

ISSNe: 2007-526X

REVISTA CHAPINGO SERIE ZONAS ÁRIDAS



Vol. 24, enero-diciembre 2025

Revista Chapingo Serie Zonas Áridas, Volumen 24, enero-diciembre 2025, es una revista anual de publicación continua editada por la Universidad Autónoma Chapingo, a través de la Coordinación de Revistas Institucionales de la Dirección General de Investigación, Posgrado y Servicio. Oficina 114, edificio Dr. Efraím Hernández X., carretera México-Texcoco km 38.5, Chapingo, Texcoco, Estado de México, C. P. 56230, Tel. +52 (595) 952 1569 y +52 (55) 5133 1108, ext. 1569, https://revistas.chapingo.mx/zonas_aridas/, chapingo.rchsza@gmail.com. Editor responsable: M. C. Sandra Patricia Maciel Torres

Reserva de Derechos al Uso Exclusivo: 04-2024-051412551800-102, e-ISSN: 2007-526X, ambos otorgados por el Instituto Nacional del Derecho de Autor.

Responsable de la última actualización de este número: Coordinación de Revistas Institucionales de la Universidad Autónoma Chapingo, Dr. Juan Enrique Rodríguez Pérez, Oficina 114, edificio Dr. Efraím Hernández X., carretera México-Texcoco km 38.5, Chapingo, Texcoco, Estado de México, fecha de la última modificación, 15 de noviembre de 2025.

Revista Chapingo Serie Zonas Áridas

Volumen 24, enero-diciembre 2025

Contenido

doi: <https://doi.org/10.5154/r.chsza.2025.07.05>

Milk yield and fatty acid profile in milk of small dairy ruminants supplemented with hemp (*Cannabis sativa* L.) seed products: A meta-analysis

Juan Eduardo Godina-Rodríguez, Jonathan Raúl Garay- Martínez, José Felipe Orzuna-Orzuna, Alejandro Lara-Bueno, Pedro Abel Hernández-García, Gabriela Vázquez-Silva

doi: <https://doi.org/10.5154/r.chsza.2025.07.06>

Physical and physiological quality of native grass ecotypes from the Tamaulipas Highlands for the rehabilitation of semiarid areas

Jesús E. Ochoa-Lechuga, Edith Ramírez-Segura, Fernando Lucio-Ruiz, Santiago Joaquín-Cancino, Benigno Estrada-Drouaillet, Andrés G. Limas-Martínez, Jonathan R. Garay-Martínez

doi: <https://doi.org/10.5154/r.chsza.2023.03.002>

Associations of anthropometric markers of white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) with serum metabolites and minerals

Francisco A. Rodríguez-Huerta, José Eduardo García-Martínez, Oscar A. García, Viridiana Contreras, Jesús Mellado, Miguel Mellado

doi: <https://doi.org/10.5154/r.chsza.2025.04.03>

Assessment of plant extract from the Chihuahuan Desert against *Fusarium oxysporum* in pepper

Jesús Eduardo Ramírez-Méndez, Francisco Daniel Hernández-Castillo, Diana Jasso de Rodríguez, Omar Jiménez-Pérez, Rocío Crystabel López-González, Marco A. Tucuch-Pérez

doi: <https://doi.org/10.5154/r.chsza.2024.05.001>

Toxicity of *Solanum elaeagnifolium* Cav., imidacloprid, and chlorpyrifos extract in adults of *Chrysoperla canea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae)

Margarita Martínez-Maldonado, Fabián García-González, María Berenice González-Maldonado, Jorge Artemio Zegbe-Domínguez, Verónica Ávila-Rodríguez

NOMBRE	INSTITUCIÓN	PAÍS
Aurelio Pedroza Sandoval	Universidad Autónoma Chapingo	México
Beatriz Rodríguez Velez	Centro Nacional de Referencia de Control Biológico	México
Bernardino Espinoza Velasco	Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias	México
Cayetano Navarrete Molina	Universidad Autónoma Chapingo	México
César Díaz Galván	Universidad Autónoma Metropolitana	México
Erika Nava Reyna	Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias	México
Fernando Lucio Ruiz	Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias	México
Fernando Sanchez Davila	Universidad Autonoma de Nuevo León	México
Francisco Veliz Deras	Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro	México
Gonzalo Hernández Ibarra	Universidad Autónoma de Chapingo	México
Hugo Ernesto Flores López	Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias	México
Ignacio Sánchez Cohen	Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias	México
Ixchel Ortiz Sánchez	Instituto Tecnológico del Valle del Guadian	México
Jaime Neftalí Márquez Godoy	Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias	México
Jonathan Raúl Garay Martínez	Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias	México
Jorge Oliva Hernández	Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias	México
Jorge A. Maldonado Jáquez	Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias	México
José Ponce Covarrubias	Universidad Autónoma de Guerrero	México
Lorenzo Danilo Granados Rivera	Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias	México
Luis Antonio Tarango Arámbula	Colegio de Postgraduados	México
Luis Gerardo Yañez Chávez	Universidad Autónoma Chapingo	México
Marco Andrés López Santiago	Universidad Autónoma Chapingo	México
María del Rosario Granados Sánchez	Universidad Nacional Autónoma de México	México
María del Rosario Jacobo Salcedo	Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias	México
Mario Antonio Hernández Velasquez	Universidad Autónoma Chapingo	México
Martin Martinez Salvador	Universidad Autónoma de Chihuahua	México
Mayela Rodríguez González	Universidad Autónoma Chapingo	México
Moisés Felipe Victoriano	Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias	México
Monica Ramírez Mella	Tecnológico Nacional de México	México
Ramón Jarquin Galvez	Universidad Autónoma de San Luis Potosi	México
Ricardo Trejo Calzada	Universidad Autónoma Chapingo	México
Ricardo Vicente Pérez	Universidad de Guadalajara	México
Ricardo David Valdez Cepeda	Universidad Autónoma Chapingo	México
Sahara Xolocotzi Acoltzi	Universidad Autónoma Chapingo	México
Sergio Ivan Barraza Guerrero	Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro	México
Yuridia Bautista Martínez	Universidad Autónoma de Tamaulipas	México

**Revista Chapingo Serie Zonas Áridas,
Volumen 24, enero-diciembre 2025**

TRADUCTORES

Sacnité Yeyetzi López Gonzaga

EDITORIA DE ESTILO

Guadalupe Stefanny Aguilar Moreno

DISEÑO EDITORIAL

Carlos de la Cruz Ramírez
Rogelio Cruz

DISEÑO EDITORIAL



Milk yield and fatty acid profile in milk of small dairy ruminants supplemented with hemp (*Cannabis sativa* L.) seed products: A meta-analysis

Rendimiento y perfil de ácidos grasos en leche de pequeños rumiantes suplementados con productos derivados de semillas de cáñamo (*Cannabis sativa* L.): un metaanálisis

Juan Eduardo Godina-Rodríguez¹; Jonathan Raúl Garay-Martínez²; José Felipe Orzuna-Orzuna^{3*}; Alejandro Lara-Bueno³; Pedro Abel Hernández-García⁴; Gabriela Vázquez-Silva⁵

¹Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Campo Experimental Valle de Apatzingán. Carretera Apatzingán-Cuatro Caminos km 17.5, Parícut, Michoacán, C. P. 60781, México.

²Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Campo Experimental Las Huastecas. Carretera Tampico-Mante km 55, Altamira, Tamaulipas, C. P. 89610, México.

³Universidad Autónoma Chapingo. Carretera México-Texcoco km 38.5, Chapingo, Estado de México, C. P. 56230, México.

⁴Universidad Autónoma del Estado de México. Carretera Amecameca-Ayapango km 2.5, Amecameca de Juárez, Estado de México, C. P. 56900, México.

⁵Universidad Autónoma Metropolitana – Xochimilco. Calzada del Hueso, núm. 1100, Coyoacán, Ciudad de México, C. P. 04960, México.

*Corresponding author: jforzuna@gmail.com

Abstract

The objective of the current study was to evaluate the effects of dietary inclusion of hemp (*Cannabis sativa* L.) seed products (HSP) on milk yield, milk composition, and milk fatty acid profile of small dairy ruminants (sheep and goats) through a meta-analysis. The inclusion of HSP in diets significantly increased ($p < 0.05$) milk yield, milk fat content and yield, milk protein yield, milk lactose yield. Simultaneously, these products significantly decreased ($p < 0.05$) lactose content, somatic cell count, the concentration of several fatty acids (lauric, myristic, pentadecanoic, palmitic, and heptadecanoic), total saturated fatty acids, the omega-6/omega-3 ratio, the atherogenic index, and the thrombogenic index. In contrast, a significant increase ($p < 0.05$) was observed in the concentrations of linoleic, vaccenic, conjugated linoleic, α -linolenic, arachidic, eicosapentaenoic, and docosahexaenoic acids, as well as in the total content of monounsaturated, polyunsaturated, and omega-3 fatty acids. These results indicate that the use of HSP in the diets of small dairy ruminants improves both milk yield and composition, as well as the fatty acid profile.

Keywords: *Cannabis sativa*, milk quality, feed supplement, dairy sheep, dairy goats, dairy cows.

Resumen

El objetivo del presente estudio fue evaluar, mediante un metaanálisis, los efectos de la suplementación con productos derivados de semillas de cáñamo (*Cannabis sativa* L.) (PDSC) en la dieta de pequeños rumiantes lecheros (ovejas y cabras) sobre la producción de leche, su composición y el perfil de ácidos grasos. La incorporación de PDSC en las dietas incrementó significativamente ($p < 0.05$) el rendimiento de la leche, el contenido y rendimiento de la grasa de la leche, el rendimiento de proteína de la leche y el rendimiento de lactosa. Simultáneamente, dichos productos disminuyeron significativamente ($p < 0.05$) el contenido de lactosa, el recuento de células somáticas, la concentración de algunos ácidos grasos (láurico, mirístico, pentadecanoico, palmítico y heptadecanoico), el contenido total de ácidos grasos saturados, la relación omega-6/omega-3, el índice aterogénico y el índice trombogénico. En contraste, se observó un aumento significativo ($p < 0.05$) en la concentración de los ácidos linoleico, vaccénico, linoleico conjugado, α -linolénico, araquídico, eicosapentaenoico y docosahexaenoico, así como en el contenido total de ácidos grasos monoinsaturados, poliinsaturados y omega-3. Los resultados indican que el uso de PDSC en la dieta de pequeños rumiantes lecheros mejora tanto el rendimiento como la composición de la leche, así como el perfil de ácidos grasos.

Palabras clave: *Cannabis sativa*, calidad de la leche, suplemento alimenticio, ovejas lecheras, cabras lecheras, vacas lecheras.

Please cite this article as follows (APA 7): Godina-Rodríguez, J. E., Garay-Martínez, J. R., Orzuna-Orzuna, J. F., Lara-Bueno, A., Hernández-García, P. A., & Vázquez-Silva, G. (2025). Milk yield and fatty acid profile in milk of small dairy ruminants supplemented with hemp (*Cannabis sativa* L.) seed products: A meta-analysis. *Revista Chapingo Serie Zonas Áridas*, 24, e2505. <https://doi.org/10.5154/r.rchsza.2025.07.05>



Revista Chapingo
Serie Zonas Áridas

Introduction

According to Adesogan and Dahl (2020), global demand for ruminant milk is expected to increase by up to 35 % over the next decade, primarily due to population growth worldwide. Furthermore, in some countries, there is currently a high proportion (approximately 20 %) of milk consumers with a high propensity to seek, purchase, and consume ruminant milk that is low in saturated fat and high in unsaturated fat (Tabacco et al., 2021). Although whole ruminant milk is a food high in essential nutrients (carbohydrates, proteins, fats, vitamins, minerals) for humans, milk fat contains a high proportion of saturated fatty acids (SFA) and a low amount of monounsaturated fatty acids (MUFA) and polyunsaturated fatty acids (PUFA) (Graulet, 2014).

According to Astrup et al. (2020), a high intake of SFA from dairy products has been associated with a higher incidence of cardiovascular disease (CVD) in humans. In contrast, replacing SFA with MUFA and PUFA in the human diet decreases serum cholesterol, atherosclerosis, and the incidence of CVD (Briggs et al., 2017). Consequently, there is currently a growing interest in identifying new nutritional strategies that enhance milk yield and improve the fatty acid profile of dairy ruminant milk (Orzuna-Orzuna et al., 2024). The inclusion of fish oil, protected fats, and oilseed oil in dairy ruminant diets has been commonly used as a nutritional strategy to improve milk fatty acid profile (Kokić et al., 2024; Orzuna-Orzuna et al., 2023). However, Bailoni et al. (2021) reported that hemp (*Cannabis sativa* L.) seed products (HSP) have a high potential to improve milk yield and milk fatty acid profile of ruminants due to their nutrient, MUFA, and PUFA content.

Hemp is an annual herbaceous plant with broad climatic adaptability and cultivation potential in various regions of the world (Taşkesen and Tüfekci, 2024). Traditionally, its stems are used to obtain fibers to produce paper and textiles (Bailoni et al., 2021). In contrast, leaves, flowers, and HSP (whole seeds, seed meal, and seed oil) have been traditionally used in religious ceremonies and the pharmaceutical chemical industry for medicinal purposes (Muedi et al., 2024).

HSPs contain high levels of crude protein content (281-507 g·kg⁻¹ of dry matter [DM]) and an essential amino acid profile comparable to that of commonly used protein sources in ruminant diets, such as soybean, canola, cottonseed, sunflower, flaxseed, and dried distillers grains (Altman et al., 2024; Semwogerere et al., 2020). In addition, both hemp seeds and hemp oil contain around 80 % MUFA and PUFA, which may help improve the fatty acid profile of milk (Mohamed & House, 2024). In addition, HSPs contain cannabinoids, isoflavones and terpenes with antimicrobial, antioxidant, and

Introducción

De acuerdo con Adesogan y Dahl (2020), se espera que la demanda global de leche proveniente de rumiantes incremente hasta un 35 % durante la próxima década, principalmente como consecuencia del crecimiento poblacional a nivel mundial. Además, en algunos países se observa un aumento de consumidores de leche (aproximadamente 20 %), con una marcada tendencia a buscar, adquirir y consumir leche de rumiantes con bajo contenido de ácidos grasos saturados y alto contenido de ácidos grasos insaturados (Tabacco et al., 2021). Si bien la leche entera de rumiantes es un alimento rico en nutrientes esenciales (carbohidratos, proteínas, grasas, vitaminas y minerales) para los seres humanos, su grasa contiene más ácidos grasos saturados (AGS) y menos ácidos grasos monoinsaturados (AGMI) y poliinsaturados (AGPI) (Graulet, 2014).

La ingesta elevada de AGS derivados de productos lácteos se ha asociado con el incremento en la aparición de enfermedades cardiovasculares (ECV) en humanos (Astrup et al., 2020). Por el contrario, la sustitución de AGS por AGMI y AGPI contribuye a disminuir el colesterol sérico y la incidencia de aterosclerosis y ECV (Briggs et al., 2017). En consecuencia, existe un interés creciente por desarrollar estrategias nutricionales que, además de optimizar la producción de leche, mejoren el perfil de ácidos grasos en la leche de rumiantes (Orzuna-Orzuna et al., 2024). Entre las estrategias evaluadas, la suplementación de la dieta de rumiantes con aceite de pescado, grasas protegidas y aceites provenientes de semillas oleaginosas se ha utilizado para modificar el perfil de ácidos grasos de la leche (Kokić et al., 2024; Orzuna-Orzuna et al., 2023). En este sentido, Bailoni et al. (2021) mencionan que los productos derivados de semillas de cáñamo (*Cannabis sativa* L.) tienen un gran potencial para mejorar tanto el rendimiento como el perfil de ácidos grasos debido a su contenido nutricional de AGMI y AGPI.

El cáñamo es una planta herbácea de ciclo anual con amplia adaptabilidad climática y potencial de cultivo en diversas regiones del mundo (Taşkesen & Tüfekci, 2024). Tradicionalmente, sus tallos se utilizan para la obtención de fibras destinadas a la producción de papel y textiles (Bailoni et al., 2021), mientras que las hojas, las flores y los productos derivados de las semillas (PDSC: semillas enteras, harina de semillas y aceite de semilla) se emplean en ceremonias religiosas, así como en la industria farmacéutica y química con fines medicinales (Muedi et al., 2024).

Los PDSC poseen un alto contenido de proteína cruda (281-507 g·kg⁻¹ de materia seca [MS]) y un perfil de aminoácidos esenciales comparable al observado en ingredientes utilizados comúnmente como fuente de proteína en dietas para rumiantes, como soya, canola,

anti-inflammatory properties, which can improve the health of dairy ruminants and lead to higher milk yield (Kalaitzidis et al., 2023; Taşkesen & Tüfekci, 2024).

HSPs have been successfully used to improve productive performance and fatty acid profile in ruminant meat (Semwogerere et al., 2020), poultry meat (Fabro et al., 2021), and pig meat (Mourot & Guillevis, 2015). However, in lactating dairy ruminants, the effects of HSPs have been variable (Bailoni et al., 2021). Some studies reported no significant changes in milk production or composition (Addo et al., 2023a; Mierliță, 2018; Šalavardić et al., 2021), while others observed positive effects from supplementation with low doses of HSPs (90 to 143 g·kg⁻¹ DM) (Cremonesi et al., 2022; Karlsson et al., 2010; Mierliță et al., 2023). These discrepancies may be attributed to differences in the type of HSP used (whole seed, meal, or oil), the dosage, the animal species, and the duration of the study (Altman et al., 2024; Bailoni et al., 2021; Mohamed & House, 2024; Muedi et al., 2024). Nevertheless, studies reporting positive effects are largely based on qualitative information without a systematic approach (Gregory & Denniss, 2018).

Meta-analysis studies use standardized methodologies for data search, selection and statistical analysis, allowing for a quantitative estimation of the magnitude of treatment effects (Finckh & Tramèr, 2008). Recently, Fabro et al. (2021) evaluated the effects of dietary inclusion of HSP on productive performance and egg fatty acid profile in laying hens. However, no studies were found that use meta-analysis to evaluate the effects of HSP in dairy ruminants. Therefore, the objective of this study was to assess, through a meta-analysis, the effects of dietary HSP supplementation in small dairy ruminants (sheeps and goats) on milk yield, milk composition, and fatty acid profile.

Materials and methods

Literature search

The research question was formulated following the PICO format (Hosseini et al., 2024), where the population (P) was small dairy ruminants (sheep, goats), the intervention (I) corresponded to HSP supplementation, the comparison (C) was between diets supplemented with or without HSP, and the outcomes (O) were the reported data on milk yield, milk composition, and milk fatty acid profile.

The process of searching and selecting scientific articles was carried out in accordance with the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) guidelines (Page et al., 2021) (Figure 1). Literature searches were conducted in the electronic databases PubMed, ScienceDirect, Scopus,

semilla de algodón, girasol, linaza y granos secos de destilería (Altman et al., 2024; Semwogerere et al., 2020). Además, tanto las semillas como el aceite de cáñamo contienen aproximadamente 80 % de AGMI y AGPI, lo cual podría contribuir a mejorar el perfil de ácidos grasos de la leche (Mohamed & House, 2024). Asimismo, los PDSC contienen cannabinoides, isoflavonas y terpenos con propiedades antimicrobianas, antioxidantes y antiinflamatorias, que pueden mejorar la salud de los rumiantes y aumentar la producción de leche (Kalaitzidis et al., 2023; Taşkesen & Tüfekci, 2024).

Diversos estudios han demostrado que los PDSC pueden mejorar el desempeño productivo y el perfil de ácidos grasos en la carne de rumiantes (Semwogerere et al., 2020), aves (Fabro et al., 2021) y cerdos (Mourot & Guillevis, 2015). Sin embargo, en rumiantes lecheros en periodo de lactancia, los efectos de los PDSC han sido variables (Bailoni et al., 2021). Algunos autores no observaron cambios significativos en la producción y composición de la leche (Addo et al., 2023a; Mierliță, 2018; Šalavardić et al., 2021), mientras que otros reportaron efectos positivos derivados de la suplementación con dosis bajas de PDSC (90 a 143 g·kg⁻¹ MS) (Cremonesi et al., 2022; Karlsson et al., 2010; Mierlita et al., 2023). Estas discrepancias se pueden atribuir a diferencias en el tipo de PDSC utilizado (semilla entera, harina o aceite), la dosis, la especie animal y la duración del experimento (Altman et al., 2024; Bailoni et al., 2021; Mohamed & House, 2024; Muedi et al., 2024). No obstante, las investigaciones que reportan efectos positivos se basan en información cualitativa sin un enfoque sistemático (Gregory & Denniss, 2018).

Los estudios de metaanálisis emplean procedimientos estandarizados para la búsqueda, selección y análisis estadístico de datos, lo cual permite estimar cuantitativamente la magnitud del efecto de los tratamientos (Finckh & Tramèr, 2008). Recientemente, Fabro et al. (2021) evaluaron los efectos de la inclusión de PDSC sobre el rendimiento y el perfil de ácidos grasos en huevos de gallinas ponedoras. No obstante, no se encontraron estudios que utilicen metaanálisis para evaluar los efectos de los PDSC en rumiantes lecheros. Por ello, el objetivo de este estudio fue evaluar, mediante un metaanálisis, los efectos de la suplementación con PDSC en la dieta de pequeños rumiantes lecheros (ovejas y cabras) sobre la producción de leche, su composición y el perfil de ácidos grasos.

Materiales y métodos

Búsqueda de literatura

La pregunta de investigación se formuló conforme al formato PICO (Hosseini et al., 2024), donde la población (P) correspondió a pequeños rumiantes lecheros (ovejas, cabras), la intervención (I) fue la suplementación con

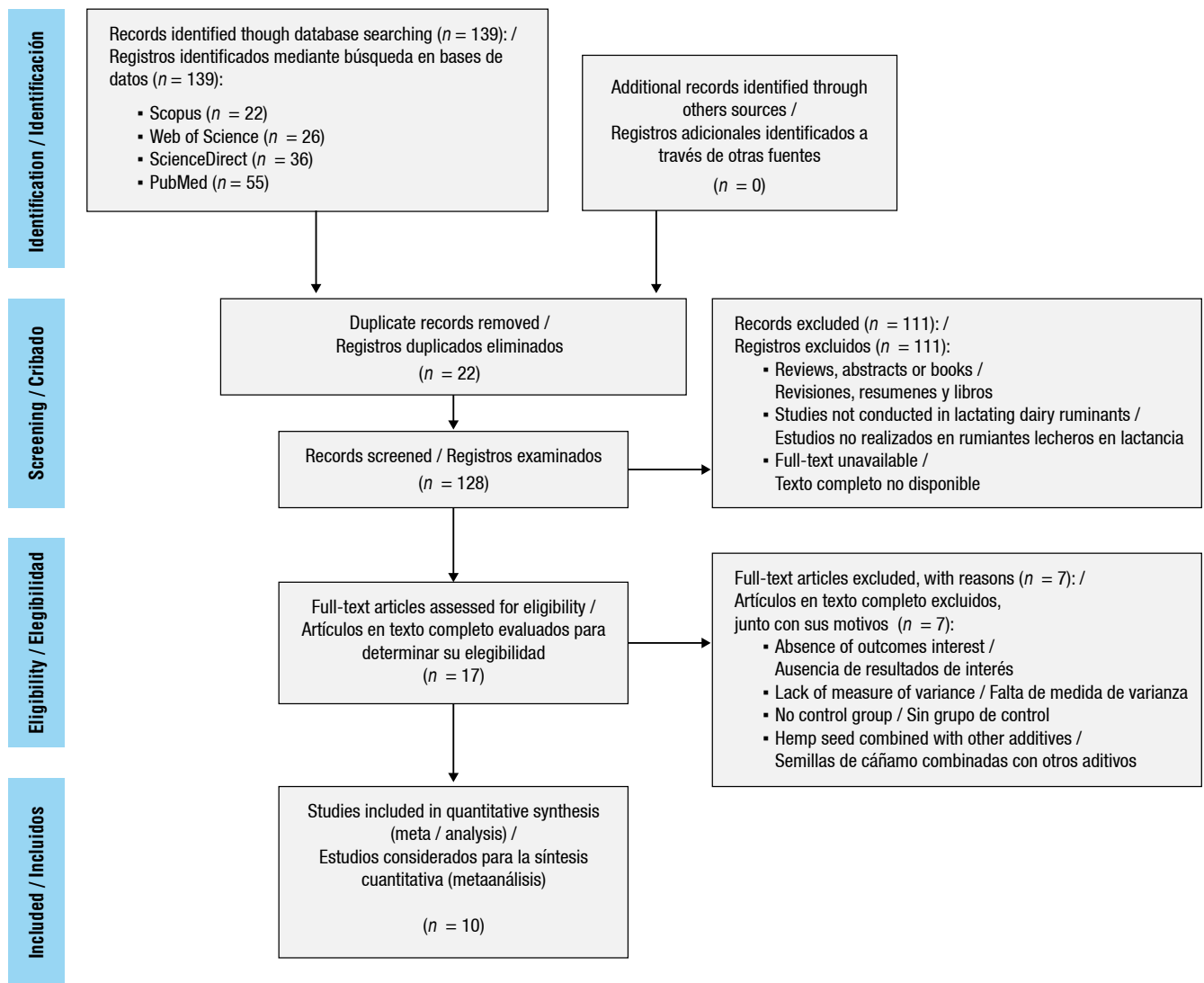


Figure 1. Flow diagram of the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) considered for the literature search and study selection for the meta-analysis.

Figura 1. Diagrama de flujo de los elementos de reporte preferidos para revisiones sistemáticas y metaanálisis (PRISMA) considerados para la búsqueda bibliográfica y la selección de estudios para el metaanálisis.

and Web of Science, considering only articles published in English between January 2015 and May 2025, using the following keywords: dairy sheep, dairy goats, milk yield, milk composition, and milk fatty acid profile.

Exclusion and inclusion criteria

The following exclusion criteria were applied: 1) studies that used non-lactating small dairy ruminants (sheep, goats); 2) theses, books, reviews, and conference proceedings; 3) studies that combined HSP with another feed additive or with antibiotics. On the other hand, the following inclusion criteria were considered: 1) experimental studies using lactating small dairy ruminants (sheep, goats); 2) scientific articles published in English between January 2015 and May 2025 in peer-

PDSC, la comparación (C) se realizó entre dietas con o sin PDSC, y los resultados (R) fueron los datos reportados sobre la producción de leche, su composición y el perfil de ácidos grasos.

El proceso de búsqueda y selección de artículos científicos se realizó conforme a las directrices de los elementos de reporte preferidos para revisiones sistemáticas y metaanálisis (PRISMA, por sus siglas en inglés) (Page et al., 2021) (Figura 1). Las búsquedas bibliográficas se efectuaron en las bases de datos electrónicas PubMed, ScienceDirect, Scopus y Web of Science, considerando únicamente artículos publicados en inglés entre enero de 2015 y mayo de 2025 con las siguientes palabras clave: *dairy sheep*, *dairy goats*, *milk yield*, *milk composition* y *milk fatty acid profile*.

reviewed scientific journals; 3) studies that include a control diet without HSP and at least one treatment with HSP supplementation; 4) experimental studies reporting treatment means, number of replicates (n), and standard error (SEM) or standard deviation (SD) of at least one response variable on milk yield, milk composition, or fatty acid profile in milk from small dairy ruminants (sheep, goats).

Data extraction

After applying the inclusion and exclusion criteria, 10 scientific articles were selected and used to construct the final database (Table 1). From these manuscripts, treatment means, SEM or SD, and n were obtained for milk yield (MY), milk fat content (MFC), milk protein content (MPC), milk lactose content (MLC), milk fat yield (MFY), milk protein yield (MPY), milk lactose yield (MLY), milk urea nitrogen (MUN), somatic cell count (SCC), butyric (C4:0), caproic (C6:0), caprylic (C8:0), capric (C10:0), lauric (C12:0), myristic (C14:0), myristoleic (C14:1), pentadecanoic (C15:0), palmitic (C16:0), palmitoleic (C16:1), heptadecanoic (C17:0), margoleic (C17:1), stearic (C18:0), oleic (C18:1 n -9 cis), linoleic (C18:2 n -6 cis), vaccenic (C18:1 trans-11), conjugated linoleic (C18:2 cis-9, trans-11), α -linolenic (C18:3 n -3), γ -linolenic (C18:3 n -6), arachidic (C20:0), eicosapentaenoic (C20:5 n -3), behenic (C22:0), docosahexaenoic (C22:6 n -3), total saturated fatty acids (SFAs), total monounsaturated fatty acids (MUFAs), total polyunsaturated fatty acids (PUFAs), total omega-3 (ω -3), total omega 6 (ω -6), ω -6/ ω -3 ratio, atherogenic index (AI), and thrombogenic index (TI).

Data reported in bar graphs were extracted using WebPlotDigitizer version 4.5 (Drevon et al., 2017). The current meta-analysis database only included response variables reported in at least two different experimental studies, as suggested by other authors (Korichevá et al., 2013; Orzuna-Orzuna et al., 2024).

Statistical analysis, heterogeneity and publication bias

The effect size (ES) of each response variable was adjusted (weighted) according to the inverse of its variance with random effects models (Der-Simonian & Laird, 1986) using version 4.4.2 of the statistical software R through the specialized package “metafor” (Viechtbauer, 2010). The ES was expressed as a weighted mean difference (WMD) with 95 % confidence intervals. WMD was chosen instead of SMD because the variables were reported in the same units (directly or after conversion), allowing for a more intuitive interpretation of the results (Borenstein et al., 2009).

Heterogeneity between studies was assessed and quantified using the I^2 statistic and Cochran's Q

Criterios de exclusión e inclusión

Los criterios de exclusión aplicados fueron los siguientes: 1) estudios que utilizaron pequeños rumiantes lecheros no lactantes (ovejas, cabras); 2) tesis, libros, revisiones y actas de congresos; 3) estudios que combinaron PDSC con otro aditivo alimenticio o con antibióticos. Por otro lado, se consideraron los siguientes criterios de inclusión: 1) estudios experimentales realizados en pequeños rumiantes lecheros (ovejas, cabras) en periodo de lactancia; 2) artículos científicos publicados en inglés entre enero de 2015 y mayo de 2025 en revistas científicas arbitradas; 3) estudios que incluyeran una dieta control sin PDSC y al menos un tratamiento con suplementación de PDSC; 4) estudios que reportaran medias de tratamiento, número de réplicas (n) y error estándar de la media (EEM) o desviación estándar (DE) de al menos una variable relacionada con la producción de leche, composición o perfil de ácidos grasos de la leche en ovejas y cabras.

Extracción de datos

Después de aplicar los criterios de inclusión y exclusión, se seleccionaron 10 artículos científicos para construir la base de datos final (Cuadro 1). De cada estudio se extrajeron las medias de los tratamientos, el EEM o la DE, y el n correspondientes al rendimiento de leche (RL), contenido de grasa (CGL), contenido de proteína (CPL), contenido de lactosa (CL), rendimiento de grasa (RGL), rendimiento de proteína (RPL), rendimiento de lactosa (RLL), nitrógeno ureico (NUL), recuento de células somáticas (RCS), ácido butírico (C4:0), ácido caproico (C6:0), ácido caprílico (C8:0), ácido cáprico (C10:0), ácido láurico (C12:0), ácido mirístico (C14:0), ácido miristoleico (C14:1), ácido pentadecanoico (C15:0), ácido palmítico (C16:0), ácido palmitoleico (C16:1), ácido heptadecanoico (C17:0), ácido margoleico (C17:1), ácido esteárico (C18:0), ácido oleico (C18:1 n -9 cis), ácido linoleico (C18:2 n -6 cis), ácido vaccénico (C18:1 trans-11), ácido linoleico conjugado (C18:2 cis-9, trans-11), ácido α -linolénico (C18:3 n -3), ácido γ -linolénico (C18:3 n -6), ácido araquídico (C20:0), ácido eicosapentaenoico (C20:5 n -3), ácido behénico (C22:0), ácido docosahexaenoico (C22:6 n -3), ácidos grasos saturados totales (AGS), ácidos grasos monounsaturados totales (AGMI), ácidos grasos poliinsaturados totales (AGPI), omega-3 total (ω -3), omega-6 total (ω -6), relación ω -6/ ω -3, índice aterogénico (IA) e índice trombogénico (IT).

Los datos presentados en gráficas de barras se extrajeron con el programa WebPlotDigitizer versión 4.5 (Drevon et al., 2017). La base de datos del metaanálisis incluyó únicamente las variables reportadas en al menos dos estudios experimentales diferentes, de acuerdo con la sugerencia de otros autores (Korichevá et al., 2013; Orzuna-Orzuna et al., 2024).

Table 1. Description of the studies included in the meta-analysis database.
Cuadro 1. Descripción de los estudios incluidos en la base de datos del metaanálisis.

Reference /Referencia	Specie /Especie	DIM /DL	SP /PS	HSP /PDSC	Dose (g·kg ⁻¹ DM) / Dosis (g·kg ⁻¹ MS)	FD (g·kg ⁻¹ DM) / FD (g·kg ⁻¹ MS)
Cismileanu et al. (2024)	Goats /Cabras	141	28	WS /SE	115	555
Cozma et al. (2015)	Goats /Cabras	91	15, 29	WS /SE	54	630
Cremonesi et al. (2022)	Goats /Cabras	10	140	WS /SE	94	490
Iannaccone et al. (2019)	Sheep /Ovejas	74	30	WS /SE	50	596
Ianni et al. (2020)	Sheep /Ovejas	74	35	WS /SE	50	NR
Mierlita (2016)	Sheep /Ovejas	70	49	WS /SE	83.3	666
Mierliță (2018)	Sheep /Ovejas	70	56	WS, seed cake / SE, pastel de semillas	94.2, 246.1	600
Mierlita et al. (2023)	Goats /Cabras	86	70	WS /SE	90	700
Rapetti et al. (2021)	Goats /Cabras	49	30	WS /SE	93	856
Šalavardić et al. (2021)	Goats /Cabras	31	45	Seed cake / Pastel de semillas	60, 120	600

DIM: days in milk; SP: supplementation period; HSP: hemp seed products; WS: whole seeds; DM: dry matter; FD: forage in diet; NR: not reported.
DL: días en la leche; PS: período de suplementación; PDSC: productos derivados de semillas de cáñamo; SE: semillas enteras; MS: materia seca; FD: forraje en la dieta; NR: no reportado.

test (Borenstein et al., 2009; Lucio-Ruíz et al., 2024). Significant heterogeneity was considered when $I^2 > 50 \%$ and Cochran’s Q $p \leq 0.05$ (Korichevá et al., 2013). Publication bias was examined for all response variables using Begg’s adjusted rank correlation (Begg & Mazumdar, 1994) and Egger’s regression asymmetry (Egger et al., 1997), with differences considered significant when $p \leq 0.05$. The risk of methodological bias in the included studies was assessed using the SYRCLE tool for animal studies (Hooijmans et al., 2014). Articles presenting two or more parameters classified as high risk according to SYRCLE were excluded from the database (Table 2). No metal-regression analysis was performed because, according to Borenstein et al. (2009) and Korichevá et al. (2013), this type of analysis requires a minimum of 10 studies per variable to avoid false results.

Results and discussion

Milk yield and composition

Table 3 shows that dietary inclusion of HSP increased ($p < 0.01$) MY, MFC, MFY, MPY, and MLY in small dairy ruminants. However, no significant effects ($p > 0.05$) were detected on MPC and MUN. Dietary supplementation with HSP decreased ($p > 0.01$) MLC and SCC. No significant heterogeneity among studies was observed (Cochran’s Q test with $p > 0.05$ and $I^2 < 50 \%$) nor publication bias (Egger and Begg’s tests $p > 0.05$) for the analyzed variables (Table 3).

The increase in MY may be related to the rise in DM (+17.1 %) (Rapetti et al., 2021), as DM is highly positive correlated ($r = 0.807$) with MY (Brown et al., 1977).

Análisis estadístico, heterogeneidad y sesgo de publicación

El tamaño del efecto (TE) de cada variable se ajustó (ponderó) mediante la inversa de su varianza con modelos de efectos aleatorios (Der-Simonian & Laird, 1986) en el programa estadístico R versión 4.4.2 con el paquete “metafor” (Viechtbauer, 2010). El TE se expresó como la diferencia de medias ponderada (DMP) con intervalos de confianza del 95 %. Se eligió la DMP en lugar de la diferencia de medias estandarizada porque las variables se reportaron en las mismas unidades (directamente o por conversión), lo cual permite una interpretación más intuitiva de los resultados (Borenstein et al., 2009).

La heterogeneidad entre los estudios se cuantificó mediante la estadística I^2 y la prueba Q de Cochran (Borenstein et al., 2009; Lucio-Ruíz et al., 2024). Se consideró que existía una heterogeneidad significativa cuando $I^2 > 50 \%$ y $p \leq 0.05$ en la prueba de Q (Korichevá et al., 2013). El sesgo de publicación se evaluó mediante la correlación de rangos ajustada de Begg (Begg & Mazumdar, 1994) y la prueba de asimetría de regresión de Egger (Egger et al., 1997), en ambas las diferencias fueron significativas cuando $p \leq 0.05$. El riesgo de sesgo metodológico en los estudios incluidos se evaluó con la herramienta SYRCLE para estudios en animales (Hooijmans et al., 2014). Los artículos que presentaron dos o más parámetros clasificados como de riesgo alto según SYRCLE se excluyeron de la base de datos (Cuadro 2). No se realizó análisis de metarregresión debido a que, según Borenstein et al. (2009) y Korichevá et al. (2013), este tipo de análisis requiere un mínimo de 10 estudios por variable para evitar resultados falsos.

