

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE INGENIERÍA
PROGRAMA DOCENTE DE INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA



Evaluación de frecuencias de inmersión en biorreactores de inmersión temporal (BIT)
para la propagación masiva de candelilla (*Euphorbia antisiphilitica* Zucc.)

Por:

JOHAN YENIEL VERGARA ALVARADO

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA

Saltillo, Coahuila. México.

Agosto, 2025.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE INGENIERÍA

PROGRAMA DOCENTE DE INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA

Evaluación de frecuencias de inmersión en biorreactores de inmersión temporal (BIT)
para la propagación masiva de candelilla (*Euphorbia antisyphilitica* Zucc.)

Por:

JOHAN YENIEL VERGARA ALVARADO

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA

Aprobada por el Jurado examinador:

Dr. Julio César Tafolla Arellano

Asesor principal

Dr. Marco Antonio Ramirez Mosqueda

Asesor Principal Externo

Dra. Silvia Patricia Alvarez Acuña

Dr. Juan Antonio Nuñez Colima

Coasesor



M.C. Sergio Sánchez Martínez
Coordinador de la División de Ingeniería

Saltillo, Coahuila. México.

Agosto, 2025.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE INGENIERÍA

PROGRAMA DOCENTE DE INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA

Evaluación de frecuencias de inmersión en biorreactores de inmersión temporal (BIT) para la propagación masiva de candelilla (*Euphorbia antisyphilitica* Zucc.)

Por:

JOHAN YENIEL VERGARA ALVARADO

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA

Aprobada por el Comité de Asesoría:



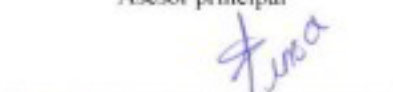
Dr. Julio César Tafolla Arellano

Asesor principal



Dr. Marco Antonio Ramirez Mosqueda

Asesor Principal Externo




Dra. Silvia Patricia Alvarez Acuña
Coasesora



Dr. Juan Antonio Nuñez Colima
Coasesor





M.C. Sergio Sánchez Martínez
Coordinador de la División de Ingeniería

Saltillo, Coahuila, México.
Agosto, 2025.

DERECHOS DE AUTOR Y DECLARACIÓN DE NO PLAGIO

Todo material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor de los Estados Unidos Mexicanos, y pertenece al autor principal quien es el responsable directo y jura bajo protesta de decir verdad que no se incurrió en plagio o conducta académica incorrecta en los siguientes aspectos:

Reproducción de fragmentos o textos sin citar la fuente o autor original (corta y pega); reproducir un texto propio publicado anteriormente sin hacer referencia al documento original (auto plagio); comprar, robar o pedir prestados los datos o la tesis para presentarla como propia; omitir referencias bibliográficas o citar textualmente sin usar comillas; utilizar ideas o razonamientos de un autor sin citarlo; utilizar material digital como imágenes, videos, ilustraciones, gráficas, mapas o datos sin citar al autor original y/o fuente. Así mismo tengo conocimiento de que cualquier uso distinto de estos materiales como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Por lo anterior nos responsabilizamos de las consecuencias de cualquier tipo de plagio en caso de existir y declaramos que este trabajo no ha sido previamente presentado en ninguna otra institución educativa, organización, medio público o privado.

Atentamente.

Alma Terra Mater



Johan Yeniel Vergara Alvarado

Autor principal

AGRADECIMIENTOS

A lo largo de esta historia, muchas personas estuvieron a mi lado y aportaron su granito de arena para que yo pudiera llegar a realizar este proyecto, no me queda más que agradecerles y pedirle a la vida y a Dios que los cuide y guíe.

A **Dios** por haberme concedido la oportunidad de estar pleno y poder realizar este proyecto.

A **la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro** por abrirme sus puertas y darme la oportunidad de formarme como ingeniero.

Al **Dr. Julio César Tafolla Arellano**, por permitirme realizar este proyecto, así como a los integrantes de mi comité de tesis por su gran apoyo: Dr. Marco Antonio Ramírez Mosqueda, Dra. Silvia Patricia Álvarez Acuña y Dr. Juan Antonio Nuñez Colima.

Al **M.C. Luis Bernardo Rincón López** por su amistad, apoyo cuando más lo necesitaba, así por ser mi maestro y enseñarme lo que hoy sé.

Al **Laboratorio de Biotecnología y Biología Molecular** por permitirme realizar este proyecto en sus instalaciones. Así como al proyecto UAAAN-38111- 425405001-0162 de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro por el financiamiento para desarrollar esta tesis.

A Hector Barrón Morales por su apoyo y cuidado al llegar a mi alma mater

A el **M.C. Ever T. Astorga Arzola** por su amistad y confianza para formar parte del LBBM.

A **José Eduardo Cortez Torres, Zariel Bracamontes Saldaña, Edwin Ismael Hernández Sanchez, Joaquín Vargas Barba, Víctor Oziel Villanueva Blanco, Ariadna Hernández Sanchez, Francisco Israel Alvarado Rocha, Isaac Alejandro López Madrueño, Edgar Isaac Muñoz Romero, y Manuel Antonio Burciaga Contreras.** Por su valiosa amistad gran hermandad, así como todas las experiencias vividas dentro y fuera de nuestra alma mater de todo corazón muchas gracias.

A **Itzel Alejandra Morales Luna, Mónica Gabriela Valenzuela Carrizales y Layla Fernanda Chacón Delgado** por su gran amistad, cariño y por abrirme las puertas de sus casas, dándome un hogar, a pesar de estar cientos de kilómetros lejos del mío y por todas las aventuras vividas.

A Luz Graciela Ramos Marín, Adriana Elizabeth Santiago Cabrera, Brisa Adriana Bernadac Meza, Jesús Alberto Rodríguez Hernández, Mariana Nohemí Martínez Cruz y Jairo Fabián Marcos Durán por su amistad, apoyo y las experiencias compartidas y vividas durante la carrera así como las risas, y aventuras dentro y fuera del salón de clases.

A **Alejandro Hernández León †**, por haberme ayudado a encontrar mi pasión en la carrera que estudie.

DEDICATORIA

A mis padres. Eleuterio Vergara Benitez y Evangelina Alvarado Piña, por haberme dado la oportunidad de formarme como profesional, así como por todo el apoyo, amor, regaños y motivación que me han dado, los amo mucho.

A mis hermanos. Adahir Gaddiel Vergara Alvarado, Ingrith Yareth Vergara Alvarado y Alan Eliel Vergara Alvarado por su cariño, consejos y apoyo durante toda mi vida, los quiero mucho.

A mi sobrino. Emmanuel Zuluaga Vergara por su cariño y tierno apoyo por motivarme a ser mejor persona y ser un ejemplo para ti, gracias por recordarme que de vez en cuando uno tiene que ser como un niño, te quiero chaparrito.

Al profesor Salvador Guillermo Vázquez Álvarez † por sus consejos y motivación a pesar de que ya no estes aquí, me esforzaré por cumplir lo que me dijo “Tú tienes que poner a tu pueblo en el mapa”

Gracias a todos por ser esa “Candelilla” en mi vida.

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDO

Página

DERECHOS DE AUTOR Y DECLARACIÓN DE NO PLAGIO .;	Error! Marcador no definido.
AGRADECIMIENTOS	V
DEDICATORIA	VII
ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDO.....	VIII
ÍNDICE DE CUADROS.....	XI
ÍNDICE DE FIGURAS.....	XII
RESUMEN.....	XIII
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Justificación.....	2
1.2 Hipótesis.....	3
1.3 Objetivo general	3
1.3.1 Objetivos específicos	3
1.3.1.1	3
1.3.1.2.....	3
1.3.1.3.....	3
1.3.1.4.....	3
2.1 Generalidades del cultivo.....	4
2.1.1 Botánica.....	4
2.1.1.1 Taxonomía.....	5
2.1.2.1 Flores.....	7
2.1.2.2 Frutos	8
2.1.2.3 Semillas	8
2.1.2.4. Raíz	9
2.1.3 Requerimientos del cultivo	10
2.1.3.1 Clima.....	10
2.1.3.2 Temperatura	10
2.1.3.3 Tipo de suelo.....	10
2.1.3.5 Altura	11
2.1.4 Formas de reproducción.....	11
2.1.4.1 Formas de propagación	11
2.1.4.2 Semilla	11

2.1.4.3 Estaca	12
2.1.4.4 Hijuelos	12
2.1.5 Hábitat o bioma	12
2.1.5.1 Distribución.....	12
2.1.5.2 Interacción con ecosistema (relación planta- ecosistema)	13
2.1.6 Usos y aplicaciones de la candelilla.....	14
2.1.6.1 Uso de la candelilla en las diversas industrias	14
2.1.6.2 Industria Cosmética.....	14
2.1.6.3 Industria alimentaria.....	15
2.1.6.4 Industria Textil	16
2.1.6.5 Industria Electrónica	17
2.1.7 Importancia de la candelilla	18
2.1.7.1 Importancia social y económica.....	18
2.1.7.2 Importancia ecológica	19
2.1.8 Extracción de cera de candelilla.....	19
2.1.8.1.1 Efectos sobre el comercio de candelilla en México.....	22
2.1.8.2 Amenazas	22
2.1.9 Biotecnología	23
2.1.9.1 Biotecnología vegetal.....	23
2.1.9.2 Cultivo de tejidos vegetales (CTV).....	23
2.1.9.2.1 Medio de cultivo	24
2.1.9.2.2 Reguladores de crecimiento	24
2.1.9.2.2.1 Auxinas	24
2.1.9.2.2.2 Citocininas	25
2.1.8.2.2.3 Giberelinas	25
2.1.9.3 Sistema de inmersión Temporal (SIT)	26
2.1.9.3.1 Sistema de frascos gemelos (BIT).....	27
III. MATERIALES Y MÉTODOS	29
3.1. Material vegetal.....	29
3.1.1 Obtención de material vegetal.....	29
3.1.2 Selección de explantes	29
3.1.2.1 Desinfección de explantes.....	29
3.2 Establecimiento	30
3.2.1 Medio de cultivo para el establecimiento de explantes (meristemos y yemas)	30

3.2.3 Siembra de yemas y meristemas	31
3.2.4 Estrategia experimental.....	32
3.2.4.1 Tratamientos.....	32
3.2.4.2 Multiplicación en Sistema BIT	32
3.2.5 Diseño experimental.....	33
3.2.6 Análisis estadístico.....	33
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	34
V. CONCLUSIONES	43
VI. LITERATURA CITADA	44

ÍNDICE DE CUADROS

Página

Cuadro 1. Precio comercial de la cera de la candelilla	21
Cuadro 2. Parámetros técnicos dentro del proceso de producción de cera de candelilla.	22
Cuadro 3. Relación de tiempos en la obtención del cerote de candelilla.....	22
Cuadro 4. Tipos de Biorreactores usados en el LBBM	26
Cuadro 5. Desinfección de explantes.....	30
Cuadro 6. Composición medio de cultivo.	30
Cuadro 7: Tratamientos evaluados en sistemas de inmersión temporal BIT.....	33
Cuadro 8. Medidas de tendencia central y dispersión	34
Cuadro 9 Prueba de medias de las variables evaluadas.	39

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Planta de candelilla en su habitad natural.....	6
Figura 2. Tallo de candelilla	6
Figura 3. Flor de candelilla.	7
Figura 4. Fruto de candelilla	8
Figura 5. Semillas de candelilla.	9
Figura 6. Raíces de candelilla	10
Figura 7. Distribución de la candelilla en México	13
Figura 8. Aplicación de la candelilla en la industria cosmética.....	15
Figura 9. Aplicación de la candelilla en industria alimentaria.....	16
Figura 10. Aplicaciones de la candelilla en la industria textil	17
Figura 11. Aplicaciones de la candelilla en la industria electrónica.....	18
Figura 12. Proceso productivo de candelilla.....	20
Figura 13. Diagrama de funcionamientos Frascos Gemelos.....	27
Figura 14. Biorreactores frascos gemelos	28
Figura 16. Autoclave vertical EV-30 Novatech.....	31
Figura 17. Germoplasma de candelilla	31
Figura 18. Multiplicación por medio de sistemas de inmersión BIT	32
Figura 19. Explantes evaluados del tratamiento 1	35
Figura 20. Explantes evaluados del tratamiento 2	36
Figura 21. Explantes evaluados del tratamiento 3	38
Figura 22. Explantes evaluados del tratamiento 4	39

RESUMEN

La planta de candelilla (*Euphorbia antisyphilitica* Zucc.) es endémica del Desierto Chihuahuense y su importancia económica reside en la cera presente en sus tallos, la cual es utilizada ampliamente en las industrias alimentaria, cosmética, farmacéutica y electrónica. La extracción tradicional de cera se ha utilizado por más de un siglo e implica la recolección masiva de plantas silvestres, lo que ha provocado una disminución del germoplasma y pérdida de biodiversidad. Para hacer frente a esta problemática, se han desarrollado protocolos para su micropropagación utilizando medios semisólidos, sin embargo, no han sido eficientes para su producción a gran escala. La propagación *in vitro* mediante biorreactores de inmersión temporal (BIT) es una alternativa para ello, ya que permite el crecimiento masivo de explantes bajo condiciones controladas, favoreciendo la uniformidad genética, la sanidad vegetal y el escalamiento comercial sin comprometer poblaciones silvestres. El objetivo de esta investigación fue evaluar cuatro frecuencias de inmersión (6, 12, 24 y 48 h) utilizando explantes apicales cultivados en medio Woody Plant (McCown) suplementado con $1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ de IAA y KIN, para la propagación a gran escala de candelilla. La evaluación se llevó a cabo a los 60 días después de la siembra. El tratamiento con inmersiones cada 12 h promovió la mayor elongación de brotes ($50.00 \text{ mm} \pm 0.34 \text{ mm}$), mientras que la frecuencia de 24 h indujo mayor grosor de tallo ($2.00 \text{ mm} \pm 0.06 \text{ mm}$) y número de raíces ($1.00 \text{ mm} \pm 0.11 \text{ mm}$), atributos clave para una aclimatación *ex vitro* eficiente. En contraste, la frecuencia de 6 h mostró resultados negativos generando necrosis, mientras que la frecuencia de 48 h mostró una uniformidad en el crecimiento, sin embargo, presentó signos de oxidación y se redujo el número de brotes. Estos resultados evidencian que frecuencias intermedias de inmersión optimizan la nutrición, hidratación y oxigenación del explante en candelilla, lo cual nos permitirá establecer parámetros óptimos en protocolos de micropropagación masiva de esta valiosa especie.

