

Toxicidad del malatión en la germinación del Guanacaste (*Enterolobium cyclocarpum*)

Andrés Francisco Martínez-Rosales¹, María Nieves Trujillo-Tapia²
& Eustacio Ramirez-Fuentes^{2*}

Resumen

Las semillas y su germinación son de vital importancia para el ecosistema del cual forman parte; además de cumplir con su rol en la red alimenticia, son la potencial nueva generación de su especie. El guanacaste o parota forma parte de la vegetación del bosque tropical caducifolio (BTC) y al igual que muchas otras especies silvestres, están expuestas a factores ambientales y antropogénicos, como la aplicación de plaguicidas en la agricultura y para el control de insectos y vectores de enfermedades en el sector salud; sin embargo, dichos productos provocan daños a los organismos vivos. Por lo anterior, el objetivo del trabajo fue evaluar la viabilidad y la toxicidad aguda por el efecto fitotóxico del malatión en la germinación de las semillas de guanacaste. El bioensayo consistió en cinco tratamientos: (T1) 0 ppm de malatión, (T2) 1000, (T3) 1500, (T4) 2000 y (T5) 2500 ppm, con una repetición por tratamiento. Con los datos de germinación y tamaño radicular, se elaboró una curva dosis-respuesta marcando los parámetros toxicológicos: la CE50 (concentración efectiva media), la NOAEC (concentración máxima en la que no se observan efectos adversos) y la LOAEC (concentración mínima en la que se observan efectos adversos). El porcentaje de germinación fue del 100%, debido principalmente a la escarificación física de la semilla; además, se registró una tendencia de a mayor concentración de malatión menor tamaño de radícula; y de acuerdo

Abstract

Seeds and their germination are of vital importance for the ecosystem of which they are part; in addition to fulfilling their role in the food net, they are the potential next generation of their species. Guanacaste or parota tree is part of the tropical deciduous forest (TBC) and like many other wild species, they are exposed to environmental and anthropogenic factors, such as the application of pesticides in agriculture and to control insects and disease vectors in the health sector; however, these products cause damage to living organisms. Therefore, the objective of the work was to evaluate the viability and acute toxicity due to the phytotoxic effect of malathion on the germination of guanacaste seeds. Bioassay consisted of five treatments: (T1) 0 ppm malathion, (T2) 1000, (T3) 1500, (T4) 2000 and (T5) 2500 ppm, with one repetition per treatment. With germination and radicle size data, a dose-response curve was developed marking toxicological parameters: EC50 (mean effective concentration), NOAEC (maximum concentration in which no adverse effects are observed) and LOAEC (minimum concentration in which adverse effects are observed). Germination percentage was 100%, mainly due to the physical scarification of the seed; in addition, a tendency was recorded for a higher concentration of malathion to have a smaller radicle size; and according to the value of the Germination Index (GI) of $\approx 80\%$ and EC50

¹ Doctorado en Ciencias Ambientales, Universidad del Mar, campus Puerto Ángel. Cd. Universitaria S/N. Pochutla, Oaxaca, México.

² Instituto de Ecología/Instituto de Recursos. Universidad del Mar, campus Puerto Ángel. Cd. Universitaria S/N. Pochutla, Oaxaca, México.

* Autor de correspondencia: eustacio@angel.umar.mx (ERF)

con el valor del Índice de Germinación (IG) de $\approx 80\%$ y la CE50 (1157.1 ppm), las semillas de guanacaste expuestas al malatión presentaron un efecto subletal moderado.

Palabras clave: índice de germinación, fitotóxico, malatión, CE50, guanacaste.

(1157.1 ppm), the guanacaste seeds exposed to malathion presented a moderate sublethal effect.

Key words: germination index, phytotoxic, malathion, EC50, guanacaste.

Recibido: 11 de agosto de 2022.

Aceptado: 28 de noviembre de 2022.

Introducción

El bosque tropical caducifolio (BTC) o selva caducifolia, está conformado por árboles que pierden su follaje durante la temporada seca; son tolerantes a la sequía, crecen en un clima Aw0, Aw1 y Aw2, donde la temperatura media anual es $> 22^{\circ}\text{C}$ y el intervalo de la precipitación media anual va de 300 a 2000 mm (Arriaga *et al.* 2000, Griscom & Ashton 2011), distribuida en el periodo de junio a noviembre; estableciendo dos temporadas (seca y lluvias). Además, el BTC se divide de acuerdo con la altura dominante de las especies vegetales en: alta (árboles de 20 a 30 m), mediana (árboles de 15 a 20 m) y baja (árboles de 8 a 15 m) (Torres-Colín 2004); sin embargo, para fines del presente trabajo se considera solo como BTC.