Table 2. Risk of bias assessment according to the SYRCLE's tool for animal studies.**Cuadro 2. Evaluación del riesgo de sesgo según la herramienta SYRCLE para estudios con animales.**

Studies/Estudios	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Cismileanu et al. (2024)	-	-	-	-	-	-	-	?	-	-
Cozma et al. (2015)	-	-	-	-	-	-	-	?	-	-
Cremonesi et al. (2022)	-	-	-	?	?	-	?	?	?	-
Iannaccone et al. (2019)	-	-	-	?	?	-	?	?	?	-
Ianni et al. (2020)	-	-	-	?	?	-	?	?	?	-
Mierlita (2016)	-	-	-	-	-	-	-	?	-	-
Mierliță (2018)	-	-	-	-	-	-	-	?	-	-
Mierlita et al. (2023)	-	-	-	-	-	-	-	?	-	-
Rapetti et al. (2021)	-	-	-	-	-	-	-	?	-	-
Šalavardić et al. (2021)	-	-	-	-	-	-	-	?	-	-

1: sequence generation; 2: baseline characteristic; 3: allocation concealment; 4: random housing; 5: blinding (performance bias); 6: random outcome assessment; 7: blinding (detection bias); 8: incomplete outcome data; 9: selective outcome reporting; 10: other sources of bias; -: low risk; ?: unclear risk; +: high risk.

1: generación de secuencias; 2: características basales; 3: ocultamiento de la asignación; 4: alojamiento aleatorio; 5: cegamiento (sesgo de ejecución); 6: evaluación aleatoria de los resultados; 7: cegamiento (sesgo de detección); 8: datos incompletos sobre los resultados; 9: notificación selectiva de los resultados; 10: otras fuentes de sesgo; -: riesgo bajo; ?: riesgo incierto; +: riesgo alto.

Table 3. Statistical analysis of milk production and composition variables in small dairy ruminants supplemented with hemp (*Cannabis sativa* L.) seed products.**Cuadro 3. Análisis estadístico de las variables de producción y composición de la leche de pequeños rumiantes lecheros suplementados con productos de semillas de cáñamo (*Cannabis sativa* L.).**

Variable	N (NC)	Control means (SD)/ Media control (DE)	WMD (95 % CI)/ DMP (95 % IC)	p-value/ Valor de p	Heterogeneity/ Heterogeneidad		Egger's test/ Prueba de Egger	Begg test/ Prueba de Begg
					p-value/ Valor de p	I ² (%)	p-value/ Valor de p	p-value/ Valor de p
MY (kg·d ⁻¹)/ RL (kg·d ⁻¹)	8 (12)	1.330 (0.434)	0.068 (0.019; 0.118)	0.007	0.290	15.72	0.319	0.112
MFC (g·100 g ⁻¹)/ CGL (g·100 g ⁻¹)	9 (12)	3.94 (1.20)	0.695 (0.576; 0.814)	<0.001	0.158	30.24	0.870	0.854
MPC (g·100 g ⁻¹)/ CPL (g·100 g ⁻¹)	10 (13)	4.50 (2.03)	-0.043 (-0.088; 0.003)	0.064	0.143	30.14	0.844	0.712
MLC (g·100 g ⁻¹)/ CL (g·100 g ⁻¹)	9 (12)	4.71 (3.51)	0.039 (-0.130; 0.208)	0.651	0.170	30.99	0.582	0.875
MFY (g·d ⁻¹)/ RGL (g·d ⁻¹)	6 (9)	50.67 (13.55)	13.200 (9.745; 16.654)	<0.001	0.072	38.38	0.113	0.458
MPY (g·d ⁻¹)/ RPL (g·d ⁻¹)	6 (9)	47.67 (13.65)	2.357 (0.590; 4.124)	0.009	0.129	43.32	0.275	0.596
MLY (g·d ⁻¹)/ RLL (g·d ⁻¹)	3 (5)	46.64 (13.88)	3.408 (2.182; 4.633)	<0.001	0.178	36.52	0.366	0.999
MUN (mg·dL ⁻¹)/ NUL (mg·dL ⁻¹)	5 (5)	36.32 (11.85)	2.203 (-1.159; 5.564)	0.199	0.061	45.63	0.555	0.702
SCC (×10 ³ cell·mL ⁻¹)/ RCS (×10 ³ células·mL ⁻¹)	5 (6)	5.30 (0.29)	-0.682 (-1.048; -0.316)	<0.001	0.784	0.00	0.817	0.800

N: number of studies; NC: number of comparisons between hemp seed product treatment and control treatment; SD: standard deviation; WMD: weighted mean differences between control and hemp seed product treatments; CI: confidence interval of WMD; p-value to χ^2 (Q) test of heterogeneity; I²: proportion of total variation of size effect estimates that is due to heterogeneity; MY: milk yield; MFC: milk fat content; MPC: milk protein content; MLC: milk lactose content; MFY: milk fat yield; MPY: milk protein yield; MLY: milk lactose yield; MUN: milk urea nitrogen; SCC: somatic cell count.

N: número de estudios; NC: número de comparaciones entre el tratamiento con productos de semillas de cáñamo y el tratamiento testigo; DE: desviación estándar; DMP: diferencia de medias ponderada entre testigo y tratamiento con productos de semillas de cáñamo; IC: intervalo de confianza de DMP; valor de p de la prueba χ^2 (Q) de heterogeneidad; I²: proporción de la variación total de las estimaciones del efecto de tamaño que se debe a la heterogeneidad; RL: rendimiento de la leche; CGL: contenido de grasa; CPL: contenido de proteína; CL: contenido de lactosa; RGL: rendimiento de grasa; RPL: rendimiento de proteína láctea; RLL: rendimiento de lactosa; NUL: nitrógeno ureico lácteo; RCS: recuento de células somáticas.

In addition, HSP stimulates the expression of genes associated with oxidative phosphorylation (Iannaccone et al., 2019), which enhances the availability of metabolic energy (ATP) in the mammary gland (Sieck et al., 2020), a key factor in increasing milk production (Favorit et al., 2021). Furthermore, HSPs contain flavonoids (on average 109 mg·g⁻¹) (Muedi et al., 2024), which can increase prolactin and growth hormone levels in dairy ruminants (by 32.4 to 69.1 %) (Li et al., 2020) hormones that are positively correlated with milk production (James et al., 2017; Lacasse et al., 2016).

Supplementation with HSP also increased MFC and MFY, consistent with the results reported by Gu et al. (2025) in dairy buffaloes supplemented with HSP (100 g·kg⁻¹ DM). These results may benefit the dairy industry because high MFC values are positively correlated ($r = 0.350$ to 0.388) with cheese firmness and yield (de Oca-Flores et al., 2019). This increase may be related to greater ruminal production of acetic acid (Addo et al., 2023b; Gu et al., 2025), the main precursor for the *de novo* fatty acid synthesis in the mammary gland (Mu et al., 2021). Likewise, HSP intake increases (+75.7 %) the expression of the diacylglycerol O-acyltransferase 1 (DGAT1) gene (Cremonesi et al., 2022), which plays a key role in the synthesis of milk fat and has a high genetic correlation ($r = 0.570$ to 0.626) with MFC and MFY (Jiang et al., 2019). Wongpom et al. (2017) reported a positive correlation ($r = 0.711$) between MFC and MFY. Consequently, the higher MFY values observed in the current meta-analysis could be closely related to the increase in MFC in dairy ruminants supplemented with HSP in their diets.

In contrast MPC and MLC were not significantly altered, consistent with the findings of Šalavardić et al. (2021), who reported that HSPs do not affect the ability to convert dietary protein into milk protein. Likewise, several studies show that HSPs do not modify ruminal propionic acid production (Rapetti et al., 2021; Addo et al., 2023b; Gu et al., 2025), a key metabolite in lactose synthesis (Lemosquet et al., 2009). Therefore, the increases in MPY and MLY observed in this meta-analysis result primarily from the increase in MY rather than from changes in milk composition.

MUN also showed no significant variation, suggesting that HSP supplementation does not affect the efficiency of utilization of rumen-degradable protein (Hossein-Zadeh, 2024). In contrast, the lower SCC observed in animals supplemented with HSP suggests a potential protective effect against mastitis, as a strong correlation ($r = 0.70$ to 0.81) has been reported between somatic cell count and the incidence of clinical and subclinical mastitis in dairy ruminants (Rupp et al., 2000).

HSPs contain cannabidiol (Altman et al., 2024), which can be absorbed in the small intestine of dairy ruminants and subsequently transferred to

Resultados y discusión

Rendimiento y composición de la leche

En el Cuadro 3 se observa que la inclusión de PDSC en la dieta aumentó significativamente ($p < 0.01$) el RL, CGL, RGL, RPL y RLL en pequeños rumiantes lecheros. Sin embargo, no se detectaron efectos significativos ($p > 0.05$) sobre el CPL y NUL. La suplementación con PDSC en la dieta disminuyó ($p < 0.01$) los niveles de CL y RCS. No se evidenció heterogeneidad significativa entre estudios (prueba Q de Cochran con $p > 0.05$; $I^2 < 50$ %) ni sesgo de publicación (pruebas de Egger y Begg, $p > 0.05$) en las variables analizadas (Cuadro 3).

El aumento en el RL puede estar relacionado con el incremento en el consumo de materia seca (MS; +17.1 %) (Rapetti et al., 2021), ya que la MS presenta una correlación positiva alta ($r = 0.807$) con el RL (Brown et al., 1977). Además, los PDSC estimulan la expresión de genes asociados con la fosforilación oxidativa (Iannaccone et al., 2019), lo cual mejora la disponibilidad de energía metabólica (ATP) en la glándula mamaria (Sieck et al., 2020), factor determinante para incrementar la producción de leche (Favorit et al., 2021). Asimismo, los PDSC contienen flavonoides (en promedio 109 mg·g⁻¹) (Muedi et al., 2024), los cuales pueden aumentar los niveles de la prolactina y la hormona del crecimiento en rumiantes lecheros (desde 32.4 hasta 69.1 %) (Li et al., 2020), hormonas que muestran una correlación positiva con la producción de leche (James et al., 2017; Lacasse et al., 2016).

La suplementación con PDSC también incrementó los valores de CGL y RGL, resultados consistentes con los obtenidos por Gu et al. (2025) en búfalas suplementadas con PDSC (100 g·kg⁻¹ MS). Estos efectos son relevantes para la industria láctea, ya que el CGL se asocia positivamente ($r = 0.350$ a 0.388) con la firmeza y el rendimiento del queso (de Oca-Flores et al., 2019). Dicho incremento podría estar relacionado con una mayor producción ruminal de ácido acético (Addo et al., 2023b; Gu et al., 2025), principal precursor de la síntesis *de novo* de ácidos grasos en la glándula mamaria (Mu et al., 2021). Asimismo, la ingesta de PDSC aumenta (+75.7 %) la expresión del gen diacylglicerol O-acyltransferasa 1 (DGAT1) (Cremonesi et al., 2022), que desempeña un papel clave en la síntesis de la grasa láctea y tiene una correlación genética importante ($r = 0.570$ a 0.626) con el CGL y RGL (Jiang et al., 2019). Wongpom et al. (2017) reportaron una correlación positiva ($r = 0.711$) entre el CGL y el RGL. En consecuencia, los valores más altos observados en el RGL pueden estar relacionados con el aumento del CGL en los rumiantes suplementados con PDSC.

Por su parte, los valores de CPL y CL no se modificaron significativamente, lo cual coincide con lo reportado por Šalavardić et al. (2021), quienes señalan que

the bloodstream and enter the mammary gland (Schwerdtfeger et al., 2025). Cannabidiol has a strong antimicrobial effect on *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae* (Blaskovich et al., 2021), two bacteria commonly associated with high SCC values in the milk of dairy ruminants (Contreras & Rodríguez, 2011). Therefore, the presence of cannabidiol in the mammary gland of dairy ruminants supplemented with HSP could explain the lower SCC.

Fatty acid profile in milk

The inclusion of HSP in small dairy ruminant diets did not affect ($p > 0.05$) the milk concentrations of C4:0, C6:0, C8:0, C10:0, C14:1, C16:1, C17:1, C18:0, C18:1 n-9 cis, C18:3 n-6, C22:0, and total ω -6 fatty acids (Cuadro 4). However, the inclusion of HSP in small dairy ruminant diets decreased ($p < 0.05$) the milk concentrations of C12:0, C14:0, C15:0, C16:0, C17:0, total SFA, ω -6/ ω -3 ratio, AI, and TI. In contrast, the inclusion of HSP in small dairy ruminant diets increased ($p < 0.05$) the milk concentration of fatty acids C18:2 n-6 cis, C18:1 trans-11, C18:2 cis-9, trans-11, C18:3 n-3, C20:0, C20:5 n-3, C22:6 n-3, total MUFA, total PUFA, and total ω -3.

On the other hand, no significant heterogeneity was observed (Cochran's Q test with $p > 0.05$ and $I^2 < 50\%$) in C4:0, C6:0, C8:0, C12:0, C14:0, C17:0, C18:2 cis-9, trans-11, C20:0, C20:5 n-3, C22:6 n-3, total MUFA, and total ω -6 (Table 4). In contrast, significant heterogeneity was detected ($p > 0.05$; $I^2 > 50\%$) in C10:0, C14:1, C15:0, C16:0, C16:1, C17:1, C18:0, C18:1 n-9 cis, C18: cis-2, C18:1, n-16: trans C18:3 n-3, C18:3 n-6, C22:0, total SFA, total PUFA, ω -3 to-tales, ω -6/ ω -3 ratio, AI and TI. Furthermore, the results obtained in the Egger and Begg tests indicate that no publication bias ($p > 0.05$) was detected in any of the response variables evaluated (Table 4).

According to Lopez et al. (2022), the fatty acid composition of milk fat can be rapidly modified through dietary changes, and a better fatty acid profile in milk can provide higher quality and added value to milk and its derived products. In the present meta-analysis, the dietary inclusion of HSPs decreased the concentration of C12:0, C14:0, and C16:0 in the milk of small dairy ruminants, which is beneficial because these three fatty acids are associated with increased serum cholesterol levels in humans (Ungerfeld et al., 2019). In mammals and birds, HSP ingestion decreases the expression of the acetyl-CoA carboxylase (ACACA) gene (He et al., 2025). Lower ACACA gene expression decreases de novo synthesis of C12:0, C14:0, and C16:0 in the mammary gland of ruminants (Ungerfeld et al., 2019), which would explain the lower concentrations of C12:0, C14:0, and C16:0 observed in the current study.

los PDSC no alteran la capacidad de transformar las proteínas de la dieta en proteína láctea. De igual manera, diversos estudios evidencian que los PDSC no modifican la producción de ácido propiónico ruminal (Rapetti et al., 2021; Addo et al., 2023b; Gu et al., 2025), metabolito clave en la síntesis de lactosa (Lemosquet et al., 2009). Por tanto, los aumentos en el RPL y el RLL observados en este metaanálisis derivan principalmente del incremento en el RL y no de cambios en la composición de la leche.

El NUL tampoco varió significativamente, lo que sugiere que la suplementación con PDSC no afecta la eficiencia de utilización de la proteína degradable en el rumen (Hossein-Zadeh, 2024). En contraste, el menor RCS observado en los animales suplementados con PDSC sugiere un posible efecto protector frente a la mastitis, ya que se ha reportado que existe una estrecha correlación ($r = 0.70$ a 0.81) entre los valores de RCS y la aparición de mastitis clínica y subclínica en rumiantes lecheros (Rupp et al., 2000).

Los PDSC contienen cannabidiol (Altman et al., 2024), un compuesto que se absorbe en el intestino delgado, entra en la sangre y llega a la glándula mamaria (Schwerdtfeger et al., 2025). Este compuesto tiene propiedades antimicrobianas contra *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactiae* (Blaskovich et al., 2021), bacterias asociadas a incrementos en el RCS en leche (Contreras & Rodríguez, 2011). Por lo tanto, la presencia de cannabidiol en la glándula mamaria de rumiantes suplementados con PDSC podría explicar la reducción del RCS.

Perfil de ácidos grasos

La incorporación de PDSC en la dieta de los rumiantes no tuvo un efecto significativo ($p > 0.05$) sobre las concentraciones de C4:0, C6:0, C8:0, C10:0, C14:1, C16:1, C17:1, C18:0, C18:1 n-9 cis, C18:3 n-6, C22:0 y el total de ácidos grasos ω -6 (Cuadro 4). Sin embargo, la presencia de PDSC disminuyó significativamente ($p < 0.05$) las concentraciones de C12:0, C14:0, C15:0, C16:0, C17:0 y AGS, así como la relación ω -6/ ω -3, el IA y el IT. Por el contrario, se observó un incremento significativo ($p < 0.05$) en la concentración de C18:2 n-6 cis, C18:1 trans-11, C18:2 cis-9, trans-11, C18:3 n-3, C20:0, C20:5 n-3, C22:6 n-3, AGMI, AGPI y ω -3.

No se detectó heterogeneidad significativa (prueba Q de Cochran con $p > 0.05$ e $I^2 < 50\%$) en C4:0, C6:0, C8:0, C12:0, C14:0, C17:0, C18:2 cis-9, trans-11, C20:0, C20:5 n-3, C22:6 n-3, AGMI y ω -6 (Cuadro 4). En contraste, se observó heterogeneidad significativa ($p > 0.05$; $I^2 < 50\%$) en C10:0, C14:1, C15:0, C16:0, C16:1, C17:1, C18:0, C18:1 n-9 cis, C18: cis-2, C18:1, n-16: trans C18:3 n-3, C18:3 n-6, C22:0, AGS, AGPI, ω -3, relación ω -6/ ω -3, IA y IT. Los resultados de las pruebas de Egger

Table 4. Statistical analysis of the milk fatty acid profile in small ruminants supplemented with hemp (*Cannabis sativa* L.) seed products.**Cuadro 4. Análisis estadístico del perfil de ácidos grasos en leche de pequeños rumiantes suplementados con productos derivados de semillas de cáñamo (*Cannabis sativa* L.).**

Variable	N (NC)	Control means (SD)/ Media control (DE)	WMD (95 % CI)/ DMP (95 % IC)	p-value / Valor de p	Heterogeneity / Heterogeneidad		Egger's test / Prueba de Egge	Begg test / Prueba de Begg
					p-value / Valor de p	I ² (%)	p-value / Valor de p	p-value / Valor de p
Butyric acid(C4:0)/ Ácido butírico (C4:0)	6 (9)	2.096 (0.232)	0.095 (-0.030; 0.220)	0.137	0.061	45.19	0.571	0.493
Caproic acid (C6:0)/ Ácido caproico (C6:0)	6 (9)	2.370 (0.254)	0.042 (-0.016; 0.101)	0.156	0.563	0.00	0.384	0.750
Caprylic acid (C8:0)/ Ácido caprílico (C8:0)	6 (9)	2.598 (0.196)	0.051 (-0.025; 0.126)	0.187	0.432	0.00	0.186	0.254
Capric acid (C10:0)/ Ácido cáprico (C10:0)	8 (12)	8.873 (2.120)	-0.995 (-2.058; 0.069)	0.067	<0.001	93.82	0.781	0.678
Lauric acid (C12:0)/ Ácido láurico (C12:0)	8 (12)	4.505 (0.995)	-1.067 (-1.658; -0.475)	0.001	0.085	45.22	0.276	0.579
Myristic acid (C14:0)/ Ácido mirístico (C14:0)	8 (12)	10.168 (1.528)	-1.500 (-2.450; -0.550)	0.002	0.133	38.75	0.362	0.268
Myristoleic acid (C14:1)/ Ácido miristoleico (C14:1)	7 (10)	0.197 (0.032)	0.002 (-0.159; 0.163)	0.980	<0.001	98.72	0.124	0.854
Pentadecanoic acid (C15:0)/ Ácido pentadecanoico (C15:0)	7 (10)	0.854 (0.198)	-0.099 (-0.186; -0.013)	0.025	<0.001	94.13	0.471	0.856
Palmitic acid (C16:0)/ Ácido palmítico (C16:0)	8 (12)	24.723 (2.364)	-3.432 (-5.322; -1.541)	<0.001	<0.001	93.01	0.243	0.562
Palmitoleic acid (C16:1)/ Ácido palmitoleico (C16:1)	7 (10)	0.808 (0.259)	0.035 (-0.268; 0.337)	0.823	<0.001	96.86	0.336	0.596
Heptadecanoic acid (C17:0)/ Ácido heptadecanoico (C17:0)	7 (10)	0.693 (0.149)	-0.089 (-0.142; -0.037)	<0.001	0.078	39.72	0.112	0.365
Margoleic acid (C17:1)/ Ácido margaroleico (C17:1)	7 (10)	0.328 (0.064)	-0.040 (-0.084; 0.005)	0.083	<0.001	89.55	0.134	0.218
Stearic acid (C18:0)/ Ácido esteárico (C18:0)	8 (12)	12.526 (3.293)	0.249 (-1.122; 1.620)	0.722	<0.001	95.13	0.555	0.678
Oleic acid (C18:1 n-9 cis)/ Ácido oleico (C18:1 n-9 cis)	8 (12)	20.407 (4.386)	1.392 (-0.249; 3.033)	0.096	<0.001	91.71	0.660	0.679
Linoleic acid (C18:2 n-6 cis)/ Ácido linoleico (C18:2 n-6 cis)	8 (11)	2.672 (0.443)	0.237 (0.026; 0.449)	0.028	<0.001	84.62	0.614	0.782
Vaccenic acid (C18:1 trans-11)/ Ácido vaccénico (C18:1 trans-11)	5 (7)	1.727 (0.628)	1.292 (0.797; 1.787)	<0.001	<0.001	96.72	0.151	0.457

Table 4. Statistical analysis of the milk fatty acid profile in small ruminants supplemented with hemp (*Cannabis sativa* L.) seed products. (cont.)**Cuadro 4. Análisis estadístico del perfil de ácidos grasos en leche de pequeños rumiantes suplementados con productos derivados de semillas de cáñamo (*Cannabis sativa* L.). (cont.)**

Variable	N (NC)	Control means (SD)/ Media control (DE)	WMD (95 % CI)/ DMP (95 % IC)	p-value / Valor de p	Heterogeneity / Heterogeneidad		Egger's test / Prueba de Egge	Begg test / Prueba de Begg
					p-value / Valor de p	I ² (%)		
Conjugated linoleic acid (C18:2 cis-9, trans-11)/ Ácido linoleico conjugado (C18:2 cis-9, trans-11)	7 (10)	0.794 (0.305)	0.708 (0.248; 1.168)	0.003	0.068	29.96	0.284	0.205
α-linolenic acid (C18:3 n-3)/ Ácido α-linolénico (C18:3 n-3)	8 (12)	0.968 (0.313)	0.380 (0.243; 0.518)	<0.001	<0.001	93.94	0.304	0.331
γ-linolenic acid (C18:3 n-6)/ Ácido γ-linolénico (C18:3 n-6)	6 (9)	0.110 (0.019)	-0.035 (-0.060; -0.010)	0.067	<0.001	99.13	0.872	0.915
Arachidic acid (C20:0)/ Ácido araquídico (C20:0)	8 (12)	0.251 (0.069)	0.075 (0.037; 0.114)	<0.001	0.089	37.42	0.349	0.481
Eicosapentaenoic acid (C20:5 n-3)/ Ácido eicosapentaenoico (C20:5 n-3)	6 (9)	0.125 (0.042)	0.039 (0.026; 0.051)	<0.001	0.102	41.66	0.420	0.567
Behenic acid (C22:0)/ Ácido behénico (C22:0)	5 (8)	0.067 (0.030)	0.004 (-0.002; 0.010)	0.155	<0.001	83.14	0.466	0.610
Docosahexaenoic acid (C22:6 n-3)/ Ácido docosahexaenoico (C22:6 n-3)	5 (7)	0.133 (0.044)	0.007 (0.001; 0.013)	0.016	0.066	49.32	0.330	0.355
Total SFA/ AGS totales	8 (12)	68.444 (3.800)	-4.904 (-8.031; -1.777)	0.002	<0.001	94.24	0.172	0.591
Total MUFA/ AGMI totales	8 (12)	24.479 (3.272)	4.124 (2.755; 5.493)	<0.001	0.082	40.29	0.358	0.889
Total PUFA/ AGPI totales	8 (12)	5.321 (1.421)	1.733 (0.894; 2.571)	<0.001	<0.001	99.04	0.061	0.579
Total ω-3/ ω-3 total	7 (11)	1.230 (0.601)	0.540 (0.287; 0.794)	<0.001	<0.001	97.95	0.096	0.305
Total ω-6/ ω-6 total	7 (11)	3.163 (0.652)	0.142 (-0.047; 0.331)	0.142	0.064	42.43	0.310	0.478
ω-6/ω-3 ratio/ Relación ω-6/ω-3	5 (7)	2.835 (1.304)	-0.546 (-0.880; -0.212)	0.001	<0.001	98.09	0.585	0.282
Atherogenic index (AI)/ Índice aterogénico (IA)	5 (8)	1.931 (0.831)	-0.578 (-0.855; -0.301)	<0.001	<0.001	99.63	0.561	0.704
Thrombogenic index (TI)/ Índice trombogénico (IT)	5 (8)	1.860 (0.347)	-0.442 (-0.614; -0.270)	<0.001	<0.001	97.80	0.167	0.163

N: number of studies; NC: number of comparisons between hemp seed product treatment and control treatment; SD: standard deviation; WMD: weighted mean differences between control and hemp seed product treatments; CI: confidence interval of WMD; p-Value to χ^2 (Q) test of heterogeneity; I²: proportion of total variation of size effect estimates that is due to heterogeneity; SFA: saturated fatty acids; MUFA: monounsaturated fatty acids; PUFA: polyunsaturated fatty acids.

N: número de estudios; NC: número de comparaciones entre el tratamiento con productos de semillas de cáñamo y el tratamiento de control; DE: desviación estándar; DMP: diferencia de medias ponderada entre testigo y tratamiento con productos de semillas de cáñamo; IC: intervalo de confianza de DMP; valor p de la prueba χ^2 (Q) de heterogeneidad; I²: proporción de la variación total de estimaciones del efecto del tamaño que se debe a la heterogeneidad; RL: rendimiento de la leche; CGL: contenido de grasa; CPL: contenido de proteína; CL: contenido de lactosa; RGL: rendimiento de grasa; RPL: rendimiento de proteína láctea; RLL: producción de lactosa; NUL: nitrógeno ureico lácteo; RCS: recuento de células somáticas; AGS: ácidos grasos saturados; AGMI: ácidos grasos monoinsaturados; AGPI: ácidos grasos poliinsaturados.

Semwogerere et al. (2024) reported that increasing dietary HSP (25 to 100 g·kg⁻¹ DM) reduced duodenal microbial protein flow in small ruminants by 7.8 to 22.9 %. This effect may be related to the lower concentrations of C15:0 and C17:0 observed in the milk evaluated in this meta-analysis, since these fatty acids originate primarily from ruminal bacteria rich in C15:0 and C17:0, which form part of the microbial protein absorbed in the duodenum (Vlaeminck et al., 2005).

In the current study, dietary inclusion of HSP increased the milk concentration of C18:2 n-6 cis, C18:3 n-3, C18:1 trans-11, and C18:2 cis-9, trans-11. Cremonesi et al. (2018) reported that the use of HSPs increases the concentration of C18:2 n-6 cis and C18:3 n-3 in the rumen content of dairy goats by 10.5 to 63.8 %. This effect may explain the higher concentrations of these fatty acids in the milk of ruminants supplemented with HSP as both originate directly from the diet and are not synthesized in the mammary gland (Gómez-Cortés & de la Fuente, 2020).

Tabiś et al. (2024) reported that HSPs increase the abundance of *Butyrivibrio fibrisolvens* in rumen fluid. This bacterium can hydrogenate C18:2 n-6 cis to C18:1 trans-11 in the rumen (Fukuda et al., 2006), which explains the high concentration of C18:1 trans-11 observed in the present meta-analysis. HSP contain 33.9 to 55.6 % C18:2 n-6 cis (Kalaitidis et al., 2023), which can be converted into C18:1 trans-11 in the rumen due to the elevated abundance of *B. fibrisolvens* (Mierlita et al., 2023). In addition, HSPs stimulate the activity of $\Delta 9$ -desaturasa (Mierlita et al., 2023), the enzyme responsible for converting C18:1 trans-11 into C18:2 cis-9, trans-11 in the mammary gland of ruminants (Fukuda et al., 2006).

The use of HSP also increased the concentration of C20:0, C20:5 n-3, and C22:6 n-3 in the milk of small dairy ruminants. HSPs have been shown to raise C20:0 levels in the rumen contents by 35.1 % (Cremonesi et al., 2018), which may enhance its intestinal absorption and subsequent transfer to the mammary gland and milk. Likewise, the increase in C18:3 n-3 observed in this meta-analysis (+39.2 %) suggests greater availability of this fatty acid in mammary tissue, where it can be converted into C20:5 n-3 and C22:6 n-3 through elongation and desaturation reactions (Zymon et al., 2014). Intake of ruminant milk with a high concentration of C20:5 n-3 and C22:6 n-3 has been linked to enhanced cognitive function and a low risk of CVD in humans (Orzuna-Orzuna et al., 2023).

The inclusion of HSP decreased total SFA content and the ω -6/ ω -3, while increasing total MUFA, PUFA, and ω -3 levels. Similar changes have been reported

y Begg confirmaron la ausencia de sesgo de publicación ($p > 0.05$) en todas las variables evaluadas (Cuadro 4).

De acuerdo con Lopez et al. (2022), la composición de ácidos grasos en la leche se puede modificar mediante cambios en la dieta, lo cual permite mejorar su calidad nutricional y su valor agregado en productos derivados. En el presente metaanálisis, la adición de PDSC en la dieta redujo significativamente las concentraciones de C12:0, C14:0 y C16:0 en la leche, lo cual es favorable desde el punto de vista de la salud humana, ya que estos ácidos grasos están asociados con un incremento del colesterol sérico (Ungerfeld et al., 2019). En mamíferos y aves, la ingesta de PDSC disminuye la expresión del gen acetil-CoA carboxilasa (ACACA) (He et al., 2025). La menor expresión del ACACA reduce la síntesis *de novo* de C12:0, C14:0 y C16:0 en la glándula mamaria de los rumiantes (Ungerfeld et al., 2019), lo que explica las bajas concentraciones de estos ácidos grasos en el presente estudio.

Semwogerere et al. (2024) mencionan que el aumento de PDSC en la dieta (25 a 100 g·kg⁻¹ MS) redujo entre 7.8 y 22.9 % el flujo de proteína microbiana duodenal en rumiantes pequeños. Este efecto se podría relacionar con una menor concentración de C15:0 y C17:0 en la leche evaluada en este metaanálisis, ya que dichos ácidos grasos provienen principalmente de bacterias ruminales ricas en C15:0 y C17:0, las cuales forman parte de la proteína microbiana absorbida en el duodeno (Vlaeminck et al., 2005).

En este estudio, la suplementación con PDSC aumentó la concentración de C18:2 n-6 cis, C18:3 n-3, C18:1 trans-11 y C18:2 cis-9, trans-11. Cremonesi et al. (2018) afirman que el uso de PDSC aumenta de 10.5 a 63.8 % la concentración de C18:2 n-6 cis y C18:3 n-3 en el contenido ruminal de cabras lecheras. Este efecto puede explicar la mayor concentración de dichos ácidos grasos en la leche de rumiantes alimentados con PDSC, ya que ambos provienen directamente de la dieta y no se sintetizan en la glándula mamaria (Gómez-Cortés & de la Fuente, 2020).

Tabiś et al. (2024) señalan que los PDSC incrementan la abundancia de *Butyrivibrio fibrisolvens* en el líquido ruminal. Esta bacteria puede hidrogenar C18:2 n-6 cis a C18:1 trans-11 en el rumen (Fukuda et al., 2006), lo cual explica la alta concentración de C18:1 trans-11 observada en el presente metaanálisis. Los PDSC tienen un contenido de 33.9 a 55.6 % de C18:2 n-6 cis (Kalaitidis et al., 2023), que puede transformarse en C18:1 trans-11 en el rumen debido a la alta concentración de *B. fibrisolvens* (Mierlita et al., 2023). Además, los PDSC estimulan la actividad de la enzima $\Delta 9$ -desaturasa (Mierlita et al., 2023), responsable de convertir C18:1 trans-11 en C18:2 cis-9, trans-11 en la glándula mamaria de rumiantes (Fukuda et al., 2006).

in the milk of buffaloes supplemented with HSP (Gu et al., 2025). According to Mukhametov et al. (2022), consumption of dairy products with high SFA content and with an elevated ω -6/ ω -3 ratio is associated with increased risk of obesity, blood clot formation, atherosclerosis, and CVD. In contrast, diets rich in MUFA, PUFA, and ω -3 reduce the incidence of these conditions (Lunn et al., 2006; Orzuna-Orzuna et al., 2024).

Finally, the reduction in AI and TI observed in the milk of ruminants supplemented with HSP further highlights the nutraceutical potential of these products. This decrease is mainly due to the lower concentration of C12:0, C14:0, and C16:0 in the milk, fatty acids considered both atherogenic and thrombogenic (Ulbricht & Southgate, 1991). In this way, HSPs contribute to producing milk with a healthier lipid profile for human consumption (Tilami & Kouřimská, 2006).

Conclusions

The inclusion of hemp seed products in diets for small dairy ruminants improves milk yield and composition. Likewise, the dietary inclusion of hemp seed products improves the milk fatty acid profile of small dairy ruminants. However, these conclusions should be used with caution, considering that most milk fatty acids exhibited high heterogeneity. At the same time, the entire database contained only a few studies (≤ 9), which limited the dose-response evaluation through subgroup analysis.

End of English version

References / Referencias

- Addo, F., Gervais, R., Ominski, K., Yang, C., & Plaizier, J. C. (2023a). Comparing dehulled hemp meal and canola meal as a protein supplement for lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 106(12), 8670-8683. <https://doi.org/10.3168/jds.2023-23507>
- Addo, F., Ominski, K., Yang, C., & Plaizier, J. C. (2023b). Quality and safety of hemp meal as a protein supplement for nonlactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 106(11), 7602-7612. <https://doi.org/10.3168/jds.2023-23222>
- Adesogan, A. T., & Dahl, G. E. (2020). MILK Symposium introduction: Dairy production in developing countries. *Journal of Dairy Science*, 103(11), 9677-9680. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18313>
- Altman, A.W., Kent-Dennis, C., Klotz, J. L., McLeod, K. R., Vanzant, E. S., & Harmon, D. L. (2024). Review: Utilizing industrial hemp (*Cannabis sativa* L.) by-products in livestock rations. *Animal Feed Science and Technology*, 307(1), 115850. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2023.115850>
- Astrup, A., Magkos, F., Bier, D. M., Brenna, J. T., de Oliveira-Otto, M. C., Hill, J. O., King, J. C., Mente, A., Ordovas, J. M., & Volek, J.S. (2020). Saturated fats and health: A reassessment and proposal for food-based recommendations: JACC State-of-the-

El uso de PDSC también aumentó las concentraciones de C20:0, C20:5 n-3 y C22:6 n-3 en la leche. Se ha observado que los PDSC aumentan en 35.1 % la concentración de C20:0 en el contenido ruminal (Cremonesi et al., 2018), lo que podría incrementar su absorción intestinal y, posteriormente, su transferencia a la glándula mamaria y a la leche. Asimismo, el aumento de C18:3 n-3 observado en este metaanálisis (+39.2 %) sugiere una mayor disponibilidad metabólica de este ácido graso en el tejido mamario, donde se puede transformar en C20:5 n-3 y C22:6 n-3 mediante reacciones de elongación y desaturación (Zymon et al., 2014). El consumo de leche con concentraciones elevadas de C20:5 n-3 y C22:6 n-3 se ha asociado con una mejora de la función cognitiva y una menor incidencia de ECV en humanos (Orzuna-Orzuna et al., 2023).

La suplementación con PDSC disminuyó la concentración total de AGS y la relación ω -6/ ω -3; asimismo, aumentó la concentración total de AGMI, AGPI y ω -3. Cambios similares fueron reportados en leche de búfalas suplementadas con PDSC (Gu et al., 2025). De acuerdo con Mukhametov et al. (2022), el consumo de productos lácteos con alto contenido de AGS y una elevada relación ω -6/ ω -3 se asocia con un incremento en la incidencia de obesidad, formación de coágulos sanguíneos, aterosclerosis y ECV. Por el contrario, las dietas ricas en AGMI, AGPI y ω -3 reducen la incidencia de estas enfermedades (Lunn et al., 2006; Orzuna-Orzuna et al., 2024).

Finalmente, la reducción del IA y el IT observada en la leche de rumiantes suplementados con PDSC refuerza el potencial nutraceutico de estos productos. Dicha disminución se debe principalmente a la menor concentración de C12:0, C14:0 y C16:0 en la leche, ácidos grasos considerados como aterogénicos y trombogénicos (Ulbricht & Southgate, 1991). De esta manera, los PDSC contribuyen a obtener leche con un perfil lipídico más saludable para el consumo humano (Tilami & Kouřimská, 2006).

Conclusiones

La suplementación con productos derivados de semilla de cáñamo en las dietas de pequeños rumiantes lecheros mejora significativamente el rendimiento y la composición de la leche. En particular, la inclusión de estos productos mejora el perfil de ácidos grasos en la leche de estos animales. Sin embargo, estos resultados deben interpretarse con cautela, ya que la mayoría de las variables relacionadas con los ácidos grasos mostraron alta heterogeneidad y la base de datos incluyó un número limitado de estudios (≤ 9), lo que dificultó el desarrollo del modelo dosis-respuesta mediante análisis por subgrupos.