Palabras clave: biotecnología vegetal, candelilla, sistemas BIT, inmersión temporal, conservación.

I. INTRODUCCIÓN

La planta de candelilla es una especie forestal no maderable perteneciente a la familia de las Euphorbiáceas. Familia de plantas con flores de aspecto similar a los cactus de quienes se diferencian claramente por el látex lechoso que las euforbiáceas poseen (FACENA, 2012). El nombre común parece provenir de una traducción del inglés “candle” que significa vela pequeña., que corresponde a

La candelilla crece principalmente en laderas de suelo calcáreo, las cuales se asocian con formaciones de material rocoso su raíz es relativamente pequeña, a pesar de que la planta es de tamaño moderado puede llegar a desarrollar más de 100 tallos de color verde grisáceo, de 30-60 cm de largo y alrededor de 0.1-1.0 cm de diámetro, y en conjunto sus macollos llegan a formar un arbusto de 90 cm de diámetro aproximadamente (Instituto de la Candelilla, 2013). Las hojas son pequeñas y sólo están presentes por un breve periodo de tiempo, sus flores son unisexuales, en inflorescencias las cuales son llamadas ciatios, el fruto es una cápsula con tres semillas (Alvarado-Vazquez *et al.*, 2015).

Adicionalmente, la regeneración natural de *E. antisiphilitica* es limitada debido a diversos factores uno de ellos es la viabilidad de la semilla presentando valores que van desde 14.7 hasta un 96 %, lo cual es influenciado por tipo de semilla y su estado de madurez (Flores del ángel *et al.*, 2013)

La producción de cera de candelilla se ha llevado a cabo desde el siglo pasado, desde ese entonces se ha convertido en una planta con gran importancia económica. Por más de 100 años en las regiones “candelilleras” se han visto beneficiados alrededor de 3,500 productores del norte de México, distribuidos en 230 ejidos de 33 municipios del país. Una de las cualidades que hacen sumamente valiosa a esta planta es que su cera es de excelente calidad y cuenta con una alta demanda en mercados internacionales, un aproximado del 90% de la producción de la cera es exportada al extranjero, (CONAFOR, 2021).

La biotecnología vegetal ofrece alternativas para la producción masiva de plantas sin depender de la extracción directa de especímenes, contribuyendo a la conservación del

germoplasma y al abastecimiento industrial (López & Cano, 2021). Entre estas herramientas destaca el cultivo de tejidos vegetales (CTV), el cual hace referencia al conjunto de técnicas que tienen el propósito de cultivar un explante vegetal, desde protoplastos hasta órganos, todo esto bajo condiciones asépticas. Empleando el principio de totipotencia celular vegetal (Levitus *et al.*, 2010). Dentro de las técnicas de CTV, los sistemas de inmersión temporal (SIT) han cobrado relevancia por su eficiencia y bajo costo en comparación con la micropropagación tradicional realizada en medios semisólidos (Ramírez-Mosqueda *et al.*, 2019). En particular, los biorreactores de inmersión temporal (BIT) o de frascos gemelos los cuales tienen reporte de ser una mejor alternativa en cuanto a otros tipos de Sistemas de inmersión temporal. El objetivo de la presente investigación fue evaluar el efecto de diferentes frecuencias de inmersión en sistemas BIT sobre la producción de explantes, longitud y número de brotes durante la etapa de multiplicación *in vitro* de candelilla. Para ello, se evaluaron cuatro frecuencias de inmersión (6, 12, 24 y 48 h), utilizando un medio basado en McCown's Woody Plant Basal Salt Mixture suplementado con $1.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de AIA y KIN.

1.1 Justificación

Este proyecto se enmarca en el objetivo 15 de la agenda ONU: Vida de ecosistemas terrestres, que consiste en proteger, restablecer y promover el uso sostenible de los ecosistemas terrestres, luchar contra la desertificación, detener e invertir la degradación de las tierras y detener la pérdida de biodiversidad y en el 15.5 que es: Adoptar medidas urgentes y significativas para reducir la degradación de los hábitats naturales, detener la pérdida de biodiversidad. La candelilla (*Euphorbia antisiphilitica* Zucc.) cuenta con una Norma Oficial Mexicana “NOM-018-RECNAT-2012” en la cual establece los procedimientos, criterios y especificaciones y administrativas para realizar el aprovechamiento sostenible de la hierba de candelilla, transporte y almacenamiento sostenible de la hierba de candelilla, transporte y almacenamiento del cerote. Al margen un sello con el Estado Unidos Mexicanos-Secretaria del Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca (SEMARNAT, 1999).

1.2 Hipótesis

Las frecuencias de inmersión intermedias favorecen la formación adventicia de brotes, elongación y engrosamiento del tallo en *Euphorbia antisyphilitica* durante su porpgación *in vitro* en biorreactores de inmersión temporal, al mantener un balance adecuado de oxigenación e hidratación.

1.3 Objetivo general

Evaluar diferentes frecuencias de inmersión y su efecto en la producción de explantes, longitud y número de brotes en la etapa de multiplicación durante la micropropagación de candelilla (*Euphorbia antisyphilitica* Zucc.) por medio del uso de biorreactores de frascos gemelos (Sistema BIT)

1.3.1 Objetivos específicos

1.3.1.1 Evaluar el efecto de medio líquido, McCown's, Woody Plant Basal + 1.5 mg·L⁻¹ de IAA y KIA en sistemas BIT (frascos gemelos) con frecuencias de 6 horas y una inmersión de 5 minutos en número y longitud de brotes en candelilla.

1.3.1.2 Evaluar el efecto de medio líquido, McCown's, Woody Plant Basal + 1.5 mg·L⁻¹ de IAA y KIA en sistemas BIT (frascos gemelos) con una inmersión de 5 minutos y una frecuencia de 12 horas en el número y longitud de brotes en candelilla.

1.3.1.3 Evaluar el efecto de medio líquido, McCown's, Woody Plant Basal + 1.5 mg·L⁻¹ de IAA y KIA en sistemas BIT (frascos gemelos) con una inmersión de 5 minutos y una frecuencia de 24 horas en el número y longitud de brotes en candelilla.

1.3.1.4 Evaluar el efecto de medio líquido, McCown's, Woody Plant Basal + 1.5 mg·L⁻¹ de IAA y KIA en sistemas BIT (frascos gemelos) con una inmersión de 5 minutos y una frecuencia de 48 horas en el número y longitud de brotes en en candelilla.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Generalidades del cultivo

La candelilla (*Euphorbia antisiphilitica* Zucc.) es considerada una especie endémica de México, de forma específica en las zonas semidesérticas de la zona norte de México; algunos de estos estados son Coahuila, Chihuahua, Durango, Zacatecas (CONAFOR, 2021). La planta de candelilla es incluida en la familia de las *Euphorbiaceae*, la parte externa está recubierta por un material ceroso, por lo que la planta presenta largos tallos y rígidos de color verde con tonalidades grises, la cera le brinda protección ante las extremas condiciones en las que se encuentra en su hábitat natural, al igual, que le brinda protección de los microorganismos (Rojas-Molina *et al.*, 2011). La relevancia económica de esta planta se encuentra en su capacidad para producir cera, una característica que ha sido reconocida desde el año 1900 y cuyo descubrimiento se atribuye a nativos del norte, los cuales, utilizaban la cera de candelilla para preservar las cuerdas de sus arcos frente a las variaciones de temperatura. En la actualidad, la candelilla se ha convertido en un recurso natural altamente valorado y usado en diversas industrias, que van desde la cosmética hasta la electrónica, entre otras más (CONAFOR, 2021). La candelilla es considerada en México como uno de los 10 recursos no maderables (RNM) más importantes económicamente, su colecta se considera como una actividad económica de importancia para los productos de tipo forestal en la zona del desierto del norte (Zamora-Martinez *et al.*, 2013). Se estima que existen aproximadamente 3500 productores de candelilla en México, los cuales se distribuyen en los 230 ejidos de aproximadamente 33 municipios que se encuentran en la región del desierto del noreste de México (CONAFOR 2021).

La candelilla, además de la cera, produce una gran cantidad de compuestos de importancia biológica con aplicaciones biotecnológicas, algunos de estos son compuestos con actividad antifúngica, tal es el caso de los elagitaninos que se han logrado aislar e identificar de manera exitosa (Ascacio-valdes *et al.*, 2013)

2.1.1 Botánica

En 1832, el botánico Zuccarini realizó la primera descripción de la planta de candelilla, asignándole el nombre científico *Euphorbia antisiphilitica*. De esta manera, reconoció

la capacidad medicinal del jugo de la planta, utilizado por las comunidades indígenas como remedio para el tratamiento de la sífilis. Posteriormente, en 1909, G. Alcocer presentó una nueva clasificación de la candelilla, denominándola *Euphorbia cerífera*, destacando las capacidades de la planta en la producción de cera (Instituto de Candelilla, 2008).

2.1.1.1 Taxonomía

Reino: *Plantae*

Filo: *Tracheophyta*

Clase: *Equisetopsida*

Orden: *Malpighiales*

Familia: *Euphorbiaceae*

Subfamilia: *Euphorbiaceae*

Tribu: *Euphorbiaceae*

Subtribu: *Euphorbiinae*

Género: *Euphorbia*

Especie: *antisyphilitica*

2.1.2 Morfología de la planta

Es una planta perenne de varios tallos en forma de cilindro, que varía el color de acuerdo con su ciclo de vida; puede ser verde blanquecino, azul o gris. Los tallos son herbáceos, erectos y no presentan ramificaciones, la altura puede variar según su maduración, llegando a un promedio de 45 a 65 cm (**Figura 1**), aunque hay registros de alturas de 120 cm o más (CONABIO, 2022).



Figura 1. Planta de candelilla en su habitad natural.

Los tallos jóvenes de candelilla presentan un color verde que con el paso del tiempo y llegando a su estado de maduración se torna gris o blanquecino, esto se debe a una capa de cera que cubre de manera superficial la epidermis (**Figura 2**) (Alvarado-Vazquez *et al.*, 2015).

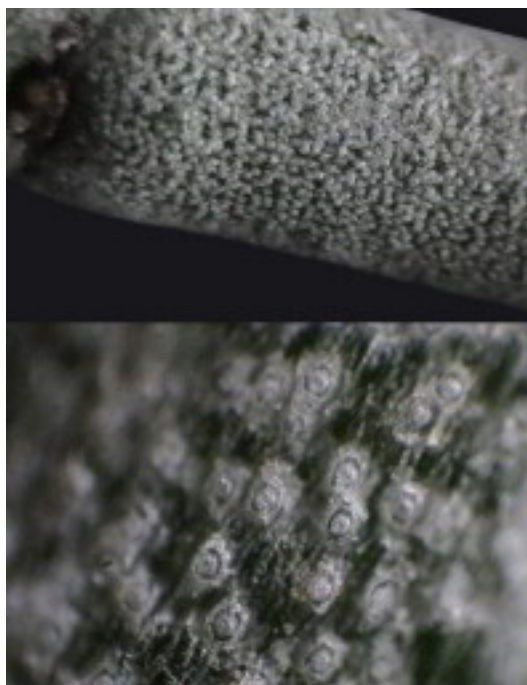


Figura 2. Tallo de candelilla

2.1.2.1 Flores

Las flores de candelilla se producen durante la época de lluvia, se caracterizan por ser particularmente pequeñas ya que aproximadamente miden 5 milímetros de diámetro además de que presenta un color rosa pálido y un rosa rosado. A lo largo de los tallos, se encuentra inflorescencias que tienen forma de espiga, la cual se compone por cinco piezas, la base de cada flor cuenta con un pedúnculo corto y dos brácteas puntiagudas (Ramírez, 2022.). Respecto a sus órganos reproductivos, el masculino consta de estambres con filamentos que pueden estar fusionados o libres, en el caso del sistema femenino (gineceo) está formado por un ovario súpero que contiene tres carpelos (**Figura 3**), con tres cavidades o lóculos, y cada uno de ellos contiene uno o dos óvulos (Salvador Martínez *et al.*, 2013).



