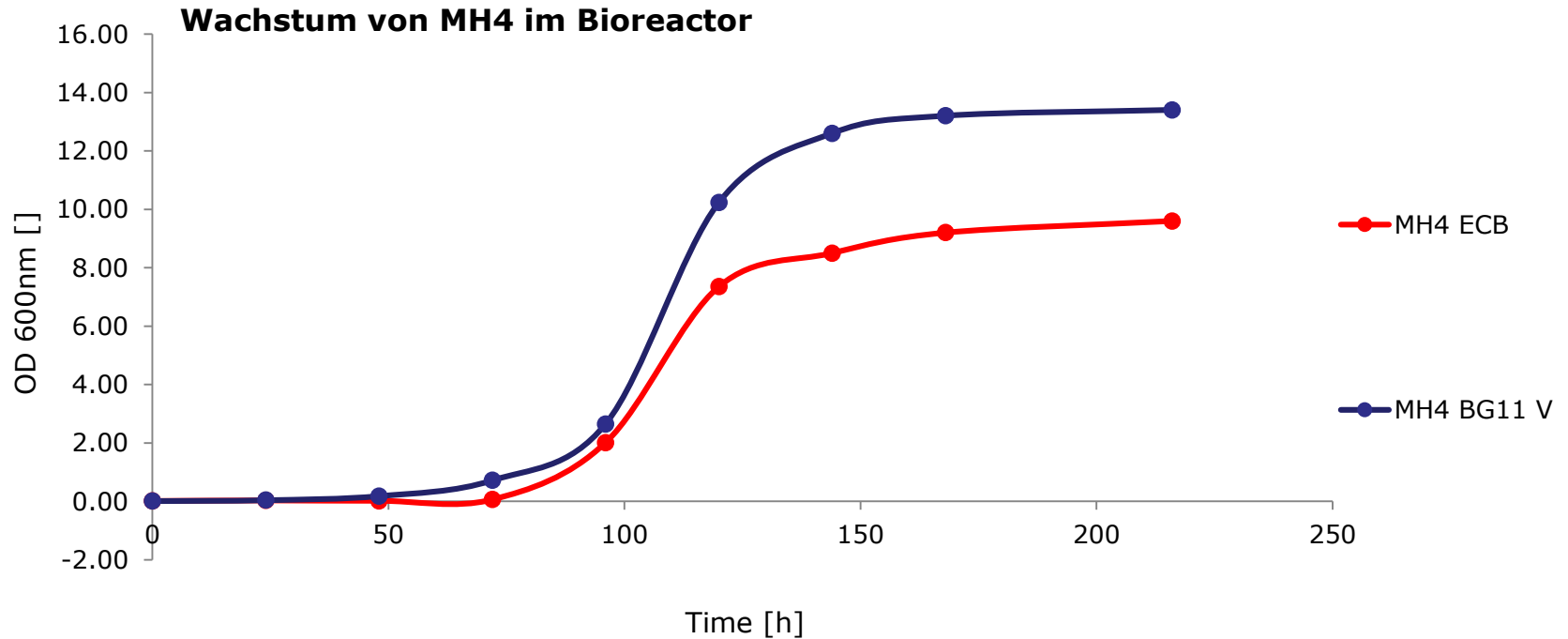
Fermentation im Bioreaktor

- Die Art der Fermentationsführung war Fed-Batch Fermentation
- Wachstumsraten wurden bestimmt um die Feedraten anzupassen ($0,016 \text{ h}^{-1}$)
- Der Feed wurde an den C-Quellenverbrauch in der Batchphase angepasst
- Temperatur, pH, DO, Belüftung wurden an die vorab ermittelten Werte angepasst