Fin de la versión en español

- Art Review. *Journal of American College of Cardiology*, 76(12), 844-857. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2020.05.077>
- Bailoni, L., Bacchin, E., Trocino, A., & Arango, S. (2021). Hemp (*Cannabis sativa* L.) seed and co-products inclusion in diets for dairy ruminants: A review. *Animals*, 11, 856. <https://doi.org/10.3390/ani11030856>
- Begg, C. B., & Mazumdar, M. (1994). Operating characteristics of a rank correlation test for publication bias. *Biometrics*, 50(4), 1088-1101. <https://doi.org/10.2307/2533446>
- Blaskovich, M. A. T., Kavanagh, A. M., Elliott, A. G., Zhang, B., Ramu, S., Amado, M., Lowe, G. J., Hinton, A. O., Pham, D. M. T., ... Thurn, M. (2021). The antimicrobial potential of cannabidiol. *Communications Biology*, 4(1), 7. <https://doi.org/10.1038/s42003-020-01530-y>
- Borenstein, M., Hedges, L. V., Higgins, J. P. T., & Rothstein, H. R. (2009). *Introduction to meta-analysis*. John Wiley and Sons, Ltd.
- Briggs, M. A., Petersen, K. S., & Kris-Etherton, P. M. (2017). Saturated fatty acids and cardiovascular disease: replacements for saturated fat to reduce cardiovascular risk. *Healthcare*, 5(2), 29. <https://doi.org/10.3390/healthcare5020029>
- Brown, C. A., Chandler, P. T., & Holter, J. B. (1977). Development of predictive equations for milk yield and dry matter intake in lactating cows. *Journal of Dairy Science*, 60(11), 1739-1754. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(77\)84098-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(77)84098-8)
- Cismileanu, A. E., Toma, S. M., Ropota, M., Dragomir, C. P., Cornescu, G. M., & Dragomir, C. (2024). Obtaining goats' dairy products enriched in healthy fatty acids by valuing linseed or hempseed as dietary ingredients. *Agriculture*, 14(9), 1498. <https://doi.org/10.3390/agriculture14091498>
- Contreras, G. A., & Rodríguez, J. M. (2011). Mastitis: Comparative etiology and epidemiology. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 16(4), 339-356. <https://doi.org/10.1007/s10911-011-9234-0>
- Cozma, A., Andrei, S., Pinte, A., Miere, D., Filip, L., Loghin, F., & Ferlay, A. (2015). Effect of hemp seed oil supplementation on plasma lipid profile, liver function, milk fatty acid, cholesterol, and vitamin A concentrations in Carpathian goats. *Czech Journal of Animal Science*, 60(7), 289-301. <https://doi.org/10.17221/8275-CJAS>
- Cremonesi, P., Capra, E., Turri, F., Lazzari, B., Chessa, S., Battelli, G., Colombini, S., Rapetti, L., & Castiglioni, B. (2022). Effect of diet enriched with hemp seeds on goat milk fatty acids, transcriptome, and miRNAs. *Frontiers in Animal Science*, 3, 1-16. <https://doi.org/10.3389/fanim.2022.909271>
- Cremonesi, P., Conte, G., Severgnini, M., Turri, F., Monni, A., Capra, E., Rapetti, L., Colombini, S., Chessa, S., Battelli, G., Alves, S. P., Mele, M., & Castiglioni, B. (2018). Evaluation of the effects of different diets on microbiome diversity and fatty acid composition of rumen liquor in dairy goat. *Animal*, 12(9), 1856-1866. <https://doi.org/10.1017/S1751731117003433>
- de Oca-Flores, M. E., Espinoza-Ortega, A., & Arriaga-Jordán, C. M. (2019). Technological and physicochemical properties of milk and physicochemical aspects of traditional Oaxaca cheese. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 10(2), 367-378. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v10i2.4291>
- Der-Simonian, R., & Laird, N. (1986). Meta-analysis in clinical trials. *Control Clinical Trials*, 7(3), 177-188. [https://doi.org/10.1016/0197-2456\(86\)90046-2](https://doi.org/10.1016/0197-2456(86)90046-2)
- Drevon, D., Fursa, S. R., & Malcolm, A. L. (2017). Intercoder reliability and validity of WebPlotDigitizer in extracting graphed data. *Behavior Modification*, 41(2), 323-339. <https://doi.org/10.1177/014544551667399>
- Egger, M., Smith, G. D., Schneider, M., & Minder, C. (1997). Bias in meta-analysis detected by a simple, graphical test. *BMJ*, 315(9), 629. <https://doi.org/10.1136/bmj.315.7109.629>
- Fabro, C., Romanzin, A., & Spanghero, M. (2021). Fatty acid profile of table eggs from laying hens fed hempseed products: A meta-analysis. *Livestock Science*, 254(12), 104748. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2021.104748>
- Favorit, V., Hood, W. R., Kavazis, A. N., & Skibiel, A. L. (2021). Graduate Student Literature Review: Mitochondrial adaptations across lactation and their molecular regulation in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 104(9), 10415-10425. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-20138>
- Finckh, A., & Tramèr, M. R. (2008). Primer: Strengths and weaknesses of meta-analysis. *Nature Clinical Practice Rheumatology*, 4(3), 146-152. <https://doi.org/10.1038/ncprheum0732>
- Fukuda, S., Suzuki, Y., Murai, M., Asanuma, N., & Hino, T. (2006). Augmentation of vacenate production and suppression of vacenate biohydrogenation in cultures of mixed ruminal microbes. *Journal of Dairy Science*, 89(3), 1043-1051. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72171-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72171-3)
- Gómez-Cortés, P., & de la Fuente, M. Á. (2020). Metabolic origin and bioactive properties of odd and branched-chain fatty acids in ruminants' milk. Review. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 11(4), 1174-1191. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v11i4.5171>
- Graulet, B. (2014). Ruminant milk: A source of vitamins in human nutrition. *Animal Frontiers*, 4(2), 24-30. <https://doi.org/10.2527/af.2014-0011>
- Gregory, A. T., & Denniss, A. R. (2018). An introduction to writing narrative and systematic reviews—tasks, tips and traps for aspiring authors. *Heart, Lung and Circulation*, 27(7), 893-898. <https://doi.org/10.1016/j.hlc.2018.03.027>
- Gu, Q., Lin, B., Wan, D., Kong, Z., Tang, Q., Yan, Q., Cai, X., Ding, H., Qin, G., & Zou, C. (2025). Effect of hemp seed oil on milk performance, blood parameters, milk fatty acid profile, and rumen microbial population in milk-producing buffalo: Preliminary study. *Animals*, 15(4), 514. <https://doi.org/10.3390/ani15040514>
- He, Q., Zhang, Z., Tian, H., Wang, H., Lu, X., Deng, H., Yang, F., Tang, X., Wang, J., Li, Z., Shen, S., Lu, Y., & Huang, J. (2025). Effects of partial replacement of soybean meal with hemp seed (*Cannabis sativa* L.) cake on the growth and meat quality in female three-yellow chickens. *Poultry Science*, 104(1), 104466. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2024.104466>
- Hooijmans, C. R., Rovers, M. M., de Vries, R. B., Leenaars, M., Ritskes-Hoitinga, M., & Langendam, M. W. (2014). SYRCLE's risk of bias tool for animal studies. *BMC Medical Research Methodology*, 14(1), 43. <https://doi.org/10.1186/1471-2288-14-43>
- Hosseini-Zadeh, N. G. (2024). Milk urea nitrogen is genetically associated with production and reproduction performance of dairy cows: A meta-analysis. *Livestock Science*, 283(5), 105461. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2024.105461>
- Iannaccone, M., Ianni, A., Contaldi, F., Esposito, S., Martino, C., Bennato, F., De Angelis, E., Grotta, L., Pomilio, F., Giansante, D., & Martino, G. (2019). Whole blood transcriptome analysis

- in ewes fed with hemp seed supplemented diet. *Scientific Reports*, 9(1), 16192. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-52712-6>
- Ianni, A., Di Domenico, M., Bennato, F., Peserico, A., Martino, C., Rinaldi, A., Candeloro, L., Grotta, L., Cammà, C., Pomilio, F., & Martino, G. (2020). Metagenomic and volatile profiles of ripened cheese obtained from dairy ewes fed a dietary hemp seed supplementation. *Journal of Dairy Science*, 103(7), 5882-5892. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17954>
- James, I. J., Osinowo, O. A., Smith, O. F., Bemji, M. N., Williams, T. J., Ajayi, O. L., Oluwole, O., & Olaniyi, M. O. (2017). Effects of bovine somatotropin on milk yield, mammary gland weight and histology in West African Dwarf goats. *Archivos de Zootecnia*, 66(254), 173-179. <https://www.redalyc.org/pdf/495/49553570003.pdf>
- Jiang, J., Ma, L., Prakapenka, D., Vanraden, P. M., Cole, J. B., & Cole, J. B. (2019). A large-scale genome-wide association study in US Holstein Cattle. *Frontiers in Genetics*, 10, 412. <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.00412>
- Kalaitzidis, K., Parissi, Z., Theodoridis, A., Tsaliki, E., Vasilopoulou, K., Dokou, S., Lazari, D., Valergakis, G. E., & Giannenas, I. (2023). Evaluation of hemp cake (*Cannabis sativa*) and other hemp by-products of Greek origin and efficacy in dairy cow nutrition. *Archiva Zootechnica*, 26(2), 149-170. <https://doi.org/10.2478/azibna-2023-0020>
- Karlsson, L., Finell, M., & Martinsson, K. (2010). Effects of increasing amounts of hempseed cake in the diet of dairy cows on the production and composition of milk. *Animal*, 4(11), 1854-1860. <https://doi.org/10.1017/S1751731110001254>
- Kokić, B., Rakita, S., & Vujetić, J. (2024). Impact of using oilseed industry byproducts rich in linoleic and alpha-linolenic acid in ruminant nutrition on milk production and milk fatty acid profile. *Animals*, 14(4), 539. <https://doi.org/10.3390/ani14040539>
- Korichev, J., Gurevitch, J., & Mengersen, K. (2013). *Handbook of meta-analysis in ecology and evolution*. Princeton University Press.
- Lacasse, P., Ollier, S., Lollivier, V., & Boutinaud, M. (2016). New insights into the importance of prolactin in dairy ruminants. *Journal of Dairy Science*, 99(1), 864-874. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10035>
- Lemosquet, S., Delamaire, E., Lapierre, H., Blum, J. W., & Peyraud, J. L. (2009). Effects of glucose, propionic acid, and nonessential amino acids on glucose metabolism and milk yield in Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 92(7), 3244-3257. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1610>
- Li, M., Hassan, F., Tang, Z., Peng, L., Liang, X., Li, L., Peng, K., Xie, F., & Yang, C. (2020). Mulberry leaf flavonoids improve milk production, antioxidant, and metabolic status of water buffaloes. *Frontiers in Veterinary Science*, 7, 599. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00599>
- Lopez, A., Bellagamba, F., Savoini, G., Moretti, V. M., & Cattaneo, D. (2022). Characterization of fat quality in cow milk from Alpine farms as influenced by seasonal variations of diets. *Animals*, 12(4), 515. <https://doi.org/10.3390/ani12040515>
- Lucio-Ruiz, F., Godina-Rodríguez, J. E., Granados-Rivera, L. D., Orzuna-Orzuna, J. F., Joaquín-Cancino, S., & Hernández-García, P. A. (2024). Meta-analysis of dietary supplementation with flavonoids in small ruminants: Growth performance, antioxidant status, nutrient digestibility, ruminal fermentation, and meat quality. *Small Ruminant Research*, 241(12), 107401. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2024.107401>
- Lunn, J., & Theobald, H. E. (2006). The health effects of dietary unsaturated fatty acids. *Nutrition Bulletin*, 31(3), 178-224. <https://doi.org/10.1111/j.1467-3010.2006.00571.x>
- Mierlita, D. (2016). Fatty acid profile and health lipid indices in the raw milk of ewes grazing part-time and hemp seed supplementation of lactating ewes. *South African Journal of Animal Science*, 46(3), 237-246. <https://doi.org/10.4314/sajas.v46i3.3>
- Mierliță, D. (2018). Effects of diets containing hemp seeds or hemp cake on fatty acid composition and oxidative stability of sheep milk. *South African Journal of Animal Science*, 48(3), 504-515. <https://doi.org/10.4314/sajas.v48i3.11>
- Mierlita, D., Mierlita, S., Struti, D. I., & Mintas, O. S. (2023). Effects of hemp seed on the production, fatty acid profile, and antioxidant capacity of milk from goats fed hay or a mixed shrubs-grass rangeland. *Animals*, 13(2), 3435. <https://doi.org/10.3390/ani13223435>
- Mohamed, N., & House, J. D. (2024). Safety and efficacy of hemp-derived products in animal feeds—a narrative review. *Canadian Journal of Animal Science*, 104(4), 390-410. <https://doi.org/10.1139/cjas-2023-0133>
- Mouro, J., & Guille, M. (2015). Effect of introducing hemp oil into feed on the nutritional quality of pig meat. *OCL Oilseeds Fats Crops Lipids*, 22(6), D612. <https://doi.org/10.1051/ocl/2015035>
- Mu, T., Hu, H., Ma, Y., Feng, X., Zhang, J., & Gu, Y. (2021). Regulation of key genes for milk fat synthesis in ruminants. *Frontiers in Nutrition*, 8, 765147. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.765147>
- Muedi, H. T. H., Kujoana, T. C., Shai, K., Mabelebele, M., & Sebola, N. A. (2024). The use of industrial hemp (*Cannabis sativa*) on farm animal's productivity, health and reproductive performance: A review. *Animal Production Science*, 64(2), AN23268. <https://doi.org/10.1071/AN23268>
- Mukhametov, A., Yerbulekova, M., Aitkhozhayeva, G., Tuyakova, G., & Dautkanova, D. (2022). Effects of ω 3 fatty acids and ratio of ω 3/ ω 6 for health promotion and disease prevention. *Food Science and Technology*, 42, e58321. <https://doi.org/10.1590/fst.58321>
- Orzuna-Orzuna, J. F., Chay-Canul, A. J., & Lara-Bueno, A. (2023). Performance, milk fatty acid profile and oxidative status of lactating small ruminants supplemented with microalgae: A meta-analysis. *Small Ruminant Research*, 226(9), 107031. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2023.107031>
- Orzuna-Orzuna, J. F., Godina-Rodríguez, J. E., Garay-Martínez, J. R., Reséndiz-González, G., Joaquín-Cancino, S., & Lara-Bueno, A. (2024). Milk yield, composition, and fatty acid profile in milk of dairy cows supplemented with microalgae *Schizochytrium* sp.: A meta-analysis. *Agriculture*, 14(7), 1119. <https://doi.org/10.3390/agriculture14071119>
- Page, M. J., McKenzie, J. E., Bossuyt, P. M., Boutron, I., Hoffmann, T., Mulrow, C. D., Shamseer, L., Tetzlaff, J., Akl, E. A., Brennan, S., ... Moher, D. (2021). The PRISMA 2020 statement: An updated guideline for reporting systematic reviews. *BMJ*, 372(71), 1-9. <https://doi.org/10.1136/bmj.n71>

- Rapetti, L., Colombini, S., Battelli, G., Castiglioni, B., Turri, F., Galassi, G., Battelli, M., & Crovetto, G. M. (2021). Effect of linseeds and hemp seeds on milk production, energy and nitrogen balance, and methane emissions in the dairy goat. *Animals*, 11(9), 2717. <https://doi.org/10.3390/ani11092717>
- Rupp, R., Beaudeau, F., & Boichard, D. (2000). Relationship between milk somatic-cell counts in the first lactation and clinical mastitis occurrence in the second lactation of French Holstein cows. *Preventive Veterinary Medicine*, 46(2), 99-111. [https://doi.org/10.1016/S0167-5877\(00\)00142-2](https://doi.org/10.1016/S0167-5877(00)00142-2)
- Šalavardić, Ž. K., Novoselec, J., Đidara, M., Steiner, Z., Čavar, S., Modić Šabić, A., & Antunović, Z. (2021). Effect of dietary hempseed cake on milk performance and haemato-chemicals in lactating Alpine dairy goats. *Animal*, 15(7), 100255. <https://doi.org/10.1016/j.animal.2021.100255>
- Schwerdtfeger, J., Görs, S., Dannenberger, D., & Kuhla, B. (2025). Replacing soybean meal with hemp leaves in a dairy cow diet: Plasma antioxidative capacity, inflammatory parameters and milk constituents. *Animals*, 15(10), 1414. <https://doi.org/10.3390/ani15101414>
- Semwogerere, F., Chenaimoyo, L. F., Chikwanha, O., Marufu, M., & Mapiye, C. (2020). Bioavailability and bioefficacy of hemp by-products in ruminant meat production and preservation: A review. *Frontiers in Veterinary Science*, 7, 572906. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.572906>
- Semwogerere, F., Chikwanha, O. C., Katiyatiya, C. L., Marufu, M. C., & Mapiye, C. (2024). Nutrient intake, digestibility, and utilization in goats fed graded levels of hempseed cake finisher diets. *Tropical Animal Health and Production*, 56(1), 21. <https://doi.org/10.1007/s11250-023-03864-1>
- Sieck, R. L., Treffer, L. K., Ponte-Viana, M., Khalimonchuk, O., Schmidt, T. B., Yates, D. T., & Petersen, J. L. (2020). Beta-adrenergic agonists increase maximal output of oxidative phosphorylation in bovine satellite cells. *Translational Animal Science*, 4(1), S94-S97. <https://doi.org/10.1093/tas/txaa112>
- Tabacco, E., Merlino, V. M., Coppa, M., Massaglia, S., & Borreani, G. (2021). Analyses of consumers' preferences and of the correspondence between direct and indirect label claims and the fatty acid profile of milk in large retail chains in northern Italy. *Journal of Dairy Science*, 104(12), 12216-12235. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-20191>
- Tabiś, A., Szumny, A., Bania, J., Pacyga, K., Lewandowska, K., & Kupczyński, R. (2024). Comparison of the effects of essential oils from *Cannabis sativa* and *Cannabis indica* on selected bacteria, rumen fermentation, and methane production – In vitro study. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(11), 5861. <https://doi.org/10.3390/ijms25115861>
- Taşkesen, H. O., & Hacer, T. (2024). Possibilities of using hemp (*Cannabis sativa* L.) and its byproducts in sheep nutrition – A review. *Annals of Animal Science*, 25(1), 159-173. <https://doi.org/10.2478/aoas-2024-0065>
- Tilami, S. K., & Kouřimská, L. (2022). Assessment of the nutritional quality of plant lipids using atherogenicity and thrombogenicity indices. *Nutrients*, 14(8), 3795. <https://doi.org/10.3390/nu14183795>
- Ulbricht, T., & Southgate, D. (1991). Coronary heart disease: Seven dietary factors. *Lancet*, 338(8), 985-992. [https://doi.org/10.1016/0140-6736\(91\)91846-M](https://doi.org/10.1016/0140-6736(91)91846-M)
- Ungerfeld, E. M., Urrutia, N. L., Vasconez-Montufar, C., & Morales, R. (2019). Factors associated with the content of mammary-synthesized fatty acids in milk fat: A meta-analysis. *Journal of Dairy Science*, 102(5), 4105-4117. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15157>
- Viechtbauer, W. (2010). Conducting meta-analyses in R with the metaphor package. *Journal of Statistical Software*, 36(3), 1-48. <https://doi.org/10.18637/jss.v036.i03>
- Vlaeminck, B., Dufour, C., van Vuuren, A. M., Cabrita, A. R. J., Dewhurst, R. J., Demeyer, D., & Fievez, V. (2005). Use of odd and branched-chain fatty acids in rumen contents and milk as a potential microbial marker. *Journal of Dairy Science*, 88(3), 1031-1042. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(05\)72771-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)72771-5)
- Wongpom, B., Koonawootrittriron, S., Elzo, M. A., & Suwanasopee, T. (2017). Milk yield, fat yield and fat percentage associations in a Thai multibreed dairy population. *Agriculture and Natural Resources*, 51(3), 218-222. <https://doi.org/10.1016/j.anres.2016.12.008>
- Zymon, M., Strzetelski, J., & Skrzyński, G. (2014). Aspects of appropriate feeding of cows for production of milk enriched in the fatty acids, EPA and DHA. A review. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 23(2), 109-116. <https://doi.org/10.22358/jafs/65698/2014>



Physical and physiological quality of native grass ecotypes from the Tamaulipas Highlands for the rehabilitation of semiarid areas

Calidad física y fisiológica de ecotipos de gramíneas nativas del Altiplano Tamaulipeco para la rehabilitación de zonas semiáridas

Jesús E. Ochoa-Lechuga¹; Edith Ramírez-Segura²; Fernando Lucio-Ruiz³;
Santiago Joaquín-Cancino¹; Benigno Estrada-Drouaillet¹;
Andrés G. Limas-Martínez¹; Jonathan R. Garay-Martínez^{4*}

¹Universidad Autónoma de Tamaulipas. Centro Universitario, Ciudad Victoria, Tamaulipas, C. P. 87149, México.

²Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias - Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Agricultura Familiar. Ojuelos de Jalisco, Jalisco. C. P. 47540, México.

³Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias - Campo Experimental San Luis. Palma de la Cruz, San Luis Potosí, C. P. 78432, México.

⁴Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias - Campo Experimental Las Huastecas. Altamira, Tamaulipas, C. P. 89610, México.

*Corresponding author: garay.jonathan@inifap.gob.mx; tel. 553 871 8700, ext. 83315.

Abstract

The physical and physiological characterization of seeds is essential for selecting plant materials with potential for grassland rehabilitation. The objective of this study was to evaluate the physical and physiological quality of caryopses from ecotypes belonging to five native grass species from the Tamaulipas Highlands, Mexico. Propagules from 14 ecotypes were collected, and the following parameters were measured: weight of 1000 caryopses, caryopsis length and width, number of caryopses per kilogram, and germination percentage. Data were analyzed using a completely randomized design, and when significant differences were found, the Tukey's test was applied ($\alpha = 0.05$). The TTES ecotype showed the highest 1000-caryopsis weight (770 mg). The LECP, LLPT, and LVHR ecotypes, from the Lobero species, had more than 8.4 million caryopses per kilogram. In terms of germination, three Banderita ecotypes (BEST [65 %], BLFR [51 %], and BTOM [58 %]) and one Navajita ecotype (NVHR [46 %]) stood out, all of which also had higher caryopsis weight. These ecotypes show favorable physical traits and high germination capacity, making them suitable for rangeland rehabilitation programs and the production of high-quality native seeds.

Keywords: propagules, caryopses, ecotypes, germination.

Resumen

La caracterización física y fisiológica de semillas es fundamental para poder seleccionar materiales con potencial en la rehabilitación de pastizales. El objetivo de este estudio fue evaluar la calidad física y fisiológica de cariósides de ecotipos pertenecientes a cinco especies de gramíneas nativas del Altiplano Tamaulipeco, México. Se recolectaron propágulos de 14 ecotipos, y se determinó el peso de 1000 cariósides, ancho y largo de cariósides, número de cariósides por kilogramo y porcentaje de germinación. Los datos se analizaron bajo un diseño completamente al azar y, cuando se detectaron diferencias significativas, se aplicó la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$). El ecotipo TTES presentó el mayor peso de 1000 cariósides (770 mg). Los ecotipos LECP, LLPT y LVHR, de la especie Lobero, tuvieron más de 8.4 millones de cariósides por kilogramo. En germinación, destacaron tres ecotipos de banderita (BEST [65 %], BLFR [51 %] y BTOM [58 %]) y uno de navajita (NVHR [46 %]), los cuales también mostraron mayor peso de cariósides. Estos ecotipos exhiben atributos físicos favorables con elevada capacidad germinativa, por lo que se podrían utilizar en programas de rehabilitación de agostaderos y en la producción de semilla nativa de calidad.

Palabras clave: propágulos, cariósides, ecotipos, germinación.

Please cite this article as follows (APA 7): Ochoa-Lechuga, J. E., Ramírez-Segura, E., Lucio-Ruiz, F., Joaquín-Cancino, S., Estrada-Drouaillet, B., Limas-Martínez, A. G., & Garay-Martínez, J. R. (2025). Physical and physiological quality of native grass ecotypes from the Tamaulipas Highlands for the rehabilitation of semiarid areas. *Revista Chapingo Serie Zonas Áridas*, 24, e2506. <https://doi.org/10.5154/r.rchsa.2025.07.06>



Revista Chapingo
Serie Zonas Áridas

Introduction

The restoration and establishment of native grasses in Mexico's arid and semi-arid regions face several constraints, primarily due to water shortages, as planting typically depends on seasonal rainfall. This environmental stress significantly hinders seed germination and seedling development (Ramírez-Segura et al., 2022). Moreover, temperature is a critical factor, germination will not proceed, even with sufficient moisture, unless optimal thermal conditions are achieved (Quero-Carrillo et al., 2016). Under favorable temperatures, essential biochemical processes are activated, promoting the development of key structures such as the plumule and radicle (Portuguez-García et al., 2020).

The physical quality of the propagule is another key factor influencing successful establishment. In forage grasses, propagules may include spikes, spikelets, branches, or caryopses. Commercially, entire spikes covered with accessory bracts (glumes, lemma, palea) are commonly used; however, these structures act as physical barriers that can reduce germination (Hernández-Guzmán et al., 2021). Additionally, dormancy serves as a mechanism that prevents germination even under favorable conditions, either due to embryo immaturity or the presence of physiological inhibitors (Ramírez-Segura et al., 2022).

The lack of domestication in many native grass species limits their agronomic management, making efficient production difficult and resulting in a limited supply and poor seed quality (López-Velázquez et al., 2023). Seed demand is influenced by the forage potential of the species, as well as by its physical and physiological quality, factors that determine seed viability, purity, and vigor (Rivas-Jacobo et al., 2017). These attributes are closely linked to management practices applied before, during, and after harvest (Ramírez-Segura et al., 2022). In this context, understanding seed physiological quality, plant ecology, and response to agronomic practices is essential for improving forage and seed production. For native grasses, this knowledge is especially important because it supports the conservation of genetic diversity and aids in developing conservation strategies for field establishment. It is crucial to implement appropriate storage, processing, and agronomic management practices – both in natural grasslands and cultivated areas – to support ecosystem restoration and the sustainability of extensive livestock systems (Huss & Gierlinger, 2021).

Recent studies suggest that germination responses to thermal and water stress are associated with seed weight and shape, indicating that these traits could be used as indicators of adaptation in arid and semi-arid regions (Wang et al., 2025). In this context,

Introducción

La rehabilitación y el establecimiento de pastos nativos en zonas áridas y semiáridas de México enfrentan múltiples limitaciones, como el déficit hídrico, ya que las siembras se realizan bajo condiciones de temporal. Este estrés afecta de manera crítica la germinación y el establecimiento de las plántulas (Ramírez-Segura et al., 2022). Adicionalmente, la temperatura juega un papel determinante, pues incluso con imbibición adecuada, la germinación no ocurre si no se alcanzan las condiciones térmicas óptimas (Quero-Carrillo et al., 2016). En este sentido, la temperatura adecuada permite desencadenar las reacciones bioquímicas que favorecen el desarrollo de estructuras esenciales como la plúmula y la radícula (Portuguez-García et al., 2020).

La calidad física del propágulo es otro factor que condiciona el establecimiento exitoso. En pastos forrajeros, los propágulos pueden ser espigas, espiguillas, ramillas o carióspsides. Comercialmente se utilizan las espigas completas cubiertas con brácteas accesorias (glumas, lema, palea), las cuales actúan como barreras físicas que reducen la germinación (Hernández-Guzmán et al., 2021). Asimismo, la latencia constituye un mecanismo que impide la germinación aun en condiciones favorables, ya sea por inmadurez del embrión o por la presencia de inhibidores fisiológicos (Ramírez-Segura et al., 2022).

La falta de domesticación de muchas especies de pastos nativos limita su manejo agronómico, lo cual dificulta la producción eficiente, lo que a su vez se refleja en la escasez y calidad deficiente de las semillas (López-Velázquez et al., 2023). La demanda de semilla está condicionada por el potencial forrajero de la especie, así como por la calidad física y fisiológica, aspectos que determinan su viabilidad, pureza y vigor (Rivas-Jacobo et al., 2017). Estos atributos están estrechamente relacionados con el manejo que se realiza antes, durante y después de la cosecha (Ramírez-Segura et al., 2022). En este sentido, conocer la calidad fisiológica de la semilla, la ecología de la planta y su respuesta al manejo agronómico es fundamental para mejorar la producción de forraje y semilla. En pastos nativos, esta información es doblemente relevante, ya que contribuye a conservar la diversidad genética y facilita el diseño de estrategias de conservación para su establecimiento en campo. Es necesario desarrollar prácticas adecuadas de almacenamiento, beneficio y manejo agronómico, tanto en pastizales naturales como en plantaciones, para contribuir a la recuperación de los ecosistemas y la sustentabilidad de los sistemas ganaderos extensivos (Huss & Gierlinger, 2021).

Estudios recientes sugieren que las respuestas de germinación al estrés térmico e hídrico están asociadas con el peso y la forma de la semilla, lo cual indica

several native grass species from the Tamaulipas Highlands, Mexico, exhibit desirable ecological and forage characteristics. *Bouteloua curtipendula* (Michx.) Torr. stands out for its drought tolerance and forage value, with crude protein content (CP) ranging from 9 to 12 % and fiber content – neutral detergent fiber (NDF) and acid detergent fiber (ADF) – at 72 % and 36 %, respectively (Álvarez-Holguín et al., 2021). *Disakisperma dubium* (Kunth) P.M. Peterson & N. Snow adapts well to poor and shallow soils (Ramírez-Segura et al., 2025). *Muhlenbergia phleoides* (Kunth) Columbus shows high forage value during early growth stages, with CP, NDF, and ADF levels of 7.9, 75, and 36 %, respectively (Márquez-Godoy et al., 2022). *Bouteloua gracilis* (Kunth) Lag. ex Griffiths is a flagship species of semi-arid grasslands, valued for its hardiness and grazing resistance, with CP ranging from 8.5 to 18 %, NDF at 72 %, and ADF at 37 % (Morales-Nieto et al., 2022). Finally, *Setaria macrostachya* Kunth produces high biomass yields, although its quality declines at advanced maturity stages (CP = 11-15 %, NDF = 63-73 % and ADF = 38-42 %; Ramírez-Segura et al., 2025).

Characterizing these ecotypes is crucial for determining their potential in restoration initiatives and sustainable forage management. Accordingly, this study aimed to assess the physical and physiological quality of caryopses from ecotypes of five native grass species from the Tamaulipas Highlands, Mexico.

Materials and methods

Location and evaluated ecotypes

The study was conducted in the Tamaulipas Highlands, Mexico, located in the Sierra Madre Oriental. The region features an elevation range from 1 200 to over 3 000 m, creating distinct environmental gradients. The dominant soils are leptosols and regosols, which are shallow with medium to fine texture, often found alongside calcisols and cambisols on slopes, and vertisols in valleys and plains; gypsisols and solonchaks are also reported in areas with salt accumulation. The climate is temperate semi-arid, with summer rains (June to September) providing between 400 and 600 mm annually. The average annual temperature ranges from 16 to 20 °C in the valleys and drops below 12 °C at the peaks. The region experiences significant daily and seasonal temperature fluctuations; winters are cold and summers warm, with frost occurring 20 to 40 times per year from November to March (INEGI, 2010a, 2010b, 2010c, 2010d, 2010e).

In September 2024, branches and spikelets were collected from fourteen ecotypes belonging to five native grass species with forage potential (Table 1) from rangelands in the Tamaulipas Highlands, specifically

que estos rasgos se podrían usar como indicadores de adaptación en zonas áridas y semiáridas (Wang et al., 2025). En este contexto, algunas especies de gramíneas nativas del Altiplano Tamaulipeco, México, presentan características ecológicas y forrajeras deseables. *Bouteloua curtipendula* (Michx.) Torr. destaca por su tolerancia a la sequía y su valor forrajero, así como por su contenido de proteína cruda (PC: 9 a 12 %) y fibra (detergente neutro [FDN] y ácido [FDA] de 72 y 36 %, respectivamente) (Álvarez-Holguín et al., 2021). *Disakisperma dubium* (Kunth) P.M. Peterson & N. Snow se adapta a suelos pobres y someros (Ramírez-Segura et al., 2025). *Muhlenbergia phleoides* (Kunth) Columbus presenta alto valor forrajero en etapas tempranas de desarrollo (7.9, 75 y 36 % de PC, FDN y FDA, respectivamente) (Márquez-Godoy et al., 2022). *Bouteloua gracilis* (Kunth) Lag. ex Griffiths es una especie emblemática de los pastizales semiáridos, y es apreciada por su rusticidad y resistencia al pastoreo, con PC de 8.5 a 18 %, FDN de 72 % y FDA de 37 % (Morales-Nieto et al., 2022). Finalmente, *Setaria macrostachya* Kunth produce cantidades elevadas de biomasa, aunque con calidad decreciente en estados avanzados de madurez (PC = 11-15 %, FDN = 63-73 % y FDA = 38-42 %; Ramírez-Segura et al., 2025).

La caracterización de estos ecotipos es esencial para evaluar su potencial en programas de rehabilitación y manejo forrajero sostenible. Por ello, el objetivo de este estudio fue evaluar la calidad física y fisiológica de cariósides de ecotipos pertenecientes a cinco especies de gramíneas nativas del Altiplano Tamaulipeco, México.

Materiales y métodos

Localización y ecotipos evaluados

El estudio se realizó en el Altiplano Tamaulipeco, México, localizado en la Sierra Madre Oriental. La región presenta una altitud de 1 200 a más de 3 000 m, lo que genera gradientes ambientales marcados. Los suelos dominantes son leptosoles y regosoles, poco profundos y de textura media a fina, asociados con calcisoles y cambisoles en laderas y con vertisoles en valles y planicies; también se reportan gypsisoles y solonchaks en zonas con acumulación de sales. El clima es semiárido templado, con lluvias en verano (junio a septiembre) que aportan entre 400 y 600 mm anuales. La temperatura media anual oscila entre 16 y 20 °C en valles y desciende a menos de 12 °C en cimas. La región presenta una marcada oscilación térmica diaria y estacional; los inviernos son fríos y los veranos cálidos, con heladas de noviembre a marzo que ocurren de 20 a 40 veces por año (INEGI, 2010a, 2010b, 2010c, 2010d, 2010e).

En septiembre de 2024, se recolectaron ramas y espiguillas de catorce ecotipos pertenecientes a cinco

Table 1. Ecotypes and collection sites in 2024 in the Tamaulipas Highlands, Mexico.

Cuadro 1. Ecotipos y ubicación de las recolectas en 2024 en el Altiplano Tamaulipeco, México.

Common name / Nombre común	Scientific name / Nombre científico	Ecotype / Ecotipo	Coordinates / Coordenadas	Elevation (m) / Altitud (m)
Banderita	<i>Bouteloua curtipendula</i>	BALT	23° 29' 05.8" N, 99° 38' 27.1" W	1707
		BECP	23° 18' 19.4" N, 99° 40' 09.3" W	1798
		BEST	23° 21' 16.2" N, 99° 31' 00.1" W	1168
		BLFR	23° 22' 28.5" N, 99° 29' 00.1" W	1010
		BTOM	22° 58' 22.7" N, 99° 36' 53.1" W	1290
Gigante	<i>Disakisperma dubium</i>	GECP	23° 18' 22.1" N, 99° 40' 09.2" W	1801
		GEST	23° 21' 25.6" N, 99° 30' 56.5" W	1162
Lobero	<i>Muhlenbergia phleoides</i>	LECP	23° 17' 36.6" N, 99° 40' 03.6" W	1757
		LLPT	23° 33' 32.2" N, 99° 42' 04.0" W	1803
		LVHR	23° 40' 20.6" N, 99° 45' 32.5" W	2533
Navajita	<i>Bouteloua gracilis</i>	NLMR	23° 40' 33.9" N, 99° 48' 06.8" W	2481
		NVHR	23° 40' 20.6" N, 99° 47' 36.7" W	2457
Tempranero	<i>Setaria macrostachya</i>	TTES	23° 03' 46.7" N, 99° 41' 47.1" W	1284
		TSAT	23° 02' 16.9" N, 99° 39' 47.4" W	1319

in the municipalities of Jaumave, Bustamante, Palmillas, Tula, and Miquihuana (Figure 1). Physical and physiological quality analyses of the propagules were conducted at the Forage and Animal Nutrition Laboratory of the Campo Experimental Las Huastecas-INIFAP (22° 33' 59.0" N and 98° 09' 50.3" W).

Determination of physical quality

A total of 5 grams of sample from each selected ecotype was taken, and accessory bracts (considered inert material or impurities) were removed to isolate only the caryopses. The weight of 1000 caryopses (WTC) was determined using eight replications of 100 units each, weighed on an analytical balance (HR-250AZ, A&D Weighing, Japan), following the methodology proposed by Álvarez-Vázquez et al. (2022). The coefficient of variation among replicates was calculated, and when it was below 6 %, the data were considered valid (Rivas-Jacobo et al., 2017). Based on the WTC, the number of caryopses per kilogram (NC·kg⁻¹) was estimated using the method described by the International Seed Testing Association (ISTA, 2023) with the following formula:

$$NC \cdot kg^{-1} = \frac{1000}{WTC}$$

Caryopsis morphology was evaluated based on length (CL) and width (CW) measurements. For this purpose, 15 seeds per ecotype were randomly selected, placed on a graduated microscope slide, observed under a stereoscopic microscope, and photographed for analysis. CL and CW were determined using the ImageJ software and expressed in micrometers (µm).

especies de pastos nativos con potencial forrajero (Cuadro 1) en agostaderos del Altiplano Tamaulipeco ubicados en los municipios de Jaumave, Bustamante, Palmillas, Tula y Miquihuana (Figura 1). Los análisis de calidad física y fisiológica de los propágulos se realizaron en el Laboratorio de Forrajes y Nutrición Animal del Campo Experimental Las Huastecas-INIFAP (22° 33' 59.0" N y 98° 09' 50.3" O).