Figura 3. Flor de candelilla.

2.1.2.2 Frutos

El fruto de la candelilla puede encontrarse en diversas tonalidades, ya sean desde colores verdes cafés o rojos, su diámetro puede llegar a llega a medir de 3 a 4 milímetros de diámetro, al momento de madurar se puede observar de color café como las ya mencionadas (**Figura 4**). Cuando la capsula llega a su madurez esta explota, de esta manera se esparce por toda la planta y de tal manera las semillas se expanden y surgen nuevas plantas de candelilla (De Montalvo, 2019).

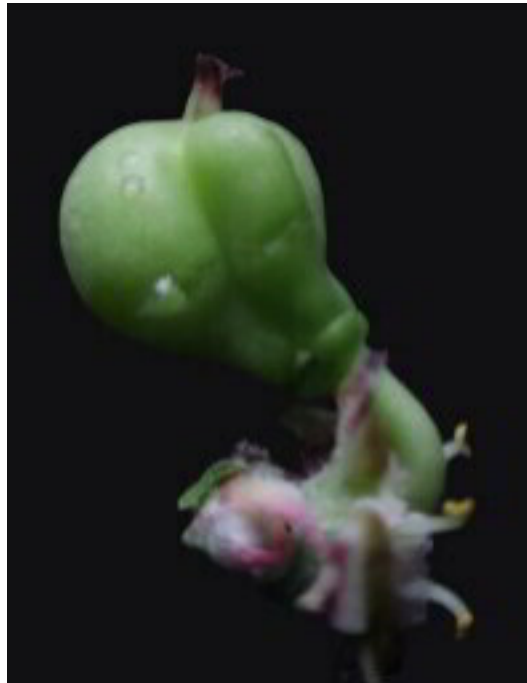


Figura 4. Fruto de candelilla

2.1.2.3 Semillas

Las semillas de candelilla poseen una forma entre elíptica y ovoide, son de color café claro, su estructura es delgada generalmente con un color blanco (**Figura 5**), tienen un prominente endospermo, su propagación es muy difícil debido a su tamaño. Se calcula que en un kilo hay 272,000 semillas (Ávila, 2007). Las semillas presentan un gran rango de variabilidad en cuestión de viabilidad, esto depende de la localidad de la semilla, así como de su estado de madurez según lo reportado por (Flores del Angel *et al.*, 2013)



Figura 5. Semillas de candelilla.

2.1.2.4. Raíz

La raíz de la candelilla es considerada pequeña, generalmente de colores blancos y cafés, al ser una raíz pequeña (**Figura 6**), la extracción de forma manual de la candelilla es sencilla, es importante considerar que la raíz de la candelilla no contiene cera, por eso es que durante el proceso de extracción de cera la raíz genera impurezas (Rocha-Estrada *et al.*, 2021), por lo cual se recomienda cortar los tallos a la altura del suelo ,de esta forma también se realiza una correcta extracción de la planta (CONABIO, 2022).

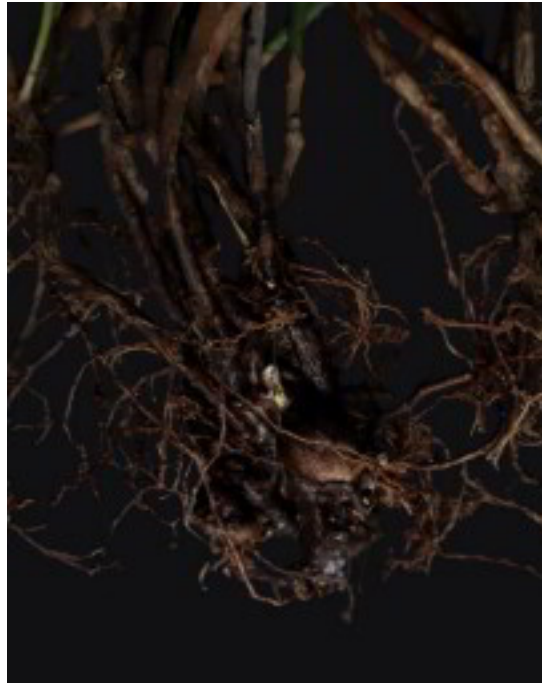


Figura 6. Raíces de candelilla

2.1.3 Requerimientos del cultivo

2.1.3.1 Clima

Es una planta semidesértica, que crece a temperaturas extremas con un clima de tipo seco, cálido y con pocas lluvias ya que su precipitación pluvial es menor a los 300 mm.

2.1.3.2 Temperatura

En las regiones productoras de candelilla el promedio de temperatura anual es de los 18 °C a 22 °C, se debe de tener en cuenta que la candelilla es resistente en ambientes extremos, esta puede llegar a soportar una alta temperatura de hasta 47 °C y temperaturas por debajo de -14°C, (Rocha estrada *et al.*, 2021).

2.1.3.3 Tipo de suelo

Generalmente la candelilla se ubica en suelos calcáreos y poco profundos aproximadamente a unos 25 cm, en cuanto a la textura del suelo es franco arenoso, con un suelo granulado, con consistencia friable, conteniendo piedras y rocas, en cuanto al pH se tiene una variación ya que va de los 7.0 a 7.4 (CONABIO, 2021).

2.1.3.4 Tipo de riego

Debido a que es una planta del semi desierto, la candelilla requiere de muy poca precipitación esto para evitar un exceso de agua y así poder evitar pudriciones en la raíz o la muerte de la planta, un detalle a tener en cuenta es que esta planta necesita una gran exposición a la radiación del sol (Juárez León, 2025).

2.1.3.5 Altura

Es una planta que está adaptada a zonas semidesérticas, según lo reportado existen avistamientos que se encuentran entre los 460 a 2400 metros sobre el nivel del mar, aunque se puede encontrar de una manera más abundante en una altura de 700 a 1200 msnm (CONAFOR, 2021) & (CITES, 2009). Estudios experimentales recientes han demostrado un rango de más del 90 % de sobrevivencia en rangos de altura de los 1560 a 1630 msnm (González-López *et al.*, 2024).

2.1.4 Formas de reproducción

La candelilla se reproduce de dos maneras: sexualmente a través de semillas y asexualmente mediante brotes que emergen de sus tallos subterráneos y también de sus tallos aéreos, y está ligada a la humedad que hay durante la floración, en los meses de febrero a julio.

2.1.4.1 Formas de propagación

Por el uso de rizomas, el uso de estacas para la propagación se considera el más útil y la reproducción de hijuelos consiste en un largo periodo de lluvias (López, 2007).

2.1.4.2 Semilla

Propagar la candelilla a través de semillas no es una opción viable debido a la alta tasa de variabilidad en la viabilidad de los ecotipos de semilla (Flores del ángel *et al.*, 2013). El periodo óptimo para recolectar frutos de candelilla es entre los meses de abril y julio, aunque este puede variar en función del régimen de lluvias, extendiéndose desde febrero hasta agosto en algunas regiones productoras del norte de México (Villa Castorena, 2010). Cabe recalcar que la reproducción comercial de candelilla se recomienda debido a lo

difícil que se considera la recolección así como su lento desarrollo, por tanto, se refiere la obtención de propágulos de manera vegetativa a través del uso tallos o raíces (Salvador Martínez *et al.*, 2013).

2.1.4.3 Estaca

La propagación de candelilla mediante el uso de estacas es un proceso que se realiza de forma tradicional, los productores utilizan tallos de entre 20 a 25 cm incluyendo un promedio de 3 a 4 nudos, estos se dejan reposar por una semana para que el explante “sane” formando un callo en el corte realizado. Se ha demostrado también que el uso de sustratos livianos como mezclas de turba, perlita y vermiculita ayuda a la inducción de raíces, sin el uso de alguna fitohormona, esto resalta más en ciertos eco tipos en el caso del de cuatrociénegas, al mejorar las técnicas se obtienen alternativas viables para la conservación y propagación de esta planta de interés (Villa-Castorena *et al.*, 2010).

2.1.4.4 Hijuelos

Se basa principalmente en la obtención de plantas y dejarlas en un lugar seco, lejos del sol, la selección de hijuelos se basa principalmente en elegir hijuelos de 15 cm de longitud, para posteriormente dejarlo remojar en una solución con captan (fungicida en una relación de un gramo por litro de agua), empleando un sustrato el cual consiste en una mezcla de arena de río y turba. Se ha reportado el uso de suelos arenosos como la arena de río y la turba, aumentan la porosidad del sustrato para que exista una aireación y retención de agua el sustrato debe regarse en las primeras semanas, procurando un riego ligero (López, 2007)

2.1.5 Hábitat o bioma

La candelilla es una planta que vive en climas desérticos, específicamente en un clima semicálido con lluvias durante el verano, según la clasificación de Köppen. Se encuentra en matorrales xerófilos y puede resistir temperaturas extremas que van desde -12 °C hasta 44 °C, a veces presentándose temperaturas menores o mayores. Crece en suelos que tienen poco nitrógeno, pero son ricos en carbonato de calcio. En cuanto a la topografía, suele estar en lomeríos, planicies y laderas de cerros (CITES, 2009).

2.1.5.1 Distribución

La candelilla cuenta con una distribución natural amplia (**Figura 7**) en el desierto de Chihuahua (Steinmann, 2002), también está presente en los estados del noreste como lo

son San Luis Potosí, Zacatecas, Durango, Coahuila, Tamaulipas y Nuevo León, en una altitud de entre 460 m a 2400 m msnm, estando en un promedio de 700 a 1200 msnm, en territorio estadounidense se han encontrado reportes de presencia de candelilla al sur de Nuevo México y el oeste de Texas (Bañuelos- Revilla *et al.*, 2019) Algunos reportes estiman que el área alcanza unos 19.1 millones de hectáreas en toda Norteamérica (Vargas-Piedra *et al.*, 2020).

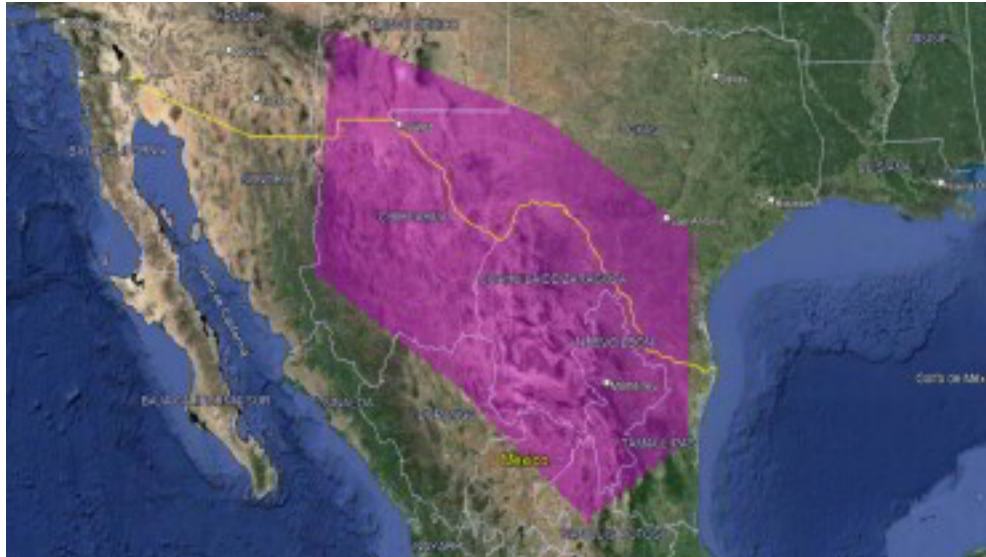


Figura 7. Distribución de la candelilla en México

*Realizado en: Google Earth

2.1.5.2 Interacción con ecosistema (relación planta- ecosistema)

La candelilla es importante en su entorno ya que ayuda al ecosistema desempeñando funciones importantes, sus grupos de crecimiento, llamados macollos, su función es retener principalmente la humedad y partículas del suelo, lo que facilita que otras especies se desarrollen, también protege el suelo de la radiación solar y de la erosión causada por el viento (González-López *et al.*, 2024). El principal ecosistema en el cual podemos encontrar a la candelilla principalmente es en el matorral desértico rosetófilo esta planta se asocia a *Agave lechuguilla*, *A. falcata*, *A. striata*, *Hechtia glomerata*, *Dasylyrion spp.* y *Yucca carnerosana*, mientras que cuando forma parte del del matorral desértico rosetófilo en zonas calizas con buen drenaje, en ocasiones suele se asociarse con *Leucophyllum texanum*, *Fouquieria splendens*, *Larrea tridentata*, *Flourensia cernua*, *Prosopis juliflora*, *Opuntia imbricata*, *O. leptocaulis* y *Parthenium argentatum* (Flores del Ángel, 2013).

