

UNIVERSIDAD TÉCNICA FEDERICO SANTA MARÍA

DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA Y AMBIENTAL  
VALPARAÍSO – CHILE



**CARACTERIZACIÓN DEL CRECIMIENTO EN BIORREACTOR DE LAS CEPAS  
*Pseudomonas* sp. CpR2b Y TmR8 PARA LA PRODUCCIÓN DE UN  
BIOINSUMO PROMOTOR DEL CRECIMIENTO VEGETAL**

**FRANCISCA JAVIERA OLIVARES VARGAS**

**MEMORIA PARA OPTAR AL TÍTULO DE INGENIERO CIVIL AMBIENTAL**

Profesores guía: Dr. MICHAEL SEEGER PFEIFFER  
Dr. HENRIK HANSEN KIRSTEIN

Marzo 2020

## Resumen

Chile es uno de los países con mayor producción agrícola en Latinoamérica, liderando la exportación de fruta fresca del hemisferio sur (~60%) y es el primer exportador mundial de uvas de mesa, arándanos y ciruelas. Los cultivos agrícolas son susceptibles a daños por heladas y por fitopatógenos. En Chile, las pérdidas de los cultivos frutales ocasionadas por heladas son del orden de 3 a 7% anuales. Las pérdidas por fitopatógenos son más variables, como es el caso del cáncer bacterial causado por *Pseudomonas syringae* en cerezos, las que están entre un 10% y un 75% de las plantaciones.

Ante esta problemática, una interesante estrategia es generar y usar nuevos bioinsumos para mitigar las pérdidas de los cultivos. Por lo tanto, en este estudio se planteó la producción a gran escala de las cepas *Pseudomonas* sp. CpR2b y TmR8 que forman parte de un bioinsumo promotor del crecimiento vegetal y protector frente a estrés por heladas y fitopatógenos, el cuál fue diseñado y estudiado en la tesis doctoral de Paulina Vega, a nivel de matraz. Se propuso la siguiente hipótesis: El cultivo de las cepas *Pseudomonas* sp. CpR2b y TmR8 en un biorreactor en modalidades de lote y lote alimentado, permite obtener altas densidades celulares para la producción de un bioinsumo promotor del crecimiento vegetal y protector frente a estrés por heladas y bacterias fitopatógenas. Se planteó el objetivo general de establecer los parámetros cinéticos para la producción de altas densidades de las cepas *Pseudomonas* sp. CpR2b y TmR8 en un biorreactor para la obtención de un bioinsumo promotor del crecimiento vegetal y protector frente a estrés por heladas y a bacterias fitopatógenas.

Se diseñó un nuevo medio de cultivo definido (medio FOV) para evaluar los parámetros cinéticos de crecimiento de las dos cepas en las distintas modalidades de cultivo (matraz, biorreactor en lote y en lote alimentado). Los crecimientos en biorreactor en lote incrementaron la biomasa y los parámetros cinéticos respecto a los cultivos en matraz. Se obtuvieron mejores valores de biomasa y de parámetros cinéticos empleando el medio FOV, a nivel de matraz y biorreactor, incluso permitió velocidades de crecimiento específico 10 veces mayores que el medio LYES en el caso del cultivo en lote en biorreactor. Se usó el medio FOV con adición de aceite vegetal (1% v/v) para realizar cinéticas en lote en el biorreactor, lo cual permitió una gran disminución en la generación de espuma dentro del reactor, además incrementó la biomasa y la mayoría de los parámetros cinéticos del crecimiento en lote. Las cinéticas realizadas en biorreactor con modalidad de lote alimentado permitieron un incremento en la biomasa y en los parámetros cinéticos de crecimiento (respecto al CL) de *Pseudomonas* sp. CpR2b, sin embargo, no se obtuvieron incrementos para *Pseudomonas* sp. TmR8. Se logró la obtención de altas densidades celulares de las cepas *Pseudomonas* sp. CpR2b y TmR8 en biorreactor en modalidad de lote y lote alimentado, para la producción del bioinsumo. Se determinó que para *Pseudomonas* sp. CpR2b la mejor modalidad de crecimiento celular, entre las estudiadas, corresponde al lote alimentado en medio FOV con adición de aceite y para *Pseudomonas* sp. TmR8 el cultivo en lotes en medio FOV con adición de aceite.

## **Abstract**

### **BIOREACTOR GROWTH CHARACTERIZATION OF *Pseudomonas* sp. CpR2b AND TmR8 STRAINS TO PRODUCE A BIO-INPUT VEGETAL GROWTH PROMOTOR**

Chile has one of the biggest agricultural production in Latin America, leading the exportations of fresh fruit (60% of total) of southern hemisphere production, being the largest exporter of table grape, blackberries and fresh plums. Crops are susceptible to frost and plant pathogens damage. In Chile, the average fruit crops losses by frost are between 3 and 7% annually, while losses caused by plant pathogens are more variable. For example, Bacterial Cancer produced by *Pseudomonas syringae* on cherry trees cause losses between 10% and 75% of crop production.

Faced with this issue, the generation and use of new bio-inputs could be an interesting strategy for mitigate crop losses. Therefore, the present thesis proposes a large-scale production of a bio-input plant growth promoting and stress protection features, composed by *Pseudomonas* sp. CpR2b and TmR8 strains. The hypothesis states that the cultivation of *Pseudomonas* sp. CpR2b and TmR8 in a batch and fed-batch bioreactor modes, allows to obtain high cell densities to produce a bio-input with plant growth promoting and frost and plant pathogen stress protecting features. The general aim is to establish kinetics parameters for a high cell densities bioreactor production of *Pseudomonas* sp. CpR2b and TmR8 for the generation of a bio-input plant growth promoting, and frost and plant pathogen stress protector.

A new defined culture media named FOV was designed for the determination of the kinetic parameters of CpR2b and TmR8 strains in the different culture modalities (flask, batch and fed-batch bioreactor). The FOV medium allowed to increase the biomass and the kinetic parameters, in flasks and bioreactor, even showed up to 10-fold higher specific velocities than LYES media batch culture bioreactor. Vegetal oil (1 % v/v) was employed with FOV medium in batch mode, resulting in a lower foam production and an increase in the biomass and kinetic parameters. The fed-batch kinetics allowed a rise in the *Pseudomonas* sp. CpR2b cell density and kinetic parameters, while *Pseudomonas* sp. TmR8 did not showed these improvements.

High cell densities in batch and fed-batch bioreactor were accomplished for *Pseudomonas* sp. CpR2b y TmR8 for the bio-input production. The best culture mode was FOV media with vegetal oil fed-batch for *Pseudomonas*