En Oaxaca la distribución del BTC no es continua, se concentra en seis núcleos principales (Fig. 1): Istmo de Tehuantepec, región de la Costa, parte baja del río Tehuantepec, Valles centrales, región de la Cañada, Pinotepa Nacional y región de la Mixteca (Meave *et al.* 2012). Como parte de la diversidad de especies vegetales en el BTC, se encuentra el árbol de guanacaste¹ o parota (*Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) (Torres-Colín 2004), pertenece a la familia Fabaceae y su distribución abarca desde América del norte hasta Sudamérica (Barrance 2003). La importancia ecológica del árbol es su aporte como albergue y

alimento a la fauna silvestre; en su extensa raíz establece una simbiosis micorrícica con *Glomus aggregatum* (CONABIO 2022); se utiliza para restaurar terrenos degradados, conservar el suelo y controlar la erosión (Botelho *et al.* 2021).

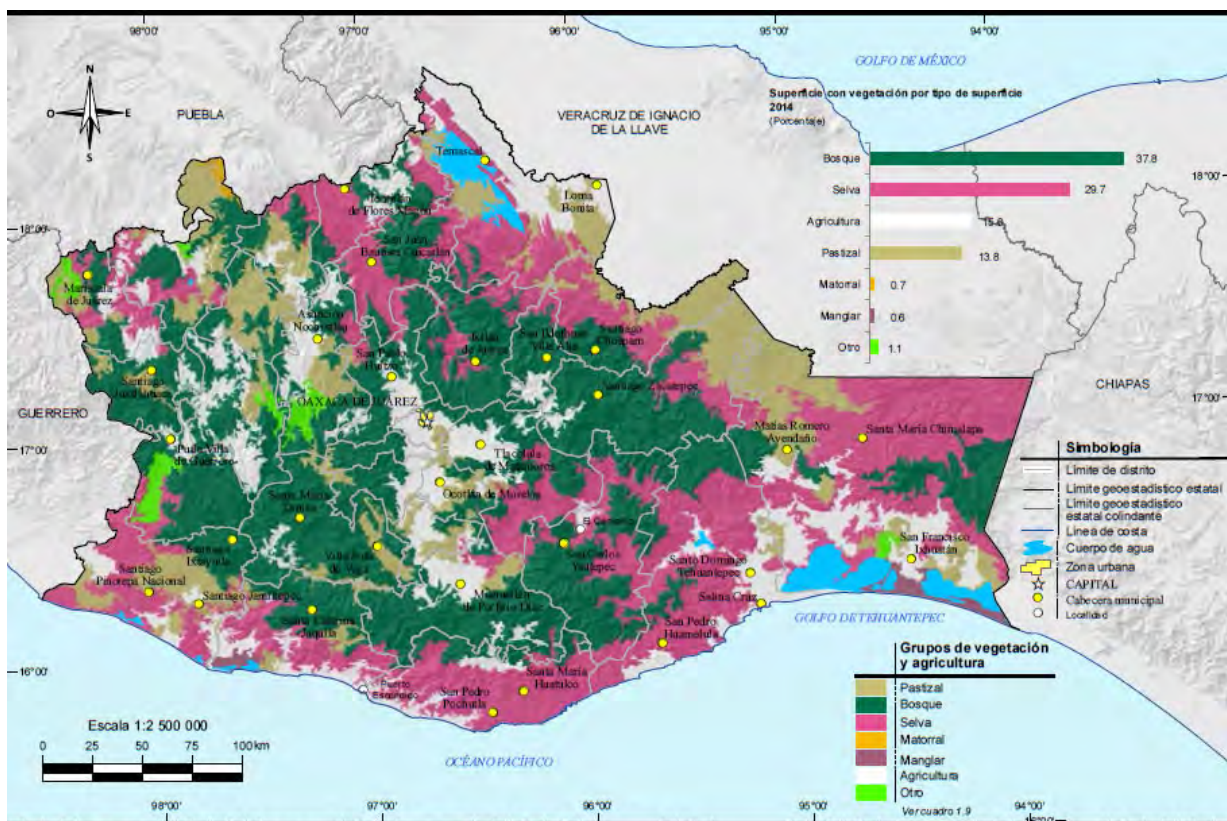
El guanacaste o parota es un árbol de entre 20 a 30 m de altura, alcanzando hasta los 45 m; es de rápido crecimiento 32 cm/año (Foroughbakhch *et al.* 2006), posee un sistema radicular extenso y profundo que le permite absorber agua. La floración se presenta de febrero a junio y la fructificación entre marzo y julio. El fruto del guanacaste es una vaina circular no dehiscente², característico de la especie; contiene de 5 a 15 semillas grandes (2.3 por 1.5 cm), ovoides y aplanadas, las cuales presentan una testa (cubierta externa) extremadamente dura (Fig. 2, CONABIO 2022).