2.1.6 Usos y aplicaciones de la candelilla

El uso de la candelilla ha estado presente durante bastante tiempo en nuestra historia, ejemplo de esto en los tiempos de la colonización se utilizaba como vela de ahí viene el nombre de candelilla, gracias a sus propiedades fisicoquímicas, es lo que le han permitido una gran cantidad de aplicaciones. En la actualidad la candelilla es considerada un recurso forestal no maderable de alta importancia en México (CONABIO 2021).

2.1.6.1 Uso de la candelilla en las diversas industrias

Debido a las investigaciones que se tienen sobre la cera de candelilla, ha sido permitida para emplearse en varias industrias así como ha recibido varias certificaciones que la reconocen como una materia prima segura y confiable (GRAS) así como también por varios organismos reguladores como el Comité Científico de la Alimentación Humana (SCF), el Comité Mixto FAO/OMS, Comité de Expertos en Aditivos Alimentario (JECFA), así como por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) (Cabello-Alvarado *et al.*, 2013)

2.1.6.2 Industria Cosmética

La cera de candelilla se usa como humectante y productor de cubiertas (**Figura 8**). Generalmente el mercado es impulsado por la demanda de un producto "natural"; de esta manera, hay un aumento en la demanda de ceras naturales, en algunos productos como lo son:

- Rímel
- Barras de labios
- Lápiz labial
- Lápiz cosmético
- Delineador
- Sombras de ojos

En esta industria, se busca mucho de conservar y alargar la vida de este tipo de productos ya que esa es una de las funciones de la cera de candelilla (CONAFOR, 2021).



Figura 8. Aplicación de la candelilla en la industria cosmética

2.1.6.3 Industria alimentaria

Si bien dentro la industria alimentaria tiene varias aplicaciones, la cera de candelilla es utilizada principalmente como un agente protector en biopelículas, esto con el fin de alargar el periodo de vida de anaquel (**Figura 9**), además de que la cera de candelilla aporta, nutriente como antioxidantes y antiinflamatorios presentes en su composición química (ácidos elágico y gálico) (Ochoa *et al* 2011)

- Bebidas aromatizadas a base de agua, como sueros y bebidas electrolíticas.
 - Goma de mascar
 - Dulces, incluidos los caramelos duros y blandos, los turrone.
 - Productos de imitación de chocolate o sustitutos de chocolate
- (Alvarado *et al.*, 2013)



Figura 9. Aplicación de la candelilla en industria alimentaria

2.1.6.4 Industria Textil

Debido a que es insoluble en agua, la cera de candelilla se utiliza en la industria textil (**Figura 10**) para dar textura y flexibilidad, así como ser un refuerzo para los hilos, también se han empleado emulsiones con cera de candelilla para poder dar un mejor acabado y proteger la ropa de la humedad y alargar su vida útil (Multiceras, 2025). También, se ha buscado para poder aplicar y crear grasas o bálsamo para zapatos, ya que, gracias a su cera, puede hidratar la piel, esto por medio de emulsiones (Morales-Hernandez, 2015).

- Acabados para textiles de manera más amigable con el ambiente
- Recubrimiento en cordones
- Conservador de vestigios textiles históricos
- Dar brillo a calzado



Figura 10. Aplicaciones de la candelilla en la industria textil

2.1.6.5 Industria Electrónica

Debido a sus características fisicoquímicas como la impermeabilidad, su resistencia eléctrica y su estabilidad química hacen de la cera de candelilla una materia para el aprovechamiento de la industria electrónica (**Figura 11**) () debido a que confiere protección contra la humedad, polvo, esto se realiza como un revestimiento a los cables y alambres, alargando la vida útil de estos componentes (Instituto de la candelilla, 2025; Multiceras, 2025):

- Aislante eléctrico
- Circuitos integrados
- Revestimiento de cables
- Barnices dieléctricos



Figura 11. Aplicaciones de la candelilla en la industria electrónica

2.1.7 Importancia de la candelilla

2.1.7.1 Importancia social y económica

En estados como Zacatecas y Chihuahua, las cifras históricas indicaban una producción conjunta de aproximadamente 110,000 toneladas de cerote, mientras que en Durango y Coahuila se reportaban 210,000 y 1,494 toneladas respectivamente, beneficiando en conjunto a más de 2,000 familias (Maycotte-de la peña *et al.*, 2021) Aunque las cifras varían anualmente debido a ciertos factores como lo son el clima, el acceso al mercado e inclusive la misma legislación (como las disposiciones de CITES para exportación), se mantiene una tendencia constante en el aprovechamiento comunitario del recurso. El 90 % de la cera producida es exportada y comercializada en casi al menos 3 continentes (América, Asia, y Europa). Debido a su gran calidad y demanda, lo que representa una importante actividad económica para México y beneficia a poco menos de 3,500 productores presentes en casi 250 ejidos dentro de los 33 municipios dedicados a la producción de candelilla en el norte de México (CONAFOR, 2021). Las plantas producen la cera durante todo el año, la explotación se realiza sobre todo en la temporada de sequía, época en que la planta presenta mayor producción. La producción anual es mayor a las 3,000 toneladas de cerote, lo que requiere coleccionar aproximadamente 150,000 toneladas (peso fresco) al año de planta de candelilla. (Rocha- estrada *et al.*, 2021).

2.1.7.2 Importancia ecológica

Los macollos de la candelilla se encargan de retener la humedad y partículas del suelo, de tal forma que favorecen el establecimiento de otras especies, además, protege al suelo de la radiación solar y del viento, evitando la erosión, particularmente en sitios con pendiente (CITES, 2009; González-López *et al.*, 2022). La extracción indiscriminada de la especie ha reducido la cobertura natural vegetal presente, lo cual ha contribuido a la desertificación y afecta la calidad del suelo. Es por eso que la extracción equilibrada de la candelilla es de suma importancia, tanto para poder conservar correctamente la biodiversidad de su ecosistema como para poder continuar con las actividades económicas relacionadas con la candelilla (González-López *et al.*, 2024).

2.1.8 Extracción de cera de candelilla

La forma de extraer la cera de candelilla ha sido utilizada durante más de un siglo y consiste en recolectar la planta completa y luego someterla a hervir en una solución de agua con ácido sulfúrico (**Figura 12**). Este proceso da como resultado el primer producto conocido como cerote, este luego se refina para obtener la cera final. Desde el siglo XX, la extracción de cera de candelilla es considerada una actividad económica para el Desierto Chihuahuense (Rojas-Molina *et al.*, 2011). Recientemente se han buscado otras alternativas como el uso de otros solventes para la extracción de cera, como el ácido cítrico, el cual ha dado resultados favorables, aportando una cera con características fisicoquímicas superiores que la extraída por el método convencional, evitando, la exposición de gases tóxicos al ambiente y ayudar a la salud de los trabajadores (Núñez-García *et al.*, 2022). Sin embargo, el ácido sulfúrico sigue siendo el más utilizado, ya que tiene un precio más bajo y es más fácil de conseguir, teniendo en cuenta que también produce cera de buena calidad. Desafortunadamente, con este método apenas se logra extraer un porcentaje de la cera total de la planta (**Cuadro 1**), aproximadamente 41.6 gramos de cera por planta (Muñoz-Ruiz *et al.*, 2016)



Figura 12. Proceso productivo de candelilla

A nivel mercado, existen varios proveedores que se dedican al comercio y distribución de la cera de candelilla, las presentaciones pueden variar se encuentran principal en cerote, pellets y escamas, además de que puedan encontrarse en presentación refinadas o sin refinar, los precios kilo pueden por la presentación por el proceso de refinación y el proveedor pueden ir desde \$395.00 hasta los \$2,620.00 (**Cuadro 1**).

Cuadro 1. Precio comercial de la cera de la candelilla.

Presentación	Precio por kilo	Proveedor	
Cera de candelilla blanqueada	\$612.48	Drogueria cosmopolita	consultado 11/08/25 :https://www.cosmotienda.com/tienda/cera-candelilla-blanquedada-500-p-3243.html?srsltid=AfmBOoq1yBBpcz9vb5N7I-sOlih8BVyJWJde5aZEU_dQNIe6raRvH7jG
Cera en escamas refinada	\$737.00	B. Nature	consultado 11/08/25: https://www.bnature.com.mx/productos/cera-de-candelilla/
Cera de candelilla sin refinar	\$420.00	Hebbe	consultado el 11/08/25: https://www.hebbe.mx/MLM-864795912-cera-de-candelilla-100-natural-1-kilo-_JM?srsltid=AfmBOoqGulb5RQ78ANBXttUsIw6tycCWQgIxrjI1B548ljGck_2HutZ9
Cerote de candelilla	\$395.00	Bio Alei	consultado el 11/08/25: https://bioalei.com/producto/cera-de-candelilla/?attribute_presentaciones=65g
Cera de candelilla en pellets	\$679.00	Abreiko	consultado el 11/08/25: https://www.mercadolibre.com.mx/cera-de-candelilla-en-pellets-1-kilo-fragancia-sin-olor-tipo-de-envase-paquete-tipos-de-piel-mixta/p/MLM24691576
Candelilla en escamas	\$2620.00	ZJchao	consultado el 11/08/25 : https://www.amazon.com.mx/Candelilla-Ingredientes-Bricolaje-Alimenticio

Cuadro 2. Parámetros técnicos dentro del proceso de producción de cera de candelilla.

Peso	Rendimiento
1 tercio	35 kg. de Planta
1 carga	4 tercios
1 paila	2 cargas
1 paila	280 kg de planta
1 paila	16 kg cerote

Cuadro 3. Relación de tiempos en la obtención del cerote de candelilla

Proceso	Tiempo (Días)
Quemado	4
Recolección	4

2.1.8.1.1 Efectos sobre el comercio de candelilla en México

La actividad de recolección y producción de la planta de candelilla en el norte de México es esencial para las comunidades candelilleras de bajos recursos, ya que aporta hasta un 50 % de sus ingresos por lo cual se ven obligados a complementar sus ingresos dedicándose a otras actividades como la engorda de ganado, la agricultura o alguna otra explotación de algún recurso forestal no maderable (CITES, 2009). Esta actividad no solo proporciona una fuente de ingresos complementaria, sino que también desempeña un papel crucial en la subsistencia de estas comunidades, que enfrentan condiciones económicas difíciles. La recolección y producción de candelilla no solo son una forma de ganarse la vida, sino que también se ve como una tradición que se hereda de generación en generación en estas comunidades, que han dependido de esta actividad durante generaciones para sustentar sus hogares y mejorar su calidad de vida (CONAFOR, 2001; Bañuelos-Revilla *et al.*, 2019)

2.1.8.2 Amenazas

El exceso de explotación de la candelilla, el exceso de pastoreo, los incendios de vegetación y la ganadería extensiva se consideran en la supervivencia de la candelilla como una amenaza a su desarrollo. Teniendo en cuenta todo lo anterior, se puede concluir

que la candelilla tiene un gran impacto social, económico y ecológico, ya que obtenemos una cera de alta calidad que se exporta principalmente a nivel mundial.

2.1.9 Biotecnología

Una definición propia de la biotecnología es toda aplicación tecnológica que utilice sistemas biológicos y organismos vivos o sus derivados para la creación o modificación de productos o procesos para usos específicos, esto es aplicable en todas las industrias, medicina, producción alimentaria, agricultura (ONU, 1992). La biotecnología es aplicable a todo tipo de organismos desde virus hasta bacterias, animales o plantas (Sharry, 2015)

2.1.9.1 Biotecnología vegetal

Se puede definir como biotecnología vegetal a la aplicación de las técnicas de micropropagación *in vitro* utilizando fundamentos de biología molecular e ingeniería genética en el material vegetal, con el propósito de generar una mejora de las plantas y el progreso en su proceso fisiológico (García del Moral, 2021). La biotecnología vegetal es considerada una ciencia con aplicación en las investigaciones y avances científicos, aunque hoy en día hay un gran debate sobre las modificaciones genéticas de algunos organismos y especies vegetales (CONICET, 2011). Un evento importante para la biotecnología vegetal fue descubrimiento de las hormonas vegetales, conocidas hoy como reguladores del crecimiento vegetal o fitohormonas, esto generó como consecuencia avances importantes en el cultivo de tejidos vegetales. A partir de estos descubrimientos, se publicaron avances sobre regeneración de órganos, formación de callos y técnicas como la micropropagación, y la producción de doble haploides (Cano & López, 2021).

2.1.9.2 Cultivo de tejidos vegetales (CTV)

Una definición formal del CTV hace referencia al conjunto de técnicas que tienen el propósito de cultivar un explante vegetal, desde protoplastos hasta órganos, todo esto bajo condiciones asépticas. Empleando el principio de totipotencia celular (Levitus *et al.*, 2010). La totipotencia celular es la capacidad de la célula vegetal de contener toda la información suficiente para generar un individuo completo, esta definición proviene de la teoría celular donde se define como la unidad mínima de vida a las células (vegetal y animal) (Suárez, 2020).