Determinación de la calidad física

Se tomaron 5 g de muestra de cada ecotipo seleccionado y se le retiraron las brácteas accesorias (consideradas como material inerte o impurezas) hasta obtener únicamente las carióspsides. El peso de 1000 carióspsides (PMC) se determinó mediante ocho repeticiones de 100 unidades cada una, las cuales se pesaron en una balanza analítica (HR-250AZ, A&D Weighing, Japón) de acuerdo con la metodología propuesta por Álvarez-Vázquez et al. (2022). Se calculó el coeficiente de variación entre repeticiones y, cuando fue inferior al 6 %, el dato se consideró válido (Rivas-Jacobo et al., 2017). Con base en el PMC, se estimó el número de carióspsides por kilogramo (NC·kg⁻¹) de acuerdo con la metodología descrita por la *International Seed Testing Association* (ISTA, 2023) mediante la siguiente fórmula:

$$NC \cdot kg^{-1} = \frac{1000}{PMC}$$

La morfología de las carióspsides se evaluó a partir de las medidas del largo (LC) y ancho (AC). Para ello, se seleccionaron al azar 15 semillas por ecotipo, se colocaron en un portaobjetos graduado, se observaron

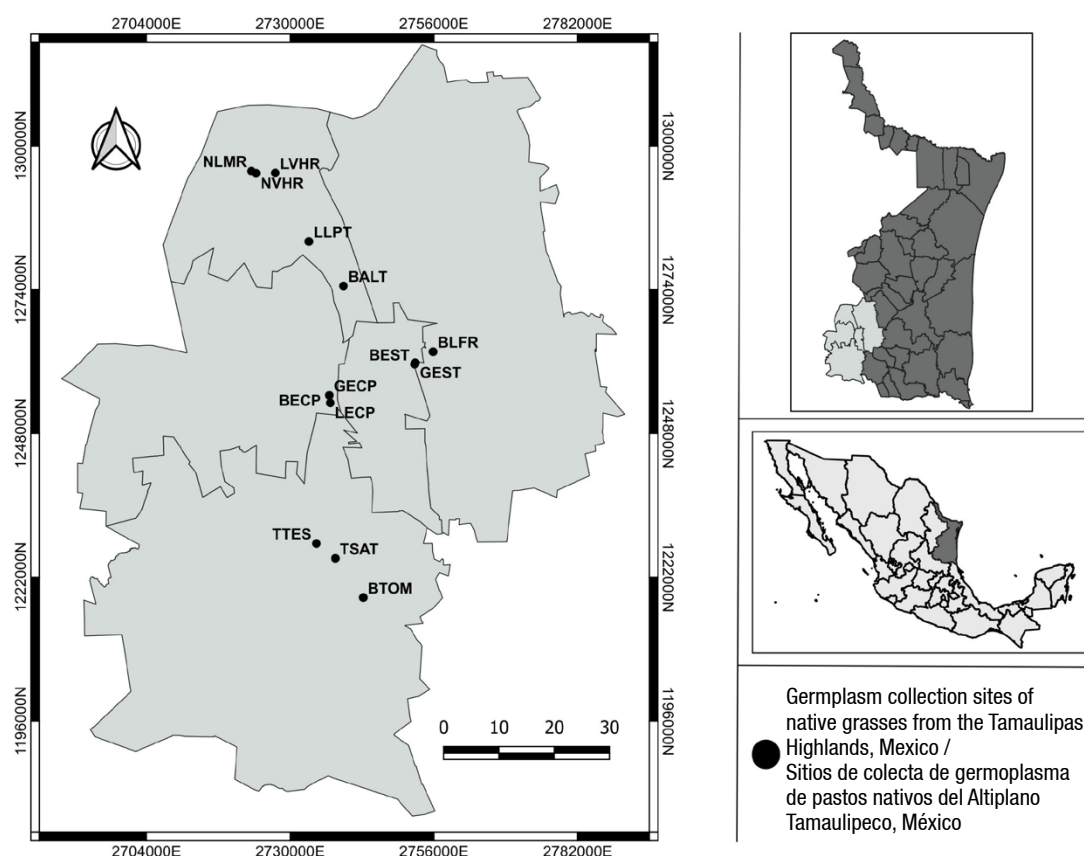


Figure 1. Map of germplasm collection sites for native grasses from the Tamaulipas Highlands, Mexico. Banderita (*Bouteloua curtipendula*: BALT, BECP, BEST, BLFR, and BTOM), Gigante (*Disakisperma dubium*: GEC and GEST), Lobero (*Muhlenbergia phleoides*: LECP, LLPT, and LVHR), Navajita (*Bouteloua gracilis*: NLMR and NVHR), and Tempranero (*Setaria macrostachya*: TTES and TSAT).

Figura 1. Mapa de los sitios de las recolectas de germoplasma de gramíneas nativas del Altiplano Tamaulipeco, México. Banderita (*Bouteloua curtipendula*: BALT, BECP, BEST, BLFR y BTOM), gigante (*Disakisperma dubium*: GEC y GEST), lobero (*Muhlenbergia phleoides*: LECP, LLPT y LVHR), navajita (*Bouteloua gracilis*: NLMR y NVHR) y tempranero (*Setaria macrostachya*: TTES y TSAT).

Determination of physiological quality

Germination (GER) was evaluated using four replicates of 100 caryopses per ecotype. Seeds were disinfected with 1.5 % sodium hypochlorite for 2 min, placed on paper towels moistened with distilled water inside Petri dishes, and incubated in an oven at $25 \pm 2^\circ\text{C}$. A seed was considered germinated when the caryopsis ruptured and either the radicle or plumule was visible. Observations were recorded 4 and 7 days after sowing (das).

Statistical analysis

The variables were analyzed using a completely randomized design with the GLM procedure in SAS version 9.0 (SAS Institute Inc., 2002). When significant differences were detected, Tukey's mean comparison test was applied ($\alpha = 0.05$). In addition, Pearson correlation analysis was performed among quantitative variables, along with a hierarchical clustering analysis using

con un microscopio estereoscópico y se fotografiaron para su análisis. El LC y AC se determinaron con el programa ImageJ y se expresaron en micrómetros (μm).

Determinación de la calidad fisiológica

La germinación (GER) se evaluó con cuatro repeticiones de 100 cariósides por ecotipo. Las semillas se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 1.5 % por 2 min, se colocaron en toallas de papel humedecidas con agua destilada dentro de cajas Petri y se incubaron en una estufa a $25 \pm 2^\circ\text{C}$. La semilla se consideró germinada cuando presentó ruptura de la cariósida y se observó presencia de la radícula o plúmula. Los registros se realizaron a los 4 y 7 días después de la siembra (dds).

Análisis estadístico

Las variables se analizaron bajo un diseño completamente al azar con el procedimiento GLM en el programa SAS ver. 9.0 (SAS Institute Inc., 2002). Cuando se

Ward’s method and Euclidean distance. These analyses were conducted using the *linkage* and *dendrogram* functions from the SciPy package within the Jupyter Notebook environment, running Python 3.13 (Python Software Foundation, 2024). Results were visualized through heatmaps and dendrograms using the matplotlib and seaborn libraries (Virtanen et al., 2020).

Results and discussion

Physical quality

The TTES ecotype showed the highest 1000-seed weight (WTC) at 770 mg, while the LECP, LLPT, and LVHR ecotypes had the lowest values, ranging between 100 and 120 mg (Table 2). Álvarez-Vázquez et al. (2022) reported a WTC of 1020 mg for Tempranero; however, that material was harvested one year after establishment under agronomic management and irrigation conditions, which may have favored seed filling. In contrast, López-Velázquez et al. (2023) obtained a WTC of just 12 mg for Lobero, a value significantly lower than those observed in the present study.

observaron diferencias significativas, los datos se sometieron a una comparación de medias de Tukey ($\alpha = 0.05$). Además, se realizó un análisis de correlación de Pearson entre las variables cuantitativas, así como un análisis de agrupamiento jerárquico utilizando el método de Ward y la distancia euclidiana. Estos análisis se realizaron con las funciones *linkage* y *dendrogram* del paquete SciPy dentro del entorno Jupyter Notebook con el programa Python 3.13 (Python Software Foundation, 2024). Los resultados se presentaron mediante mapas de color y dendrogramas con ayuda de las bibliotecas *matplotlib* y *seaborn* (Virtanen et al., 2020).

Resultados y discusión

Calidad física

El ecotipo TTES presentó el mayor PMC (770 mg), mientras que los ecotipos LECP, LLPT, LVHR tuvieron los valores más bajos, entre 100 y 120 mg (Cuadro 2). Álvarez-Vázquez et al. (2022) reportaron un PMC de 1020 mg en tempranero; sin embargo, este material se cosechó un año después de su establecimiento con

Table 2. Mean comparison of physical characteristics of caryopses from 14 native grass ecotypes collected in 2024 in the Tamaulipas Highlands, Mexico.

Cuadro 2. Comparación de medias de las características físicas de cariósides de 14 ecotipos de pastos nativos recolectados en 2024 en el Altiplano Tamaulipeco, México.

Common name/ Nombre común	Ecotype/ Ecotipo	WTC (mg)/ PMC (mg)	Caryopsis Size (µm)/ Tamaño de cariósida (µm)		NC.kg ⁻¹ (millions)/ NC.kg ⁻¹ (millones)
			Width/ Ancho	Long/ Largo	
Banderita	BALT	400 ± 1.0 fg	645 ± 22 cd	2522 ± 56 a	2.49 ± 0.06 de
	BECP	430 ± 1.4 ef	714 ± 24 c	2510 ± 25 a	2.34 ± 0.08 def
	BEST	510 ± 0.8 cd	709 ± 08 c	2568 ± 51 a	1.97 ± 0.03 fg
	BLFR	500 ± 2.6 cd	679 ± 19 cd	2588 ± 56 a	2.02 ± 0.11 ef
	BTOM	480 ± 0.6 de	624 ± 20 de	2621 ± 59 a	2.10 ± 0.03 ef
Gigante	GECP	540 ± 1.0 c	1065 ± 20 ab	2179 ± 39 c	1.84 ± 0.04 fg
	GEST	520 ± 0.5 cd	1017 ± 20 b	2259 ± 31 bc	1.91 ± 0.02 fg
Lobero	LECP	100 ± 0.1 i	307 ± 08 g	1745 ± 22 de	10.16 ± 0.14 a
	LLPT	120 ± 0.2 i	329 ± 09 g	1953 ± 37 d	8.44 ± 0.13 b
	LVHR	100 ± 0.3 i	308 ± 06 g	1664 ± 19 e	9.90 ± 0.26 a
Navajita	NLMR	320 ± 1.4 h	547 ± 17 ef	2587 ± 54 a	3.13 ± 0.13 c
	NVHR	360 ± 0.6 gh	534 ± 17 f	2430 ± 82 ab	2.81 ± 0.05 cd
Tempranero	TTES	770 ± 0.9 a	1132 ± 23 a	1396 ± 35 f	1.30 ± 0.02 h
	TSAT	670 ± 0.4 b	1065 ± 19 ab	1355 ± 39 f	1.49 ± 0.01 gh
p-value / Valor de p		<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001

WTC: weight of 1000 caryopses; NC: number of caryopses. Mean ± standard error. Different letters in each column indicate significant differences (Tukey, $p \leq 0.05$). PMC: peso de 1000 cariósides; CN: número de cariósides. Promedio ± error estándar. Letras diferentes dentro de cada columna indican diferencia significativa (Tukey, $p \leq 0.05$).

Regarding caryopsis morphology, the TTES ecotype had the greatest width (1132 μm), while the LECP, LLPT, and LVHR ecotypes showed the lowest values, ranging from 307 to 329 μm (Table 2). In terms of length, the five ecotypes of the Banderita species and the two of Navajita exhibited the highest values (between 2510 and 2621 μm), in contrast to the TTES and TSAT ecotypes of the Tempranero species, which had the shortest caryopses (between 1355 and 1396 μm), likely due to their rounded shape (Table 2).

Some studies have indicated that larger and heavier seeds tend to show higher germination capacity (Hernández-Guzmán et al., 2021). However, it has also been reported that oblong and elongated seeds are more prone to physical damage during scarification processes (whether physical or mechanical), which can harm the embryo and consequently affect germination (Ramírez-Segura et al., 2022).

The LECP and LVHR ecotypes of the Lobero species showed the highest number of caryopses per kilogram (10.16 and 9.9 million, respectively), while TTES and TSAT of the Tempranero species had the lowest values (1.30 and 1.49 million, respectively) (Table 2). These differences may be attributed to factors such as species, harvest timing, climate conditions at the collection site, as well as soil type and usage (López-Velázquez et al., 2023).

Physiological quality

In the germination test, the ecotypes BEST, BLFR, BTOM, and NVHR showed the highest values 4 das, ranging between 46 and 58 %, with similar results at 7 das (between 48 and 67 %) ($p < 0.001$; Table 3). According to Gutiérrez-Gutiérrez et al. (2022), Banderita grass exhibits a faster germination rate compared to Gigante, which represents an adaptive advantage in arid and semi-arid areas, as early radicle development allows for more efficient use of the limited and temporary water availability. The results obtained agree with those reported by Ramírez-Segura et al. (2022), who found that Banderita species have a higher germination percentage (up to 90 %) in a shorter time compared to Tempranero (20 %) and Gigante (77 %). Hernández-Guzmán et al. (2021) evaluated the effect of caryopsis size on the germination of Banderita and Navajita, observing that larger caryopses reached higher germination rates (98 and 87 %, respectively) than smaller caryopses (63 and 37 %, respectively).

The ecotypes TTES and TSAT showed the lowest germination rates 4 days after sowing (0 and 2 %, respectively) (Table 3). This is consistent with the findings of Ramírez-Segura et al. (2022), who reported that Tempranero grass remained below 10 %

manejo agronómico y condiciones de riego, lo cual pudo favorecer el llenado de la semilla. En contraste, López-Velázquez et al. (2023) obtuvieron un PMC de 12 mg en lobero, valor muy por debajo de lo observado en el presente estudio.

En cuanto a la morfología de la cariósida, el ecotipo TTES fue el más ancho (1132 μm), mientras que los ecotipos LECP, LLPT y LVHR presentaron los valores más bajos, entre 307 y 329 μm (Cuadro 2). Respecto a la longitud, los cinco ecotipos de la especie banderita y los dos de navajita mostraron los valores más altos (entre 2510 y 2621 μm), en contraste con los ecotipos TTES y TSAT de la especie tempranero, los cuales presentaron las cariósidas más cortas (entre 1355 y 1396 μm), probablemente debido a su forma redondeada (Cuadro 2).

En algunos estudios se ha señalado que las semillas de mayor tamaño y peso exhiben mayor capacidad germinativa (Hernández-Guzmán et al., 2021). Sin embargo, se ha reportado que las semillas oblongas y alargadas son más susceptibles a sufrir daños físicos durante procesos de escarificación física o mecánica, lo cual puede dañar el embrión y, por tanto, afectar la germinación (Ramírez-Segura et al., 2022).

Los ecotipos LECP y LVHR de la especie lobero presentaron el mayor NC por kilogramo (10.16 y 9.9 millones, respectivamente), mientras que TTES y TSAT de la especie tempranero presentaron los valores más bajos (1.30 y 1.49 millones, respectivamente) (Cuadro 2). Estas diferencias se pueden atribuir a factores como la especie, la fecha de cosecha, las condiciones climáticas del sitio de recolecta, así como el tipo y uso del suelo (López-Velázquez et al., 2023).

Calidad fisiológica

En la prueba de germinación, los ecotipos BEST, BLFR, BTOM y NVHR presentaron los valores más altos a los 4 dds (entre 46 y 58 %), con un comportamiento similar a los 7 dds (entre 48 y 67 %) ($p < 0.001$; Cuadro 3). De acuerdo con Gutiérrez-Gutiérrez et al. (2022), el pasto banderita presenta mayor velocidad de germinación en comparación con gigante, lo cual constituye una ventaja adaptativa en zonas áridas y semiáridas, ya que el desarrollo temprano de la radícula permite aprovechar de manera más eficiente la disponibilidad temporal de agua. Los resultados obtenidos coinciden con lo reportado por Ramírez-Segura et al. (2022), quienes encontraron que la especie banderita presenta un porcentaje de germinación mayor (hasta 90 %) en menor tiempo, en comparación con tempranero (20 %) y gigante (77 %). Hernández-Guzmán et al. (2021) evaluaron el efecto del tamaño de la cariósida en la germinación de banderita y navajita, y observaron que las cariósidas grandes alcanzaron valores de

Table 3. Comparison of mean germination percentages 4 and 7 days after sowing (das) of 14 native grass ecotypes collected in 2024 in the Tamaulipas Highlands, Mexico.
Cuadro 3. Comparación de medias del porcentaje de germinación a los 4 y 7 días después de la siembra (dds) de 14 ecotipos de pastos nativos recolectados en 2024 en el Altiplano Tamaulipeco, México.

Common name / Nombre común	Ecotype / Ecotipo	Germination (%) / Germinación (%)	
		4 das / 4 dds	7 das / 7 dds
Banderita	BALT	20 ± 3.1 d	24 ± 3.7 cd
	BECP	26 ± 4.4 cd	33 ± 4.4 bc
	BEST	55 ± 6.0 a	65 ± 4.5 a
	BLFR	51 ± 1.7 a	69 ± 5.2 a
	BTOM	58 ± 0.6 a	67 ± 2.5 a
Gigante	GECP	37 ± 3.4 bc	39 ± 4.6 bc
	GEST	7 ± 0.4 ef	8 ± 0.5 e
Lobero	LECP	3 ± 1.1 ef	9 ± 1.3 de
	LLPT	7 ± 0.5 ef	9 ± 0.5 de
	LVHR	3 ± 1.0 f	7 ± 0.6 e
Navajita	NLMR	16 ± 2.2 de	16 ± 2.2 de
	NVHR	46 ± 2.4 ab	48 ± 3.7 a
Tempranero	TTES	0 ± 0.0 f	4 ± 0.8 e
	TSAT	2 ± 0.6 f	17 ± 2.5 de
p-value / Valor de p		<0.0001	<0.0001

Mean ± standard error. Different letters in each column indicate significant differences (Tukey, $p \leq 0.05$).
Promedio ± error estándar. Letras diferentes dentro de cada columna indican diferencia significativa (Tukey, $p \leq 0.05$).

germination during a 10-day evaluation period. This behavior is attributed to the species' characteristic dormancy, which prevents it from reaching 100 % germination even under optimal conditions (Osuna et al., 2015; Pausas & Lamont, 2022).

The ecotypes GEST, LECP, LLPT, LVHR, NLMR, TTES, and TSAT exhibited the lowest germination rates, ranging from 4 to 17 %, 7 days after sowing (Table 3). López-Velázquez et al. (2023) reported a germination rate of 20 % for Lobero caryopses, while Gigante and Navajita reached 65 and 62 %, respectively. Germination is influenced by various intrinsic factors, including the seed's energy reserves (López-Velázquez et al., 2023; Quero-Carrillo et al., 2016), hormonal control, and gene expression related to the process (Miransari & Smith, 2014). Furthermore, soil conditions play a crucial role in nutrient uptake necessary for seed development and are particularly important during the early days after sowing, when initial root growth determines the seedling's ability to absorb water (Hernández-Guzmán et al., 2015).

High viability, rapid germination, and strong establishment provide an adaptive advantage by enabling proper seedling development and the formation of well-established crowns capable of producing vegetative

germinación mayores (98 y 87 %, respectivamente) que las cariósides chicas (63 y 37 %, respectivamente).

Los ecotipos TTES y TSAT presentaron la menor germinación a los 4 dds (0 y 2 %, respectivamente) (Cuadro 3). Esto coincide con lo reportado por Ramírez-Segura et al. (2022), quienes mencionan que el pasto tempranero no rebasó el 10 % de germinación durante 10 días de evaluación. Este comportamiento se atribuye a la latencia característica de la especie, la cual le impide alcanzar el 100 % de germinación incluso bajo condiciones óptimas (Osuna et al., 2015; Pausas & Lamont, 2022).

A los 7 dds, los ecotipos GEST, LECP, LLPT, LVHR, NLMR, TTES y TSAT tuvieron los valores de germinación más bajos (4 a 17 %; Cuadro 3). López-Velázquez et al. (2023) reportaron una germinación de 20 % en cariósides de lobero, mientras que gigante y navajita alcanzaron valores de 65 y 62 %, respectivamente. El proceso de germinación está regulado por múltiples factores intrínsecos, como el contenido de reservas energéticas en la semilla (López-Velázquez et al., 2023; Quero-Carrillo et al., 2016), la regulación hormonal y la expresión de genes asociados al proceso (Miransari & Smith, 2014). Asimismo, las condiciones edáficas influyen en la absorción de los nutrientes destinados a la formación de semillas y resultan críticas en

and reproductive stems in a shorter time (Hernández-Guzmán et al., 2021). However, removing accessory bracts is not recommended when the goal is to store the material, as these structures serve as protective barriers against environmental fluctuations and help maintain the viability of caryopses. In this regard, Velázquez et al. (2015) reported germination rates of up to 97 % in non-scarified seeds stored for 16 months.

Pearson correlation and hierarchical clustering

The correlation analysis revealed significant relationships ($p < 0.05$) between the physical and physiological traits of the evaluated ecotypes (Figure 2). A strong positive correlation was observed between 1000 caryopses weight (WTC) and caryopsis width (CW) ($r = 0.93$), suggesting that seed width directly influences seed mass, likely related to the amount of stored carbohydrates (Márquez-Godoy et al., 2025). In contrast, WTC showed a negative correlation with the number of caryopses per kilogram (NC) ($r = -0.89$), which is physiologically consistent, as larger and heavier individual seeds correspond to fewer seeds per unit weight (Hernández-Guzmán et al., 2021; Márquez-Godoy et al., 2025). Similarly, a negative correlation was found between CW and NC ($r = -0.89$), while a positive correlation existed between germination rate and caryopsis length (CL) ($r = 0.68$), indicating a trend where ecotypes with longer seeds tend to exhibit higher germination capacity.

los primeros días después de la siembra, cuando el desarrollo radical inicial define la capacidad de absorción de agua (Hernández-Guzmán et al., 2015).

La viabilidad alta, la germinación rápida y el vigor en el establecimiento representan una ventaja adaptativa, ya que permiten el desarrollo adecuado de las plántulas y la formación de coronas bien establecidas, capaces de producir tallos vegetativos y reproductivos en menor tiempo (Hernández-Guzmán et al., 2021). No obstante, no se recomienda retirar las brácteas accesorias cuando el propósito es el almacenamiento del material, pues estas estructuras actúan como barreras protectoras frente a variaciones ambientales y mantienen la viabilidad de las cariósides. En este sentido, Velázquez et al. (2015) obtuvieron hasta 97 % de germinación en semillas no escarificadas almacenadas por 16 meses.

Correlación de Pearson y agrupamiento jerárquico

El análisis de correlación permitió identificar relaciones significativas ($p < 0.05$) entre las características físicas y fisiológicas de los ecotipos evaluados (Figura 2). Se observó una correlación positiva fuerte entre el PMC y el AC ($r = 0.93$), lo cual sugiere que el AC influye directamente en la masa de la semilla, posiblemente asociado a la cantidad de carbohidratos de reserva (Márquez-Godoy et al., 2025). En contraste, el PMC se correlacionó negativamente con el NC ($r = -0.89$); esto es fisiológicamente congruente, ya que, a mayor

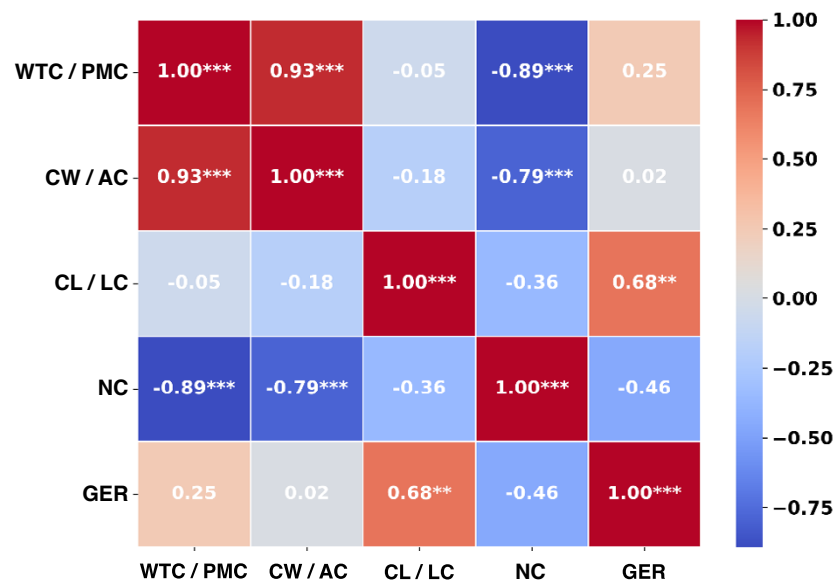


Figure 2. Pearson correlation among physical and physiological variables of 14 native grass ecotypes collected in 2024 in the Tamaulipas Highlands, Mexico. WTC: weight of 1000 caryopses; CW: caryopsis width; CL: caryopsis length; NC: number of caryopses per kilogram; GER: germination.

Figura 2. Correlación de Pearson entre variables físicas y fisiológicas de 14 ecotipos de pastos nativos recolectados en 2024 en el Altiplano Tamaulipeco, México. PMC: peso de mil cariósides; AC: ancho de la cariósides; LC: largo de la cariósides; NC: número de cariósides por kilogramo; GER: germinación.

The hierarchical clustering analysis identified five phenotypically distinct groups among the evaluated ecotypes (Figure 3). Each group exhibited unique patterns in both morphological and physiological variables, reflecting significant structural diversity within the genetic material studied. Group 1 included ecotypes from the *Bouteloua* complex (BECP, BALT, NLMR, and NVHR), which were characterized by smaller seeds (WTC = 380 mg), a higher NC (2.69 million·kg⁻¹) (Table 2), and moderate germination rates (30 %) (Table 3). This combination of traits suggests potential for seed production programs under planned agronomic management (López-Velázquez et al., 2023). Group 2 consisted of the GEST and GECP ecotypes, which exhibited more developed morphology, with a higher WTC (530 mg) and an average germination rate of 23.5 % (Table 3). This profile may indicate stronger initial vigor and establishment capacity. However, further evaluations are needed, including assessments of vegetative growth, regrowth potential, forage traits, nutritional value, and performance under diverse environmental conditions (Márquez-Godoy et al., 2025).

Group 3, composed of BLFR, BEST, and BTOM, showed clear differentiation within the same species, indicating intraspecific variability. These ecotypes had an average WTC of 490 mg and caryopsis dimensions of 67 µm in width and 2592 µm in length (Table 2). They also recorded the highest germination rate (67 %) (Table 3). These traits suggest high potential for seed

peso y tamaño individual, menor cantidad de semillas por unidad de peso (Hernández-Guzmán et al., 2021; Márquez-Godoy et al., 2025). Asimismo, se registró una correlación negativa entre el AC y el NC ($r = -0.89$), y una correlación positiva entre la germinación y el LC ($r = 0.68$), lo cual podría indicar una tendencia de los ecotipos con semillas más largas a presentar mayor capacidad germinativa.

El análisis de agrupamiento jerárquico permitió identificar cinco grupos diferenciados fenotípicamente entre los ecotipos evaluados (Figura 3). Cada grupo presentó patrones distintivos en las variables morfológicas y fisiológicas, lo cual refleja una diversidad estructural significativa dentro del material genético estudiado. El Grupo 1 estuvo conformado por ecotipos del complejo *Bouteloua* (BECP, BALT, NLMR y NVHR), los cuales se caracterizaron por presentar semillas pequeñas (PMC = 380 mg), mayor NC (2.69 millones·kg⁻¹) (Cuadro 2) y germinación moderada (30 %) (Cuadro 3). Esta combinación de atributos sugiere su potencial para programas orientados a la producción de semilla bajo un manejo agronómico planificado (López-Velázquez et al., 2023). El Grupo 2 incluyó a los ecotipos GEST y GECP, caracterizados por una morfología más desarrollada, con mayor PMC (530 mg) y germinación promedio de 23.5 % (Cuadro 3). Este perfil se podría asociar con mayor vigor inicial y capacidad de establecimiento; sin embargo, es necesario realizar evaluaciones que incluyan desarrollo vegetativo, capacidad de rebrote, atributos forrajeros,

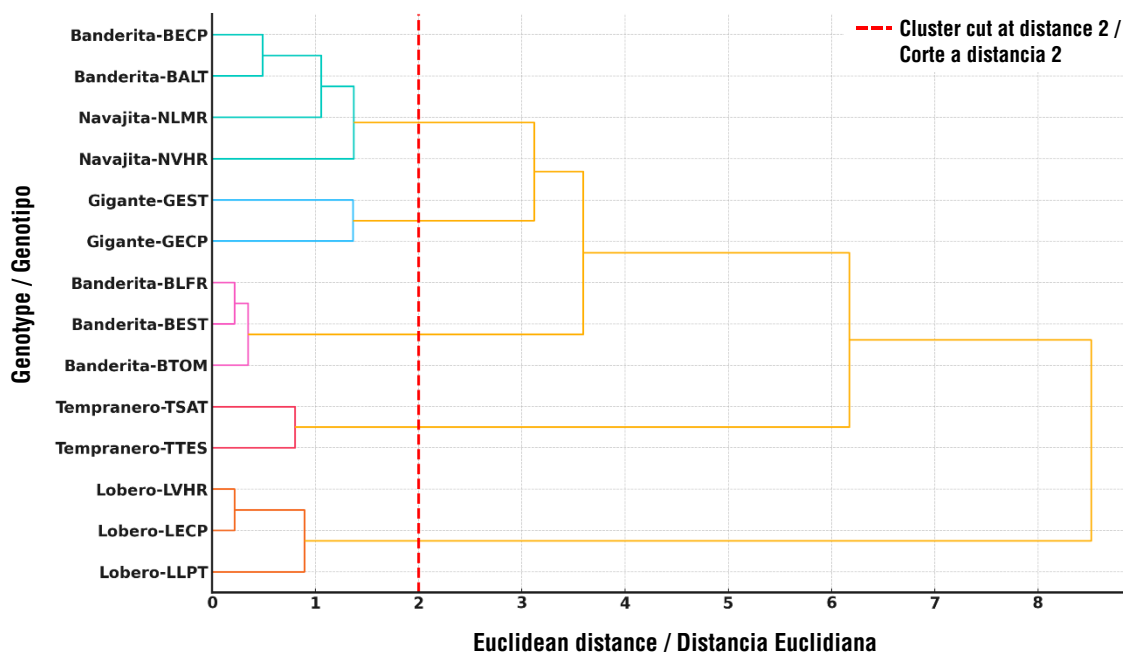


Figure 3. Hierarchical dendrogram generated using Ward's method and Euclidean distance, based on morphological and physiological traits of caryopses from 14 native grass ecotypes collected in 2024 in the Tamaulipas Highlands, Mexico
Figura 3. Dendrograma jerárquico generado con el método de Ward y distancia euclidiana, a partir de variables morfológicas y fisiológicas de cariopsis de 14 ecotipos de pastos nativos recolectados en 2024 en el Altiplano Tamaulipeco, México.

production programs, as they combine good physical and physiological quality (Hernández-Guzmán et al., 2021). Group 4, composed of TSAT and TTES, showed uniform behavior, with the widest seeds (1098 μm) and a WTC of 720 mg (Table 2), but a significantly lower germination rate (10.5 %) (Table 3). This discrepancy confirms that larger seed size does not correlate with higher viability, consistent with findings in other forage species (Hernández-Guzmán et al., 2021; López-Velázquez et al., 2023; Quero-Carrillo et al., 2017).

Finally, Group 5, composed of LVHR, LECP, and LLPT, was characterized by small and light seeds (WTC = 100 mg), with an approximate density of 9.5 million caryopses per kilogram (Table 2), and low germination (8.3 %) (Table 3). These traits can be interpreted as adaptations to ecologically restrictive environments, where the high number of seeds per unit mass functions as a compensatory propagation mechanism in response to physiological limitations (López-Velázquez et al., 2023; Márquez-Godoy et al., 2025). However, the low viability and germination limit their use in seed production programs.

Conclusions

The results highlight the diversity of native grasses from the Tamaulipas Highlands, where each ecotype showed distinct traits in seed size and physiological quality. This variability represents a valuable genetic resource and opens the possibility of selecting materials with greater potential for grassland restoration or seed production adapted to specific conditions. An important finding was that larger seed size, as observed in the TTES ecotype, is not always associated with higher germination. Overall, the results offer practical guidance for field decision-making, including the selection of ecotypes, management strategies, and realistic yield expectations.

End of English version

References / Referencias

- Álvarez-Holguín, A., Morales-Nieto, C. R., Corrales-Lerma, R., Prieto-Amparán, J. A., Villarreal-Guerrero, F., & Sánchez-Gutiérrez, R. A. (2021). Genetic structure and temporal environmental niche dynamics of sideoats grama [*Bouteloua curtipendula* (Michx.) Torr.] populations in Mexico. *PLoS ONE*, 16(7), e0254566. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0254566>
- Álvarez-Vázquez, P., Rojas-García, A. R., Joaquín-Cancino, S., Velázquez-Martínez, M., Rodríguez-Ortega, L. T., & Hernández-Guzmán, F. J. (2022). Producción de forraje y semilla de ocho pastos al establecimiento en Tulancingo, Hidalgo. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 13(6), 1041-1053. <https://doi.org/10.29312/remexca.v13i6.3027>

valor nutricional y su desempeño en diferentes ambientes (Márquez-Godoy et al., 2025).

El Grupo 3, integrado por BLFR, BEST y BTOM, mostró una diferenciación clara dentro de la misma especie, lo cual evidencia variabilidad intraespecífica. Estos ecotipos presentaron un PMC promedio de 490 mg, y dimensiones de cariósido de 67 μm de ancho y 2592 μm de largo (Cuadro 2), además de registrar la mayor germinación (67 %) (Cuadro 3). Dichas características sugieren un alto potencial para programas de producción de semilla, al combinar buena calidad física y fisiológica (Hernández-Guzmán et al., 2021). El Grupo 4, conformado por TSAT y TTES, presentó un comportamiento uniforme, con las semillas más anchas (1098 μm) y PMC de 720 mg (Cuadro 2), pero con una germinación notablemente más baja (10.5 %) (Cuadro 3). Esta discrepancia confirma que el mayor tamaño de la semilla no se correlaciona con una mayor viabilidad, lo cual concuerda con lo reportado en otras especies forrajeras (Hernández-Guzmán et al., 2021; López-Velázquez et al., 2023; Quero-Carrillo et al., 2017).

Finalmente, el Grupo 5, integrado por LVHR, LECP y LLPT, se caracterizó por presentar semillas pequeñas y ligeras (PMC = 100 mg), con una densidad aproximada de 9.5 millones de cariósidos por kilogramo (Cuadro 2), y baja germinación (8.3 %) (Cuadro 3). Estos rasgos se pueden interpretar como adaptaciones a ambientes ecológicamente restrictivos, donde la elevada cantidad de semillas por unidad de masa actúa como un mecanismo compensatorio de propagación frente a limitaciones fisiológicas (López-Velázquez et al., 2023; Márquez-Godoy et al., 2025). No obstante, la baja viabilidad y germinación restringen su aprovechamiento en programas de producción de semillas.

Conclusiones

Los resultados evidencian la diversidad de los pastos nativos del Altiplano Tamaulipeco, donde cada ecotipo mostró atributos particulares en el tamaño y en la calidad fisiológica de sus semillas. Esta variabilidad constituye un recurso genético valioso y abre la posibilidad de seleccionar materiales con mayor potencial para la restauración de pastizales o para la producción de semillas adaptadas a condiciones específicas. Un hallazgo importante fue que el mayor tamaño de la semilla, como en el ecotipo TTES, no siempre se asocia con mayor germinación. En conjunto, los resultados proporcionan herramientas prácticas para la toma de decisiones en campo, al orientar sobre qué ecotipos sembrar, cómo manejarlos y qué expectativas productivas considerar.