Las semillas son de vital importancia en el ciclo de vida del árbol, a partir de ellas se establece la siguiente generación y aseguran la continuidad de la especie (Mattana *et al.* 2022); sin embargo, están expuestas a factores ambientales (temperatura, humedad, radiación solar, entre otros) y antropogénicos (agricultura, deforestación, urbanización, contaminación, tala ilegal, entre otros), los cuales influyen en su capacidad germinativa.

La germinación de las semillas es un proceso de tres fases; 1) comienza por la

¹ Existen sinonimias de acuerdo con la región: Agucastle, Nacaztle, Ya-chibe (Oax.); Piche (Tab.); Orejon (SLP); entre otros.

² Dehiscente. *adj. Bot.* Dicho de un fruto: De pericarpio que se abre naturalmente para que salga la semilla.



Nota: Dentro del concepto Otro, se incluyen los grupos de vegetación de Palmar y Sabana.
Fuente: INEGI. Conjunto de Datos Vectoriales de Uso del Suelo y Vegetación Escala 1:250 000, serie V.

Figura 1. Mapa de la vegetación en el estado de Oaxaca; en color rosa aparece el bosque tropical caducifolio (BTC). Fuente: INEGI.

entrada de agua a la semilla (imbibición), 2) la activación de los procesos metabólicos necesarios para el crecimiento del embrión³, y 3) finaliza con la emergencia de la radícula a través de la envoltura de la semilla (Nonogaki *et al.* 2010). En la fase de imbibición, la entrada de agua y/o otra sustancia líquida es por ósmosis (Amezcuá-Romero & Vera-Estrella 2012); no es un paso selectivo del líquido, por ello, si en el agua hay una sustancia tóxica aún en baja concentración puede causar daño al embrión o inhibir la elongación de la radícula o del hipocótilo (Sobrero & Ronco 2008).

Las semillas pueden tener contacto con los plaguicidas o pesticidas (derivado del inglés *pesticide*) que son ampliamente usados en la agricultura para el control de

insectos plaga, y en el sector salud para el control de mosquitos vectores de enfermedades comunes en las zonas tropicales, como el dengue, zika y chikungunya (entre otras).

El malatión es un plaguicida organofosforado, no sistémico, de amplio espectro, utilizado en los cultivos de frutas y hortalizas, para controlar los mosquitos, las moscas, los insectos domésticos y los piojos (Martínez-Aguilar *et al.* 2018). La exposición al malatión por contacto, inhalación o ingestión puede provocar cáncer y desorden genético y hormonal en humanos (Rani *et al.* 2021); pero también inhibe el crecimiento de bacterias, hongos y cianobacterias (Chakraborty *et al.* 2017). Posterior a la aplicación del malatión a las plantas cultivadas para el

³ En las plantas fanerógamas, esbozo de la futura planta, contenido en la semilla.

control del insecto plaga, el exceso del insecticida llega al suelo y va a formar parte del proceso de adsorción-desorción con los minerales y la materia orgánica del suelo (Ren *et al.* 2018). Cuando el plaguicida permanece adsorbido al suelo, está “inactivo” y no causa daño; pero una vez que se da la desorción⁴ del plaguicida, entonces se convierte en un compuesto potencialmente tóxico para las semillas y microorganismos del suelo (entre otros). Desafortunadamente poco se ha reportado acerca del efecto negativo del malatión (y en general de los pesticidas) en la germinación, debido a que las semillas no son el organismo blanco (*target* en inglés) del plaguicida.

Por lo anterior y dada la importancia del guanacaste y sus semillas, el objetivo planteado para este bioensayo fue evaluar la viabilidad y la toxicidad aguda (120 horas de exposición) del efecto fitotóxico del malatión en el proceso de germinación.

Materiales y métodos

Colecta y escarificación de la semilla

Los frutos y semillas de guanacaste se colectaron en mayo del 2015 en el campus de la Universidad del Mar. Una vez limpias las semillas se removió completamente la testa utilizando una segueta, cortando por el contorno de la semilla hasta dejar expuestos los cotiledones, procurando no dañar el embrión (Fig. 3). La remoción de la testa fue necesaria para romper la latencia física y poder llevar a cabo las pruebas de viabilidad, y el bioensayo de toxicidad.