2.1.9.2.1 Medio de cultivo

La correcta preparación de los diversos medios de cultivo es importante ya que se trata de proveer los nutrientes necesarios para el desarrollo de los explantes, se puede definir como una solución líquida o semisólida (Zorrilla Cisneros *et al.*, 2019), de varios componentes entre los que destacan principalmente, agua, azúcar, vitaminas, sales minerales, reguladores de crecimiento y agar. Cada medio de cultivo es diferente y esto dependerá de la especie vegetal, así como de la etapa de la micropropagación que se realizará (Suárez, 2020). El medio de cultivo más utilizado actualmente es el medio MS (Murashige y Skoog, 1962) ya que a lo largo de la historia ha generado procesos de micropropagación éxitos den diversas especies vegetales.

2.1.9.2.2 Reguladores de crecimiento

Algunos de los componentes esenciales en el crecimiento de plantas *in vitro* son los reguladores de crecimiento (RCVs). Estos son dosificados y usados según el tipo de acuerdo a las necesidades cultivo, así como los requerimientos de la etapa fenológica de la planta (Sharry, 2015) Consisten en un grupo amplio de sustancias químicas orgánicas las cuales están presentes de forma natural o sintética, éstas son consideradas una herramienta para el sistema moderno de producción de plantas (Sajjad *et al.*, 2017). Las hormonas vegetales o mejor conocidas como fitohormonas son moléculas producidas por la misma planta las cuales interactúan en la gran mayoría de los procesos fisiológicos y bioquímicos dentro de ella como lo son la división celular, crecimiento, diferenciación de órganos aéreos y de raíces. También, regulan procesos como la embriogénesis, la germinación de las semillas, la floración, formación del fruto, caída de las hojas y finalmente la senescencia (Porta & Jiménez-Nopala, 2019).

2.1.9.2.2.1 Auxinas

Su precursor es el L-Triptófano, son encargadas de la formación y crecimientos de los tallos, así como del crecimiento vertical de los ápices. (Garay-arroyo *et al.*, 2014) Se encuentra en las zonas de crecimiento como hojas jóvenes, es considerada sensible ante la luz. (Davies, 2010; Taiz *et al.*, 2018).

- Auxinas naturales: Existe solo una auxina que se produce naturalmente tal es el caso del Ácido Indolacético (AIA),
- Auxinas sintéticas: Incluyen el Ácido Naftalenacético (ANA), el Ácido 2,4 Diclorofenoxiacético (2,4-D) y el Ácido Indolbutírico (AIB). Son fundamentales en el cultivo de meristemos

2.1.9.2.2.2 Citocininas

Las citoquininas son un tipo de fitohormonas derivadas de la adenina, la cual es su función dentro de la planta es iniciar y generar crecimiento en las raíces, desarrollar crecimiento de brotes axilares y también están presente en el proceso de senescencia de las hojas, se puede encontrar y producir una alta cantidad de estas fitohormonas presentes en la punta de las raíces (Alcantara-Cortes *et al.*, 2019)

- Citocininas naturales: Incluyen la Zeatina (extraída del maíz) y la 6-isopentamil adenina (2iP)
- Citocininas sintéticas: Como la 6-benciladenina (6 BA o 6 BAP) y la Kinetina (KIN o FAP), siendo esta última la primera citocinina sintética identificada. La zeatina es considerada más potente y costosa que la kinetina.

2.1.8.2.2.3 Giberelinas

Su precursor es el ent- Kaureno, está inmersa en varios procesos de crecimiento y desarrollo de la planta, va desde crecimiento de raíces, crecimiento de brotes e inducción de flores, esta fitohormona se puede encontrar de manera natural en tejidos jóvenes (Garay-arroyo *et al.*, 2014) La hormona más conocida es el ácido gibérelico (GA3) el cual es una de las hormonas más importantes en el tema de fertilidad de las plantas, ya que se han generado reportes de que en una baja concentración de GA3 se presentan signos de esterilidad en las plantas ya que no hay un correcto desarrollo de los órganos sexuales de las flores, tanto femeninos como masculinos.

2.1.9.3 Sistema de inmersión Temporal (SIT)

Los sistemas de inmersión temporal (SIT) se pueden describir como sistemas de propagación semiautomatizados que funcionan de manera periódica, realizando inmersiones en intervalos determinados (Muñiz, 2018). El concepto de los SIT se basa en un diseño de entrada de aire a uno de los frascos, mientras que el medio de cultivo líquido se dirige al otro frasco donde se encuentran los explantes; posteriormente, el medio regresa al frasco inicial gracias a la gravedad o al vacío creado (Rosales *et al.*, 2003). Estos frascos son conocidos como biorreactores, definidos como recipientes o sistemas que ofrecen las condiciones correctas o controladas para el crecimiento, desarrollo y producción de compuestos derivados de la especie a propagar (Trujillo-Roldán & Valdez-Cruz, 2009

Cuadro 4. Tipos de Biorreactores usados en el LBBM

TIPO DE BIORREACTOR	VENTAJAS	DESVENTAJAS	Autor
BIOCOUPLER	<ol style="list-style-type: none"> 1. Fácil de armar 2. Mantenimiento sencillo 3. Agitación sin electricidad 4. Precio (\$580.00) 5. Aprovechamiento de espacio 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Compra de racks para agitación 2. Contaminación por agitación manual 3. difícil control de contaminación 4. Uso de material específico 	<p>Ontaneda 2020 & Sharry <i>et al.</i>, 2015 & Afreen, 2008.</p>
RITA	<ol style="list-style-type: none"> 1. Calidad de materiales 2. Semiautomático/automático 3. oxigenación de los explantes 4. Aprovechamiento de espacio 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Precio (\$ 6960.00) 2. Uso de equipo específico 3. Dificil control de contaminación 	<p>Laboratorio de cultivos verdes, consultado: 11/08/2025 & Sharry <i>et al.</i>, 2015.</p>
FRASCOS GEMELOS	<ol style="list-style-type: none"> 1. Accesibilidad de materiales 2. Oxigenación de los explantes 3. Precio (\$1740.00) 4. Aprovechamiento de espacio 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Uso de materiales específicos 2. Dificil control de contaminación 	<p>Vitroplantas mexico, consultado el 11/08/2025 & Sharry <i>et al.</i>, 2015.</p>

2.1.9.3.1 Sistema de frascos gemelos (BIT)

El uso de sistemas BIT (**Figura 13**) a demostrado su eficiencia y alta productividad en plantas como *Vanilla planifolia* (Ramirez-Mosqueda *et al.*, 2016), frente a otros biorreactores como son Biorreactores de Inmersión por Gravedad (BIG) y Recipiente para Inmersión Temporal Automatizada (RITA®).

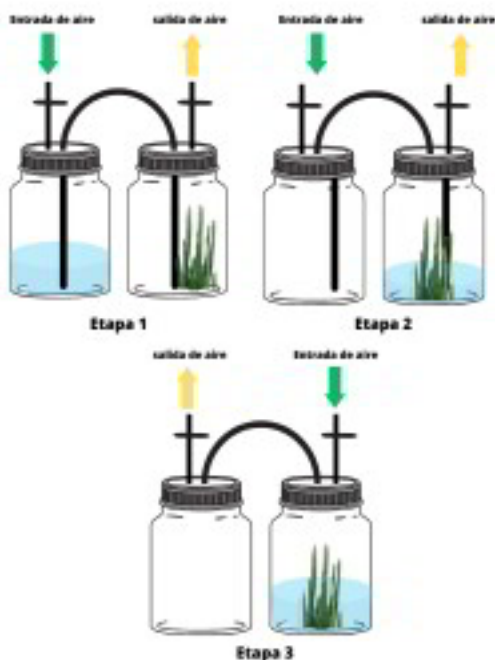


Figura 13. Diagrama de funcionamiento Frascos Gemelos

Estos sistemas destacan debido a que reducen los costos de producción de plantas contra métodos tradicionales (Ontaneda *et al.*, 2020). Se han usado diversos materiales como recipientes para contener el medio de cultivo y los explantes como PETG (Ramírez, 2021), Vidrio (Mercado-Hernandez *et al.*, 2023; Juarez Leon *et al.*, 2025 & Rangel-Soriano, 2024), y otros como policarbonato (Velázquez *et al.*, 2014) haciéndolos una opción exitosa en varios países, especialmente en proyectos de micropropagación de bajo presupuesto la ventaja de estos sistemas son su bajo costo, facilidad de instalación, buen rendimiento y que no necesita usar agentes solidificantes como el agar, reduciendo hasta en un 70% el costo de la preparación del medio debido a este (Pucchoa & Rujbaly, 1999). En cuanto a sus desventajas, hay que estar atentos a los tiempos de inmersión, porque un mal control puede afectar el desarrollo de los explantes generando problemáticas como la

hiperhidricidad (Mederos, 2021). Existen registros de que el sistema BIT tiene una mejor respuesta en la producción de plantas de *Vanilla planifolia* en comparación a sus otros competidores los cuales fueron el sistema RITA Y BIG, en este estudio se evaluaron aspectos como producción de brotes, raíces un punto esencial en los procesos *ex vitro* y supervivencia en aclimatación de los explantes en los cuales el sistema BIT presentó valores mayores en comparación a los demás sistemas evaluados (Ramírez-Mosqueda *et al.*, 2016). El sistema BIT es una opción adecuada para micropropagar plantas leñosas en especies como: *Castanea sativa* x *Castanea crenata* (Gago, 2022), *Juglans neotropica* (Rocano, 2017), *Quercus suber* (Jiménez, 2013), entre otras plantas leñosas.. Aunque el éxito de la propagación implica el uso de técnicas que requieren infraestructura compleja para su funcionamiento (Perugorría, 2012).



Figura 14. Biorreactores frascos gemelos

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Material vegetal

3.1.1 Obtención de material vegetal

El material vegetal fue obtenido del ejido San Jerónimo, Melchor Ocampo, Zacatecas, a partir de una planta madre. Su establecimiento *in vitro* se realizó en el Laboratorio de Biotecnología y Biología Molecular ubicado en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, ubicada en la localidad de Buenavista, Saltillo, Coahuila.

3.1.2 Selección de explantes

Se seleccionaron meristemos apicales, así como yemas apicales como explantes (**Figura 15**) para su establecimiento en medio MS (Murashige y skoog) según lo reportado por Bernadac, 2022.

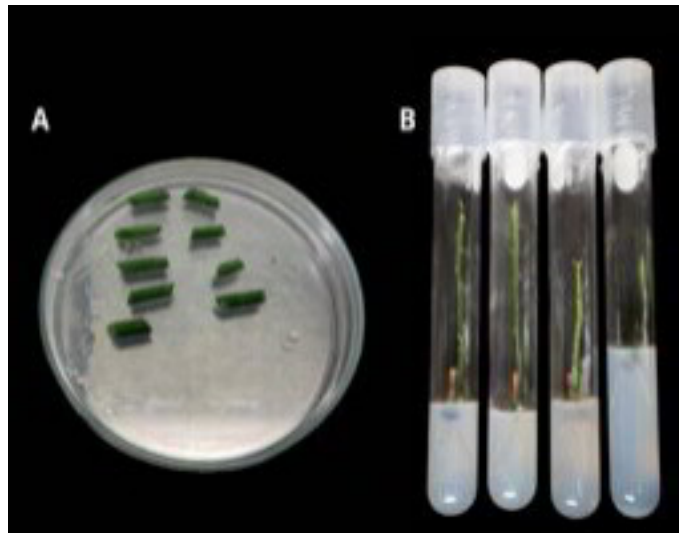


Figura 15. Explantes usados para siembra.

*A plantas sembradas día 0 y B plantas 60 días después de siembra

3.1.2.1 Desinfección de explantes

Los explantes fueron lavados con jabón comercial salvo y captán (N-triclorometiltio-4-ciclohexano-1,2-dicarboximida) 1.5 g. L^{-1} durante 15 minutos y se enjuagaron con agua

destilada, posteriormente se llevó a cabo la desinfección dentro de la campana de flujo laminar siguiendo el orden captán, cloro y alcohol como lo indica el **(Cuadro 5)**.

Cuadro 5. Desinfección de explantes.

Compuesto en (150 ml Agua)	Tiempo (Minutos)
Captán ($1.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$)	15
Cloro (25%)	20
Alcohol (70 %)	5

*Gramos por litro ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)

3.2 Establecimiento

3.2.1 Medio de cultivo para el establecimiento de explantes (meristemos y yemas)

El medio de cultivo empleado para el establecimiento fue el Murashige y Skoog al cual se le ajustó el pH a 5.7 en tubos de ensaye, se agregaron aproximadamente 25 ml de medio, siguiendo el protocolo propuesto por Bernadac, 2022 **(Cuadro 6)**.

Cuadro 6. Composición medio de cultivo.

Compuesto	Cantidad
Murashige y Skoog	$4.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$
Sacarosa	$30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$
Myo-inositol	$0.1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$
Plant Preservation Mixture	1 %
Agar	$7.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$
Azul de metileno	$1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$

*Gramos por litro ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) Microlitros de muestra por litro ($\mu\text{l} \cdot \text{L}^{-1}$).

El procedimiento de desinfección del medio de cultivo se realizó en una autoclave marca Novatech modelo EV-30 **(Figura 16)**, por un tiempo de 20 minutos a 20 PSI y una temperatura de 120 °C.