Fin de la versión en español

- Gutiérrez-Gutiérrez, O. G., Rivero-Hernández, O., Vega-Mares, J. H., & Melgoza-Castillo, A. (2022). Germination patterns on grasses present at the Chihuahuan Desert. *Botanical Sciences*, 100(4), 989-999. <https://doi.org/10.17129/botsci.3007>
- Hernández-Guzmán, F. J., Quero-Carrillo, A. R., Pérez-Rodríguez, P., Velázquez-Martínez, M., & García-de los Santos, G. (2015). Germinación y emergencia de propágulos de pasto en respuesta a pruebas de vigor. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 6(7), 1519-1532. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342015000700008
- Hernández-Guzmán, F. J., Rodríguez-Ortega, L. T., Velázquez-Martínez, M., Landa-Salgado, P., Rodríguez-Ortega, A., & Castrellón-Montelongo, J. L. (2021). Influencia del tamaño del cariósido y embrión en el desarrollo de plántulas de pastos. *Interciencia*, 46(7-8), 309-316. <https://www.redalyc.org/journal/339/33968402004/html/>
- Huss, J. C., & Gierlinger, N. (2021). Functional packaging of seeds. *New Phytologist*, 230(6), 2154-2163. <https://doi.org/10.1111/nph.17299>
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). (2010a). *Compendio de información geográfica municipal 2010: Jaumave, Tamaulipas*. https://www.inegi.org.mx/contenidos/app/mexicocifras/datos_geograficos/28/28017.pdf
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). (2010b). *Compendio de información geográfica municipal 2010: Bustamante, Tamaulipas*. https://www.inegi.org.mx/contenidos/app/mexicocifras/datos_geograficos/28/28006.pdf
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). (2010c). *Compendio de información geográfica municipal 2010: Miquihuana, Tamaulipas*. https://www.inegi.org.mx/contenidos/app/mexicocifras/datos_geograficos/28/28026.pdf
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). (2010d). *Compendio de información geográfica municipal 2010: Palmillas, Tamaulipas*. https://www.inegi.org.mx/contenidos/app/mexicocifras/datos_geograficos/28/28031.pdf
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). (2010e). *Compendio de información geográfica municipal 2010: Tula, Tamaulipas*. https://www.inegi.org.mx/contenidos/app/mexicocifras/datos_geograficos/28/28039.pdf
- International Seed Testing Association (ISTA). (2023). *International rules for seed testing*. ISTA. <https://www.seedtest.org/en/publications/international-rules-seed-testing.html>
- López-Velázquez, M. M., Ramírez-Segura, E., Sánchez-Gutiérrez, R. A., Joaquín-Cancino, S., Muñoz-Salas, L. C., & Gayosso-Barragán, O. (2023). Parámetros de calidad en propágulos de pastos nativos e introducidos cosechados en sequía. *Revista Fitotecnica Mexicana*, 46, 487-496. <https://doi.org/10.35196/rfm.2023.4A.496>
- Márquez-Godoy, J. N., Corrales-Lerma, R., Álvarez-Holguín, A., Villarreal-Guerrero, F., Santellano-Estrada, E., Pinedo-Álvarez, A., & Morales-Nieto, C. R. (2022). Diversidad morfológica y nutricional de poblaciones de pasto lobero (*Muhlenbergia phleoides* [Kunth] Columbus) en Chihuahua, México. *Acta Universitaria*, 32, e3404. <https://doi.org/10.15174/au.2022.3404>
- Márquez-Godoy, J. N., Ramírez-Segura, E., Garay-Martínez, J. R., Aguirre-Gutiérrez, C. A., & García-Cervantes, D. (2025). Morfología de cariósidos de pastos forrajeros nativos de zonas áridas y semiáridas de México. *Revista Interdisciplinaria de Ingeniería Sustentable y Desarrollo Social*, 11(1), 1-13. <https://doi.org/10.63728/riisds.v11i1.78>
- Miransari, M., & Smith, D. L. (2014). Plant hormones and seed germination. *Environmental and Experimental Botany*, 99, 110-121. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2013.11.005>
- Morales-Nieto, C. R., Villarreal-Guerrero, F., Jurado-Guerra, P., Ochoa-Rivero, J. M., Prieto-Amparán, J. A., Corrales-Lerma, R., Pinedo-Álvarez, A., & Álvarez-Holguín, A. (2022). Environmental niche dynamics of blue grama (*Bouteloua gracilis*) ecotypes in northern Mexico: Genetic structure and implications for restoration management. *Plants*, 11(5), 684. <https://doi.org/10.3390/plants11050684>
- Osuna, D., Prieto, P., & Aguilar, M. (2015). Control of seed germination and plant development by carbon and nitrogen availability. *Frontiers in Plant Science*, 6, 1023. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.01023>
- Pausas, J. G., & Lamont, B. B. (2022). Fire-released seed dormancy – a global synthesis. *Biological reviews*, 97(4), 1612-1639. <https://doi.org/10.1111/brv.12855>
- Portuguez-García, M. P., Rodríguez-Ruiz, A. M., Porras-Martínez, C., & González-Lutz, M. I. (2020). Efecto de la temperatura y la escarificación sobre la germinación de *Ischaemum rugosum* Salisb. *Agronomía Mesoamericana*, 31(2), 491-498. <https://doi.org/10.15517/am.v31i2.38417>
- Python Software Foundation. (2024). *Python language reference*, ver. 3.13 [software]. Python. <https://docs.python.org/3/reference/>
- Quero-Carrillo, A. R., Hernández-Guzmán, F. J., Pérez-Rodríguez, P., Hernández-Livera, A., García-de los Santos, G., Landa-Salgado, P., & Ramírez-Sánchez, S. E. (2017). Germinación de cariósidos clasificados por tamaño y diásporas de cuatro pastos para temporal semiárido. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 8(3), 489-502. <https://doi.org/10.29312/remexca.v8i3.26>
- Quero-Carrillo, A. R., Hernández-Guzmán, F. J., Velázquez-Martínez, M., Gámez-Vázquez, H. G., Landa-Salgado, P., & Aguilar-López, P. (2016). Métodos de establecimiento de pasturas en zonas áridas de México utilizando semillas crudas o cariósidos. *Tropical Grasslands*, 4(1), 29-37. [https://doi.org/10.17138/TGFT\(4\)29-37](https://doi.org/10.17138/TGFT(4)29-37)
- Ramírez-Segura, E., Maldonado-Jaquez, J. A., Torres-Salas, I., & Quero-Carrillo, A. R. (2022). Atributos físicos y fisiológicos de semilla de pastos nativos del México árido. *Revista Fitotecnica de México*, 45(4), 453-460. <https://doi.org/10.35196/rfm.2022.4.453>
- Ramírez-Segura, E., Márquez-Godoy, J. N., & Velázquez-Martínez, M. (2025). *Gramíneas de importancia forrajera en zonas áridas y semiáridas de México*. Instituto Nacional de Investigaciones, Forestales, Agrícolas y Pecuarias.
- Rivas-Jacobo, M., Sandoval-Alvarado, J., Herrera-Corredor, A., Marín-Sánchez, J., Escalera-Valente, F., & Loya-Olguín, J. (2017). Evaluación de semillas de pastos cosechados en caminos y

- campos de cultivos. *Abanico Veterinario*, 8(1), 36-46. <https://doi.org/10.21929/abavet2018.81.3>
- SAS Institute, Inc. (2002). *SAS/STAT® 9.0 user's guide* [software]. SAS Institute, Inc. https://www.sas.com/es_mx/home.html
- Velázquez, M., Hernández, G. F., Cervantes, B. J., & Gámez, V. H. (2015). *Establecimiento de pastos nativos e introducidos en zonas semiáridas de México*. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias.
- Virtanen, P., Gommers, R., Oliphant, T. E., Haberland, M., Reddy, T., Cournapeau, D., & Van der Walt, S. J. (2020). SciPy 1.0: fundamental algorithms for scientific computing in Python. *Nature Methods*, 17, 261-272. <https://doi.org/10.1038/s41592-019-0686-2>
- Wang, R., Yang, Y., Wang, X., Li, J., Gao, Y., Huang, H., Zhou, Z., Wang P., & Zhao, L. (2025). Response of seed germination and seedling growth of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) to drought, salinity, and pH in Karst regions. *Scientific Reports* 15, 16874. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-01539-5>



Associations of anthropometric markers of white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) with serum metabolites and minerals

Asociaciones de marcadores antropométricos de venadas de cola blanca (*Odocoileus virginianus*) con metabolitos y minerales séricos

Francisco A. Rodríguez-Huerta; José Eduardo García-Martínez*; Oscar A. García; Viridiana Contreras; Jesús Mellado; Miguel Mellado

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Calz. Antonio Narro, núm. 1923, Buenavista, Saltillo, Coahuila, C. P. 25315, México.

*Corresponding author: edugarmartz@gmail.com; egarcia@uaaan.edu.mx

Abstract

Variations in body mass can influence the balance of trace elements and macrominerals in wildlife species. The objective of this study was to assess the associations between selected anthropometric traits (withers height, nose-to-tail length, tail length, ear length, foreleg length, and thoracic circumference), as well as age and body weight, and specific serum metabolites and mineral concentrations in gestating free-ranging female white-tailed deer (*Odocoileus virginianus texanus*) (n = 28) from northern Mexico. Principal components analysis identified differences in serum glucose concentrations associated with body dimensions. Significant negative correlations ($p < 0.01$) were observed between withers height and serum glucose ($r = -0.54$), and between nose-to-tail length and serum cholesterol ($r = -0.46$). In contrast, withers height ($r = 0.44$) and nose-to-tail length ($r = 0.38$) were positively correlated ($p < 0.05$) with serum iron concentrations. Additionally, tail length and ear length were positively correlated with serum phosphorus ($r = 0.42$ and 0.43 , respectively; $p < 0.05$), while tail length showed a positive correlation with serum copper ($r = 0.49$; $p < 0.01$). Certain body measurements indicative of overall body size were negatively associated with serum metabolites related to nutritional status. Overall, smaller deer showed a more favorable blood metabolic profile than larger deer. These findings suggest that blood metabolites indicative of nutritional status may serve as useful biomarkers for characterizing body dimensions in white-tailed deer.

Keywords: body size, cholesterol, copper, glucose, phosphorus.

Resumen

Las variaciones en la masa corporal pueden alterar el equilibrio de oligoelementos y macrominerales en la fauna silvestre. El objetivo de este estudio fue evaluar la asociación entre diferentes rasgos antropométricos (altura a la cruz, longitud de la nariz a la cola, largo de la cola, largo de las orejas, largo de las patas delanteras y circunferencia torácica), así como la edad y el peso corporal, con algunos metabolitos y minerales séricos en venadas de cola blanca (*Odocoileus virginianus texanus*) gestantes en agostadero (n = 28) en el norte de México. El análisis de componentes principales reveló diferencias en la concentración de glucosa asociadas con las dimensiones corporales. Se observaron correlaciones negativas significativas ($p < 0.01$) entre la altura a la cruz y la glucosa sérica ($r = -0.54$), así como entre la longitud de la nariz a la cola y el colesterol sérico ($r = -0.46$). En contraste, la altura a la cruz ($r = 0.44$) y la longitud de la nariz a la cola ($r = 0.38$) se correlacionaron positivamente ($p < 0.05$) con las concentraciones séricas de hierro. Asimismo, el largo de la cola y de las orejas se asoció positivamente con el fósforo ($r = 0.42$ y 0.43 , respectivamente; $p < 0.05$), mientras que el largo de la cola se correlacionó positivamente con el cobre ($r = 0.49$; $p < 0.01$). Algunas medidas indicativas del tamaño corporal se asociaron negativamente con metabolitos séricos relacionados con el estado nutricional. En general, las venadas más pequeñas presentaron un perfil metabólico sanguíneo potencialmente más favorable que las venadas de mayor tamaño. Los metabolitos sanguíneos indicativos del estado nutricional pueden ser útiles para describir las dimensiones corporales de las venadas.

Palabras clave: tamaño corporal, colesterol, cobre, glucosa, fósforo.

Please cite this article as follows (APA 7): Rodríguez-Huerta, F. A., García-Martínez, J. E., García, O. A., Contreras, V., Mellado, J. & Mellado, M. (2025). Associations of anthropometric markers of white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) with serum metabolites and minerals. *Revista Chapingo Serie Zonas Áridas*, 24, e23002. <https://doi.org/10.5154/r.rchsa.2023.03.002>



Revista Chapingo
Serie Zonas Áridas

Introduction

In arid and semi-arid ecosystems, the availability and quality of forage for wild ungulates are strongly influenced by unpredictable spatial and temporal precipitation patterns. During the dry season, when both forage quality and quantity decline, ungulates with adequate body energy reserves can maintain a balance between their metabolic requirements and available energy (Kohli et al., 2014). Under these conditions, deer diet selection is primarily directed toward compensating for the most limiting nutritional constraints (i.e., energy and protein), within the bounds imposed by environmental heterogeneity (Cain et al., 2017).

Ruminants showed physiological adaptations that enable them to reduce basal metabolic rate and food intake during periods of resource scarcity by relying on somatic reserves to meet basic metabolic demands (Monteith et al., 2013). When forage availability improves, herbivores are able to recover these energy reserves (Monteith et al., 2018). Therefore, energy reserves are essential for meeting metabolic requirements when the energy supplied by forage is insufficient to cover basic needs (Parker et al., 2009).

The assessment of nutritional status using urinary or blood metabolites constitutes a valuable tool for estimating the adequacy of nutrient intake, particularly in ecosystems where food availability fluctuates markedly throughout the year. In this context, integrating metabolic indicators with body size measurements can prove relevant insights into the metabolic status of cervids and support the implementation of nutritional management strategies, such as dietary supplementation, aimed at improving their productive performance (Cabanac et al., 2005; Wang et al., 2024). However, it remains necessary to determine whether blood metabolites in cervids are associated with body size.

Nutritional status is closely linked to reproductive success in cervids, as it influences the probability of conception (Milner et al., 2013; Minami et al., 2012; Tollefson et al., 2010), the birth characteristics of offspring (Lomas & Bender, 2007), and their survival (Bishop et al., 2009; Lomas & Bender, 2007). In addition, cervids require an adequate supply of minerals to maintain their health and well-being. To promote wildlife development, increase trophy potential, or concentrate animals in specific locations, their diets have been supplemented with artificial mineral sources (Peterson et al., 2015). Some measurements used in livestock have been validated as predictors of carcass composition (Drennan et al., 2008; Lambe et al., 2008); however, this approach has been little explored in wild cervids.

Introducción

En los ecosistemas áridos y semiáridos, la disponibilidad y la calidad del forraje para los ungulados silvestres están fuertemente determinadas por patrones de precipitación espacial y temporal impredecibles. Durante la estación seca, cuando la calidad y la cantidad del forraje disminuyen, los ungulados con reservas energéticas corporales adecuadas pueden mantener el equilibrio entre sus requerimientos metabólicos y la energía disponible (Kohli et al., 2014). En este contexto, la selección de la dieta de los ciervos se orienta a compensar las limitaciones nutricionales más apremiantes (es decir, la energía y las proteínas), dentro de las restricciones impuestas por la heterogeneidad ambiental (Cain et al., 2017).

Los rumiantes presentan adaptaciones fisiológicas que les permiten reducir el metabolismo basal y la ingesta de alimento en periodos de escasez mediante el uso de reservas somáticas para satisfacer sus necesidades metabólicas básicas (Monteith et al., 2013). Cuando la disponibilidad de forraje mejora, los herbívoros pueden recuperar dichas reservas de energía (Monteith et al., 2018). Por lo tanto, las reservas de energía son esenciales para satisfacer las necesidades metabólicas cuando la energía aportada por el forraje no cubre las necesidades básicas (Parker et al., 2009).

La evaluación del estado nutricional a partir de metabolitos urinarios o sanguíneos constituye una herramienta valiosa para estimar la adecuación de la ingesta de nutrientes, especialmente en ecosistemas donde la accesibilidad al alimento fluctúa de manera marcada a lo largo del año. En este sentido, la integración de los indicadores metabólicos y el tamaño corporal puede proporcionar información relevante sobre el estado metabólico de los cérvidos y permitir la implementación de estrategias de manejo nutricional, como la suplementación alimenticia, orientadas a mejorar su producción (Cabanac et al., 2005; Wang et al., 2024). No obstante, se necesita evaluar si los metabolitos sanguíneos de los cérvidos están relacionados con su tamaño.

El estado nutricional está estrechamente relacionado con el éxito reproductivo en los cérvidos, ya que influye en la probabilidad de concepción (Milner et al., 2013; Minami et al., 2012; Tollefson et al., 2010), en las características de nacimiento de las crías (Lomas & Bender, 2007) y en su supervivencia (Bishop et al., 2009; Lomas & Bender, 2007). Además, los cérvidos necesitan un suministro adecuado de minerales para mantener su salud y bienestar. Con el fin de favorecer el desarrollo de la fauna silvestre, incrementar el potencial de trofeos o concentrar animales en sitios específicos, se ha suplementado su alimentación con minerales artificiales (Peterson et al., 2015). Asimismo, se han utilizado algunas mediciones

Based on this context, the present study aimed to assess the relationship between a range of anthropometric traits (withers height, nose-to-tail length, tail length, ear length, foreleg length, and chest circumference), together with age and body weight, and selected serum metabolites and minerals concentrations in white-tailed deer (*Odocoileus virginianus texanus*).

Materials and methods

Study area

The study was conducted in January 2022 at the Wildlife Conservation Management Unit Rancho San Juan (code DGS-CR-EX-3133-COA), located in northeastern Mexico (26° 49' N and 101° 01' W, at an elevation of 620 m a. s. l.). The study area is characterized by semi-arid grassland (microphyll desert scrub), with a mean annual temperature of 21.3 °C and annual precipitation ranging from 300 to 400 mm, with precipitation occurring primarily during high-intensity thunderstorm events between June and October. The ranch covers an area of 2050 ha, is enclosed by a 2.4 m-high deer-proof fence, and includes multiple water sources and five feeding stations.

Deer capute, handling, and blood collection

All experimental procedures were approved by the Institutional Animal Care and Use Committee at the *Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro* (protocolo no. 03001-2258) and were conducted in accordance with the guidelines of the Federation of Animal Science Societies (FASS, 2010). The study was conducted under an extractive exploration permit issued by the *Secretaría de Medio Ambiente* of Coahuila (SM-VS-01/0111-19).

The study included 28 white-tailed deer grazing in open areas of the study site. At the beginning of the experiment, the breeding season had just ended; therefore, most individuals were assumed to be in the early weeks of gestation. Deer were captured using projectile darts containing immobilizing drugs. Once sedated, the animals were physically restrained and blindfolded.

Blood samples were collected by jugular venipuncture and placed into sterile vacuum tubes without anticoagulant (Becton Dickinson, Vacutainer®, USA). Samples were kept refrigerated until clot formation and were centrifuged at 1 200 ×g for 10 min within the first hour after collection. The serum was transferred to plastic tubes and stored at -20 °C until analysis. After completing sample collection and measurements, the deer were released back into their grazing areas.

en ganado como predictores válidos de la composición de la canal (Drennan et al., 2008; Lambe et al., 2008); sin embargo, este enfoque ha sido poco explorado en cérvidos silvestres.

Considerando lo anterior, el objetivo de este estudio fue evaluar la asociación entre diferentes rasgos antropométricos (altura a la cruz, longitud de la nariz a la cola, largo de la cola, largo de las orejas, largo de las patas delanteras y circunferencia torácica), así como la edad y el peso corporal, con algunos metabolitos y minerales séricos en venadas de cola blanca (*Odocoileus virginianus texanus*).

Materiales y métodos

Área de estudio

El estudio se llevó a cabo en enero de 2022 en la Unidad de Manejo para la Conservación de la Vida Silvestre Rancho San Juan (código DGS-CR-EX-3133-COA), ubicada en el noreste de México (26° 49' N y 101° 01' O, a 620 m s. n. m.). El área de estudio presenta pastizales semiáridos (matorral desértico microfilico), temperatura media anual de 21.3 °C y precipitación anual entre 300 y 400 mm, concentrándose principalmente en eventos de tormentas eléctricas de alta intensidad entre junio y octubre. El rancho tiene una superficie de 2050 ha, se encuentra delimitado por una cerca para ciervos de 2.4 m de altura, y cuenta con múltiples abrevaderos y cinco comederos.

Captura, manejo y obtención de muestras sanguíneas

Todos los procedimientos experimentales se aprobaron por el Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (protocolo núm. 03001-2258) y se realizaron de acuerdo con las normas de la *Federation of Animal Science Societies* (FASS, 2010). El estudio contó con un permiso de aprovechamiento extractivo emitido por la Secretaría de Medio Ambiente del estado de Coahuila (SM-VS-01/0111-19).

El estudio incluyó 28 venadas de cola blanca, las cuales pastaban en áreas abiertas de la zona de estudio. Al inicio del experimento acababa de terminar la temporada reproductiva, por lo que se asumió que la mayoría se encontraba en las primeras semanas de gestación. La captura de los ciervos se realizó mediante dardos proyectiles con fármacos inmovilizantes. Una vez sedados, los ciervos se inmovilizaron físicamente y se les vendaron los ojos.

Las muestras de sangre se obtuvieron mediante punción de la vena yugular y se almacenaron en tubos estériles al vacío sin anticoagulante (Becton Dickinson, Vacutainer®,

Body measurements and age estimation

Deer were measured in a standing position using a plastic measuring tape and a ruler. Nose-to-tail length was measured up to the base of the tail. Foreleg length was measured from the ground to the point where the leg joins the chest. Thoracic circumference was measured around the chest at the level of the withers. In addition, withers height, tail length, and ear length were recorded.

Age was estimated based on tooth eruption and wear patterns, categorized as one year, one to two years, and three years or older (Severinghaus, 1949). Serum glucose, total protein, cholesterol, urea, and creatinine concentrations were determined using colorimetric methods following protocols supplied by the kit manufacturers. Phosphorus was quantified using the colorimetric method described by Fiske and Subbarow (1925). The remaining minerals were analyzed using standard laboratory techniques.

Statistical analysis

A principal component analysis (PCA) was performed to identify the variables that explain the largest proportion of variability in the data and to explore the relationships between body measurements and serum glucose concentrations. Sampling adequacy was assessed using the Kaiser-Meyer-Olkin test and Bartlett's test of sphericity to confirm the appropriateness of factor analysis. Additionally, Pearson correlation analysis was conducted to evaluate the associations between body measurements and serum metabolites and minerals. To examine the linear relationship between two multidimensional variable sets: U (foreleg length, ear length, tail length, and withers height) and V (serum concentrations of P, Cu, and Fe), canonical correlation analysis was performed to identify the linear combination that maximized the correlation between the two datasets. Differences in serum metabolite and mineral concentrations among age groups were assessed using one-way analysis of variance.

All statistical analyses were conducted using Statgraphics Centurion 19 (Statgraphics Technologies, Inc.), with a significant level of $\alpha = 0.05$.

Results and discussion

The PCA, based on selected body measurements, age, and body weight, showed a partial separation between deer with high and low serum glucose concentrations (Figure 1). Withers height, thoracic circumference, nose-to-tail length, and age were the variables that contributed most to this differentiation. The first two principal components explained 61.5 %

EUA). Las muestras se mantuvieron refrigeradas hasta la coagulación y se centrifugaron a $1\,200 \times g$ por 10 min dentro de la primera hora posterior a la extracción. El suero obtenido se transfirió a viales de plástico y se almacenó a $-20\,^{\circ}\text{C}$ hasta su análisis. Después de tomar las muestras y realizar las mediciones correspondientes, las venadas se liberaron en los pastizales.

Mediciones corporales y determinación de la edad

Las venadas se midieron en posición de pie con una cinta métrica de plástico y una regla. La longitud de la nariz a la cola se midió a la base de la cola. El largo de las patas delanteras se midió desde la superficie del suelo hasta el punto de unión de la pata con el pecho del animal. La circunferencia torácica se midió alrededor del pecho a la altura de la cruz. Adicionalmente, se midieron la altura a la cruz, el largo de la cola y el largo de las orejas.

La edad de las venadas se estimó con base en la erupción dentaria y en los patrones de desgaste dental: un año, de uno a dos años y tres años o más (Severinghaus, 1949). Las concentraciones séricas de glucosa, proteína total, colesterol, urea y creatinina se determinaron mediante técnicas colorimétricas de acuerdo con los protocolos proporcionados por los fabricantes del kit. El fósforo se cuantificó mediante el método colorimétrico descrito por Fiske y Subbarow (1925). El resto de los minerales se determinó mediante técnicas estándar de laboratorio.

Análisis de datos

Se aplicó un análisis de componentes principales (ACP) para identificar las variables que explicaran la mayor proporción de la variabilidad en los datos y explorar las relaciones entre las mediciones corporales y las concentraciones de glucosa sérica. La adecuación del muestreo se evaluó mediante la prueba de Kaiser-Meyer-Olkin y la prueba de esfericidad de Bartlett, con el fin de verificar la pertinencia del análisis factorial. Asimismo, se llevó a cabo un análisis de correlación de Pearson para evaluar la asociación entre las medidas corporales y los metabolitos y minerales séricos. Para examinar la relación lineal entre dos variables multidimensionales: U (largo de las patas delanteras, largo de las orejas, largo de la cola y altura a la cruz) y V (concentraciones séricas de P, Cu y Fe), se realizó un análisis de correlación canónica. Lo anterior con la finalidad de identificar la combinación lineal que maximizara la correlación entre ambos conjuntos de datos. Las diferencias en las concentraciones séricas de minerales y metabolitos entre los grupos etarios se examinaron mediante un análisis de varianza de una vía.

Todos los análisis estadísticos se realizaron con el programa Statgraphics Centurion 19 (Statgraphics Technologies, Inc.), con un nivel de significancia de $\alpha = 0.05$.

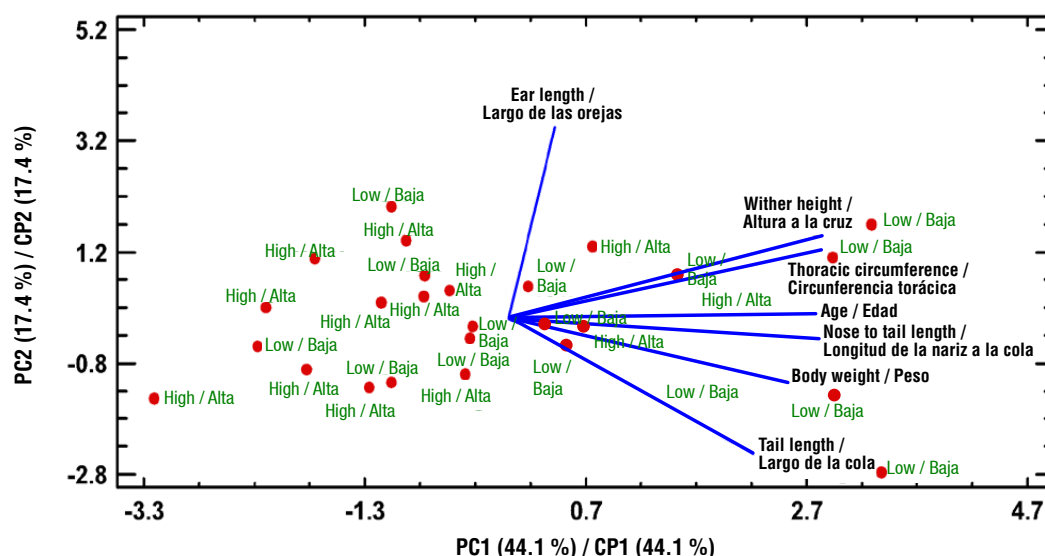


Figure 1. Principal component analysis of serum metabolites and minerals, body measurements, age, and body weight in white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*). The principal components (PC) with the highest eigenvalues are shown on the X and Y axes. The contribution of each input variable to these two dimensions is presented. Individuals were classified into two groups based on serum glucose concentrations: high and low.

Figura 1. Análisis de componentes principales de metabolitos y minerales séricos, medidas corporales, edad y peso de venadas de cola blanca (*Odocoileus virginianus*). Los componentes principales (CP) con los valores propios más altos se muestran en el eje X y el eje Y. Se presenta la carga de cada variable de entrada relacionada con estas dos dimensiones. Los individuos se clasificaron según su concentración sérica de glucosa en dos grupos: alta y baja.

of the total variation in the data. Overall, serum glucose concentrations tended to be lower in deer with greater withers height, ear length, tail length, thoracic circumference, nose-to-tail length, body weight, and age.

Table 1 shows the effect of age on the concentration of selected macrominerals, trace elements, and metabolites. Age had no significant effect ($p > 0.05$) on any of the minerals or metabolites evaluated. These results contrast with those reported by Greenwood et al. (2023), who documented an effect of age on Se and Zn concentrations. Additionally, blood K levels have been reported to correlate negatively with age in white-tailed deer (Stringer et al., 2011). Nonetheless, the serum glucose concentrations observed in the present study ($46.0 - 74.3 \text{ mg}\cdot\text{dL}^{-1}$) were within the expected range for this species (Burdic et al., 2012), although other studies have reported higher values ($\geq 120 \text{ mg}\cdot\text{dL}^{-1}$) in wild white-tailed deer (Boesch et al., 2011; Moratz et al., 2019).

The strongest association between body measurements and serum metabolites was observed between withers height and serum glucose (Table 2), which showed a highly significant negative correlation ($p < 0.01$). This finding is noteworthy, as other studies conducted in different sheep breeds have not reported an inverse relationship between body weight and blood glucose

Resultados y discusión

EL ACP, basado en algunas medidas corporales, la edad y el peso corporal, mostró una separación parcial entre las venadas con concentraciones séricas altas y bajas de glucosa (Figura 1). La altura a la cruz, la circunferencia torácica, la longitud de la nariz a la cola y la edad fueron las variables que contribuyeron en mayor medida a dicha diferenciación. Los dos primeros componentes principales explicaron el 61.5 % de la variación total de los datos. En general, la concentración de glucosa sérica tendió a ser menor en las venadas con mayor altura a la cruz, largo de las orejas, largo de la cola, circunferencia torácica, longitud de la nariz a la cola, peso y edad.

El Cuadro 1 muestra el efecto de la edad de las venadas sobre las concentraciones de algunos macrominerales, oligoelementos y metabolitos. La edad no tuvo un efecto significativo ($p > 0.05$) sobre ninguno de los minerales o metabolitos evaluados. Estos resultados contrastan con lo reportado por Greenwood et al. (2023), quienes documentaron un efecto de la edad sobre las concentraciones de Se y Zn. Además, los niveles de K en sangre se han correlacionado negativamente con la edad en los venados de cola blanca (Stringer et al., 2011). No obstante, las concentraciones de glucosa sérica observadas en el presente estudio ($46.0 - 74.3 \text{ mg}\cdot\text{dL}^{-1}$) se encontraron dentro del rango esperado para esta especie (Burdic et al., 2012), aunque otros

Table 1. Serum mineral and metabolite concentration in white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) by age.
Cuadro 1. Concentración de minerales y metabolitos séricos en venadas de cola blanca (*Odocoileus virginianus*) en función de la edad.

Variables	1 year (n = 3) / 1 año (n = 3)	1-2 years old (n = 18) / 1-2 años de edad (n = 18)	≥ 3-years old (n = 7) / ≥ 3 años de edad (n = 7)
Minerals / Minerales			
Calcium (mg·dL ⁻¹) / Calcio (mg·dL ⁻¹)	8.4 ± 2.7	9.0 ± 1.5	8.5 ± 1.4
Phosphorous (mg·dL ⁻¹) / Fósforo (mg·dL ⁻¹)	7.2 ± 2.6	6.5 ± 1.8	8.1 ± 2.1
Potassium (mEq·L ⁻¹) / Potasio (mEq·L ⁻¹)	4.6 ± 0.2	5.4 ± 1.3	5.8 ± 2.1
Magnesium (mg·dL ⁻¹) / Magnesio (mg·dL ⁻¹)	2.2 ± 1.5	2.2 ± 0.4	2.0 ± 01
Sodium (mEq·L ⁻¹) / Sodio (mEq·L ⁻¹)	101 ± 58	140 ± 78	128 ± 81
Copper (mg·dL ⁻¹) / Cobre (mg·dL ⁻¹)	0.46 ± 0.1	0.6 ± 0.2	0.76 ± 0.2
Zinc (mg·dL ⁻¹) / Zinc (mg·dL ⁻¹)	1.0 ± 0.3	2.6 ± 1.1	2.3 ± 1.4
Iron (mg·dL ⁻¹) / Hierro (mg·dL ⁻¹)	127 ± 49	104 ± 38	118 ± 37
Metabolites / Metabolitos			
Glucose (mg·dL ⁻¹) / Glucosa (mg·dL ⁻¹)	60.7 ± 5.9	55.4 ± 6.6	52.6 ± 3.1
Urea (mg·dL ⁻¹)	20.6 ± 7.1	15.3 ± 6.0	16.5 ± 7.7
Cholesterol (mg·dL ⁻¹) / Colesterol (mg·dL ⁻¹)	87.0 ± 15.3	89.8 ± 17.4	85.0 ± 17.7
Total protein (mg·dL ⁻¹) / Proteína total (mg·dL ⁻¹)	6.3 ± 0.8	7.0 ± 1.6	7.3 ± 0.9
Creatinine (mg·dL ⁻¹) / Creatinina (mg·dL ⁻¹)	1.2 ± 0.1	1.2 ± 0.2	1.2 ± 0.2

Values represent means ± standard deviation.
Los valores representan las medias ± desviación estándar.

Table 2. Significant Pearson correlations between body measurements and selected serum metabolites and minerals in white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*).
Cuadro 2. Coeficientes de correlación de Pearson significativos entre las medidas corporales y algunos metabolitos séricos y minerales en venadas de cola blanca (*Odocoileus virginianus*).

Pair of variables / Par de variables	Correlation / Correlación	p-value / Valor de p
Wither height – iron / Altura a la cruz – hierro	0.44	0.019
Wither height – glucose / Altura a la cruz – glucosa	-0.54	0.003
Nose-to-tail length – iron / Longitud de la nariz a la cola – hierro	0.38	0.043
Tail length – copper / Largo de la cola – cobre	0.49	0.007
Tail length – phosphorus / Largo de la cola – fósforo	0.42	0.013
Ear length – phosphorus / Largo de las orejas – fósforo	0.43	0.020
Nose-to-tail length – cholesterol / Longitud de la nariz a la cola – colesterol	-0.46	0.014

levels (Ashour et al., 2020). Serum glucose concentration is commonly used as an indicator of energy status in cervids (Van Saun & Wagner, 2025). The higher glucose concentration observed in smaller deer may be related to greater ruminal propionate production, possibly resulting from improved diet selection. However, the high inter-individual variability in blood glucosa suggest the influence of multiple physiological and environmental factors. In addition, insulin responsiveness to a glucose load increases with age in sheep (Jaquierey et al., 2013); therefore, greater age and body size may be associated with lower blood glucose concentrations as a result of increased insulin secretion (Ruhe et al., 1992). Nonetheless, the use of

estudios han registrado valores más altos (≥ 120 mg·dL⁻¹) en ciervos de cola blanca silvestres (Boesch et al., 2011; Moratz et al., 2019).
La asociación más fuerte entre las medidas corporales y los metabolitos séricos se observó entre la altura a la cruz y la glucosa sérica (Cuadro 2), al presentar una correlación negativa altamente significativa ($p < 0.01$). Este resultado resulta llamativo, ya que otros estudios realizados en diversas razas ovinas no han documentado una relación inversa entre el peso corporal y los niveles de glucosa en sangre (Ashour et al., 2020). La concentración de la glucosa sérica se emplea comúnmente como indicador del estado energético de los cérvidos (Van Saun & Wagner,

blood glucose as an indicator of nutritional status in animals subjected to chemical immobilization may not accurately reflect the true metabolic condition of wild individuals (Arnemo & Ranheim, 1999).

Another important finding was the moderate negative association between nose-to-tail length and cholesterol concentration. Both glucose and cholesterol concentrations decrease when energy demands are not met by nutrient intake; therefore, these metabolites are closely linked to energy balance in ruminants (Kida, 2003). The lower cholesterol concentration observed in larger deer reflects an energy deficit, as cholesterol plays a role in the transport of fatty acids from adipose tissue during a period of energy restriction (Carbone et al., 2012; Tadesse et al., 2021). These results suggest that larger individuals may face greater challenges in meeting their energy requirements, leading to increased mobility and eventual depletion of body reserves.

The lower serum glucose concentration observed in taller deer may also be attributed to energy restriction, suggesting that the available nutritional plane was insufficient to meet metabolic demands during the early stages of pregnancy. It is worth noting that the study was conducted during winter, a period characterized by forage scarcity in the study area; therefore, larger deer apparently did not obtain sufficient nutrients to sustain both physiological processes and normal physical activity.

2025). La mayor concentración de glucosa observada en las venadas de menor tamaño podría estar relacionada con una mayor producción ruminal de propionato, posiblemente derivada de una mejor selección de la dieta. Sin embargo, la elevada variabilidad de glucosa en sangre entre individuos sugiere la influencia de múltiples factores fisiológicos y ambientales. Además, la respuesta de la insulina a una carga de glucosa aumenta con la edad en las ovejas (Jaquier et al., 2013); por lo tanto, a mayor edad y tamaño, menor es la concentración de glucosa en sangre como resultado de una mayor secreción de insulina (Ruhe et al., 1992). No obstante, el uso de la glucosa en sangre como indicador del estado nutricional en animales sometidos a inmovilización química puede no reflejar con precisión la condición metabólica real de individuos silvestres (Arnemo & Ranheim, 1999).