Prueba de viabilidad

El porcentaje de viabilidad se determina para saber si el embrión está vivo o no

(Fig. 4). La prueba consiste en sumergir las semillas en una solución de cloruro de trifeniltetrazolio; y en las células vivas hay una reacción (reducción) del compuesto produciendo el trifenilformazán, que es de color rojo, indicando la viabilidad del tejido debido a la actividad respiratoria en las mitocondrias (Franca-Neto & Krzyzanowski 2019).

Tres lotes de 20 semillas escarificadas cada uno, se colocaron en un vaso de precipitados de 250 mL adicionando 50 mL de una solución de cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio al 1% (Sigma-Aldrich T8877) para sumergir las semillas; el remojo fue por treinta minutos a temperatura ambiente ($28\pm 2^{\circ}\text{C}$); transcurrido el tiempo se enjuagaron con agua destilada para remover el exceso de la solución y se colocaron en papel secante; posteriormente se observaron al microscopio binocular (Carl Zeiss) y contabilizó el número de semillas teñidas.

Bioensayo de toxicidad

Se evaluó el efecto negativo del malatión en el proceso de germinación (índice de germinación) y durante el desarrollo de la plántula; el ensayo permite ponderar el efecto tóxico de compuestos presentes en niveles trazas que no son suficientes para inhibir la germinación, pero pueden afectar el crecimiento de la plántula.

Previo al bioensayo, se desinfectaron 200 semillas sumergiéndolas en un vaso de precipitados con una solución de hipoclorito de sodio comercial al 5 % durante 15 min, posteriormente se les hicieron tres lavados con agua destilada esterilizada para eliminar los residuos del hipoclorito de sodio y se secaron en papel secante (Cuevas-Díaz *et al.* 2012).

Para evaluar el efecto fitotóxico del

⁴ f. Tecnol. Emisión de un fluido previamente adsorbido por un material.



Figura 2. Fruto del árbol de guanacaste (*Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) y semillas con testa, sin testa y con el embrión expuesto.