Figura 16. Autoclave vertical EV-30 Novatech

3.2.3 Siembra de yemas y meristemos

Se sembraron yemas axilares y meristemos apicales en tubos de ensaye (**Figura 17**), con un promedio de tamaño de 3 a 5 cm, posteriormente se incubaron a $24\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, con un fotoperiodo de 16 h luz y 8 h de oscuridad.

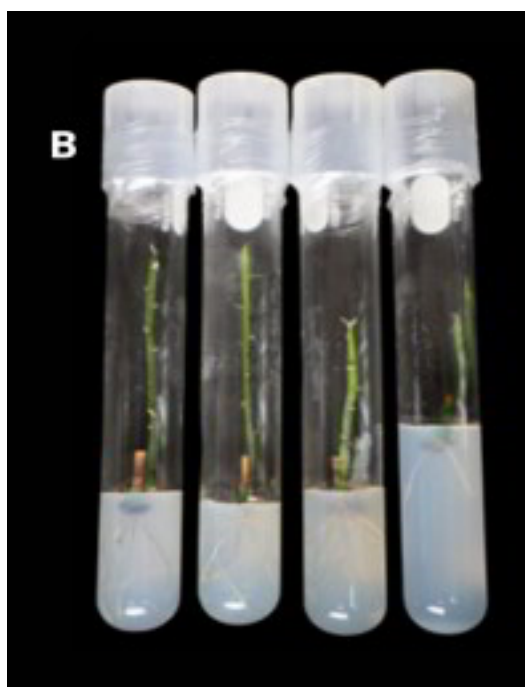


Figura 17. Germoplasma de candelilla

3.2.4 Estrategia experimental

3.2.4.1 Tratamientos

Se evaluaron 4 tratamientos con la variable de frecuencia de inmersión T1 (6 horas), T2 (12 horas), T3 (24 horas) y T4 (48 horas). Cada tratamiento constó de un tiempo de inmersión de 5 minutos y se instaló en un sistema de biorreactores gemelos. Cada tratamiento comprendía un sistema de frascos gemelos en el cual se establecieron nueve réplicas biológicas en duplicados.

3.2.4.2 Multiplicación en Sistema BIT

Se realizaron dos cortes transversales al brote, tomando como referencia la yema axilar para la multiplicación y fueron sembrados dentro del biorreactor con un medio WPM (McCown's Woody Plant) previamente reportado por Juárez-León (2024). (**Cuadro 7**). Cada biorreactor contenía 9 explantes de aproximadamente 1.0 ± 0.5 cm (**Figura 18**). Posteriormente, se incubaron a $24 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$, con un fotoperiodo de 16/8 horas luz-oscuridad, el medio de cultivo de los cuatro tratamientos se explica en el (**Cuadro 7**). Al cabo de 60 días de cultivo se valuó la longitud de la planta (mm), longitud de raíz (mm) y ancho tallo (mm).



Figura 18. Multiplicación por medio de sistemas de inmersión BIT

Cuadro 7: Tratamientos evaluados en sistemas de inmersión temporal BIT

COMPUESTO	T1	T2	T3	T4
McCown's Woody				
Plant Basal Salt Mixture	2.3 g. L ⁻¹	2.3 g. L ⁻¹	2.3 g. L ⁻¹	2.3 g. L ⁻¹
Sacarosa	30 g. L ⁻¹	30 g. L ⁻¹	30 g. L ⁻¹	30 g. L ⁻¹
Myo-inositol	0.1 g. L ⁻¹	0.1 g. L ⁻¹	0.1 g. L ⁻¹	0.1 g. L ⁻¹
Plant Preservation Mixture	1 %	1 %	1 %	1 %
AIA	1 mg. L ⁻¹	1 mg. L ⁻¹	1 mg. L ⁻¹	1 mg. L ⁻¹
KIN	1 mg. L ⁻¹	1 mg. L ⁻¹	1 mg. L ⁻¹	1 mg. L ⁻¹
Tiempo de inmersión	5 minutos	5 minutos	5 minutos	5 minutos
Frecuencia de inmersión	6 horas	12 horas	24 horas	48 horas

*Miligramos por litro (mg. L⁻¹), Acido indolacético (AIA), Kinetina (KIN) Microlitros por litro (µl. L⁻¹)

3.2.5 Diseño experimental

Se utilizó un diseño completamente al azar con un ANOVA ($\alpha \pm 0.05$) evaluando cuatro tratamientos con nueve réplicas biológicas por duplicado. Los datos fueron evaluados a los 60 días después de la siembra.

3.2.6 Análisis estadístico

Los datos se sometieron a un análisis de varianza y prueba de comparación de medias Tukey($\alpha=0.05$), utilizando el paquete estadístico STATISTICA 10 (StatSoft, 2014).

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los datos fueron evaluados durante 60 días después de la siembra, y se sometieron a un análisis de varianza. El (**Cuadro 8**) presenta las medidas de tendencia central y dispersión mostrando los resultados de cinco variables morfológicas que fueron evaluadas en explantes de candelilla: Longitud de planta (LP), Longitud de Raíz (LR), # Raíz (NR), # Brote (NB), y Ancho tallo (AT). El tratamiento 1, presentó valores nulos en todas las variables evaluadas, esta frecuencia de inmersión no permitió el establecimiento y desarrollo de los explantes bajo las condiciones necesarias.

Cuadro 8. Medidas de tendencia central y dispersión

Variable	Estadístico	T 1	T2	T 3	T4
Long planta (mm)	Mean	0.00	50.34	42.65	41.27
Long planta (mm)	Median	0.00	49.64	39.22	43.60
Long planta (mm)	Std	0.00	10.08	21.15	9.87
Long planta (mm)	Min	0.00	32.47	25.66	28.14
Long planta (mm)	Max	0.00	63.60	96.10	55.78
Long Raíz (mm)	Mean	0.00	4.49	20.46	21.52
Long Raíz (mm)	Median	0.00	0.00	0.00	0.00
Long Raíz (mm)	Std	0.00	9.30	31.12	30.11
Long Raíz (mm)	Min	0.00	0.00	0.00	0.00
Long Raíz (mm)	Max	0.00	25.54	81.28	87.49
Número de Raíces	Mean	0.00	0.33	1.11	1.11
Número de Raíces	Median	0.00	0.00	0.00	0.00
Número de Raíces	Std	0.00	0.71	1.45	1.36
Número de Raíces	Min	0.00	0.00	0.00	0.00
Número de Raíces	Max	0.00	2.00	3.00	3.00
Número de Brotes	Mean	0.00	1.67	1.67	1.56
Número de Brotes	Median	0.00	1.00	1.00	2.00
Número de Brotes	Std	0.00	0.87	1.41	0.53
Número de Brotes	Min	0.00	1.00	1.00	1.00
Número de Brotes	Max	0.00	3.00	5.00	2.00
Ancho tallo (mm)	Mean	0.00	1.43	2.06	1.70
Ancho tallo (mm)	Median	0.00	1.51	1.71	1.71
Ancho tallo (mm)	Std	0.00	0.29	0.96	0.36
Ancho tallo (mm)	Min	0.00	0.92	1.07	1.22
Ancho tallo (mm)	Max	0.00	1.82	4.35	2.36

Esta situación refleja una inhibición completa del desarrollo de los explantes, mostrando signos de necrosis (**Figura 19**) producto de la hiperhidricidad, esta problemática a sido reportada por (Etienne & Berthouly, 2002 & George, 2008) en la propagación por biorreactores, desencadenando reacciones como hipoxia en el tejido vegetal. Se tienen reportes de comportamientos similares en *Stevia rebaudiana*, donde en frecuencias de 6 horas se presentan signos de clorosis en los explantes, así como una alta incidencia de hiperhidricidad en ambas frecuencias, generando hasta un 100 % de hiperhidricidad en estas frecuencias con volúmenes de medio de cultivo de 200ml- 300 ml, aunque con la diferencia de que se reportó un desarrollo en los explantes (Bayraktar & Meltem, 2019). Estos resultados permiten inferir que altas frecuencias de inmersión inducen un estrés abiótico severo, comprometiendo la viabilidad celular y generando procesos de oxidación e hiperhidricidad en los explantes como a sido reportado por (Ávila, 2021) en la propagación de *Mammillaria Luthy*, así como en especies como *Pineo gigante* mediante biorreactores RITA.



Figura 19. Explantes evaluados del tratamiento 1

El **Tratamiento 2**, fue el que registró la mayor media en longitud de planta ($50.34 \text{ mm} \pm 0.34 \text{ mm}$). Este valor se clasificó de forma exclusiva en el grupo “b” en el (**Cuadro 6**) para LP ($50.34 \pm 0.34 \text{ mm}$, destacando de manera significativa sobre los demás

tratamientos, esto sugiere que una frecuencia intermedia de inmersión permite mantener un balance correcto entre la hidratación del explante y la disponibilidad de oxígeno, promoviendo de forma eficiente la elongación celular y el crecimiento axial. Estudios previos en piataya han reportado resultados similares en frecuencias de 12 h coincidiendo con el T2. En la que se han presentado el mayor crecimiento vegetativo (Rangel-Soriano, 2023) (**Figura 20**). Además, T2 y T3 compartieron el valor más alto en número de brotes (1.67), aunque sin diferencia estadística en esta variable (**Cuadro 6**: 1.67, B). Este comportamiento coincide con lo reportado en estudios en *Eucalyptus globulus* donde se presentó que en la frecuencia de inmersión de 12 horas presentó la mayor proliferación de brotes concordando con el T2 (González *et al.*, 2011). También en el estudio se hace énfasis a la hiperhidricidad donde presentó un 53.2% de hiperhidricidad. El uso de reguladores de crecimiento como AIA favorecieron la diferenciación de nuevos brotes (Sharry, 2015). En combinación con el uso de citoquininas como fue kinetina, resultaron en la elongación, así como en la multiplicación de brotes dichas combinaciones Auxinas-Citoquininas a resultado favorables en otros cultivos (Pierik, 1990 & Sousa & Miranda, 2006).



Figura 20. Explantes evaluados del tratamiento 2

El **Tratamiento 3**, se posicionó como el más integralmente eficiente desde el punto de vista morfológico (**Figura 21**). Este tratamiento fue estadísticamente superior en variables críticas como ancho de tallo, 2.06 mm, grupo “c” en (**Cuadro 6**) y número de raíces 1.11, grupo “b” en (**Cuadro 6**). Asimismo, alcanzó una longitud de planta comparable a la del T4, sin diferencias significativas (grupo “bc” en (**Cuadro 6**): 42.65, BC). Este comportamiento concuerda con lo reportado en la propagación de *Eucalyptus globulus* donde en inmersiones mayores a 12 horas la tasa de multiplicación de brotes, así como su desarrollo se vio disminuido en comparación con T1 y T4 teniendo una considerable disminución de la hiperhidricidad en los explantes (González *et al.*, 2011). El incremento en grosor del tallo sugiere una mayor actividad en los meristemas secundarios o mayor lignificación, lo cual tiene un papel relevante para la resistencia mecánica y la supervivencia en etapas posteriores de aclimatación debido a esto el uso de plantas morfológicamente desarrolladas a sido clave en la aclimatación de plantas forestales (Indacochea-Ganchozo *et al.*, 2017). Además, la mayor inducción de raíces observada en el T3 indica un potencial fisiológico superior para la formación de sistemas radiculares funcionales, para una incidencia en la producción de raíces, este comportamiento es fundamental para el éxito en la transición *ex vitro* debido a esto se ve resaltado el uso de las citoquininas en combinación con auxinas para la multiplicación y crecimiento de plantas maderables como *Myroxylon balsamum*, *Tabebuia crhysantha* y *Tabebuia billbergii* (Indacochea *et al.*, 2018), debido a que es una frecuencia prolongada, pero no tan extrema comparado al T4 .



Figura 21. Explantes evaluados del tratamiento 3

El **Tratamiento 4** mostró un comportamiento estadísticamente equiparable al de T3 en número y longitud de raíces (**Cuadro 6:** 1.11, b para NR; 21.52, c para LR). Sin embargo, se apreció una pequeña disminución en la formación de brotes y elongación del tallo, dicho comportamiento coincide a lo reportado en pitaya donde hubo una disminución en la proliferación de brotes, así como el crecimiento de estos (Rangel-Soriano, 2023). A pesar de ello, los valores obtenidos en LP ($41.27 \text{ mm} \pm 0.34 \text{ mm}$), NB (1.56) y AT ($1.70 \text{ mm} \pm 0.34 \text{ mm}$) permiten considerarlo un tratamiento eficaz, con la ventaja de que presenta una uniformidad en lo tamaño de los explantes lo que podría ser favorable en sistemas de producción donde la homogeneidad fenotípica es de interés, esto es contrastado por lo reportado y discutido por (Ramírez- Mosqueda. *et al.*, 2019) donde se menciona que el éxito o el correcto empleo de un sistema de inmersión temporal va más allá del sistema, englobando todos los factores posibles, como especificidad del cultivo, sistema, espacio, luz, agua y nutrientes.