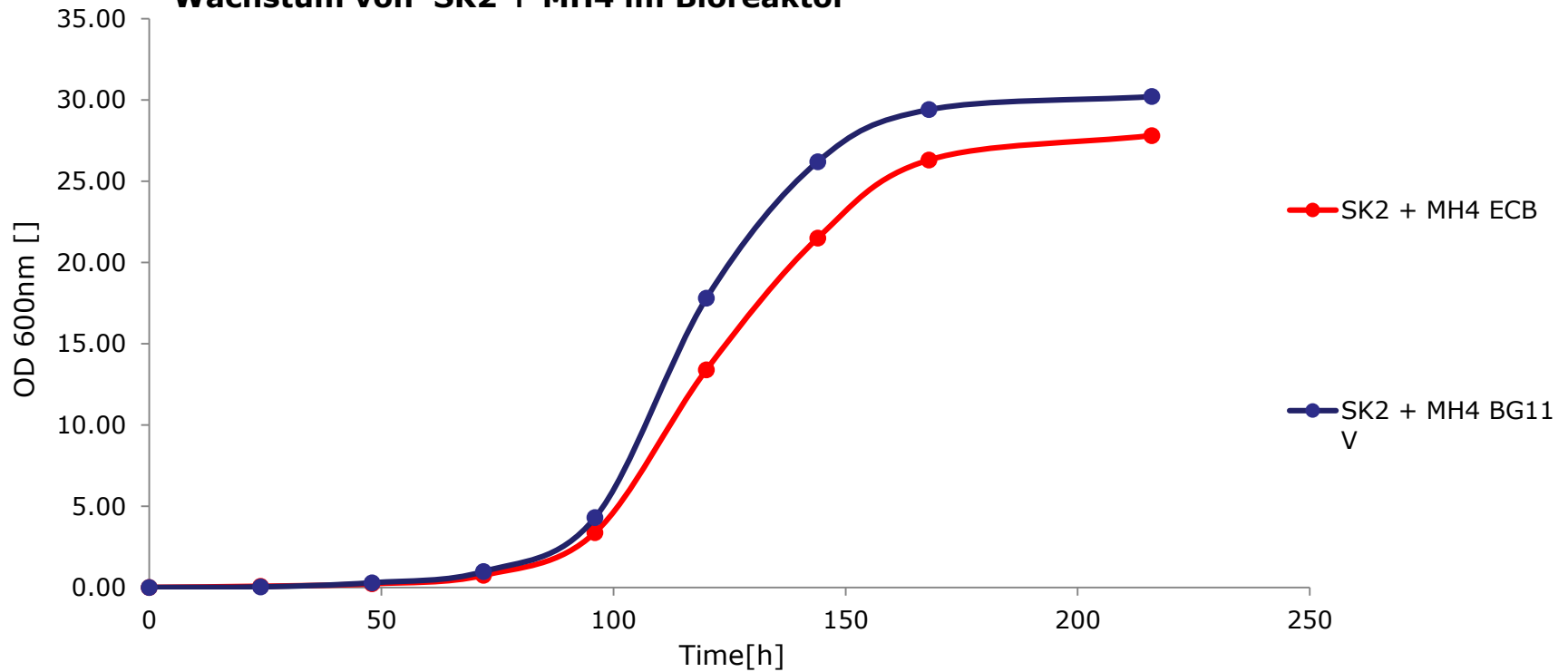


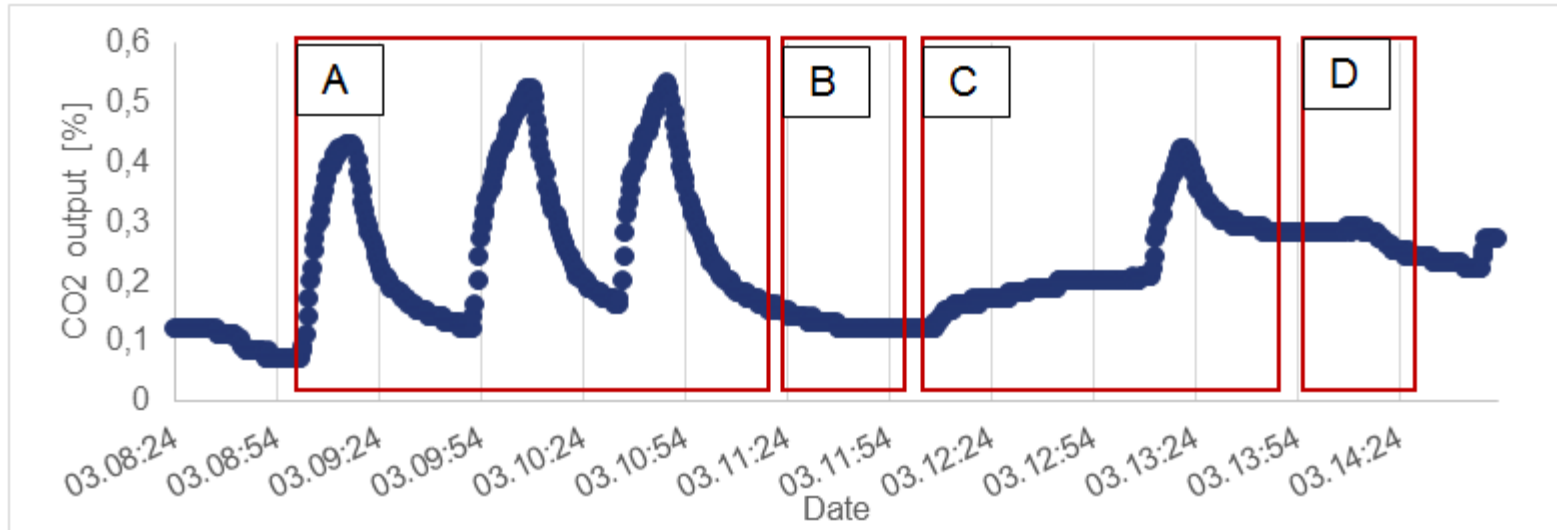
Halomonas gomseomensis im Bioreaktor – Vergleich der beiden Stämme