Otro hallazgo relevante fue la asociación negativa moderada entre la longitud de la nariz a la cola y el colesterol. Tanto la concentración de glucosa como el colesterol disminuyen cuando las demandas energéticas no se cubren con la ingesta de nutrientes, por lo que ambos metabolitos están estrechamente vinculados con el balance energético en rumiantes (Kida, 2003). La menor concentración de colesterol observada en las venadas de mayor tamaño refleja un déficit energético, ya que el colesterol interviene en el transporte de ácidos grasos desde el tejido adiposo durante periodos de restricción energética (Carbone et al., 2012; Tadesse et al., 2021). Estos resultados sugieren

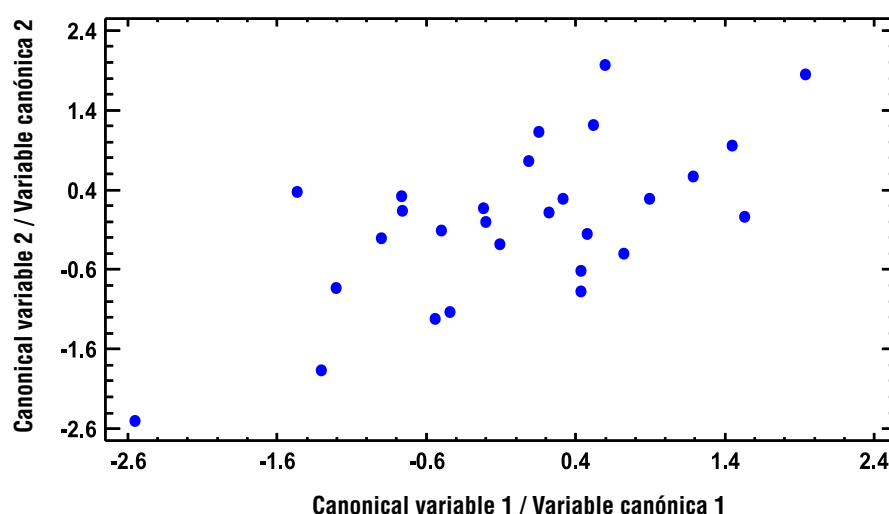


Figure 2. Canonical correlation between the set of variables U (foreleg length, ear length, tail length, and withers height) and V (serum concentrations of P, Cu, and Fe) in white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*). The analysis was based on 28 complete cases and revealed a significant canonical correlation ($p = 0.03$).

Figura 2. Correlación canónica entre el conjunto de variables U (largo de las patas delanteras, largo de las orejas, largo de la cola y altura a la cruz) y V (concentraciones séricas de P, Cu y Fe) en venadas de cola blanca (*Odocoileus virginianus*). El análisis se basó en 28 casos completos y reveló una correlación canónica significativa ($p = 0.03$).

In contrast, taller deer tend to show higher serum levels of iron, copper, and phosphorus (Table 2). Consistently, canonical correlation analysis showed positive associations between foreleg length, ear length, tail length, and withers height and serum concentrations of P, Cu, and Fe (Figure 2). These differences likely reflect advantages in the foraging abilities of taller deer, such as greater reach, strength, and physical agility, which facilitate access to specific parts of forage plants, including shoots and young leaves, as documented in goats under extensive grazing conditions (Mellado et al., 2004).

Phosphorus tends to accumulate in actively growing tissues, with substantial transfer from branches to developing leaves (Shane, 2004); therefore, taller deer may have had greater access to young shrub leaves and, consequently, ingested more P than smaller deer. Similarly, in desert plants, Cu is primarily concentrated in the leaves, suggesting that the selection of young shoots by taller deer could explain the higher concentration of this element observed in these individuals.

Conclusions

The serum biochemistry of white-tailed deer at the onset of gestation in a region of the Chihuahuan Desert showed variation according to body measurements. The negative relationship between body size and glucose and cholesterol concentrations highlights the potential need for dietary supplementation during this period. Additionally, the results indicate that smaller deer showed higher concentrations of serum metabolites associated with energy reserves. In contrast, larger female deer showed high serum concentrations of P, Cu, and Fe, suggesting a greater capacity to consume mineral-rich components. Serum metabolites helped to characterize certain body measurements and, therefore, could be used to determine when to initiate emergency feeding programs for underdeveloped deer.

Acknowledgments

This study was funded by the *Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro* (Project 03001-2258).

End of English version

References / Referencias

- Arnemo, J. M., & Ranheim, B. (1999). Effects of medetomidine and atipamezole on serum glucose and cortisol levels in captive reindeer (*Rangifer tarandus tarandus*). *Rangifer*, 19(2), 85-89. <https://doi.org/10.7557/2.19.2.284>
- Ashour, G., Gad, A., Fayed, A. K., Ashmawy, N. A., & El- Sayed, A. (2020). Evaluation of growth performance, blood metabolites and gene expression analysis in Egyptian sheep breeds, in

que los individuos más grandes podrían enfrentar mayores dificultades para satisfacer sus requerimientos energéticos, lo que conduce a una mayor movilidad y un eventual agotamiento de las reservas corporales.

La menor concentración de glucosa sérica en las venadas más altas también se puede deber a la restricción energética, lo cual sugiere que el plano nutricional disponible era inadecuado para cubrir las necesidades metabólicas durante la primera etapa del embarazo. Cabe destacar que el estudio se realizó durante el invierno, época caracterizada por la escasez de forraje en el área de estudio; por lo tanto, las venadas de mayor tamaño aparentemente no obtuvieron los nutrientes necesarios para mantener tanto los procesos corporales como la actividad física normal.

En contraste, las venadas más altas tendieron a presentar niveles más elevados de hierro, cobre y fósforo (Cuadro 2). De manera consistente, el análisis de correlación canónica mostró asociaciones positivas entre el largo de las patas delanteras, el largo de las orejas, el largo de la cola y la altura a la cruz con los niveles séricos de P, Cu y Fe (Figura 2). Estas diferencias probablemente reflejan ventajas en las capacidades de forrajeo de las venadas más altas (como mayor alcance, fuerza y destreza física), lo cual facilita el acceso a partes específicas de las plantas forrajeras, como brotes y hojas jóvenes, tal como se ha documentado en caprinos en condiciones de pastoreo extensivo (Mellado et al., 2004).

El fósforo tiende a acumularse en los tejidos en crecimiento activo, con una transferencia sustancial de las ramas a las hojas en desarrollo (Shane, 2004); por lo tanto, es posible que las venadas más altas tuvieran un mayor acceso a las hojas tiernas de los arbustos y, en consecuencia, ingirieran más P que las venadas más pequeñas. De manera similar, en plantas del desierto, el Cu se concentra principalmente en las hojas, lo que sugiere que la selección de brotes tiernos por parte de las venadas más altas podría explicar las mayores concentraciones de este elemento en dichos individuos.

Conclusiones

La bioquímica sérica de las venadas de cola blanca al inicio de la gestación en una zona del desierto de Chihuahua mostró variaciones en función de las medidas corporales. La relación negativa entre el tamaño y las concentraciones de glucosa y colesterol sugiere la necesidad de suplementar la alimentación durante este periodo. Asimismo, los resultados indican que las venadas más pequeñas presentaron concentraciones más elevadas de metabolitos séricos asociados con las reservas energéticas. En contraste, las hembras de mayor tamaño mostraron concentraciones

- relation to age. *World Veterinary Journal*, 10(4), 18-29. <https://doi.org/10.36380/scil.2020.wvj3>
- Bishop, C. J., White, G. C., Freddy, D. J., Watkins, B. E., & Stephenson, T. R. (2009). Effect of enhanced nutrition on mule deer population rate of change. *Wildlife Monographs*, 172(1), 1-28. <https://doi.org/10.2193/2008-107>
- Boesch, J. M., Boulanger, J. R., Curtis, P. D., Erb, H. N., Ludders, J. W., Kraus, M. S., & Gleed, R. D. (2011). Biochemical variables in free-ranging white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) after chemical immobilization in clover traps or via ground-darting. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 42(1), 18-28. <https://doi.org/10.1638/2009-0146.1>
- Burdic, S., Mitchell, M. A., Neil, J., Heggem, B., Whittington, J., & Acierno, M. J. (2012). Evaluation of two point-of-care meters and a portable chemistry analyzer for measurement of blood glucose concentrations in juvenile white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 240(5), 596-599. <https://doi.org/10.2460/javma.240.5.596>
- Cabanac, A. J., Ouellet, J. P., Crête, M., & Rioux, P. (2005). Urinary metabolites as an index of body condition in wintering white-tailed deer *Odocoileus virginianus*. *Wildlife Biology*, 11(1), 59-66. [https://doi.org/10.2981/0909-6396\(2005\)11\[59:UMAAIO\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.2981/0909-6396(2005)11[59:UMAAIO]2.0.CO;2)
- Cain, J. W., Gedir, J. V., Marshal, J. P., Krausman, P. R., Allen, J. D., Duff, G. C., Jansen, B. D., & Morgart, J. R. (2017). Extreme precipitation variability, forage quality and large herbivore diet selection in arid environments. *Oikos*, 126(10), 1459-1471. <https://doi.org/10.1111/oik.04282>
- Carbone, J. W., McClung, J. P., & Pasiakos, S. M. (2012). Skeletal muscle responses to negative energy balance: effects of dietary protein. *Advances in Nutrition*, 3(2), 119-126. <https://doi.org/10.3945/an.111.001792>
- Drennan, M. J., McGee, M., & Keane, M. G. (2008). The value of muscularity and skeletal scores in the live animal and carcass grades as indicators of carcass composition in cattle. *Animal*, 2(5), 752-760. <https://doi.org/10.1017/S1751731108001754>
- Federation of Animal Science Societies (FASS). (2010) *Guide for care and use of agricultural animals in research and teaching* (3rd Edition). American Dairy Science Association - American Society of Animal Science - the Poultry Science Association.
- Fiske, C. H., & Subbarow, Y. J. (1925). The colorimetric determination of phosphorus. *Journal of Biological Chemistry*, 66(2), 375-400. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)84756-1](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)84756-1)
- Greenwood, M. P., Kelley, S. F., Urso, P. M., Anderson, M. J., Beverly, M. M., Barr, C., & Stewar, C. R. (2023). Determination of blood micromineral and fat-soluble vitamin values for white-tailed deer. *The Texas Journal of Agriculture and Natural Resources*, 36, 13-23. <https://txjanr.agintexas.org/index.php/txjanr/article/view/441>
- Jaquiere, A. L., Oliver, M. H., Landon-Lane, N., Matthews, S. J., Harding, J. E., & Bloomfield, F. H. (2013). Unpredictable feeding impairs glucose tolerance in growing lambs. *PLOS One*, 8(4), e61040. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061040>
- Kida, K. (2003). Relationships of metabolic profiles to milk production and feeding in dairy cows. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 65(6), 671-677. <https://doi.org/10.1292/jvms.65.671>
- séricas más elevadas de P, Cu y Fe, lo cual sugiere una mayor capacidad para consumir componentes ricos en estos minerales. Los metabolitos séricos ayudaron a describir algunas medidas corporales y, por lo tanto, se podrían utilizar para determinar cuándo iniciar un programa de alimentación de emergencia en venadas poco desarrolladas.

Agradecimientos

Este estudio fue financiado por la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (Proyecto 03001-2258).

Fin de la versión en español

- Kohli, M., Sankaran, M., Suryawanshi, K. R., & Mishra, C. (2014). A penny saved is a penny earned: lean season foraging strategy of an alpine ungulate. *Animal Behaviour*, 92, 93-100. <https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2014.03.031>
- Lambe, N. R., Navajas, E. A., Schofield, C. P., Fisher, A. V., Simm, G., Roehe, R., & Bünger, L. (2008). The use of various live animal measurements to predict carcass and meat quality in two divergent lamb breeds. *Meat Science*, 80(4), 1138-1149. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2008.05.026>
- Lomas, L. A., & Bender, L. C. (2007). Survival and cause-specific mortality of neonatal mule deer fawns, north-central New Mexico. *Journal of Wildlife Management*, 71(3), 884-894. <https://doi.org/10.2193/2006-203>
- Mellado, M., Rodríguez, A., Villarreal, J. A., & Lopez, R. (2004) Height to withers and abdominal circumference effects on diets of grazing goats. *Applied Animal Behaviour Science*, 88(3-4), 263-274. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2004.03.011>
- Milner, J. M., van Beest, F. M., Solberg, E. J., & Storaas, T. (2013). Reproductive success and failure: The role of winter body mass in reproductive allocation in Norwegian moose. *Oecologia*, 172(4), 995-1005. <https://doi.org/10.1007/s00442-012-2547-x>
- Minami, M., Oonishi, N., Higuchi, N., Okada, A., & Takatsuki, S. (2012). Costs of parturition and rearing in female sika deer (*Cervus nippon*). *Zoological Science*, 29(3), 147-151. <https://doi.org/10.21108/zsj.29.147>
- Monteith, K. L., Long, R. A., Stephenson, T. R., Bleich, V. C., Bowyer, R. T., & LaSharr, T. N. (2018). Horn size and nutrition in mountain sheep: can ewe handle the truth?. *Journal of Wildlife Management*, 82(1), 67-84. <https://doi.org/10.1002/jwmg.21338>
- Monteith, K. L., Stephenson, T. R., Bleich, V. C., Conner, M. M., Pierce, B. M., & Bowyer, R. T. (2013). Risk-sensitive allocation in seasonal dynamics of fat and protein reserves in a long-lived mammal. *Journal of Animal Ecology*, 82(2), 377-388. <https://doi.org/10.1111/1365-2656.12016>
- Moratz, K. L., Gullikson, B. S., Michel, E. S., Grove, D. M., Jenks, J. A., & Jensen, W. F. (2019). Serological survey and pathogen exposure of adult female white-tailed deer in the Western Dakotas. *The Prairie Naturalist*, 51, 58-67. https://openprairie.sdstate.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1303&context=nrm_pubs

- Parker, K. L., Barboza, P. S., & Gillingham, M. P. (2009). Nutrition integrates environmental responses of ungulates. *Functional Ecology*, 23(1), 57-69. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2009.01528.x>
- Peterson, B. C., Koupal, K. D., Schissel, A. K., & Siegel, C. M. (2015). Longevity of mineral supplements within the soil and associated use by white-tailed deer. *Transactions of the Nebraska Academy of Sciences and Affiliated Societies*, 35, 61-67. <https://digitalcommons.unl.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1486&context=tnas>
- Ruhe, R. C., Curry, D. L., Herrmann, S., & McDonald, R. B. (1992). Age and gender effects on insulin secretion and glucose sensitivity of the endocrine pancreas. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 262(4), 671-676. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.1992.262.4.R671>
- Severinghaus, C. W. (1949). Tooth development and wear as criteria of age in white-tailed deer. *Journal of Wildlife Management*, 13(2), 195-216. <https://www.jstor.org/stable/pdf/3796089.pdf>
- Shane, M. W., McCully, M. E., & Lambers, H. (2004). Tissue and cellular phosphorus storage during development of phosphorus toxicity in *Hakea prostrata* (Proteaceae). *Journal of Experimental Botany*, 55(399), 1033-1044. <https://doi.org/10.1093/jxb/erh111>
- Stringer, E. M., Kennedy-Stoskopf, S., Chitwood, M. C., Thompson, J. R., & dePerno, C. S. (2011). Hyperkalemia in free-ranging white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*). *Journal of Wildlife Diseases*, 47(2), 2011, 307-313. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-47.2.307>
- Tadesse, D., Puchala, R., & Goetsch, A. L. (2021). Effects of restricted feed intake on blood constituent concentrations in Dorper, Katahdin, and St. Croix sheep from different regions of the USA. *Veterinary and Animal Science*, 14, 100211. <https://doi.org/10.1016/j.vas.2021.100211>
- Tollefson, T. N., Shipley, L. A., Myers, W. L., Keisler, D. H., & Dasgupta, N. (2010). Influence of summer and autumn nutrition on body condition and reproduction in lactating mule deer. *Journal of Wildlife Management*, 74(5), 974-986. <https://doi.org/10.2193/2008-529>
- Van Saun, R. J., & Wagner, D. C. (2025). Nutrition of deer. In A. P. Foster (Ed.), *Deer veterinary medicine* (pp. 151-176). Wiley & Sons Ltd.
- Wang, M., Guo, Q., Shan, Y., Cheng, Z., Zhang, Q., Bai, J., Dong, Y., & Zhong, Z. (2024). Effects of probiotic supplementation on body weight, growth performance, immune function, intestinal microbiota and metabolites in fallow deer. *Biology*, 13(8), 603. <https://doi.org/10.3390/biology13080603>



Evaluation of plant extract from the Chihuahuan Desert against *Fusarium oxysporum* in pepper

Evaluación de extractos vegetales del Desierto Chihuahuense contra *Fusarium oxysporum* en el cultivo de chile

Jesús Eduardo Ramírez-Méndez¹; Francisco Daniel Hernández-Castillo¹;
Diana Jasso de Rodríguez¹; Omar Jiménez-Pérez²; Rocío Crystabel López-González³;
Marco A. Tucuch-Pérez^{4*}

¹Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Departamento de Parasitología. Calzada Antonio Narro, núm. 1923, Buenavista, Saltillo, Coahuila, C. P. 25315, México.

²Universidad Tecnológica de Escuinapa. Camino al Guasimal, s/n, col. Centro, Escuinapa de Hidalgo, Sinaloa, C. P. 82400, México.

³Instituto Tecnológico de México, Instituto Tecnológico de Ciudad Valles. Ciudad Valles, San Luis Potosí, C. P. 79010, México.

⁴Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Departamento de Botánica. Calzada Antonio Narro, núm. 1923, 14 Buenavista, Saltillo, Coahuila, C. P. 25315, México.

*Corresponding author: martp1216@gmail.com

Abstract

Wilt disease caused by *Fusarium oxysporum* is one of the main diseases affecting pepper production. This study evaluated the antifungal activity of methanolic extracts from leaves of *Agave striata* and stems of *Fouquieria splendens* from the Chihuahuan Desert against *F. oxysporum* under *in vitro* and *in vivo* conditions in greenhouse-grown pepper crop. Fungal identification was conducted using taxonomic keys and molecular analysis. Antifungal activity was assessed through a microdilution approach using concentrations ranging from 3.9 to 2000 mg·L⁻¹, to determine the 50 and 90 % inhibitory concentrations. Additionally, cellular damage induced in *F. oxysporum* was examined, and the *in vivo* effectiveness of the extracts was evaluated. The *in vitro* results showed that *A. striata* and *F. splendens* inhibited 100 % of fungal growth at concentration of 1000 and 250 mg·L⁻¹, respectively. Both extracts induced vacuolization and cytoplasmic disorganization in the fungal structures. Under *in vivo* conditions, the extract of *F. splendens* completely controlled the disease, while *A. striata* reduced its severity. These findings confirm the potential of these extracts as biocontrol agents against *F. oxysporum* in pepper.

Keywords: phytochemicals, biocontrol, phytopathogens, antagonism.

Resumen

La marchitez causada por *Fusarium oxysporum* es una de las principales enfermedades que afectan la producción de chile. En este estudio se evaluó la actividad antifúngica de extractos metanólicos de hojas de *Agave striata* y tallos de *Fouquieria splendens* del Desierto Chihuahuense sobre *F. oxysporum* bajo condiciones *in vitro* e *in vivo* en el cultivo de chile en invernadero. La identificación del hongo se realizó mediante claves taxonómicas y análisis molecular. La actividad antifúngica de los extractos se determinó por la técnica de microdilución, con dosis de 3.9 a 2000 mg·L⁻¹, con el fin de establecer las concentraciones inhibitorias al 50 y 90 %. Asimismo, se analizó el daño celular inducido en *F. oxysporum* y se evaluó la efectividad antifúngica de los extractos en condiciones *in vivo*. Los resultados *in vitro* evidenciaron que *A. striata* y *F. splendens* inhibieron el 100 % del crecimiento del hongo a concentraciones de 1000 y 250 mg·L⁻¹, respectivamente. Ambos extractos indujeron vacuolización y desorganización citoplasmática en las estructuras del hongo. En condiciones *in vivo*, el extracto de *F. splendens* controló totalmente la enfermedad, mientras que *A. striata* redujo significativamente su severidad. Los resultados confirman el potencial de estos extractos como agentes de biocontrol sobre *F. oxysporum* en el cultivo de chile.

Palabras clave: fitoquímicos, biocontrol, fitopatógenos, antagonismo.

Please cite this article as follows (APA 7): Ramírez-Méndez, J. E., Hernández-Castillo, F. D., Jasso de Rodríguez, D., Jiménez-Pérez, O., López-González, R. C., & Tucuch-Pérez, M. A. (2025). Assessment of plant extract from the Chihuahuan Desert against *Fusarium oxysporum* in pepper. *Revista Chapingo Serie Zonas Áridas*, 24, e2503. <https://doi.org/10.5154/r.rchsza.2025.04.03>



Revista Chapingo
Serie Zonas Áridas

Introduction

Pepper (*Capsicum annuum* L.) production is highly important worldwide due to its nutritional and economic value. In Mexico, production in 2023 reached 3 681 061.47 t, the state of Chihuahua (22.72 %), Sinaloa (22.08 %), Zacatecas (13.52 %), San Luis Potosí (9.47 %) and Sonora (5.37 %) stood out as the main producers (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera [SIAP], 2024). However, as with other crops, its production is affected by fungal diseases, such as wilt caused by *Fusarium oxysporum*, a soilborne phytopathogen capable of surviving for several years and infecting plants from the seedling stage onward (Ahmad et al., 2023).

Plants infected with *F. oxysporum* exhibit yellowing of the lower leaves, curling of the apical shoots, wilting, and ultimately death (Shaheen et al., 2021). Currently, the primary method of control against this phytopathogen is the use of synthetic chemical products. However, several studies have reported the negative environmental impact of these products, as well as the risk of developing resistant strains (Zheng et al., 2022). Consequently, the search for sustainable alternatives that complement or replace conventional methods has intensified. Among these alternatives, the use of plant extracts with antifungal properties stands out as a promising option for the sustainable management of crop diseases (Hussain et al., 2023).

In Mexico, certain plants from the Chihuahuan Desert are notable due to their medicinal, antimicrobial and antifungal properties (Mohamed et al., 2017), because they contain phenols, tannins, flavonoids, and alkaloids (Rodríguez-Guadarrama et al., 2018). In this context, *Agave striata* and *Fouquieria splendens* have been reported as sources of compounds with antibacterial and fungicidal activity (Ramírez-Méndez et al., 2024), suggesting their potential application as biocontrol agents against phytopathogenic fungi.

Based on the above, we hypothesized that extracts from *A. striata* and *F. splendens* could inhibit mycelial growth and induce structural alterations in *F. oxysporum*. Therefore, the objective of this study was to evaluate the antifungal activity of methanolic extracts from *A. striata* leaves and *F. splendens* stems from the Chihuahuan Desert against *F. oxysporum* under *in vitro* and *in vivo* conditions in greenhouse-grown pepper crops.

Materials and methods

Isolation and identification of *Fusarium oxysporum*

Root and stem sample from serrano pepper var. Platino with clear wilt symptoms were collected in the municipality of Escuinapa, Sinaloa, Mexico. The

Introducción

El cultivo de chile (*Capsicum annuum* L.) es de gran relevancia a nivel mundial debido a su valor nutricional y económico. En México, la producción en 2023 alcanzó 3 681 061.47 t, donde destacaron los estados de Chihuahua (22.72 %), Sinaloa (22.08 %), Zacatecas (13.52 %), San Luis Potosí (9.47 %) y Sonora (5.37 %) como los principales productores (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera [SIAP], 2024). No obstante, al igual que otros cultivos, su producción se ve afectada por enfermedades fúngicas, como la marchitez causada por *Fusarium oxysporum*, un fitopatógeno del suelo capaz de sobrevivir durante varios años y de infectar a las plantas desde la etapa de plántula (Ahmad et al., 2023).

Las plantas infectadas con *F. oxysporum* presentan amarillamiento de las hojas inferiores, enrollamiento de los brotes apicales, marchitez y, finalmente, la muerte (Shaheen et al., 2021). Actualmente, el principal método de control contra este fitopatógeno es el uso de productos de síntesis química. Sin embargo, diversos estudios han reportado los efectos negativos de estos productos sobre el ambiente, además del riesgo de generar cepas resistentes (Zheng et al., 2022). Por ello, se ha intensificado la búsqueda de alternativas sostenibles que complementen o sustituyan los métodos convencionales. Entre estas alternativas destaca el uso de extractos vegetales con propiedades antifúngicas como una opción prometedora para el manejo sostenible de enfermedades en los cultivos (Hussain et al., 2023).

En México, algunas plantas del Desierto Chihuahuense destacan por sus propiedades medicinales, antimicrobianas y antifúngicas (Mohamed et al., 2017), ya que contienen fenoles, taninos, flavonoides y alcaloides (Rodríguez-Guadarrama et al., 2018). En este sentido, *Agave striata* y *Fouquieria splendens* se han reportado como fuentes de compuestos con actividad antibacteriana y fungicida (Ramírez-Méndez et al., 2024), lo cual sugiere su posible aplicación como agentes de biocontrol frente a hongos fitopatógenos.

Con base en lo anterior, se planteó la hipótesis de que los extractos de *A. striata* y de *F. splendens* podrían inhibir el crecimiento micelial y causar alteraciones estructurales en *F. oxysporum*. Por ello, el objetivo de este estudio fue evaluar la actividad antifúngica de extractos metanólicos de hojas de *A. striata* y tallos de *F. splendens* del Desierto Chihuahuense sobre *F. oxysporum* bajo condiciones *in vitro* e *in vivo* en el cultivo de chile en invernadero.

Materiales y métodos

Aislamiento e identificación de *Fusarium oxysporum*

La recolección de raíces y tallos de plantas de chile serrano var. Platino con síntomas evidentes de marchitez

random sampling included six plants from a 1 ha conventional production greenhouse containing 25 000 established plants. Samples were placed in plastic bags and transported in an ice-filled cooler to the *Laboratorio de Micología y Biotecnología del Departamento de Parasitología* (LMBDP) at the *Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro* (UAAAN), where they were immediately processed for fungal isolation using the hyphal tip technique.

The pure colony was morphologically characterized using the taxonomic keys of Leslie and Summerell (2006), and was identified as *Fusarium* sp. Subsequently, molecular identification was conducted at the *Laboratorio Nacional de Biotecnología Agrícola, Médica y Ambiental* (LANBAMA) of the *Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica* (IPICYT). DNA extraction was performed using the CTAB method described by Huang et al. (2018). The ITS region, located between the 18S and 28S ribosomal subunits, was amplified by PCR using the primers ITS1 e ITS4 (White et al., 1990). The amplified products were sequenced using the chain-termination (Sanger) method, and the resulting sequences were compared with those available in the GenBank database to confirm the identity of the isolate.

Plant collection

Plants of *A. striata* and *F. splendens* were collected in the municipality of General Cepeda, Coahuila, Mexico (25° 20' 27.13" N and 101° 27' 52.07" W, at 1531 m a. s. l.) during August 2023, in the dry season. One physiologically mature adult specimen of each species was selected. The collection was carried out in the morning, based on selection criteria that included optimal vegetative development and the absence of damage or disease symptoms (Ghimire et al., 2019). The samples were transported to the LMBDP at the UAAAN for further processing.

Preparation of extracts

The extracts were prepared following the methodology of Jasso-de Rodríguez et al. (2015), with minor modifications. First, the leaves of *A. striata* and the stems of *F. splendens* were ground and sieved to obtain a powder with particle size between 0.5 to 1 mm. A total of 42 g or the powdered material was weighed, placed into 500 mL containers and mixed with 375 mL of 96 % methanol in each container. The containers were placed on a stirring hot plate (Cimarec, Thermo Scientific, USA) for 72 h at 60 °C. The methanol was then removed by rotary evaporation (IKA RV 10, Artisan®, USA) at 150 rpm and 70 °C. Finally, the methanolic fraction obtained was transferred to glass containers and dried in an oven (AR-130D, Arsa®, Mexico) for 72 h at 50 °C.

se realizó en el municipio de Escuinapa, Sinaloa, México. El muestreo aleatorio incluyó seis plantas provenientes de un invernadero de producción convencional de 1 ha con 25 000 plantas establecidas. Las muestras se colocaron en bolsas de plástico y se transportaron en una hielera con hielo hasta el Laboratorio de Micología y Biotecnología del Departamento de Parasitología (LMBDP) de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), donde las muestras se procesaron de inmediato para el aislamiento del hongo mediante la técnica de punta de hifa.

La colonia pura obtenida se caracterizó morfológicamente con base en las claves taxonómicas de Leslie y Summerell (2006), identificándose como *Fusarium* sp. Posteriormente, la identificación molecular se realizó en el Laboratorio Nacional de Biotecnología Agrícola, Médica y Ambiental (LANBAMA) del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica (IPICYT). La extracción del ADN se realizó por el método CTAB descrito por Huang et al. (2018). La región ITS, comprendida entre las subunidades ribosomales 18S y 28S, se amplificó mediante PCR con los cebadores ITS1 e ITS4 (White et al., 1990). Los productos amplificados se secuenciaron por el método de terminación de cadena (Sanger), y las secuencias obtenidas se compararon con las disponibles en la base de datos del GenBank para confirmar la identidad del aislado.

Recolecta de las plantas

Las plantas de *A. striata* y *F. splendens* se recolectaron en el municipio de General Cepeda, Coahuila, México (25° 20' 27.13" N y 101° 27' 52.07" O, a 1531 m s. n. m.) durante agosto de 2023, en la temporada de sequía. Se seleccionó un ejemplar adulto fisiológicamente maduro por cada especie. La recolecta se realizó durante la mañana, y se consideraron criterios de selección que incluyeron el desarrollo vegetativo óptimo y la ausencia de daños o síntomas de enfermedad (Ghimire et al., 2019). Las muestras se trasladaron al LMBDP de la UAAAN para su posterior procesamiento.

Preparación de los extractos

Los extractos se obtuvieron de acuerdo con la metodología de Jasso-de Rodríguez et al. (2015), con algunas modificaciones. Primero, se molieron y tamizaron las hojas de *A. striata* y los tallos de *F. splendens* para obtener un polvo con partículas de 0.5 a 1 mm. Se pesaron 42 g del material pulverizado, se colocaron en matraces de 500 mL y se agregaron 375 mL de metanol al 96 % en cada matraz. Los matraces se colocaron en una parrilla de agitación (Cimarec, Thermo Scientific, EUA) durante 72 h a 60 °C. Después, el metanol se eliminó mediante rotaevaporación (IKA RV 10, Artisan®, EUA) a 150 rpm y 70 °C. Finalmente, la fracción metanólica obtenida se vertió en recipientes de vidrio

Antifungal activity of the extracts against *Fusarium oxysporum*

Antifungal activity was evaluated using the microdilution technique described by Tucuch-Pérez et al. (2020). Polystyrene 96-well plates were prepared by adding 110 µL of Sabouraud liquid medium and 40 µL of 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride to each well. The first column served as the negative control. Starting with the second column (positive control), 10 µL of a *F. oxysporum* spore suspension (1×10^6 conidia·mL⁻¹) was added to each well in addition to the previously described components. From the third column onward, each well received treatments with plant extracts at concentrations ranging from 3.9 to 2000 mg·mL⁻¹.

The microplates were incubated at 28 ± 2 °C for 72 h. Subsequently, absorbance was measured at 490 using a spectrophotometer (Go 51119200, Thermo Scientific Multiskan, USA). The experiment was conducted under a completely randomized design with three replicates (one microplate per replicate). The percentage of inhibition was calculated using the formula proposed by Moreno-Limón et al. (2011):

$$\text{Percentage of inhibition} = \left(\frac{A - B}{C} \right) \times 100$$

where *A* is the absorbance of the treatment, *B* is the absorbance of the negative control, and *C* is the absorbance of the positive control.

Effect of extracts on the cellular structures of *Fusarium oxysporum*

The effects of *A. striata* and *F. splendens* extracts on the cellular structures of *F. oxysporum* were evaluated following the methodology of Khalili et al. (2023), with minor modifications. A suspension of 50 µL *F. oxysporum* (1×10^6 conidia·mL⁻¹) was mixed with a 1:1 (v/v) solution of Sabouraud medium and the extract, using the previously determined 90 % inhibitory concentrations (IC₉₀) of *A. striata* (310.91 mg·L⁻¹) and *F. splendens* (233.89 mg·L⁻¹), these concentrations were previously determined through *in vitro* to ensure an effective antifungal effect and to evaluate the cellular changes induced in the pathogen. A negative control without extract addition was included. Cultures were incubated at 25 ± 2 °C and 150 rpm for 7 days. Morphological changes were examined using light microscopy at 40× and 100×. Each treatment was performed in triplicate.

In vivo evaluation of the biological effectiveness of the extracts

The *in vivo* assay was conducted in a greenhouse at the Department of Parasitology at UAAAN (25° 21' 08.01" N and 101° 01' 38.00" W), in Saltillo, Coahuila, Mexico, during the spring-summer cycle of 2023. During the

y se secó en una estufa (AR-130D, Arsa®, México) a 50 °C durante 72 h.

Actividad antifúngica de los extractos sobre *Fusarium oxysporum*

La actividad antifúngica se evaluó mediante la técnica de microdilución descrita por Tucuch-Pérez et al. (2020). Se utilizaron placas de poliestireno de 96 pozos, en las que se adicionaron 110 µL de medio líquido Sabouraud y 40 µL de cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio. La primera columna correspondió al testigo negativo y, a partir de la segunda columna (testigo positivo), además de lo anterior se incorporaron 10 µL de una suspensión de esporas de *F. oxysporum* (1×10^6 conidios·mL⁻¹). Después de la tercera columna, se aplicaron los tratamientos con extractos vegetales en concentraciones de 3.9 a 2000 mg·mL⁻¹.

Las microplacas se incubaron a 28 ± 2 °C durante 72 h y, posteriormente, se midió la absorbancia a 490 nm en un espectrofotómetro (Go 51119200, Thermo Scientific Multiskan, EUA). El experimento se estableció bajo un diseño completamente al azar con tres repeticiones (una microplaca por repetición). El porcentaje de inhibición se calculó con la fórmula propuesta por Moreno-Limón et al. (2011):

$$\text{Porcentaje de inhibición} = \left(\frac{A - B}{C} \right) \times 100$$

donde *A* es la absorbancia del tratamiento, *B* es la absorbancia del testigo negativo y *C* es la absorbancia del testigo positivo.

Efecto de los extractos sobre las estructuras celulares de *Fusarium oxysporum*

El efecto de los extractos de *A. striata* y *F. splendens* sobre las estructuras celulares de *F. oxysporum* se evaluó según la metodología de Khalili et al. (2023), con algunas modificaciones. Se mezclaron 50 µL de una suspensión de *F. oxysporum* (1×10^6 conidios·mL⁻¹) con una solución 1:1 (v/v) de medio Sabouraud y extracto, con las concentraciones inhibitorias al 90 % (CI₉₀) de *A. striata* (310.91 mg·L⁻¹) y *F. splendens* (233.89 mg·L⁻¹) obtenidas previamente mediante bioensayos *in vitro* para asegurar un efecto antifúngico eficaz y evaluar los cambios celulares inducidos en el patógeno. Se incluyó un control negativo sin la adición de extractos. Los cultivos se incubaron a 25 ± 2 °C y 150 rpm por 7 días. Los cambios morfológicos se analizaron mediante microscopía óptica (40× y 100×). Cada tratamiento se realizó por triplicado.

Evaluación *in vivo* de la efectividad biológica de los extractos

El ensayo *in vivo* se llevó a cabo en un invernadero del Departamento de Parasitología de la UAAAN (25° 21' 08.01" N y 101° 01' 38.00" O), en Saltillo, Coahuila,

bioassay, the average room temperature was 23 ± 5 °C and the relative humidity was 60 ± 7 %, both recorded using a digital thermos-hygrometer (model 445815, Extech, USA).

Transplanting and inoculation

Seeds of serrano pepper, variety Tampiqueño 74 were used. Germination was carried out in Styrofoam trays with peat moss as the substrate. Two weeks later, the seedlings were transplanted into 2-L pots containing a substrate composed of 45 % pasteurized soil, 45 % peat moss and 10 % perlite. Inoculation was performed following the methodology of Silva-Lima et al. (2019), with minor modifications. The apical roots were cut transversely and submerged in a *F. oxysporum* suspension (1×10^6 conidia·mL⁻¹) for 5 min; later, the seedlings were transplanted into plastic bags. Plants were maintained at 60 ± 7 % relative humidity, fertilized with Steiner solution for solanaceous crops and irrigated with tap water.

Treatment application

The treatments were arranged in a completely randomized block design with four replicates. The treatments were as follows: T1) positive control inoculated with *F. oxysporum* without treatment, T2) negative control, neither inoculated nor treated, T3) *A. striata* leaf extract (310.91 mg·L⁻¹) and T4) *F. splendens* stem extract (233.89 mg·L⁻¹). Extracts were applied based on the previously determined IC₉₀ from *in vitro* bioassays, using both drench and foliar applications every seven days for six weeks.

Variables studied

The variables evaluated included disease incidence and severity, as well as plant morphometric parameters, such as fresh and dry biomass of shoots and roots, plant height, root length, stem diameter, and relative chlorophyll index (measured with SPAD meter), in addition to fruit weight, number, and size. Disease incidence was calculated as the percentage of plants showing visible wilt symptoms relative to the total number of plants evaluated, using the following formula:

$$\text{Incidence} = \frac{\text{Number of infected plants}}{\text{Total plants}} \times 100$$

Severity, defined as the degree or intensity of damage caused by the disease in each plant, was assessed according to the scale of Velarde-Félix et al. (2018), with some modification: 0 = plant without symptoms 1=mild necrosis in the xylem without foliar symptoms, 2 = slight leaf yellowing and xylem necrosis extending to the cotyledons, 3 = stunted plant with

México, durante el ciclo primavera-verano de 2023. En el bioensayo, la temperatura ambiental promedio fue de 23 ± 5 °C y la humedad relativa de 60 ± 7 %, ambas registradas con un termohigrómetro digital (modelo 445815, Extech, EUA).