Por otro lado, el Tratamiento 3 mostró una respuesta balanceada, generando brotes, produciendo elongación, engrosamiento de tallo e inducción radicular, por lo que representa el régimen de inmersión más eficiente desde un enfoque integral de

regeneración *vegetal in vitro* en candelilla (Martinez- Arroyo 2023) donde se menciona que en el sistema BIT presentó un bajo índice de estomas cerrados, debido a la hipoxia causada por la demasiada exposición creando un ambiente hipóxico para los explantes generando perdida de biomasa y necrosis esto en frecuencias menores a 12 horas.



Figura 22. Explantes evaluados del tratamiento 4

Cuadro 9 Prueba de medias de las variables evaluadas.

TRAT	NB	NR	AT	LR	LP
1	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a
2	1.67 b	0.33 a	1.43 b	4.49 b	50.34 b
3	1.67 b	1.11 b	2.06 c	20.46 c	42.65 bc
4	1.56 b	1.11 b	1.70 b	21.52 c	41.27 bc

*Letras iguales denotan que no existe significancia estadística con $p > 0.05$, Número de brotes NB, número de raíces NR, ancho de tallo AT, longitud de raíz LR y longitud de planta LP.

Se estableció una correlación positiva y significativa entre el número de raíces (NR) y la longitud de raíz (LR), con un coeficiente de correlación de $r = 0.92$. Este hallazgo indica que los explantes que desarrollaron una mayor cantidad de raíces también exhibieron una elongación radicular superior esta correlación entre variables a sido reportada por Fallahpour *et al.* (2015) en plantas de *Prunus cerasus*. Esta asociación sugiere que el

proceso de rizogénesis en la candelilla no solo se manifiesta en la frecuencia de formación de raíces, sino también en la calidad estructural del sistema radicular. Ambos parámetros se vieron optimizados en respuesta a tratamientos con una frecuencia de inmersión adecuada. Estos resultados concuerdan con los hallazgos de Chávez-García *et al.* (2018), quienes reportaron que el crecimiento de raíces en sistemas de biorreactor puede ser hasta cuatro veces mayor en comparación con el cultivo en medio semisólido. Este incremento en el desarrollo radicular puede atribuirse a la mejor disponibilidad de nutrientes y la oxigenación del medio de cultivo que proporcionan los sistemas de inmersión temporal estas asociaciones se han reportado por Cui *et al.* (2010) en la que asocia la oxigenación de las plantas y la producción de raíces adventicias. Adeca se encontró concordancia con el uso de Kinetina en dicho artículo, exhibiendo una asociación entre los parámetros.

Se identificó una correlación positiva considerable entre el número de brotes (NB) y el ancho de tallo (AT), con un coeficiente de correlación de $r = 0.77$. Este hallazgo indica que la inducción de una mayor cantidad de brotes se asocia con un aumento en el crecimiento radial del tallo principal. Este fenómeno puede interpretarse como una respuesta morfológica a una mayor actividad meristemática y a la necesidad de sostén estructural para soportar el incremento en la biomasa aérea (Vidal & Sánchez, 2019).

Estos resultados son consistentes con lo reportado por Ramírez-Mosqueda *et al.*, 2019, quienes observaron un comportamiento similar en el uso de citoquinas, fotoperiodos y tipos de biorreactor. El sistema de inmersión temporal (SIT) utilizado en el presente estudio indujo una mayor cantidad de brotes y, consecuentemente, resultó en una mayor biomasa en los explantes. Esta observación apoya de manera indirecta la relación entre la cantidad de brotes y el crecimiento radial del tallo, confirmando que la optimización de las condiciones de cultivo en el SIT favorece un desarrollo vegetal más robusto e integral estos resultados han sido evidenciados por Ramírez-Mosqueda *et al.* (2019) en el uso de hormonas vegetales como citoquininas y condiciones similares a de fotoperiodo y tipo de biorreactor.

La variable longitud de planta (LP) también exhibió correlaciones significativas. Se encontró una correlación positiva con la longitud de raíz (LR), con un coeficiente de $r = 0.74$, lo que sugiere que el crecimiento de la parte aérea y el sistema radical son procesos interdependientes (Fallahpour *et al.*, 2015). Esta relación puede interpretarse bajo la premisa de que una mayor superficie radicular optimiza la absorción de agua y nutrientes, lo que a su vez favorece la elongación del tallo y el desarrollo foliar (Cui *et al.*, 2010). No obstante, esta interdependencia no es universalmente aplicable, y se presentaron ciertas discrepancias en este estudio. Aunque se observó esta relación, es importante contrastar nuestros hallazgos con los de otros autores. Bernadac (2022), por ejemplo, no reportó un crecimiento radicular significativo en sus experimentos, tanto en sistemas de inmersión RITA como en medio semisólido, el crecimiento vegetativo de dicho estudio osciló entre los 30.17- 3.16 mm bajo el uso medio MS. Para el presente estudio se observaron máximos de hasta 50.34 mm, bajo el uso del medio Woody plant WPM bajo el uso de biorreactores gemelos lo que evidencio que el uso de medio WPM, en combinación con auxinas favorece el crecimiento de raíces y tallos en especies leñosas (Lin *et al.*, 1995 & Hector *et al.*, 2024).

En contraste, se identificaron interacciones débiles entre otras combinaciones de variables. Por ejemplo, la correlación entre la longitud de la raíz (LR) y el número de brotes (NB) fue de $r=0.17$, lo que indica una relación casi nula entre estos dos procesos morfológicos. La formación de brotes no necesariamente promueve, ni se ve afectada por la formación de raíces, al menos no de forma directa bajo las condiciones experimentales evaluadas. Estos resultados son consistentes con los de Ramírez-Mosqueda *et al.* (2019), quienes reportaron que el sistema de inmersión RITA mostró el valor más bajo de número de brotes, pero presentó un éxito del 99% en el enraizamiento y la aclimatación. La convergencia de estos estudios en el uso de citocininas y el fotoperiodo es notable, en comparación con lo reportado por Bernadac (2022), y para nuestra evaluación se logró un crecimiento de hasta 50.34 mm utilizando un sistema de frascos gemelos.

Se ha identificado una correlación moderada ($r=0.65$) entre el número de raíces (NR) y el ancho del tallo (AT). Este hallazgo sugiere una vinculación estructural entre el desarrollo

del sistema radicular y el engrosamiento del tallo. Estos resultados concuerdan con los de Lawson, 2022, quien demostró que los brotes con un mayor número de raíces también presentaban un diámetro de tallo superior, lo que indica una correlación positiva entre ambos parámetros. Por otra parte, la relación entre el número de brotes (NB) y la longitud de la planta (LP) mostró un valor de $r=0.60$. Esto indica una tendencia a que los explantes con una mayor brotación también experimenten una mayor elongación general, aunque con una variabilidad moderada. Ambas afirmaciones están respaldadas por los hallazgos de Juárez-León et al. (2024), quienes observaron estos mismos comportamientos en explantes cultivados en un medio semisólido WPM.

El análisis en conjunto indica una sinergia significativa entre variables clave como NR-LR, NB-AT y LR-LP, las cuales deben ser consideradas como indicadores integrales del éxito en protocolos de propagación *in vitro*. Por otro lado, las asociaciones bajas como NB-LR sugieren una independencia relativa entre ciertos procesos de diferenciación. Este hallazgo es crucial para el diseño de estrategias de estimulación dirigida, como el uso diferenciado de reguladores de crecimiento para la organogénesis y la rizogénesis. Estos resultados coinciden con los de Abdella *et al.* (2023), quienes reportaron que la aplicación de cinetina (3.0 mg L^{-1}) en combinación con ácido indolacético (AIA) (1.0 mg L^{-1}) resultó en un mayor número de brotes. Subsecuentemente, para el enraizamiento, la utilización de un medio MS suplementado con $1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ de AIA indujo un desarrollo radicular adecuado, mostrando diferencias significativas. Esta interacción se explica por la naturaleza de los reguladores de crecimiento, donde altas concentraciones de citocininas pueden inhibir la formación de raíces, mientras que las auxinas promueven su desarrollo (Sharry, 2015).

V. CONCLUSIONES

La inmersión con una periodicidad de 24 horas optimiza el desarrollo vegetativo de *Euphorbia antisyphilitica* en términos de longitud de planta y formación de brotes adventicios, en comparación con frecuencias más cortas (8 y 12 horas), las cuales inducen condiciones de hipoxia en el tejido, lo que limita la elongación y la organogénesis. En este estudio, la frecuencia de 24 horas permitió la obtención de brotes con longitudes de hasta 42.65 mm en un periodo de 60 días.

En contraste, frecuencias de inmersión prolongadas (48 horas) generaron deficiencias en la absorción de nutrientes, presumiblemente por la disminución en la disponibilidad hídrica y el retraso en el suministro de compuestos esenciales.

Estos resultados evidencian que la frecuencia de inmersión constituye un factor crítico para la eficiencia del sistema de inmersión temporal (BIT), al regular el balance entre hidratación, oxigenación y la activación de rutas de desarrollo organogénico. Se recomienda la realización de estudios adicionales que incluyan variaciones intermedias y extremas en los tiempos de inmersión, con el fin de caracterizar la respuesta morfogénica y fisiológica de los explantes bajo dichas condiciones experimentales.

VI. LITERATURA CITADA

- Abdella, B., Yusuf, Z., & Petros, Y. (2023). Optimization of hormonal compositions of media for in vitro propagation of apple (*Malus× domestica* Borkh.) cultivars. *The Open Biotechnology Journal*, 17(1).
- Afreen, F. (2008). *Temporary Immersion Bioreactor BT -Plant Tissue Culture Engineering* (S. D. Gupta & Y. Ibaraki (eds.); pp. 187–201). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-3694-1_11
- Alcantara-Cortes, J. S., Acero Godoy, J., Alcántara Cortés, J. D., & Sánchez Mora, R. M. (2019). Principales reguladores hormonales y sus interacciones en el crecimiento vegetal. *Nova*, 17(32), 109–129.
- Alvarado, C. J. C., Galindo, A. S., Bermúdez, L. B., Berumen, C. P., Orta, C. Á., & Garza, J. A. V. (2013). Cera de Candelilla y sus aplicaciones. *Avances en química*, 8(2), 105-110.
- Alvarado-Vázquez, M. A., Foroughbakhch, R., Guzmán-Lucio, M. A., Rocha-Estrada, A., Hernández-Piñero, J. L., Cárdenas-Ávila, M. L., & Soto-García, B. M. (2015). Efecto de la madurez del fruto, peso de la semilla y tiempo de almacenamiento en la viabilidad y germinación de la semilla de candelilla (*Euphorbia antisiphilitica* Zucc.). *Phyton (Buenos Aires)*, 84(1), 70-79.
- Ascacio-Valdés, J., Burboa, E., Aguilera-Carbo, A. F., Aparicio, M., Pérez-Schmidt, R., Rodríguez, R., & Aguilar, C. N. (2013). Antifungal ellagitannin isolated from *Euphorbia antisiphilitica* Zucc. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(1), 41–46.
- AVILA REBOLLAR, F. (2007). *LA CANDELILLA (Euphorbia Antisyphilitica zucc.) EN EL NORTE DE ZACATECAS*.
- Ávila, V. M. C. (2021). *Control de la Hiperhidricidad y consolidación de brotes regenerados in vitro de Mammillaria luethyi*. UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.
- Bañuelos-Revilla, J. E., Palacio-Núñez, J., Martínez-Montoya, J. F., Olmos-Oropeza, G., & Flores-Cano, J. A. (2019). Distribución potencial y abundancia de candelilla

- Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura (FACENA) 2012. Universidad Nacional del Nordeste. Guía de consultas diversidad vegetal. EUDICOTILEDÓNEAS ESCENCIALES-Clado RosidesEurosides I-Malpighiales: Euphorbiaceae. pp. 61.
- Fallahpour, M., Miri, S. H., & Bouzari, N. (2015). In vitro propagation of ‘Gisela 5’ rootstock as affected by mineral composition of media and plant growth regulators. *Journal of Horticultural Research*, 23(1).
- Flores del Ángel, M. de la L. (2013). *Situación actual de las poblaciones de Candelilla (Euphorbia antisiphilitica Zucc): Inventario, su propagación sexual y asexual en el estado de Coahuila, México* [Universidad Autónoma de Nuevo León]. <http://eprints.uanl.mx/3425/>
- Garay-Arroyo, A., de la Paz Sánchez, M., García-Ponce, B., Álvarez-Buylla, E. R., & Gutiérrez, C. (2014). La homeostasis de las auxinas y su importancia en el desarrollo de *Arabidopsis thaliana*. *Revista de Educación Bioquímica*, 33(1), 13–22.
- García del Moral Garrido, L. F. (2021). Biotecnología vegetal: fundamentos y aplicaciones. *Biotecnología Vegetal: Fundamentos y Aplicaciones*.
- George, E. F., Hall, M. A., & De Klerk, G.-J. (2008). Plant propagation by tissue culture 3rd Edition. *The Netherland, The Back Ground Springer*, 65–175.
- González, R., Ríos, D., Avilés, F., & Sánchez-Olate, M. (2011). Multiplicación in vitro de *Eucalyptus globulus* mediante sistema de inmersión temporal. *Bosque (Valdivia)*, 32(2), 147–154.
- González-López, H. D., González-Uribe, D. U., & Sandoval-García, R. (2024). Sobrevivencia de una plantación de *Euphorbia antisiphilitica* Zucc. al norte de Zacatecas. *Investigación y Ciencia de La Universidad Autónoma de Aguascalientes*, 93.
- Hector, E., Cevallos, D., Corozo, L., Macías, F., & Fosado, O. (2024). Development of a protocol for the micropropagation of two forest species threatened with extinction in Ecuador. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 159(1), 2.
- Indacochea, B., Parrales, J., Hernández, A., Castro, C., Vera, M., Zhindón, A., & Gabriel, J. (2018). Evaluación de medios de cultivo in vitro para especies forestales nativas en peligro de extinción en Ecuador. *Agronomía Costarricense*, 42(1), 63–89.
- Indacochea-Ganchozo, B., Parrales-Villacreses, J., Castro-Piguave, C., Vera-Tumbaco, M., & Gabriel-Ortega, J. (2017). Aclimatación in vitro de especies forestales nativas del Sur de Manabí en peligro de extinción. *Journal of the Selva Andina Research Society*, 8(2), 124–134.