Dunaliella salina im Bioreaktor

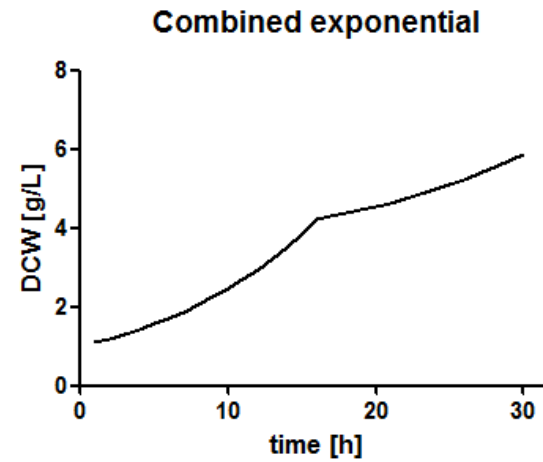
Wachstum von SK2 + MH4 im Bioreaktor

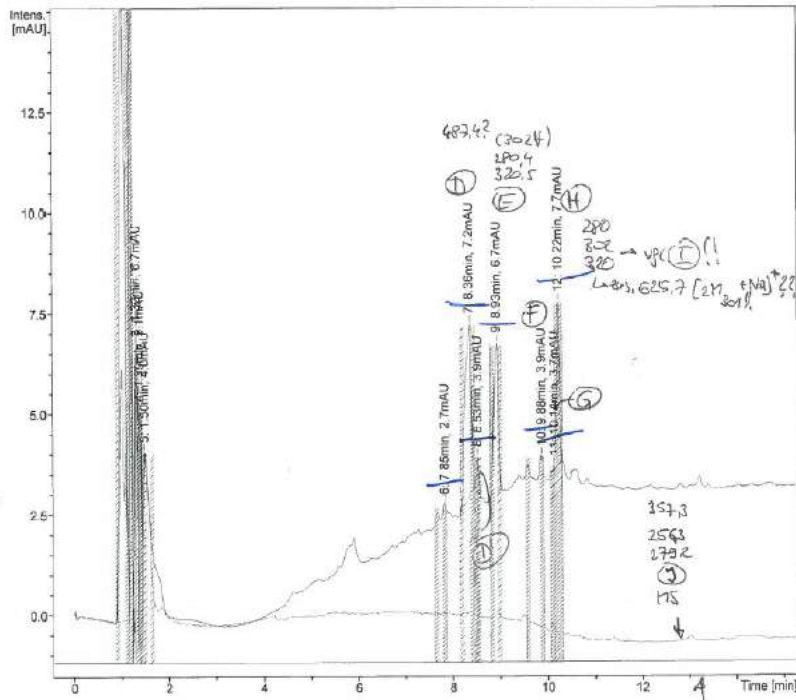




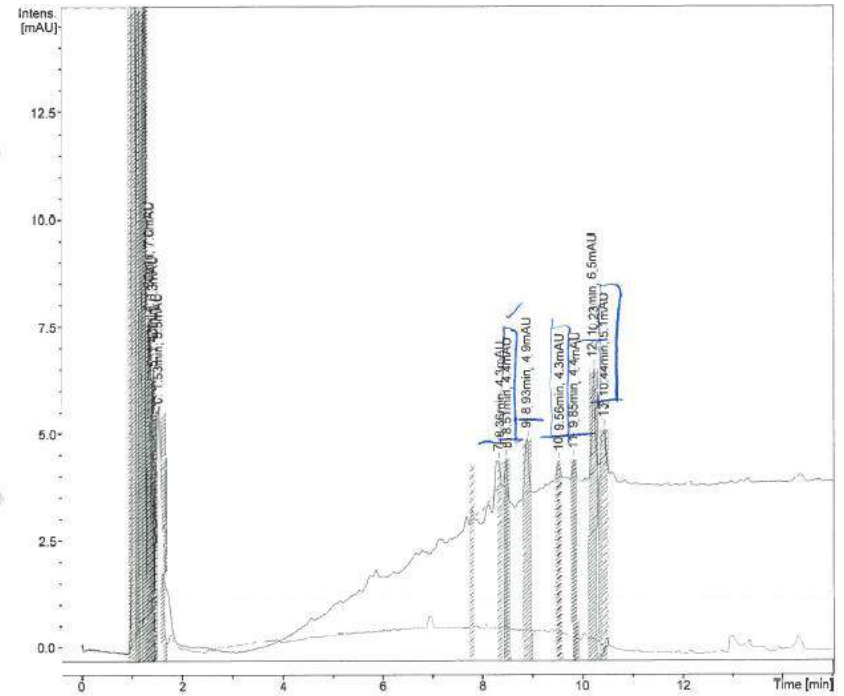
Die Affinität zur Kohlenstoffquelle wurde mit folgenden Zuckern getestet:

- Glucose (A)
- D-Fructose (B)
- Mannose (C)
- Lactose (D)