Trasplante e inoculación

Se utilizaron semillas de chile serrano variedad Tampiqueño 74. La germinación se realizó en charolas de unisel con turba (*peat moss*) como sustrato. A las dos semanas, las plántulas se trasplantaron a macetas de 2 L que contenían un sustrato compuesto por 45 % de suelo pasteurizado, 45 % de *peat moss* y 10 % de perlita. La inoculación se realizó según la metodología de Silva-Lima et al. (2019), con algunas modificaciones. Las raíces apicales se cortaron transversalmente y se sumergieron en una suspensión de *F. oxysporum* (1×10^6 conidios·mL⁻¹) por 5 min; posteriormente, se trasplantaron a bolsas de plástico. Las plantas se mantuvieron a 60 ± 7 % de humedad relativa, se fertilizaron con una solución de Steiner para solanáceas y se regaron con agua corriente.

Aplicación de los tratamientos

Los tratamientos se establecieron bajo un diseño de bloques completamente al azar con cuatro repeticiones. Los tratamientos fueron: T1) control positivo inoculado con *F. oxysporum* sin tratamiento, T2) control negativo sin inoculación ni tratamiento, T3) extracto de hojas de *A. striata* (310.91 mg·L⁻¹) y T4) extracto de tallos de *F. splendens* (233.89 mg·L⁻¹). Los extractos se aplicaron con base en la CI₉₀ obtenida en los bioensayos *in vitro*, mediante aplicaciones tipo *drench* y foliares cada siete días durante seis semanas.

Variables evaluadas

Las variables evaluadas fueron la incidencia, la severidad y los parámetros morfométricos de las plantas, incluidos el peso fresco y seco de la biomasa aérea y radicular, la altura, la longitud de la raíz, el diámetro del tallo, el índice relativo de clorofila (medido con un SPAD), así como el peso, el número y el tamaño de los frutos. La incidencia se calculó como el porcentaje de plantas con síntomas visibles de marchitez respecto al total evaluado mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Incidencia} = \frac{\text{Número de plantas enfermas}}{\text{Total de plantas}} \times 100$$

La severidad, referida al grado o intensidad del daño causado por la enfermedad en cada planta, se evaluó de acuerdo con la escala de Velarde-Félix et al. (2018), con algunas modificaciones: 0 = planta sin síntomas, 1 = necrosis leve en xilema sin síntomas foliares, 2 = amarillamiento leve de hojas y necrosis del

severe yellowing and necrosis above the cotyledons, 4 = dead plant.

Statistical analysis

The 50 and 90 % inhibitory concentrations (IC_{50} and IC_{90}) in the *in vitro* assays were determined by probit analysis. For the *in vivo* assays, data were subjected to ANOVA and mean comparisons using Tukey's test ($\alpha = 0.05$). All analyses were performed using SAS software, version 9.0 (SAS Institute, 2000).

Results and discussion

Isolation and identification of *Fusarium oxysporum*

F. oxysporum was isolated and identified based on its distinctive characteristics, including the presence of macroconidia, microconidia, and chlamydospores (Leslie and Summerell, 2006). Molecular identification confirmed its identity as *F. oxysporum*, showing 100 % coverage and similarity with GenBank accession numbers MT530269.1 and MT530243.1. The obtained sequence was deposited in GenBank under accession number PQ571194.

Antifungal effectiveness of the extracts against *Fusarium oxysporum*

The methanolic extracts from *A. striata* leaves and *F. splendens* stems showed significant antifungal activity against *F. oxysporum*, completely inhibiting mycelial growth at concentrations of 1000 and 250 $mg \cdot L^{-1}$, respectively (Figure 1). The IC_{50} and IC_{90} values were 81.83 and 310.91 $mg \cdot L^{-1}$ for *A. striata*, and 71.97 and 233.89 $mg \cdot L^{-1}$ for *F. splendens* (Table 1).

No specific studies have been reported on the antifungal activity of *A. striata* and *F. splendens* against *F. oxysporum*. However, extracts from other species of the genus *Agave* have demonstrated the ability to inhibit *Fusarium* spp. (Almazán-Morales et al., 2022; Silva et al., 2022). Additionally, other plants from the Chihuahuan Desert, such as *Larrea tridentata*, have shown antifungal activity against *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, with 63.2 % inhibition at a concentration of 1000 $mg \cdot L^{-1}$ (Lira-Saldivar et al., 2006). Ruiz-Bustos et al. (2009) reported 42 % inhibition against *F. verticillioides* using 500 $\mu g \cdot mL^{-1}$ of methanolic extracts from *Jatropha cuneata*.

Jasso-de Rodríguez et al. (2007) reported 100 % inhibition of *F. oxysporum* using leaf extracts of *Flourensia cernua*, *F. retinophylla* and *F. microphylla* at concentrations of 1500 $\mu L \cdot L^{-1}$. Peñuelas-Rubio et al. (2017) documented complete inhibition of mycelial growth in *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* when applying 1000 $mg \cdot L^{-1}$ of L.

xilema hasta los cotiledones, 3 = planta atrofiada con amarillamiento severo y necrosis por encima de los cotiledones, 4 = planta muerta.

Análisis estadístico

Las concentraciones inhibitorias al 50 y 90 % (CI_{50} y CI_{90}) en los ensayos *in vitro* se determinaron mediante un análisis probit. En los ensayos *in vivo*, los datos se sometieron a análisis de varianza y comparación de medias de Tukey ($\alpha = 0.05$). Todos los análisis se realizaron con el programa estadístico SAS ver. 9.0 (SAS Institute, 2000).

Resultados y discusión

Aislamiento e identificación de *Fusarium oxysporum*

El hongo *F. oxysporum* se aisló y se identificó mediante sus características distintivas, como la presencia de macroconidios, microconidios y clamidosporas (Leslie y Summerell, 2006). La identificación molecular confirmó su correspondencia con *F. oxysporum*, al mostrar un 100 % de cobertura y similitud con los números de acceso MT530269.1 y MT530243.1 del GenBank. La secuencia obtenida se depositó en el GenBank con el número de acceso PQ571194.

Efectividad antifúngica de los extractos sobre *Fusarium oxysporum*

Los extractos metanólicos de hojas de *A. striata* y tallos de *F. splendens* mostraron actividad antifúngica significativa contra *F. oxysporum*, al inhibir el 100 % del crecimiento micelial a concentraciones de 1000 y 250 $mg \cdot L^{-1}$, respectivamente (Figura 1). Por otro lado, las CI_{50} y CI_{90} fueron de 81.83 y 310.91 $mg \cdot L^{-1}$ para *A. striata*, y de 71.97 y 233.89 $mg \cdot L^{-1}$ para *F. splendens* (Cuadro 1).

No se han reportado estudios específicos sobre la actividad antifúngica de *A. striata* y *F. splendens* sobre *F. oxysporum*. No obstante, extractos de otras especies del género *Agave* han demostrado su capacidad para inhibir *Fusarium* spp. (Almazán-Morales et al., 2022; Silva et al., 2022). Además, otras plantas del Desierto Chihuahuense, como *Larrea tridentata*, han mostrado actividad antifúngica contra *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, con una inhibición de 63.2 % al aplicar 1000 $mg \cdot L^{-1}$ (Lira-Saldivar et al., 2006). De forma similar, Ruiz-Bustos et al. (2009) registraron una inhibición de 42 % contra *F. verticillioides* al utilizar 500 $\mu g \cdot mL^{-1}$ de extractos metanólicos de *Jatropha cuneata*.

Por su parte, Jasso-de Rodríguez et al. (2007) reportaron inhibiciones del 100 % en *F. oxysporum* con extractos de hojas de *Flourensia cernua*, *F. retinophylla* y *F. microphylla* a concentraciones de 1500 $\mu L \cdot L^{-1}$. Peñuelas-Rubio et

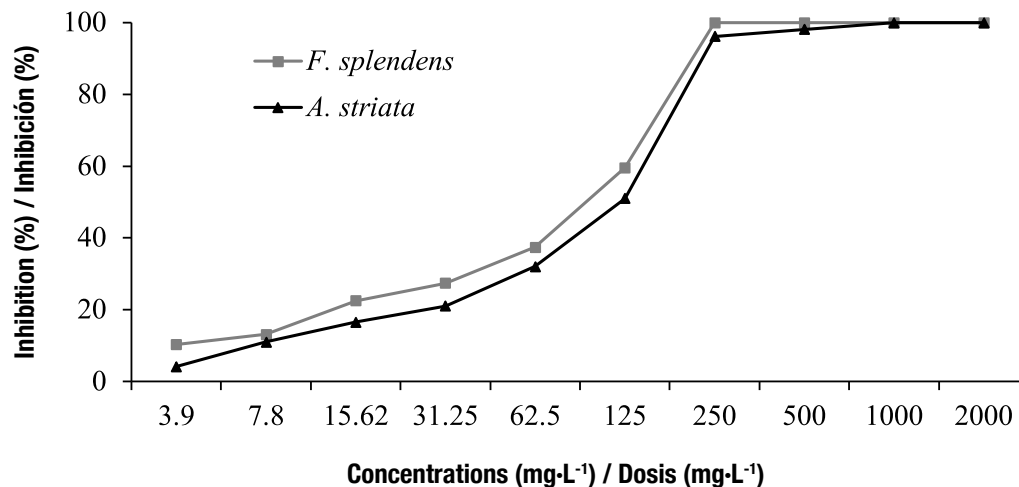


Figure 1. Inhibitory effect of different concentrations of methanolic extracts from *Agave striata* and *Fouquieria splendens* on *Fusarium oxysporum* growth, assessed by microdilution.

Figura 1. Efecto inhibitorio de diferentes concentraciones de extractos metanólicos de *Agave striata* y *Fouquieria splendens* sobre el crecimiento de *Fusarium oxysporum*, determinado por el método de microdilución.

Table 1. Inhibitory concentrations at 50 and 90 % (IC₅₀ and IC₉₀, respectively) of *Agave striata* and *Fouquieria splendens* against *Fusarium oxysporum* in vitro.

Cuadro 1. Concentraciones inhibitorias al 50 y 90 % (CI₅₀ y CI₉₀, respectivamente) de los extractos de *Agave striata* y *Fouquieria splendens* sobre *Fusarium oxysporum* en condiciones in vitro.

Extracts / Extractos	IC ₅₀ (mg·L ⁻¹) / CI ₅₀ (mg·L ⁻¹)	IC ₉₀ (mg·L ⁻¹) / CI ₉₀ (mg·L ⁻¹)
<i>Agave striata</i>	81.83 a	310.91 a
<i>Fouquieria splendens</i>	71.97 a	233.89 b

Values followed by the same letter in each column are not significantly different (Tukey, $p > 0.05$).

Valores seguidos de letras iguales dentro de cada columna no difieren estadísticamente (Tukey, $p > 0.05$).

tridentata extracts. Tucuch-Pérez et al. (2020) observed that extracts from *Lippia graveolens*, *Carya illinoensis* and *A. lechuguilla* inhibited *F. oxysporum* growth by 40 and 100 %. In that study, root extracts of *A. lechuguilla* achieved total inhibition starting from 250 mg·L⁻¹, a value comparable to that obtained with *F. splendens* in the present study, but lower than that observed for *A. striata*.

Cellular structural changes in *Fusarium oxysporum* caused by the extracts

Both extracts caused morphological alterations in the cellular structures of *F. oxysporum*, evidenced by cytoplasmic vacuolization and structural disorganization in conidia and mycelium (Figure 2). In the negative control, hyphae and conidia maintained their integrity and germinated normally. These effects were observed at the CI₉₀ of each extract (310.91 mg·L⁻¹ for *A. striata* and 233.89 mg·L⁻¹ for *F. splendens*).

The observed antifungal activity may be associated with the presence of compounds with known antifungal

al. (2017) evidenciaron la inhibición completa del crecimiento micelial de *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* al aplicar 1000 mg·L⁻¹ de extractos de *L. tridentata*. Tucuch-Pérez et al. (2020) observaron que los extractos de *Lippia graveolens*, *Carya illinoensis* y *A. lechuguilla* inhiben entre el 40 y 100 % el crecimiento de *F. oxysporum*. En dicho estudio, los extractos de raíces de *A. lechuguilla* alcanzaron una inhibición total a partir de 250 mg·L⁻¹, valor comparable al obtenido con *F. splendens* en el presente trabajo, pero inferior al observado para *A. striata*.

Efecto de los extractos sobre las estructuras celulares de *Fusarium oxysporum*

Ambos extractos generaron alteraciones morfológicas sobre las estructuras celulares de *F. oxysporum*, evidenciadas por vacuolización citoplasmática y desorganización estructural en conidios y micelio (Figura 2). En el control absoluto, las hifas y conidios conservaron su integridad y germinaron normalmente. Estos efectos se observaron con las CI₉₀ de cada extracto (310.91 mg·L⁻¹ para *A. striata* y 233.89 mg·L⁻¹ para *F. splendens*).



Figure 2. Effect of the methanolic extracts on the mycelium and conidia of *Fusarium oxysporum*: A and B) negative control; C and E) *Fouquieria splendens*; D and F) *Agave striata*. Images obtained with 40× and 100× objectives. Scale bars: A, B, C, D = 50 µm; E and F = 20 µm.

Figura 2. Efecto de los extractos metanólicos sobre el micelio y los conidios de *Fusarium oxysporum*: A y B) control absoluto; C y E) *Fouquieria splendens*; D y F) *Agave striata*. Imágenes obtenidas con objetivos de 40× y 100×. Barras de escala: A, B, C, D = 50 µm; E y F = 20 µm.

properties previously identified in both extracts, such as quercetin in *A. striata* and *F. splendens*, pinocembrin in *A. striata* and kaempferol in *F. splendens* (Ramírez-Méndez et al., 2024). Phenolic compounds have also been shown to induce structural alterations in fungal cells, including collapse and contraction (Hong-Sheng et al., 2014). Similarly, Khalili et al. (2023) and Mohamed et al. (2017) reported that extracts of *Pulicaria incisa* and *P. crista*, which are rich in polyphenolic compounds, caused cytoplasmic vacuolization, autophagosome formation, and damage to essential cellular organelles in *F. oxysporum* and *F. solani*.

These findings are consistent with the results obtained in this study, where extracts of *A. striata* and *F. splendens* also caused structural damage in *F. oxysporum*. This suggests a common antifungal mechanism of action based on the induction of cellular damage, which reinforces evidence supporting the effectiveness of the bioactive compounds present in both species for the control of phytopathogenic fungi.

In vivo biological activity of the extracts against *Fusarium oxysporum*

The results for disease incidence and severity in pepper plants inoculated with *F. oxysporum* are presented in Table 2. The positive control showed 100 % incidence and the highest severity (2.78). In contrast, plants treated with the *A. striata* exhibited 33 % incidence and a severity of 0.77, while those treated with *F. splendens* and the negative control showed no disease symptoms, with no statistical differences between these two treatments.

La actividad antifúngica observada podría estar asociada con la presencia de compuestos con propiedades antifúngicas previamente identificados en ambos extractos, como la quercetina en *A. striata* y *F. splendens*, la pinocembrina en *A. striata* y el kaempferol en *F. splendens* (Ramírez-Méndez et al., 2024). Asimismo, se ha documentado que los compuestos fenólicos inducen alteraciones estructurales en las células fúngicas, incluyendo colapso y contracción celular (Hong-Sheng et al., 2014). De igual manera, Khalili et al. (2023) y Mohamed et al. (2017) reportaron que los extractos de *Pulicaria incisa* y *P. crista*, ricos en compuestos polifenólicos, provocaron vacuolización citoplasmática, formación de autofagosomas y daños en orgánulos celulares esenciales en *F. oxysporum* y *F. solani*.

Dichos hallazgos coinciden con los resultados obtenidos en este estudio, donde los extractos de *A. striata* y *F. splendens* también provocaron daños estructurales en *F. oxysporum*. Esto sugiere un mecanismo común de acción antifúngica basado en la inducción de daño celular, lo cual fortalece la evidencia sobre la eficacia de los compuestos bioactivos presentes en ambas especies evaluadas para el control de hongos fitopatógenos.

Actividad biológica in vivo de los extractos contra *Fusarium oxysporum*

Los resultados de la incidencia y severidad de la marchitez en plantas de chile inoculadas con *F. oxysporum* se presentan en el Cuadro 2. El control positivo mostró una incidencia del 100 % y la mayor severidad (2.78). En contraste, las plantas tratadas con el extracto de *A. striata* presentaron una incidencia del

Table 2. Incidence and severity of serrano pepper plants inoculated with *Fusarium oxysporum* and treated with extracts of *Agave striata* and *Fouquieria splendens*.

Cuadro 2. Incidencia y severidad de plantas de chile serrano inoculadas con *Fusarium oxysporum* y tratadas con extractos de *Agave striata* y *Fouquieria splendens*.

Treatments / Tratamientos	Severity / Severidad	Incidence / Incidencia
	Scale / Escala	Infected plants (%) / Plantas enfermas (%)
Positive control / Control positivo	2.78 ± 0.39 a	100 a
Negative control / Control negativo	0.00 ± 0.00 c	0 b
<i>Agave striata</i> extract / Extracto de <i>Agave striata</i>	0.77 ± 0.24 b	33.33 ab
<i>Fouquieria splendens</i> extract / Extracto de <i>Fouquieria splendens</i>	0.00 ± 0.00 c	0 b

Mean ± standard deviation. Values followed by the same letter in each column are not significantly different (Tukey, $p > 0.05$).

Media ± desviación estándar. Valores seguidos de letras iguales dentro de cada columna no difieren estadísticamente (Tukey, $p > 0.05$).

Regarding the morphometric parameters (Table 3), the *F. splendens* extract induced the highest relative chlorophyll index in the foliage (40.27 ± 0.9 SPAD units), followed by the negative control (38.47 ± 1.21 SPAD units), with no significant differences ($p > 0.05$). Additionally, the foliage of plants treated with *F. splendens* had a fresh weight of 4.38 ± 0.23 g and a dry weight of 1.26 ± 0.06 g, placing them in an intermediate range compared to both controls. Meanwhile, *A. striata* showed values for most parameters, with a stem length of 28.50 ± 3.56 cm and a foliage fresh weight of 3.46 ± 0.87 g.

Regarding fruit production (Table 4), the negative control had the best results, with an average of 2.33 ± 0.13 fruits per plant, a total weight of 6.70 ± 2.05 g and a size of 5.83 ± 0.57 cm. These values were statistically similar to those obtained with the *F. splendens* treatment, which produced an average of 1.33 ± 0.58 fruits per plant, weighing 5.23 ± 1.41 g, with a length of 4.78 ± 1.58 cm. In contrast, *A. striata* and the positive control did not produce fruit, suggesting a possible phytotoxic effect of the extract on fruiting. Although there are no previous reports of negative effects of plant extracts on the reproductive phase of chili, it has been documented that certain secondary metabolites can affect seed germination and seedling growth (Céspedes et al., 2006), which could potentially extend to later phenological stages.

Several studies have demonstrated the effectiveness of plant extracts in controlling *F. oxysporum* under greenhouse conditions. Bowers and Locke (2000) reported reductions of up to 99.9 % in pathogen populations and achieved 80 to 100 % healthy plants under greenhouse conditions by applying 10 % extracts of pepper/mustard, cassia, and clove. Similarly, Tucuch-Pérez et al. (2021) evaluated plant extracts of *A. lechuguilla* ($250 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) and *L. graveolens* ($125 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) for the control of *F. oxysporum* in tomato and observed reductions in disease incidence and severity, in addition

33 % y severidad de 0.77, mientras que las tratadas con *F. splendens* y el control negativo no mostraron síntomas de enfermedad, sin diferencias estadísticas entre ambos tratamientos.

En cuanto a los parámetros morfométricos (Cuadro 3), el extracto de *F. splendens* indujo el mayor índice relativo de clorofila en el follaje (40.27 ± 0.9 unidades SPAD), seguido del control negativo (38.47 ± 1.21 unidades SPAD), sin diferencias significativas ($p > 0.05$). Asimismo, el follaje de las plantas tratadas con *F. splendens* presentó un peso fresco de 4.38 ± 0.23 g y un peso seco de 1.26 ± 0.06 g, ubicándose en un rango medio con respecto a ambos controles. Por su parte, *A. striata* mostró valores similares en la mayoría de los parámetros, con una longitud de tallo de 28.50 ± 3.56 cm y peso fresco de follaje de 3.46 ± 0.87 g.

Respecto a la producción de frutos (Cuadro 4), el control negativo presentó los mejores resultados, con un promedio de 2.33 ± 0.13 frutos por planta, peso total de 6.70 ± 2.05 g y tamaño de 5.83 ± 0.57 cm. Estos valores fueron estadísticamente similares a los obtenidos con el tratamiento de *F. splendens*, el cual produjo en promedio 1.33 ± 0.58 frutos con un peso de 5.23 ± 1.41 g y longitud de 4.78 ± 1.58 cm. En contraste, *A. striata* y el control positivo no produjeron frutos, lo que sugiere un posible efecto fitotóxico del extracto sobre la fructificación. Aunque no existen reportes previos sobre efectos negativos de extractos vegetales en la fase reproductiva del chile, se ha documentado que ciertos metabolitos secundarios pueden afectar la germinación y el crecimiento de plántulas (Céspedes et al., 2006), lo cual se podría extenderse a etapas fenológicas posteriores.

Diversos estudios han demostrado la efectividad de extractos vegetales en el control de *F. oxysporum* bajo condiciones de invernadero. Bowers y Locke (2000) reportaron reducciones de hasta 99.9 % en la población del patógeno y obtuvieron entre 80 y 100 % de plantas

Table 3. Morphometric parameters of serrano pepper plants inoculated with *Fusarium oxysporum* and treated with *Agave striata* and *Fouquieria splendens* under greenhouse conditions.

Cuadro 3. Parámetros morfométricos en plantas de chile serrano inoculadas con *Fusarium oxysporum* y tratadas con extractos de *Agave striata* y *Fouquieria splendens* bajo condiciones de invernadero.

Treatments/ Tratamientos	ST (cm)/ LT (cm)	RL (cm)/ LR (cm)	SD (mm)/ DT (mm)	FFW (g)/ PFF (g)	DFW (g)/ PSF (g)	FRW (g)/ PFR (g)	DRW (g)/ PSR (g)	C (índice SPAD)/ C (índice SPAD)
Positive control/ Control positivo	17.07 ± 1.12 b	17.12 ± 2.3 c	3.17 ± 0.28 b	1.59 ± 0.21 c	0.36 ± 0.05 e	0.59 ± 0.09 f	0.17 ± 0.03 e	29.23 ± 2.01 c
Negative control/ Control negativo	32.67 ± 2.12 a	33.93 ± 2.8 a	4.75 ± 0.32 a	5.22 ± 0.48 a	1.91 ± 0.17 a	4.98 ± 0.52 a	0.87 ± 0.07 a	38.47 ± 3.20 ab
<i>Agave striata</i> extract/ Extracto de <i>Agave striata</i>	28.50 ± 2.45 a	23.80 ± 2.1 b	3.84 ± 0.3 ab	3.46 ± 0.37 b	0.75 ± 0.09 b	1.64 ± 0.21 e	0.44 ± 0.06 cd	37.50 ± 2.85 ab
<i>Fouquieria splendens</i> extract/ Extracto de <i>Fouquieria splendens</i>	30.80 ± 2.76 a	27.17 ± 2.6 b	4.49 ± 0.34 a	4.38 ± 0.4 ab	1.26 ± 0.13 b	3.54 ± 0.33 b	0.64 ± 0.05 b	40.27 ± 3.10 a

SL: stem length; RL: root length; SD: stem diameter; FFW: fresh foliage weight; DFW: dry foliage weight; FRW: fresh root weight; DRW: dry root weight; C: leaf chlorophyll content. Mean ± standard deviation. Values followed by the same letter in each column are not significantly different (Tukey, $p > 0.05$).
LT: longitud de tallo; LR: longitud de raíz; DT: diámetro de tallo; PFF: peso fresco del follaje; PSF: peso seco del follaje; PFR: peso fresco del sistema radicular; PSR: peso seco del sistema radicular; C: clorofila en follaje. Media ± desviación estándar. Valores seguidos de letras iguales dentro de cada columna no difieren estadísticamente (Tukey, $p > 0.05$).

Table 4. Fruit parameters of serrano pepper plants inoculated with *Fusarium oxysporum* and treated with *Agave striata* and *Fouquieria splendens* under greenhouse conditions.

Cuadro 4. Parámetros de frutos en plantas de chile serrano inoculadas con *Fusarium oxysporum* y tratadas con extractos de *Agave striata* y *Fouquieria splendens* bajo condiciones de invernadero.

Treatments/ Tratamientos	Number of fruits/ Número de frutos	Fruit weight (g)/ Peso de frutos (g)	Fruit size (cm)/ Tamaño de frutos (cm)
Positive control/ Control positivo	0.00 ± 0.0 b	0.00 ± 0.0 b	0.00 ± 0.0 b
Negative control/ Control negativo	2.33 ± 0.58 a	6.70 ± 0.73 a	5.83 ± 0.54 a
<i>Agave striata</i> extract/ Extracto de <i>Agave striata</i>	0.00 ± 0.0 b	0.00 ± 0.0 b	0.00 ± 0.0 b
<i>Fouquieria splendens</i> extract/ Extracto de <i>Fouquieria splendens</i>	1.33 ± 0.47 ab	5.23 ± 0.66 a	4.78 ± 0.49 ab

Mean ± standard deviation. Values followed by the same letter in each column are not significantly different (Tukey, $p > 0.05$).
Media ± desviación estándar. Valores seguidos de letras iguales dentro de cada columna no difieren estadísticamente (Tukey, $p > 0.05$).

to promoting the morphometric development of the plants. These findings are consistent with those of the present study, where the *F. splendens* extract showed antifungal efficacy and positive effect on plant growth.

Conclusions

The extracts of *A. striata* and *F. splendens* showed high antifungal effectiveness against *F. oxysporum* under *in vitro* conditions, supporting the proposed hypothesis regarding their efficacy. Microscopic analysis revealed that both extracts induce cytoplasmic vacuolization and structural disorganization in the pathogen’s mycelium and conidia. Under greenhouse conditions, the *F. splendens* extract provided complete protection, maintaining 100 % of the serrano pepper plants

sanas bajo condiciones de invernadero al aplicar extractos de pimienta/mostaza, casia y clavo al 10 %. De igual manera, Tucuch-Pérez et al. (2021) evaluaron extractos vegetales de *A. lechuguilla* (250 mg·L⁻¹) y *L. graveolens* (125 mg·L⁻¹) para el control de *F. oxysporum* en tomate y observaron reducciones en la incidencia y severidad de la enfermedad, además de favorecer el desarrollo morfométrico de las plantas. Estos hallazgos coinciden con los del presente estudio, donde el extracto de *F. splendens* presentó eficacia antifúngica y efectos positivos en el desarrollo de las plantas.

Conclusiones

Los extractos de *A. striata* y *F. splendens* mostraron una alta efectividad antifúngica contra *F. oxysporum*

symptom-free, while *A. striata* significantly decreased disease severity. Morphometric parameters indicated greater plant development in those treated with *F. splendens*. However, a decline in fruit production was observed in plants treated with *A. striata*, suggesting a possible phytotoxic effect. Therefore, further analysis is needed to assess its safety and determine optimal dosages that would allow sustainable application for the management of *F. oxysporum* in serrano pepper.

End of English version

References / Referencias

- Ahmad, N., Abbas, A., Shamsullah, S., Jabran, M., & Ali, M. A. (2023). *Fusarium* wilt disease of chili: pathogen, its mechanism of infection, eradication, and impacts. *Phytopathogenom Disease Control*, 2(2), 95-110. <https://doi.org/10.22194/Pdc/2.1024>
- Almazán-Morales, A., Moreno-Godínez, M. E., Hernández-Castro, E., Vázquez-Villamar, M., Mora-Aguilera, J. A., Cabrera-Huerta, E., & Álvarez-Fitz, P. (2022). Phytochemical profile and *in vitro* activity of *Agave angustifolia* and *A. cupreata* extracts against phytopathogenic fungi. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 40(2), 169-187. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.2202-6>
- Bowers, J. H., & Locke, J. C. (2000). Effect of botanical extracts on the population density of *Fusarium oxysporum* in soil and control of *Fusarium* wilt in the greenhouse. *Plant Disease*, 84(3), 300-305. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2000.84.3.300>
- Céspedes, C. L., Marín, J. C., Domínguez, M., Ávila, J. G., & Serrato, B. (2006). Plant growth inhibitory activities by secondary metabolites isolated from Latin American flora. *Advances in Phytomedicine*, 2, 373-410. [https://doi.org/10.1016/S1572-557X\(05\)02021-0](https://doi.org/10.1016/S1572-557X(05)02021-0)
- Ghimire, B. K., Seo, J. W., Kim, S. H., Ghimire, B., Lee, J. G., Yu, C. Y., & Chung, I. M. (2021). Influence of harvest time on phenolic and mineral profiles and their association with antioxidant and cytotoxic effects of *Atractylodes japonica* Koidz. *Agronomy*, 11(7), 1327. <https://doi.org/10.3390/agronomy11071327>
- Hong-Sheng, W., Xiao-Dong, Z., Xue, S., Ya-Dong, L., Ming-Yan, W., Xiao-Xia, S., Da-Lu, G., Wei-Zhong, W., & Chuan-Wan, W. (2014). *In vitro* responses of *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* to phenolic acids in decaying watermelon tissues. *Phytochemistry Letters*, 8, 171-178. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2013.08.013>
- Huang, X., Duan, N., Xu, H., Xie, T. N., Xue, Y. R., & Liu, C. H. (2018). CTAB-PEG DNA extraction from fungi with high contents of polysaccharides. *Molecular Biology*, 52(4), 621-628. <https://doi.org/10.1134/S0026893318040088>
- Hussain, S., Aslam, M. N., Mehmood, B., Zafat, L., Shafiq, S., Qureshi, F. F., Khan, Y. S., Ayub, M., & Mushtaq, S. (2023). Antimycotic properties of potentials botanical crude extracts and bio-control agent against *Fusarium* wilt of chili caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici*. *Journal of Agriculture and Veterinary Science*, 2(3), 213-221. <https://doi.org/10.55627/agrivet.002.03.0368>
- Jasso-de Rodríguez, D., Hernández-Castillo, F. D., Angulo-Sánchez, J. L., Rodríguez-García, R., Villarreal-Quintanilla, J. A., & Lira-

en condiciones *in vitro*, lo cual confirma la hipótesis planteada sobre su eficacia. El análisis microscópico reveló que ambos extractos inducen vacuolización citoplasmática y desorganización estructural en el micelio y los conidios del patógeno. En condiciones de invernadero, el extracto de *F. splendens* proporcionó una protección completa, al mantener el 100 % de las plantas de chile serrano libres de síntomas, mientras que *A. striata* redujo significativamente la severidad de la enfermedad. Los parámetros morfométricos evidenciaron un mayor desarrollo vegetal en las plantas tratadas con *F. splendens*. No obstante, se observó una disminución en la cantidad de frutos en las plantas tratadas con *A. striata*, lo que sugiere un posible efecto fitotóxico. Por ello, es necesario profundizar en la evaluación de su seguridad y en la determinación de dosis óptimas que permitan su aplicación sostenible en el manejo de *F. oxysporum* en chile serrano.

Fin de la versión en español

- Saldivar, R. H. (2007). Antifungal activity *in vitro* of *Flourensia* spp. extracts on *Alternaria* sp., *Rhizoctonia solani*, and *Fusarium oxysporum*. *Industrial Crops and Products*, 25(2), 111-116. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2006.08.007>
- Jasso-de Rodríguez, D., Trejo-González, F. A., Rodríguez-García, R., Díaz-Jiménez, M. L. V., Sáenz-Galindo, A., Hernández-Castillo, F. D., Villarreal-Quintanilla, J. A., & Peña-Ramos, F. M. (2015). Antifungal activity *in vitro* of *Rhus muelleri* against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Industrial Crops and Products*, 75, 150-158. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.05.048>
- Khalil, A. M., Saleh, A. M., Abo El-Souad, S. M., & Mohamed, M. S. (2023). Plants from a semi-arid environment as a source of phytochemicals against *Fusarium* crown and foot rot in zucchini. *AMB Express*, 13(6), 1-12. <https://doi.org/10.1186/s13568-023-01515-0>
- Leslie, J. F., & Summerell, B. A. (2006). *The Fusarium laboratory manual*. Blackwell Publishing. https://books.google.com.mx/books?hl=es&lr=&id=Yu3cBAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR3&ots=3M261GRlXv&sig=rV5rJNPkokevdsGguqqXmP0USYU&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false
- Lira-Saldivar, R. H., Hernández-Suárez, M., & Hernández-Castillo, F. D. (2006). Activity of *Larrea tridentata* (DC) Coville L. extracts and chitosan against fungi that affect horticultural crops. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 12(2), 211-216. <https://www.redalyc.org/pdf/609/60912212.pdf>
- Mohamed, M. S., Saleh, A. M., Abdel-Farid, I. B., & El-Naggar, S. A. (2017). Growth, hydrolases and ultrastructure of *Fusarium oxysporum* as affected by phenolic rich extracts from several xerophytic plants. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 141, 57-64. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2016.11.007>
- Moreno-Limón, S., González-Solís, L. N., Salcedo-Martínez, S. M., Cárdenas-Ávila, M. L., & Perales-Ramírez, A. (2011). Efecto antifúngico de extractos de gobernadora (*Larrea tridentata* L.) sobre la inhibición *in vitro* de *Aspergillus flavus* y *Penicillium*

- sp. *Polibotánica*, 32, 193-205. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-27682011000200012
- Peñuelas-Rubio, O., Arellano-Gil, M., Verdugo-Fuentes, A. A., Chaparro-Encinas, L. A., Hernández-Rodríguez, S. E., Martínez-Carrillo, J. L., & Vargas-Arispuro, I. D. C. (2017). *Larrea tridentata* extracts as an ecological strategy against *Fusarium oxysporum* *radicis-lycopersici* in tomato plants under greenhouse conditions. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 35(3), 360-376. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1703-3>
- Ramírez-Méndez, J. E., Hernández-Castillo, F. D., Gallegos-Morales, G., Jasso-Cantú, D., Arredondo-Valdés, R., & Tucuch-Pérez, M. A. (2024). Efectividad biológica de extractos de *Agave striata* y *Fouquieria splendens* sobre *Pythium aphanidermatum* y *Rhizoctonia solani* *in vitro*. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 42(4), 40. <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2024-23>
- Rodríguez-Guadarrama, A. H., Guevara-González, R. G., de Jesús, R. G. S., & Feregrino-Pérez, A. A. (2018). Antifungal activity of Mexican endemic plants on agricultural phytopathogens: a review. *XIV International Engineering Congress (CONIIN)*, 1-11. <https://doi.org/10.1109/CONIIN.2018.8489793>
- Ruiz-Bustos, E., Velazquez, C., Garibay-Escobar, A., García, Z., Plascencia-Jatomea, M., Cortez-Rocha, M. O., Hernández-Martínez, J., & Robles-Zepeda, R. E. (2009). Antibacterial and antifungal activities of some Mexican medicinal plants. *Journal of Medicinal Food*, 12(6), 1398-1402. <https://doi.org/10.1089/jmf.2008.0205>
- SAS Institute (2000). *SAS/STAT® version 9.0 user's guide* [software]. SAS Institute Inc.
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (2024). *Cierre de la producción agrícola*. SIAP. https://nube.agricultura.gob.mx/cierre_agricola/
- Shaheen, N., Khan, U. M., Azhar, M. T., Tan, D. K., Atif, R. M., Israr, M., Yang, S. H., Gyuhwa, C. & Rana, I. A. (2021). Genetics and genomics of *Fusarium* wilt of chilies: A review. *Agronomy*, 11(11), 2162. <https://doi.org/10.3390/agronomy11112162>
- Silva, A. R., Kettner, M. G., Lima, M. L., Oliveira, L. G., Araujo, E. R., & Costa, A. F. (2022). Controle alternativo de *Fusarium oxysporum* com a utilização de extratos vegetais. *Pesquisa Agropecuária Pernambucana*, 27(1), 1-6. <https://doi.org/10.12661/pap.2021.007>
- Silva-Lima, L. K., de Jesús, O. N., Soares, T. L., Santos-de Oliveira, S. A., Haddad, F., & Girardi, E. A. (2019). Water deficit increases the susceptibility of yellow passion fruit seedlings to *Fusarium* wilt in controlled conditions. *Scientia Horticulturae*, 243, 609-621. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.09.017>
- Tucuch-Pérez, M. A., Arredondo-Valdés, R. & Hernández-Castillo, F. D. (2020). Antifungal activity of phytochemical compounds of extracts from Mexican semi-desert plants against *Fusarium oxysporum* from tomato by microdilution in plate method. *Nova Scientia*, 12(25), 1-19. <https://doi.org/10.21640/ns.v12i25.2345>
- Tucuch-Pérez, M. A., Bojórquez-Vega, J. J., Arredondo-Valdés, R., Hernández-Castillo, F. D., & Anguiano-Cabello, J. C. (2021). Actividad biológica de extractos vegetales del semidesierto mexicano para manejo de *Fusarium oxysporum* de tomate. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 8(2), e2745. <https://doi.org/10.19136/era.a8n2.2745>
- Velarde-Félix, S., Garzón-Tiznado, J. A., Hernández-Verdugo, S., López-Orona, C. A., & Retes-Manjarrez, J. E. (2018). Aparición de *Fusarium oxysporum* causante de marchitez en pimiento en México. *Revista Canadiense de Patología Vegetal*, 40(2), 238-247. <https://doi.org/10.1080/07060661.2017.1420693>
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S., & Taylor, J. (1990). *Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics*. In: M. A. Innis, D. H. Gelfand, J.J. Sninsky, & T. J. White (Eds.), *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications* (pp. 315-322). Academic Press Inc. <https://books.google.es/books?id=Z5jwZ2rbVe8C&pg=PA315>
- Zheng, Z., Liu, H., Shi, Y., Liu, Z., Teng, H., Deng, S., Wei, L., Wang, Y., & Zhang, F. (2022). Comparative transcriptome analysis reveals the resistance regulation mechanism and fungicidal activity of the fungicide phenamacril in *Fusarium oxysporum*. *Scientific Reports*, 12(1), 11081. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-15188-5>



Toxicity of *Solanum elaeagnifolium* Cav., imidacloprid, and chlorpyrifos extract in adults of *Chrysoperla canea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae)

Toxicidad del extracto de *Solanum elaeagnifolium* Cav., imidacloprid y clorpirifos en adultos de *Chrysoperla canea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae)

Margarita Martínez-Maldonado¹; Fabián García-González^{1*};
 María Berenice González-Maldonado²; Jorge Artemio Zegbe-Domínguez³;
 Verónica Ávila-Rodríguez⁴

¹Universidad Autónoma Chapingo, Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas. Carretera Gómez Palacio-Chihuahua km 40, Bermejillo, Durango, C. P. 35230, México.