- Instituto de la Candelilla. (2025). *cera de candelilla*. <https://candelilla.org/cera-de-candelilla>
- Instituto de la Candelilla. (2013). *Cera de Candelilla: Fabricación*. https://www.Candelilla.Org/?Page_Id=87&Lang=Es. <https://candelilla.org/cera-de-candelilla>
- Instituto de la Candelilla. (2008). *La planta de candelilla*.
- Juárez León, E., Tafolla Arellano, J. C., Rueda Puente, E. O., Rodríguez Ibarra, M. A., & Acuña Álvarez, S. P. (2025). *Evaluación de medios de cultivo para la propagación in vitro de candelilla (euphorbia antisiphilitica zucc.)* [Saltillo, Coahuila, México Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro]. <http://repositorio.uaaan.mx:8080/handle/123456789/50068>
- Lawson, J. (2022). *In Vitro Rooting Techniques In Prunus Spp. for Propagation And Disease Screening for Armillaria Root Rot (ARR) Resistance*.
- Levitus, G., Echenique, V., Rubinstein, C., Hopp, E., & Mroginski, L. (2010). *Biotecnología y Mejoramiento Vegetal II* (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (ed.); 2nd ed.).
- Lin XiaoHong, L. X., Bergmann, B. A., & Stomp, A. M. (1995). *Effect of medium physical support, shoot length and genotype on in vitro rooting and plantlet morphology of sweetgum*.
- López Cortés, B. (2007). Producción de plantula de candelilla (*Euphorbia antisiphilitica* Zucc) por hijuelos: dosis de fertilización y aplicación de riegos.
- López, G., & Cano, J. (2021). *Alcances y perspectivas del área de biotecnología vegetal del Ciatej en el Sureste de México*. Guadalajara. México: CIATEJ.
- Martínez Arroyo, M. C. (2023). *Micropropagación de pitahaya (Hylocereus undatus) en Sistemas de Inmersión Temporal*.
- Maycotte-de la Peña, M. L., Robles-Parra, J. M., & Tafolla-Arellano, J. C. (2021). Prácticas para un desarrollo local sustentable en comunidades rurales candelilleras, el caso de dos ejidos de Coahuila, México. *Agraria*, 18(3), 51–60.
- Mederos, M. de los Á. T. (2021). Efectos de la hiperhidricidad sobre la regeneración de ápices crioconservados de ajo (*Allium sativum* L.). *Agrotecnia de Cuba*, 45(2), 1–14.
- Mercado Hernández, D., & Tafolla Arellano, J. C. (2023). *Micropropagación in vitro de pitaya (Stenocereus thurberi) mediante sistemas de inmersión temporal (SIT)*.

- México, V. (2025). *No Title*. <https://vitroplantas.mx/sitio/producto/biorreactor-de-inmersion-temporal-bit-11/>
- Morales-Hernández, M. (2015). Evaluación de las propiedades de candelilla y carnauba para su aplicación en emulsiones ceras de uso comercial. *Instituto Politécnico Nacional*.
- Multiceras. (2025). *Tipos de ceras y emulsiones ideales para la industria textil*.
- Muñiz, R. (2018). La propagación in vitro de plantas con Sistemas de Inmersión Temporal. Una Tecnología Apropriada para la agricultura sustentable. In *Rev. Tekhné* (Vol. 21).
- Muñoz-Ruiz, C. V., López-Díaz, S., Covarrubias-Villa, F., Villar-Luna, E., Medina-Medrano, J. R., & Barriada, L. G. (2016). Effect of abiotic stress conditions on the wax production in candelilla (*Euphorbia antisiphilitica* zucc.). *Revista Latinoamericana de Química*, 1, 26–33.
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15(3).
- Núñez-García, I. C., Rodríguez-Flores, L. G., Guadiana-De-Dios, M. H., González-Hernández, M. D., Martínez-Ávila, G. C. G., Gallegos-Infante, J. A., González-Laredo, R., Rosas-Flores, W., Martínez-Gómez, V. J., & Rojas, R. (2022). Candelilla wax extracted by traditional method and an ecofriendly process: assessment of its chemical, structural and thermal properties. *Molecules*, 27(12), 3735.
- Ochoa, E., Saucedo-Pompa, S., Rojas-Molina, R., Garza, H. D. L., Charles-Rodríguez, A. V., & Aguilar, C. N. (2011). Evaluation of a candelilla wax-based edible coating to prolong the shelf-life quality and safety of apples.
- Ontaneda, A. L. C., Herrera, A. M., & Batista, R. M. G. (2020). Eficiencia del sistema de inmersión temporal frente al método de propagación convencional in vitro. *Revista Metropolitana de Ciencias Aplicadas*, 3(2), 173–182.
- ONU. (1992). *Convenio sobre la Diversidad Biológica*. <https://www.cbd.int/doc/legal/cbd-es.pdf>
- Perugorría Larroque, M. (2012). *Desarrollo de una técnica para micropropagación de especies leñosas en biorreactores*.
- Pierik, R. L. M. (1990). *Cultivo in vitro de las plantas superiores*.
- Porta, H., & Jiménez-Nopala, G. (2019). Papel de las hormonas vegetales en la regulación de la autofagia en plantas. *TIP. Revista Especializada En Ciencias Químico-Biológicas*, 22.

- Puchooa, D., Purseramen, P. N., & Rujbally, B. R. (1999). Effects of medium support and gelling agent in the tissue culture of tobacco (*Nicotiana tabacum*). *University of Mauritius Research Journal*, 3, 129–144.
- Ramírez López, E. (2022). Modelo de predicción de volumen de cera de candelilla (*Euphorbia antisiphilitica* Zucc.) extraída en tres Ejidos del Estado de Coahuila.
- Ramírez, J. G. V. (2021). *Empleo de Biorreactores de Inmersión Temporal (BIT) para la multiplicación in vitro de vainilla (Vanilla planifolia Andrews) y su caracterización morfogénica*.
- Ramírez-Mosqueda, M. A., Cruz-Cruz, C. A., Cano-Ricárdez, A., & Bello-Bello, J. J. (2019). Assessment of different temporary immersion systems in the micropropagation of anthurium (*Anthurium andreanum*). *3 Biotech*, 9(8), 307.
- Ramírez-Mosqueda, M. A., & Iglesias-Andreu, L. G. (2016). Evaluation of different temporary immersion systems (BIT®, BIG, and RITA®) in the micropropagation of *Vanilla planifolia* Jacks. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 52, 154–160.
- Rangel Soriano, S., & Tafolla Arellano, J. C. (2024). *Micropropagación in vitro de pitaya (Stenocereus thurberi) mediante sistemas BIT*.
- Rocano Curillo, M. N. (2017). *Eficiencia de la multiplicación in vitro de Juglans neotrópica (nogal) en Biorreactores de Inmersión Temporal (BIT)*.
- Rocha-Estrada, A., Foroughbakhch-Pournavab, R., Guzmán-Lucio, M. A., & Alvarado-Vázquez, M. A. (2021). Candelilla, *Euphorbia antisiphilitica* Zucc., aprovechamiento tradicional en el Norte de México. *Revista CienciaUANL*, 24(110), 19–28.
- Rojas Molina, R., Saucedo Pompa, S., De León Zapata, M. A., Jasso Cantú, D., & Aguilar, C. N. (2011). Pasado, presente y futuro de la candelilla. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 2(6), 7–18.
- Rosales Maldonado, E., Rodríguez De Francisco, L. E., Alvarado-Gómez, O. G., & Cárdenas Cerda, M. E. (2003). Diseño y Construcción de un sistema de inmersión temporal. <https://www.researchgate.net/publication/278028054>
- Sajjad, Y., Jaskani, M. J., Asif, M., & Qasim, M. (2017). Application of plant growth regulators in ornamental plants: a review. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 54(2).
- Salvador, M. M. (2013). ecología y usos de especies forestales de interés comercial de las zonas áridas de México.

- Sharry, S. (2015). *Plantas de probeta*. Editorial de la Universidad Nacional de La Plata (EDULP).
- Sousa, C. M., & Miranda, R. M. (2006). Otimização do balanço entre auxina e citocinina para multiplicação in vitro de *Gerbera jamesonni* var. 'Ornela.' *Revista Agronomia*, 40(1–2), 66–72.
- StatSoft, I. (2011). *STATISTICA 10*.
- Steinmann, V. W. (2002). Diversidad y endemismo de la familia Euphorbiaceae en México. *Acta Botanica Mexicana*, 61, 61–93.
- Suárez Padrón, I. E. (2020). *Cultivo de tejidos vegetales*. Fondo Editorial-Universidad de Córdoba. [chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://repositorio.unicordoba.edu.co/server/api/core/bitstreams/5eacebea-f261-4e7b-8ca8-67f37ba9d7fb/content](https://repositorio.unicordoba.edu.co/server/api/core/bitstreams/5eacebea-f261-4e7b-8ca8-67f37ba9d7fb/content)
- Taiz, L., Zeiger, E., Møller, I. M., & Murphy, A. S. (2015). Plant physiology and development. In *Oxford University Press*. Oxford University Press. <https://www.oxfordsciencetrove.com/display/10.1093/hesc/9780197614204.001.0001/isbn-9780197614204>
- Trujillo-Roldan, M. A., & Valdez-Cruz, N. A. (2009). THE USE OF DISPOSABLE BIOREACTORS IN THE BIOPHARMACEUTICAL INDUSTRY AND ITS IMPLICATIONS ON ENGINEERING. *DYNA-COLOMBIA*, 76(158), 275-U3.
- Valencia, E. A. C., Ibarra, M. A. I., López, M. C. A. R., & Ávalos, J. E. (2008). Técnicas de producción de plantas de candelilla por semilla, estaca e hijuelos. *INIFAP*, 13. [chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/http://189.194.30.186/demo/modulo/Folletos tecnicos/2008/13_Técnicas de Producción de Plantas de Candelilla por Semilla, Estaca e Hijuelos.pdf](http://189.194.30.186/demo/modulo/Folletos%20tecnicos/2008/13_T%C3%A9cnicas%20de%20Producci%C3%B3n%20de%20Plantas%20de%20Candelilla%20por%20Semilla%20Estaca%20e%20Hijuelos.pdf)
- Vargas-Piedra, G., Valdez-Cepeda, R. D., López-Santos, A., Flores-Hernández, A., Hernández-Quiroz, N. S., & Martínez-Salvador, M. (2020). Current and future potential distribution of the xerophytic shrub candelilla (*Euphorbia antisiphilitica*) under two climate change scenarios. *Forests*, 11(5), 530.
- Velázquez, J. H. C., Bello, J. J. B., Gonzales, M. L. O., Echeverría, M. C. S. T. E., Turriza, H. O. G., Chan, M. A. C., Campeche, C. de P. C., Córdoba, C. de P. C., & Campeche, F. P. (2014). *COLEGIO DE POSTGRADUADOS*.
- Verdes, L. de cultivos. (2025). *Laboratorio de cultivos verdes*. <https://laboratoriocultivosverdes.com.mx/biorreactores/112-rita-sistema-de-inmersion-temporal.html>

- Vidal, N., & Sánchez, C. (2019). Use of bioreactor systems in the propagation of forest trees. *Engineering in Life Sciences*, 19(12), 896–915.
- Villa-Castorena, M., Catalán-Valencia, E. A., Inzunza-Ibarra, M. A., González-López, M. de L., & Arreola-Ávila, J. G. (2010). Producción de plántulas de candelilla (*Euphorbia antisiphilitica* Zucc.) mediante estacas. *Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y Del Ambiente*, 16(1), 37–47.
- Zamora Martínez, M. C., Méndez Espinoza, C., Pérez Miranda, R., & Cortés Barrera, E. N. (2013). *Euphorbia antisiphilitica* Zucc.: recurso forestal no maderable de alto valor económico.
- Zorrilla Cisneros, C., Fernández Huaytalla, E., Amasifuen Guerra, C. A., & García Nieves, L. A. (2019). *Manual de conservación in vitro en el Banco de Germoplasma del INIA*.