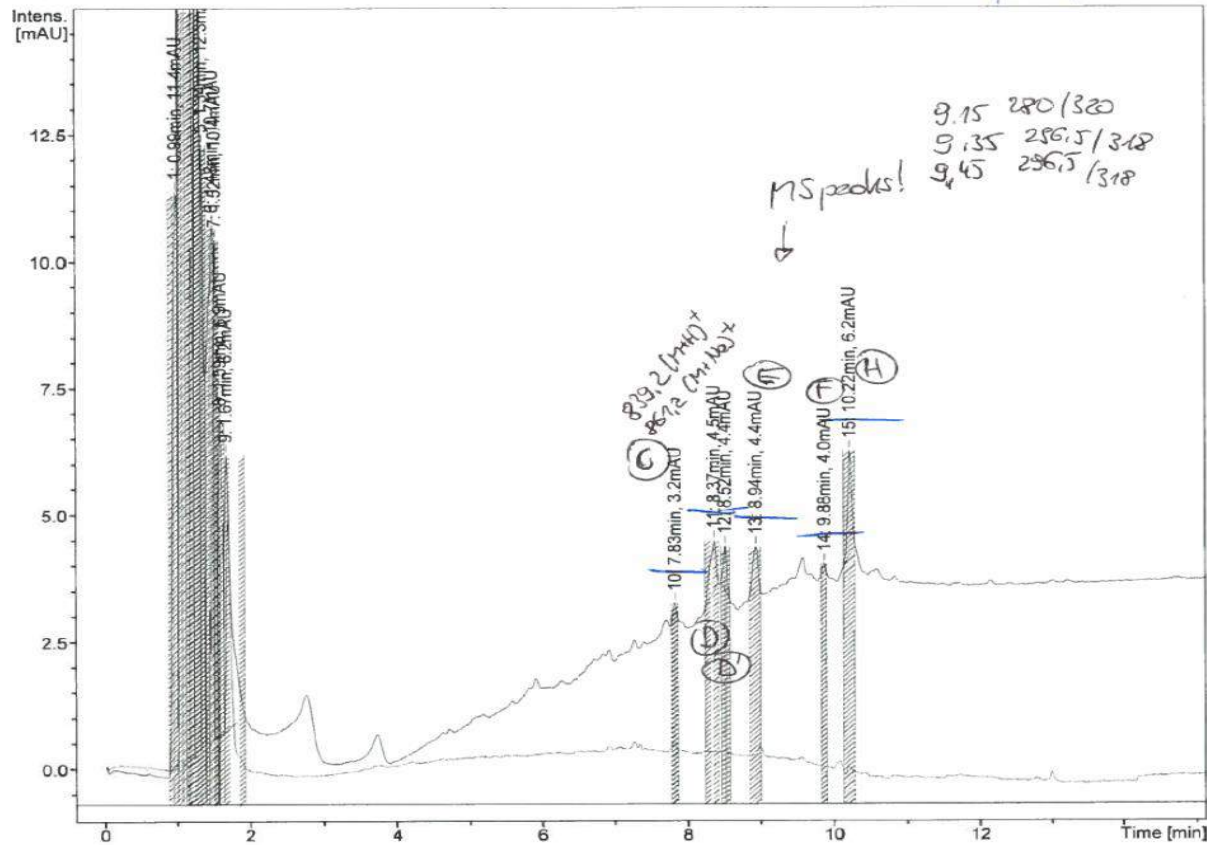




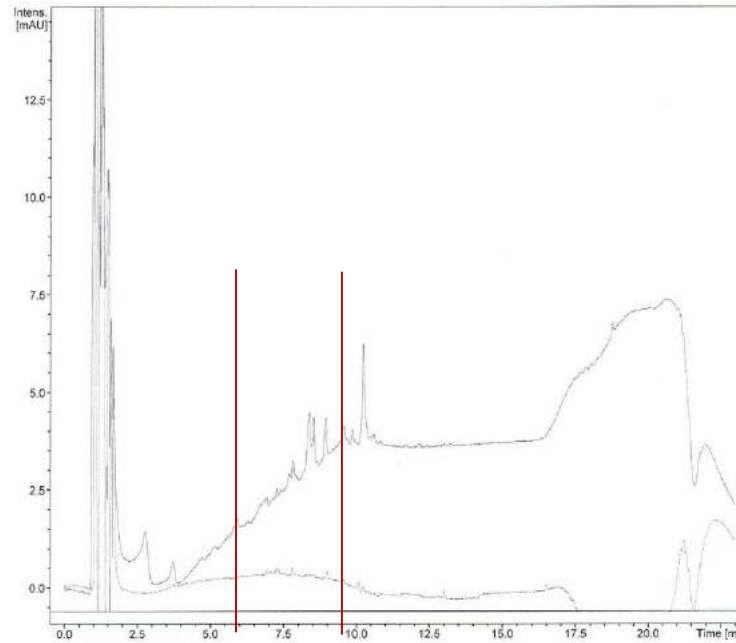
Halomonas gomseomensis SK4



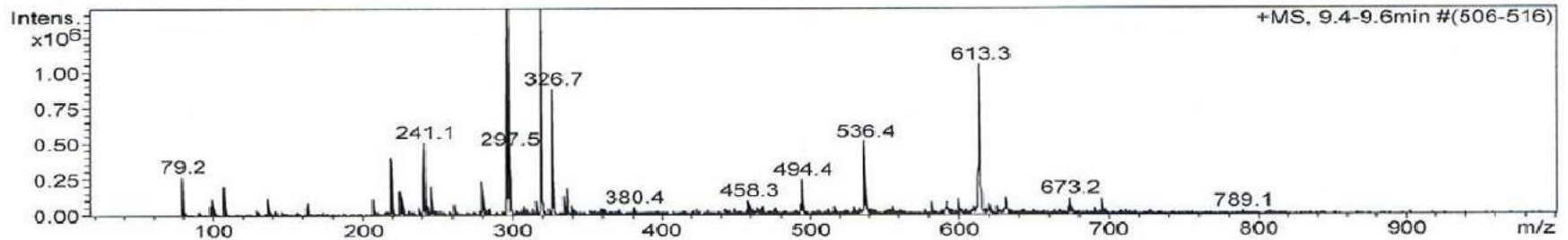
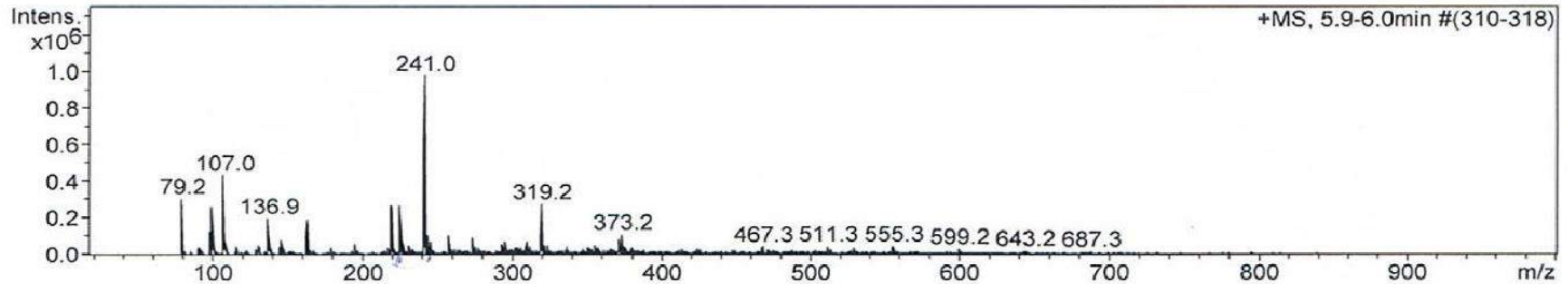
Dunaliella salina MH4



Halomonas gomseomensis SK4 + *Dunaliella salina* MH4



*Chromatographie von ersten Co-Kultivierungsläufen von MH7 und SK4 mit ACN als flüssige Phase
Die höhere Linie ist die Absorbanz bei 260nm die niedrigere die bei 320 nm.
Die neuen Substanzpeaks sind mit den roten Linien markiert.*



Es wurden 2 interessante Substanzpeaks gefunden der erste bei 5,9 Minuten (241 gmol^{-1}) und der zweite bei 9,5 Minuten.