²Instituto Politécnico Nacional, Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Durango. Calle Sigma, núm. 119, Fraccionamiento 20 de Noviembre II, Durango, Durango, C. P. 34220, México.

³Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, Pecuarias y Forestales, Campo Experimental Pabellón. Carretera Aguascalientes-Zacatecas km 32.5, Pabellón de Arteaga, Aguascalientes, C. P. 20660, México.

⁴Universidad Juárez del Estado de Durango. Av. Universidad s/n. Fraccionamiento Filadelfia, Gómez Palacio, Durango, C. P. 35010, México.

*Corresponding author: fgarcia@chapingo.uruza.edu.mx

Abstract

The use of synthetic pesticides and their negative effects have driven the development of alternatives based on natural extracts with insecticidal activity. However, information on their impact on beneficial insects is limited. Therefore, the objective of this study was to evaluate the toxicity of the aqueous extract of *Solanum elaeagnifolium* (Cav., 1794), imidacloprid, and chlorpyrifos on adult *Chrysoperla carnea* s. lat., under laboratory conditions. The results showed that chlorpyrifos had the greatest insecticidal effect, with an LD₅₀ of 19.6 ppm. In contrast, the *S. elaeagnifolium* extract and imidacloprid showed intermediate to low effects, with LD₅₀ of 814.3 and 895.9 ppm, respectively. The recorded mortality rates were: control group 0 %, botanical extract 3.33-4.43 %, imidacloprid 15.56-44.43 %, and chlorpyrifos 17.73-100 %. These results suggest that the *S. elaeagnifolium* extract, applied at moderate doses, may be more compatible with the evaluated natural enemy compared to the synthetic insecticides, which would facilitate its integration into integrated pest management programs. However, further studies are needed to determine its potential for pest control.

Keywords: botanical aqueous extract, LD₅₀, imidacloprid, chlorpyrifos.

Resumen

El uso de plaguicidas sintéticos y sus efectos negativos han impulsado el desarrollo de alternativas basadas en extractos naturales con actividad insecticida. Sin embargo, la información sobre su impacto en insectos benéficos es limitada. Por ello, el objetivo de este estudio fue evaluar la toxicidad del extracto acuoso de *Solanum elaeagnifolium* (Cav., 1794), imidacloprid y clorpirifos en adultos de *Chrysoperla carnea* s. lat., en condiciones de laboratorio. Los resultados mostraron que el clorpirifos tuvo el mayor efecto insecticida, con una DL₅₀ de 19.6 ppm. Por el contrario, el extracto de *S. elaeagnifolium* y el imidacloprid presentaron efectos de intermedios a bajos, con DL₅₀ de 814.3 y 895.9 ppm, respectivamente. Las tasas de mortalidad registradas fueron: grupo control de 0 %, extracto botánico de 3.33 a 4.43 %, imidacloprid de 15.56 a 44.43 % y clorpirifos de 17.73 a 100 %. Estos resultados sugieren que el extracto de *S. elaeagnifolium*, aplicado en dosis moderadas, podría ser más compatible con el enemigo natural evaluado en comparación con los insecticidas sintéticos, lo cual facilitaría su integración en programas de manejo integrado de plagas. No obstante, se necesitan más estudios para conocer su potencial en el control de plagas.

Palabras clave: extracto acuoso botánico, DL₅₀, imidacloprid, clorpirifos.

Please cite this article as follows (APA 7): Martínez-Maldonado, M., García-González, F., González-Maldonado, M. B., Zegbe-Domínguez, J. A., & Ávila-Rodríguez, V. (2025). Toxicity of *Solanum elaeagnifolium* Cav., imidacloprid, and chlorpyrifos extract in adults of *Chrysoperla canea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae). *Revista Chapingo Serie Zonas Áridas*, 24, e24001. <https://doi.org/10.5154/r.rchsa.2024.05.001>



Revista Chapingo
Serie Zonas Áridas

Introduction

The growing global demand for food has intensified the pressure on agricultural systems. This has driven the overuse of synthetic chemical pesticides, which are the main tool for protecting crops. However, their irrational and unplanned use has had negative effects, such as environmental pollution, the development of pest resistance, the emergence of secondary pests, and the reduction of natural enemies, which are essential for maintaining pest population balance (Baker et al., 2020).

In response to this problem, more sustainable agricultural production has been promoted through integrated pest management (IPM). This strategy combines techniques and practices focused on economic, environmental, and social aspects (Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO], 2023). Among these techniques, biopesticides, obtained from microorganisms, and botanical extracts stand out. These are characterized by their high specificity toward target organisms and represent a promising alternative to synthetic insecticides (Salgado-Garciglia et al., 2019).

In this context, *Solanum elaeagnifolium* (Cav., 1794) (Solanales: Solanaceae), a herbaceous plant containing secondary metabolites with insecticidal properties (quinones, alkaloids, saponins and tannins) (Feki et al., 2014), has been studied for its larvicidal activity in *Culiseta longiareolata* (Macquart, 1838) (Diptera: Culicidae) (Belkhiri et al., 2021) and its phagodissuasive effect on larvae and adults of *Tribolium castaneum* (Herbst, 1797) (Coleoptera: Tenebrionide) and *Sitophilus oryzae* (Linnaeus, 1763) (Coleoptera: Curculionidae) (Descamps & Sánchez-Chopa, 2013). Similarly, Guevara-Cortez (2021) evaluated the insecticidal activity of extracts from three weed species from arid zones, including *S. elaeagnifolium*, against *Spodoptera frugiperda* (fall armyworm), using the contaminated diet ingestion method. This author reported that the aqueous extract of *S. elaeagnifolium* fruit produced an average mortality of 47.5 % in second-instar larvae after 24 to 72 h of exposure.

Although the aforementioned studies demonstrate the insecticidal potential of *S. elaeagnifolium*, it is essential to evaluate its selective effects (both lethal and sublethal) on natural enemies of pests at different developmental stages. This would allow for the development of more effective IPM plans by avoiding products that negatively impact beneficial insects. Considering the above, the objective of this study was to evaluate the toxicity of the aqueous extract of *S. elaeagnifolium*, compared to two synthetic insecticides (imidacloprid and chlorpyrifos), on adult *Chrysoperla carnea* under laboratory conditions. *C. carnea* is one of the main predators used in biological

Introducción

La creciente demanda global de alimentos ha intensificado la presión sobre los sistemas agrícolas. Esto ha impulsado el uso excesivo de productos fitosanitarios de síntesis química, los cuales son la principal herramienta para proteger los cultivos. Sin embargo, su uso irracional y no planificado ha presentado efectos negativos, como la contaminación ambiental, el desarrollo de resistencia en las plagas, la aparición de plagas secundarias y la reducción de enemigos naturales, los cuales son fundamentales para mantener el equilibrio poblacional de las plagas (Baker et al., 2020).

Ante esta problemática, se ha promovido una producción agrícola más sostenible a través del manejo integrado de plagas (MIP). Esta estrategia combina técnicas y prácticas enfocadas en aspectos económicos, ambientales y sociales (Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO], 2023). Entre estas técnicas destacan los bioplaguicidas, que se obtienen a partir de microorganismos, y los extractos botánicos, caracterizados por su alta especificidad hacia los organismos objetivo y por representar una alternativa prometedora a los insecticidas sintéticos (Salgado-Garciglia et al., 2019).

En este contexto, *Solanum elaeagnifolium* (Cav., 1794) (Solanales: Solanaceae), herbácea que contiene metabolitos secundarios con propiedades insecticidas (quinonas, alcaloides, saponinas y taninos) (Feki et al., 2014), ha sido objeto de estudio por su actividad larvicida en *Culiseta longiareolata* (Macquart, 1838) (Diptera: Culicidae) (Belkhiri et al., 2021) y su efecto fagodisuasivo en larvas y adultos de *Tribolium castaneum* (Herbst, 1797) (Coleoptera: Tenebrionide) y *Sitophilus oryzae* (Linnaeus, 1763) (Coleoptera: Curculionidae) (Descamps & Sánchez-Chopa, 2013). Asimismo, Guevara-Cortez (2021) evaluó la actividad insecticida de extractos de tres especies de arvenses de zonas áridas, incluida *S. elaeagnifolium* sobre *Spodoptera frugiperda* (gusano cogollero), por el método de ingestión de dieta contaminada. Este autor reportó que el extracto acuoso de frutos de *S. elaeagnifolium* produjo una mortalidad media de 47.5 % en larvas del segundo instar en un lapso de 24 a 72 h de exposición.

Aunque los estudios mencionados evidencian el potencial insecticida de *S. elaeagnifolium*, es fundamental evaluar sus efectos selectivos (tanto letales como subletales) sobre enemigos naturales de plagas en diferentes estados de desarrollo. Esto permitiría desarrollar planes de MIP más eficaces, al evitar los productos que generen un impacto negativo en la fauna entomológica benéfica. Considerando lo anterior, el objetivo de este estudio fue evaluar la toxicidad del extracto acuoso de *S. elaeagnifolium*, en comparación con dos insecticidas sintéticos (imidacloprid y clorpirifos),

control programs and is considered a key organism for toxicological evaluations of agrochemicals according to the International Organization for Biological Control (IOBC) (Sahayaraj & Hassan, 2023).

Materials and methods

The study was conducted in 2023 at the entomology laboratory of the *Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas* (URUZA) of the *Universidad Autónoma Chapingo* (UACH), in Bermejillo, Durango, Mexico (25° 53' N and 103° 36' W, at 1 130 m a. s. l.). The average annual rainfall in the area is 304 mm, with a maximum temperature of 44 °C and a minimum of 10.2 °C (Medina-García et al., 2005).

The bioassay was established under a completely randomized experimental design, derived from a $3 \times 4 + 1 = 13$ factorial arrangement: three toxic compounds (one of natural origin [*S. elaeagnifolium*] and two synthetic ones [imidacloprid and chlorpyrifos]), four concentrations (5, 50, 100 and 500 ppm, each with three replicates) and an absolute control (distilled water). The concentrations were determined using a biological response window, which allows identification of the range of concentrations that produce from 0 to 100 % mortality. The control group registered 0 % mortality, so it was not necessary to apply statistical corrections.

To obtain the botanical extract, *S. elaeagnifolium* plants in the fruiting stage were collected at El Carmen ranch in URUZA. The whole plants were dried at room temperature and cut into pieces approximately 5 cm long to facilitate the grinding process. Subsequently, a stock solution was prepared with 500 g of plant material and 1 000 mL of distilled water. The extract was obtained using a hydraulic press, according to the method described by García-González et al. (2019). The resulting liquid was filtered with Whatman No. 1 filter paper and stored in an airtight container at 4 °C.

In the case of the insecticides imidacloprid and chlorpyrifos, the products were formulated as stock solutions. The concentrations tested were prepared from these.

The treatments were applied according to the direct contact residual method described by Xu et al. (2001), with some modifications. Thirty-nine individual vials were treated with 5 mL of each aqueous solution of the treatments. Subsequently, the residue from the solutions was removed, and the vials were left to dry for 5 h in a fume hood. Glass vials measuring 2.5 cm in diameter by 9.5 cm in length were used, which were covered with organza fabric. Thirty *C. carnea* adults, 24 to 48 h in age, acquired from a breeding center for beneficial organisms located in Culiacán, Sinaloa,

sobre adultos de *Chrysoperla carnea* en condiciones de laboratorio. *C. carnea* es uno de los principales depredadores utilizados en programas de control biológico y es considerado un organismo clave para las evaluaciones toxicológicas de agroquímicos según la Organización Internacional de Control Biológico (IOBC, por sus siglas en inglés) (Sahayaraj & Hassan, 2023).

Materiales y métodos

El estudio se realizó en 2023 en el laboratorio de entomología de la Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas (URUZA) de la Universidad Autónoma Chapingo (UACH), en Bermejillo, Durango, México (25° 53' N y 103° 36' O, a 1 130 m s. n. m.). La precipitación promedio anual de la zona es de 304 mm, con temperatura máxima de 44 °C y mínima de 10.2 °C (Medina-García et al., 2005).

El bioensayo se estableció bajo un diseño experimental completamente al azar, derivado de un arreglo factorial $3 \times 4 + 1 = 13$: tres compuestos tóxicos (uno de origen natural [*S. elaeagnifolium*] y dos sintéticos [imidacloprid y clorpirifos]), cuatro concentraciones (5, 50, 100 y 500 ppm, cada una con tres repeticiones) y un testigo absoluto (agua destilada). Las concentraciones se determinaron mediante una ventana de respuesta biológica, la cual permite identificar el rango de concentraciones que producen desde 0 hasta 100 % de mortalidad. El testigo registró 0 % de mortalidad, por lo que no fue necesario aplicar correcciones estadísticas.

Para la obtención del extracto botánico, se recolectaron plantas de *S. elaeagnifolium* en etapa de fructificación en el rancho El Carmen de la URUZA. Las plantas completas se secaron a temperatura ambiente y se cortaron en trozos de aproximadamente 5 cm para facilitar el proceso de molienda. Posteriormente, se preparó una solución madre con 500 g de material vegetal y 1 000 mL de agua destilada. El extracto se obtuvo mediante prensa hidráulica, de acuerdo con el método descrito por García-González et al. (2019). El líquido resultante se filtró con papel Whatman No. 1 y se almacenó en un recipiente hermético a 4 °C.

En el caso de los insecticidas imidacloprid y clorpirifos, se utilizaron los productos formulados como soluciones madre. A partir de estos, se prepararon las concentraciones evaluadas.

Los tratamientos se aplicaron de acuerdo con el método residual de contacto directo descrito por Xu et al. (2001), con algunas modificaciones. Se trataron 39 viales individuales con 5 mL de cada disolución acuosa de los tratamientos. Posteriormente, se eliminó el residuo de las disoluciones y los viales se dejaron secar durante 5 h en una campana de extracción. Se

were introduced into each treated vial. For adult management, a diet consisting of spirulina, honey, brewer’s yeast, pollen, and water was prepared and administered onto a 1 × 5 cm acetate strip. Purified water was also provided via a 1 cm³ sponge. The vials were placed in an incubator at 23.9–25 °C throughout the biological cycle.

Mortality was assessed at 24, 48, and 72 h by mechanical stimulation with a camel-hair brush; individuals that did not respond to the stimulus were considered dead. From the mortality percentages, the median lethal dose (LD₅₀) of the evaluated insecticides was calculated.

Statistical analysis

The data obtained were subjected to analysis of variance and Tukey’s mean comparison tests ($\alpha = 0.05$) in the InfoStat program version 2020. The LD₅₀ was estimated by probit analysis in the LD50 Calculator software (version 2022).

Results and discussion

Statistical analysis of *S. elaeagnifolium* extract concentrations showed minimal effects on *C. carnea* mortality. Recorded mortality rates ranged from 0 to 4.4 %, with significant differences ($p < 0.05$) compared to the control (Table 1). These results contrast with those reported by Hamouda et al. (2015), who observed mortality rates of 34 % in *T. castaneum* and 23.6 % in *Myzus persicae* when using 2 % (20 000 ppm) *S. elaeagnifolium* berry extracts. Similarly, Guevara-Cortez (2021) obtained a 47.5 % mortality rate in *S. frugiperda* when applying a 10 % aqueous extract of *S. elaeagnifolium* fruit (100 000 ppm). These differences can be attributed to several factors, such as the target species (pests vs. beneficial insects) and their taxonomic classification. For example, *S. frugiperda* belongs to the order Lepidoptera and *C. carnea* to Neuroptera, while

utilizaron viales de vidrio de 2.5 cm de diámetro por 9.5 cm de largo, los cuales se cubrieron con tela de organza. En cada vial tratado se introdujeron 30 adultos de *C. carnea* de 24 a 48 h de emergencia, adquiridos en un centro reproductor de organismos benéficos ubicado en Culiacán, Sinaloa. Para el manejo de los adultos, se preparó una dieta compuesta por espirulina, miel de abeja, levadura de cerveza, polen y agua, y se administró sobre una tira de acetato de 1 × 5 cm. Además, se les suministró agua purificada a través de una esponja de 1 cm³. Los viales se colocaron en una incubadora a 23.9-25 °C durante todo el ciclo biológico.

La mortalidad se evaluó a las 24, 48 y 72 h mediante estimulación mecánica con un pincel de pelo de camello; los individuos que no respondieron al estímulo se consideraron muertos. A partir de los porcentajes de mortalidad, se calculó la dosis letal media (DL₅₀) de los insecticidas evaluados.

Análisis estadístico

Los datos obtenidos se sometieron a análisis de varianza y pruebas de comparación de medias de Tukey ($\alpha = 0.05$) en el programa InfoStat versión 2020. La DL₅₀ se estimó mediante un análisis probit en el programa LD50 Calculator (versión 2022).

Resultados y discusión

El análisis estadístico de las concentraciones del extracto de *S. elaeagnifolium* mostró efectos mínimos sobre la mortalidad de *C. carnea*. Las tasas registradas fluctuaron entre 0 y 4.4 %, con diferencias significativas ($p < 0.05$) respecto al testigo (Cuadro 1). Estos resultados contrastan con los reportados por Hamouda et al. (2015), quienes observaron mortalidades de 34 % en *T. castaneum* y de 23.6 % en *Myzus persicae* al usar extractos de bayas de *S. elaeagnifolium* al 2 % (20 000 ppm). De manera similar, Guevara-Cortez (2021) obtuvo una mortalidad de 47.5 %

Table 1. Effect of different concentrations of the aqueous extract of *Solanum elaeagnifolium* on the mortality of *Chrysoperla carnea* under *in vitro* conditions after 72 h of exposure.
Cuadro 1. Efecto de diferentes concentraciones del extracto acuoso de *Solanum elaeagnifolium* sobre la mortalidad de *Chrysoperla carnea* en condiciones *in vitro* después de 72 h de exposición.

Toxic agent source / Fuente del tóxico	Concentration (ppm) / Concentración (ppm)	Mortality (%) / Mortalidad (%)
Control /Testigo	0	0.0 (± 0.6) a
<i>S. elaeagnifolium</i> extract / Extracto de <i>S. elaeagnifolium</i>	5	3.3 (± 0.6) b
	50	5.5 (± 0.6) b
	100	6.6 (± 0.6) b
	500	4.4 (± 0.6) b

Means with the same letter within each column do not differ statistically (Tukey, $p \geq 0.05$).
Medias con la misma letra dentro de cada columna no difieren estadísticamente (Tukey, $p \geq 0.05$).

T. castaneum and *M. persicae* are classified in Coleoptera and Homoptera, respectively. Furthermore, previous studies used considerably higher concentrations, as well as different plant organs (fruits, berries, or the whole plant) and routes of exposure.

Although several studies have demonstrated insecticidal activity of *S. elaeagnifolium* extracts, the results of this study show that, under laboratory conditions, the aqueous extract of this plant exhibits low toxicity to adult *C. carnea*. This suggests a favorable selectivity towards beneficial insects, although its effectiveness for pest control requires much higher concentrations than those evaluated in this study.

In the case of imidacloprid, a variable effect was observed. At low concentrations (between 0 and 100 ppm), mortality was low or nonexistent, with no significant differences ($p \leq 0.05$) between the doses and the control (Table 2). However, when the concentration was increased to 500 ppm, mortality rose to 44.4 %. These data suggest that imidacloprid exhibits a dose-dependent response, showing a marked increase in toxicity at high concentrations under residual exposure. These findings differ from those reported by Soomro et al. (2019), who recorded a 50 % mortality in *C. carnea* exposed to 2.3 ppm of the same insecticide, but through topical exposure, which highlights the influence of the exposure method on the insect response.

Regarding chlorpyrifos, lethal effects were recorded at high doses. The 500 ppm concentration caused 100 % mortality, while intermediate concentrations (50 and 100 ppm) showed proportional effects. The 5 ppm dose and the control showed little or no impact, respectively, on adult survival (Table 3).

The findings of this study regarding chlorpyrifos are consistent with those reported by Ullah et al. (2017), who observed an 86.67 % mortality rate in adult *C. carnea* after 48 h of residual exposure. This suggests that

sobre *S. frugiperda* al aplicar un extracto acuoso de frutos de *S. elaeagnifolium* al 10 % (100 000 ppm). Estas diferencias se pueden atribuir a varios factores, como las especies objetivo (plagas vs. insectos benéficos) y su clasificación taxonómica. Por ejemplo, *S. frugiperda* pertenece al orden Lepidoptera y *C. carnea* a Neuroptera, mientras que *T. castaneum* y *M. persicae* se clasifican en Coleoptera y Homoptera, respectivamente. Además, en los estudios previos se emplearon concentraciones considerablemente más elevadas, así como diferentes órganos vegetales (frutos, bayas o planta entera) y vías de exposición.

Aunque diversos estudios han demostrado actividad insecticida de los extractos de *S. elaeagnifolium*, los resultados del presente trabajo evidencian que, bajo condiciones de laboratorio, el extracto acuoso de esta planta presenta baja toxicidad sobre adultos de *C. carnea*. Esto sugiere una selectividad favorable hacia insectos benéficos, aunque su eficacia para el control de plagas requiere concentraciones mucho mayores a las evaluadas en este trabajo.

En el caso del imidacloprid, se observó un efecto variable. A bajas concentraciones (entre 0 y 100 ppm), la mortalidad fue baja o nula, sin diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre las dosis y el testigo (Cuadro 2). Sin embargo, al aumentar la concentración a 500 ppm, la mortalidad se elevó hasta 44.4 %. Estos datos sugieren que el imidacloprid presenta una respuesta dosis-dependiente, al presentar un incremento marcado de la toxicidad con concentraciones elevadas bajo la exposición residual. Estos hallazgos difieren de los reportados por Soomro et al. (2019), quienes registraron una mortalidad de 50 % en *C. carnea* expuesta a 2.3 ppm del mismo insecticida, pero mediante exposición tópica, lo cual resalta la influencia del método de exposición en la respuesta de los insectos.

Respecto al clorpirifos, se registraron efectos letales a dosis elevadas. La concentración de 500 ppm causó una mortalidad de 100 %, mientras que las concentraciones

Table 2. Effect of different concentrations of the insecticide imidacloprid on the mortality of *Chrysoperla carnea* under *in vitro* conditions after 72 h of exposure.

Cuadro 2. Efecto de diferentes concentraciones del insecticida imidacloprid sobre la mortalidad de *Chrysoperla carnea* en condiciones *in vitro* después de 72 h de exposición.

Toxic agent source / Fuente del tóxico	Concentration (ppm) / Concentración (ppm)	Mortality (%) / Mortalidad (%)
Control / Testigo	0	0.0 (± 1.1) b
Imidacloprid	5	15.5 (± 1.1) b
	50	18.9 (± 1.1) b
	100	30.0 (± 1.1) ab
	500	44.4 (± 1.1) a

Means with the same letter within each column do not differ statistically (Tukey, $p \geq 0.05$).

Medias con la misma letra dentro de cada columna no difieren estadísticamente (Tukey, $p \geq 0.05$).

Table 3. Effect of different concentrations of the insecticide chlorpyrifos on the mortality of *Chrysoperla carnea* under *in vitro* conditions after 72 h of exposure.

Cuadro 3. Efecto de diferentes concentraciones del insecticida clorpirifos sobre la mortalidad de *Chrysoperla carnea* en condiciones *in vitro* después de 72 h de exposición.

Toxic agent source / Fuente del tóxico	Concentration (ppm) / Concentración (ppm)	Mortality (%) / Mortalidad (%)
Control / Testigo	0	0.0 (± 4.8) b
Chlorpyrifos / Clorpirifos	5	17.7 (± 4.8) b
	50	66.6 (± 4.8) ab
	100	80.0 (± 4.8) ab
	500	100.0 (± 4.8) a

Means with the same letter within each column do not differ statistically (Tukey, $p \geq 0.05$).

Medias con la misma letra dentro de cada columna no difieren estadísticamente (Tukey, $p \geq 0.05$).

chlorpyrifos exhibits high toxicity to this beneficial predator, even with short exposure periods. These results highlight the need to carefully consider the application rates of chlorpyrifos, as relatively low concentrations could have a devastating impact on populations of natural enemies such as *C. carnea*, which could negatively affect the biological control of pests and favor their resurgence.

The LD₅₀ was determined to establish the acute toxicity of the evaluated insecticides on adult *C. carnea* (Table 4). The *S. elaeagnifolium* extract showed an LD₅₀ of 814.3 ppm, a value higher than the evaluated concentration range (5–500 ppm), indicating that higher doses are needed to exceed the 50 % mortality threshold in adult *C. carnea*. This finding differs from that reported by Markouk et al. (2000), who obtained an LD₅₀ of 59.8 ppm for an *S. elaeagnifolium* berry extract. These differences could be attributed to variations in the composition and concentration of bioactive compounds present in the extracts, as well as to the susceptibility of the *C. carnea* populations evaluated. Overall, the results suggest that the whole-plant extract would have a reduced impact on *C. carnea* in IPM programs, compared to the use of the berry extract.

Regarding synthetic insecticides, chlorpyrifos was found to be more toxic to adult *C. carnea* than imidacloprid, which had an LD₅₀ (895.9 ppm) similar to that of the *S. eleagnifolium* extract, indicating that concentrations higher than this value are required to achieve mortality greater than 50 %. This result differs considerably from that reported by Ullah et al. (2017), who found a much higher LD₅₀ (9419.0 ppm) for this insecticide. The observed discrepancy may be due to differences in exposure methods, assay duration, experimental conditions, and the characteristics of the populations used. Chlorpyrifos, on the other hand, exhibited the lowest LD₅₀ (19.6 ppm), which is consistent with the high mortality levels observed above 50 ppm. However, this value is lower than

intermedias (50 y 100 ppm) presentaron efectos proporcionales. La dosis de 5 ppm y el testigo mostraron una baja o nula afectación, respectivamente, sobre la supervivencia de los adultos (Cuadro 3).

Los hallazgos del presente estudio en relación con el clorpirifos coinciden con los reportados por Ullah et al. (2017), quienes observaron una mortalidad de 86.67 % en adultos de *C. carnea* después de 48 h de exposición residual. Lo anterior sugiere que el clorpirifos presenta una alta toxicidad para este depredador benéfico, incluso en periodos cortos de exposición. Estos resultados destacan la necesidad de considerar cuidadosamente las dosis de aplicación de clorpirifos, ya que concentraciones relativamente bajas podrían tener un impacto devastador sobre las poblaciones de enemigos naturales como *C. carnea*, lo cual podría repercutir negativamente en el control biológico de plagas y favorecer su resurgimiento.

La DL₅₀ se determinó para establecer la toxicidad aguda de los insecticidas evaluados sobre los adultos de *C. carnea* (Cuadro 4). El extracto de *S. elaeagnifolium* presentó una DL₅₀ de 814.3 ppm, valor superior al intervalo de concentraciones evaluado (5-500 ppm), lo cual indica que se necesitan dosis mayores para superar el umbral de 50 % de mortalidad en adultos de *C. carnea*. Este hallazgo difiere de lo reportado por Markouk et al. (2000), quienes obtuvieron una DL₅₀ de 59.8 ppm para un extracto de bayas de *S. elaeagnifolium*. Estas diferencias se podrían atribuir a las variaciones en la composición y concentración de los compuestos bioactivos presentes en los extractos, así como a la susceptibilidad de las poblaciones de *C. carnea* evaluadas. En conjunto, los resultados sugieren que el extracto de la planta completa tendría un impacto reducido sobre *C. carnea* en programas de MIP, en comparación con el uso del extracto de bayas.

En cuanto a los insecticidas sintéticos, se observó que el clorpirifos fue más tóxico para adultos de *C. carnea*

Table 4. Median lethal dose (LD₅₀) of the aqueous extract of *Solanum elaeagnifolium*, and the insecticides imidacloprid and chlorpyrifos on adults of *Chrysoperla carnea*.

Cuadro 4. Dosis letal media (DL₅₀) del extracto acuoso de *Solanum elaeagnifolium*, y los insecticidas imidacloprid y clorpirifos sobre adultos de *Chrysoperla carnea*.

Toxic agent source / Fuente del tóxico	LD ₅₀ (ppm) / DL ₅₀ (ppm)	Fiduciary limits at 95 % / Límites fiduciales al 95 %	
		Lower / Inferior	Upper / Superior
<i>S. elaeagnifolium</i> extract / Extracto de <i>S. elaeagnifolium</i>	814.3	1.78	371959.9
Imidacloprid	895.93	79.61	10082.0
Chlorpyrifos / Clorpirifos	19.68	9.24	41.9

that reported by Ullah et al. (2017), who obtained an LD₅₀ of 683.3 ppm. These discrepancies could be due to experimental variations, including interpopulation differences.

These findings underscore the need to rigorously evaluate the selectivity of insecticides, both synthetic and botanical, before their integration into IPM programs, to minimize negative impacts on beneficial organisms and promote the sustainability of the agroecosystem.

Conclusions

The results of this study show that the aqueous extract of *S. elaeagnifolium* exhibits low toxicity to *C. carnea* under laboratory conditions, compared to synthetic insecticides such as imidacloprid and chlorpyrifos. The high LD₅₀ estimated for the botanical extract confirms its reduced risk to this key biological control agent in agroecosystems.

Unlike the insecticides evaluated, which caused significant mortality in adult *C. carnea*, the aqueous extract of *S. elaeagnifolium* appears to be an alternative with less negative impact on populations of this predator. This reinforces its potential for integration into integrated pest management programs, especially in systems that aim to conserve and promote natural enemies. However, it is recommended to delve deeper into complementary studies that evaluate other exposure pathways, different development stages, and field conditions, to determine its viability and effectiveness in real production scenarios.

que el imidacloprid, el cual tuvo una DL₅₀ (895.9 ppm) similar a la del extracto de *S. elaeagnifolium*, lo cual indica que se requieren concentraciones superiores a este valor para alcanzar una mortalidad mayor al 50 %. Este resultado difiere considerablemente de lo reportado por Ullah et al. (2017), quienes encontraron una DL₅₀ mucho más alta (9419.0 ppm) para este insecticida. La disparidad observada se puede deber a diferencias en los métodos de exposición, la duración del ensayo, las condiciones experimentales y las características de las poblaciones utilizadas. Por su parte, el clorpirifos exhibió la DL₅₀ más baja (19.6 ppm), lo cual concuerda con los altos niveles de mortalidad observados a partir de 50 ppm. Sin embargo, este valor es inferior al reportado por Ullah et al. (2017), quienes obtuvieron una DL₅₀ de 683.3 ppm. Las discrepancias se podrían deber a las variaciones experimentales, incluyendo las diferencias interpoblacionales.

Estos hallazgos subrayan la necesidad de evaluar rigurosamente la selectividad de los insecticidas, tanto sintéticos como botánicos, antes de su integración en programas de MIP, con la finalidad de minimizar los impactos negativos sobre los organismos benéficos y favorecer la sostenibilidad del agroecosistema.

Conclusiones

Los resultados de este estudio muestran que el extracto acuoso de *S. elaeagnifolium* presenta una baja toxicidad para *C. carnea* en condiciones de laboratorio, en comparación con insecticidas sintéticos como imidacloprid y clorpirifos. La elevada DL₅₀ estimada para el extracto botánico confirma su reducido riesgo sobre este agente de control biológico clave en los agroecosistemas.

A diferencia de los insecticidas evaluados, que causaron una mortalidad significativa en los adultos de *C. carnea*, el extracto acuoso de *S. elaeagnifolium* se perfila como una alternativa con menor impacto negativo sobre las poblaciones de este depredador. Esto refuerza su

End of English version

References / Referencias

- Baker, B. P., Green, T. A., & Loker, A. J. (2020). Biological control and integrated pest management in organic and conventional systems. *Biological Control*, 140, 104095. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2019.104095>
- Belkhir, N., Benhissen, S., Habbachi, W., Yagoub-Asloum, A., Hedjouli, Z., Habbachi, S., Rebbas, K., & Ferah, N. (2021). Larvicidal activity of extracts from six plant species on larvae of *Culiseta longiareolata* (Diptera; Culicidae). *Cell Biotechnology and Molecular Biology*, 22(53), 98-106. <https://ikprress.org/index.php/PCBMB/article/view/7017>
- Descamps, L. R., & Sánchez-Chopa, C. (2013). Efecto antialimentario de extractos de *Solanum elaeagnifolium* (Solanales, Solanaceae) en insectos plaga de almacenaje. *Acta Entomológica Chilena*, 33(1-2), 11-16. <https://revistas.umce.cl/index.php/actaent/article/view/2500>
- Feki, H., Koubaa, I., & Damak, M. (2014). Secondary metabolites and antioxidant activity of seed extracts from *Solanum elaeagnifolium* Cav. *Mediterranean Journal of Chemistry*, 2(5), 639-647. <https://doi.org/10.13171/mjc.2014.05.01.22>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). (2023). *Manejo integrado de plagas y plaguicidas*. FAO. <https://www.fao.org/pest-and-pesticide-management/ipm/integrated-pest-management/es/>
- García-González, F., Guevara-Cortez, S., & Hernández-Salgado, J. R. (2019). Evaluación de metodologías para la obtención de extractos acuosos de plantas para el control del gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda* J.E. Smith). IV Congreso Internacional y XV Congreso Nacional Sobre Recursos Bióticos de Zonas Áridas, 41-42. https://congresorebiza.mx/wp-content/uploads/2019/11/REBIZA_2019.pdf#page=53
- Guevara-Cortez, S.C. (2021). *Evaluación de extractos vegetales en el control in vitro del gusano cogollero Spodoptera frugiperda J.E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae)* [Tesis Maestría]. Universidad Autónoma Chapingo. <https://repositorio.chapingo.edu.mx/items/2d7251ce-01e0-48c4-a0e5-4c350d55fc5b>
- Hamouda, A. B., Zarrad, K., Laarif, A., & Chaieb, I. (2015). Insecticidal effect of *Solanum elaeagnifolium* extracts under laboratory conditions. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 3, 187-190. <https://www.entomoljournal.com/archives/2015/vol3issue3/PartC/3-3-81.pdf>
- potencial para incorporarse en programas de manejo integrado de plagas, especialmente en sistemas que buscan conservar y promover enemigos naturales. No obstante, se recomienda profundizar en estudios complementarios que evalúen otras vías de exposición, diferentes etapas de desarrollo y condiciones de campo, a fin de determinar su viabilidad y eficacia en escenarios productivos reales.
- Fin de la versión en español**
- Markouk, M., Bekkouche, K., Larhsini, M., Bousaid, M., Lazrek, H. B., & Jana, M. (2000). Evaluation of some Moroccan medicinal plant extracts for larvicidal activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 73(1-2), 293-297. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(00\)00257-9](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(00)00257-9)
- Medina-García, G., Díaz-Padilla, G., López-Hernández, J., Ruíz-Corral, J. A., & Marín-Silva, M. (2005). *Estadísticas climatológicas básicas del estado de Durango* (Periodo 1961 – 2003). CIRNOC-INIFAP.
- Sahayaraj, K., & Hassan, E. (2023). General ecology of insect predators. In E. Hassan (Ed.), *Worldwide Predatory Insects in Agroecosystems* (pp. 95-112). Springer. <https://doi.org/10.1007/978-981-99-1000-7>
- Salgado-Garciglia, R., Pérez-López, H., García-Munguía, A. M., & Loeza-Lara, P. D. (2019). Extractos vegetales: Una fuente importante de compuestos naturales bioplaguicidas. *Revista Alter, Enfoques Críticos*, 10, 17-27.
- Soomro, Q. A., Sultana, R., Muhammad, R., Sohail, M., & Khuhro, N. H. (2019). *In-vitro* study of sub-lethal effect of new chemistry insecticides on the adult *Chrysoperla carnea* (Stephens). *Advances in Agriculture and Animal Sciences*, 35(1), 29-33. <https://pjaaevs.sau.edu.pk/index.php/ojs/article/view/312>
- Ullah, Z., Sabri, M. A., Ahmad, S., Bilal, H., Hussain, D., Mughal, T. K., Mohsin, M., Aftab, A., & Ahmad, M. I. (2017). *In vitro* study of comparative toxicity of different insecticides against *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae). *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 5(3), 697-702. <https://www.entomoljournal.com/archives/2017/vol5issue3/PartJ/5-3-7-168.pdf>
- Xu, J., Shelton, A. M., & Cheng, X. (2001). Variation in susceptibility of *Diadegma insulare* (Hymenoptera: Ichneumonidae) to permethrin. *Journal of Economic Entomology*, 94(2), 541-546. <https://doi.org/10.1603/0022-0493-94.2.541>