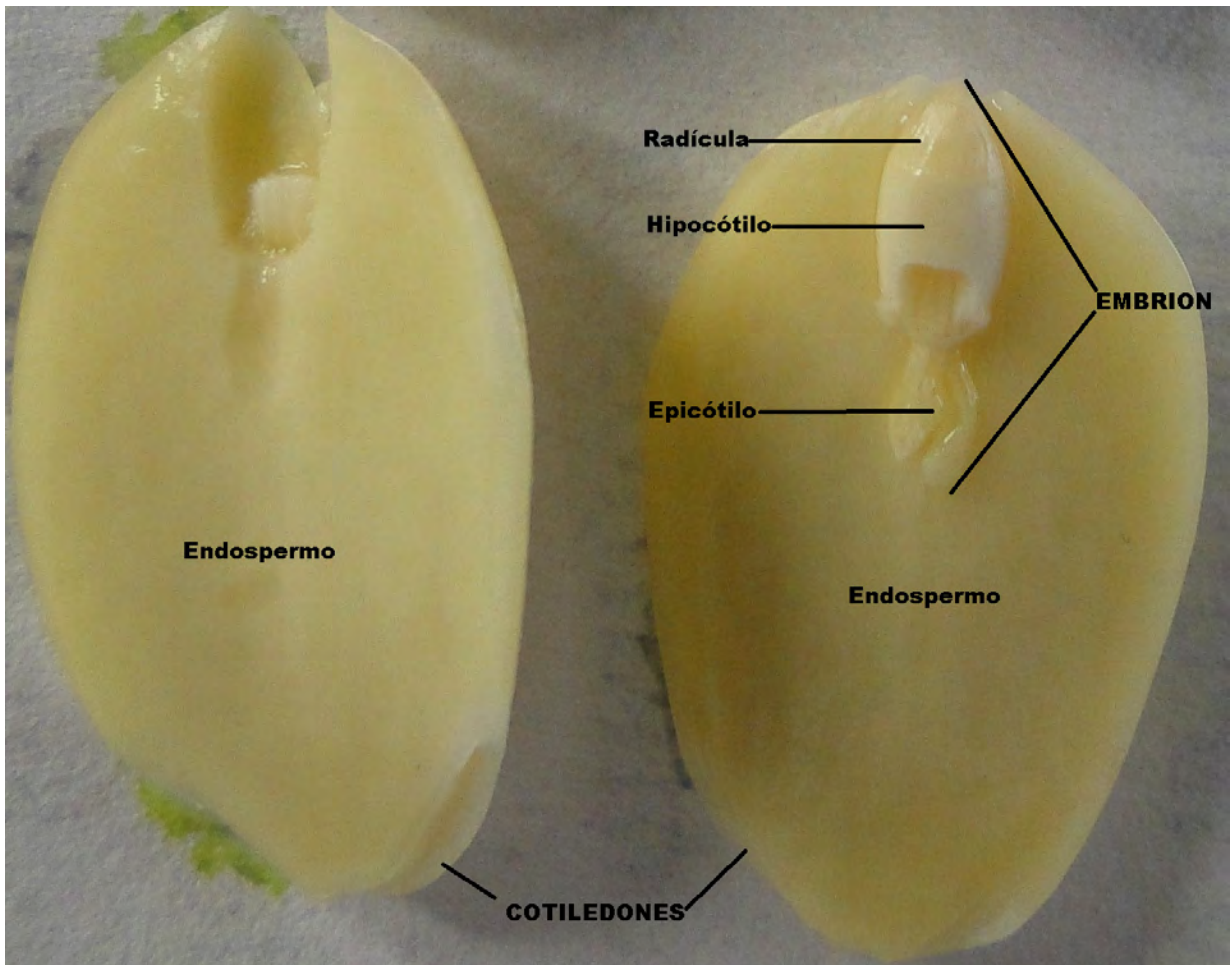


Figura 3. Partes de la semilla del guanacaste (*Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) sin la testa.

malation en el proceso de germinación de semillas se modificó la metodología de Sobrero & Ronco (2008) para adecuarlo con el tamaño de las semillas de guana- caste. El diseño del bioensayo consistió en cinco tratamientos: (T1) 0 ppm de mala- tión, (T2) 1000, (T3) 1500, (T4) 2000 y (T5) 2500 ppm, con una repetición por trata- miento. La concentración del malatión fue con base en la dosis recomendada por el fabricante para su aplicación en cultivos agrícolas.

Se utilizaron diez bandejas de plás- tico de 15 x 20 cm con papel secante en el fondo, depositando 20 semillas por tratamiento y su repetición; la solución de malatión se aplicó de manera uni- forme con pipetas volumétricas de 10 mL. Durante la prueba (120 h) las semillas se mantuvieron a temperatura ambiente (28±2°C) y en oscuridad; transcurrido el tiempo de la prueba de germinación, las plántulas (germinados) vivas se midieron y pesaron en fresco. La medida del tamaño de la radícula se consideró desde el nudo (región más engrosada de transición entre la radícula y el hipocótilo) hasta el ápice radicular.

Índice de germinación y parámetros toxicológicos

Para la obtención de estos índices se reali- zaron las siguientes ecuaciones:

Porcentaje de viabilidad (PV):

$$PV = \left[\frac{\# \text{ de embriones coloreados}}{\# \text{ de embriones colocados}} \right] * 100 \quad (1)$$

Porcentaje de las semillas germinadas (PG):

$$PG = \left[\frac{\# \text{ de semillas germinadas}}{\# \text{ de semillas puestas a germinar}} \right] * 100 \quad (2)$$

El índice de germinación (IG) se calculó a partir de los datos generados e integra el

porcentaje relativo de germinación (PGR) y el crecimiento relativo de la raíz (CRR) (Varnero *et al.* 2007):

$$IG = (PGR * CRR) / 100 \quad (3)$$

$$PGR = \left(\frac{\# \text{ semillas germinadas muestra}}{\# \text{ semillas germinadas control}} \right) * 100 \quad (4)$$

$$CRR = \left(\frac{\text{tamaño de radícula muestra}}{\text{tamaño radícula control}} \right) * 100 \quad (5)$$

Con los datos de germinación y tamaño de radícula, se elaboró una curva dosis-respuesta marcando los siguientes parámetros toxicológicos: la CE50 (con- centración efectiva media), la NOAEC (concentración máxima en la que no se observan efectos adversos) y la LOAEC (concentración mínima en la que se obser- van efectos adversos). La CE50 se calculó con el método Probit (Gift *et al.* 2020), los valores de NOAEC y LOAEC se obtie- nen estadísticamente por comparación de medias (Cuevas-Díaz *et al.* 2012).

Para establecer diferencias entre trata- mientos se analizó estadísticamente los resultados con un análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de Duncan para marcar diferencias entre las medias (Estadística 7.0.).

Resultados

El porcentaje de viabilidad fue del 100%; del total de los embriones coloreados, el 50% se coloreó en su totalidad y el otro 50% presentó coloración en ¾ partes (Fig. 4). La prueba de viabilidad de las semi- llas es importante porque se establece el probable porcentaje de germinación. Al respecto, se registró un 100% de semillas germinadas en el control (T1) y las cuatro concentraciones de malatión (T2-T5). La emergencia de la radícula fue a las 72 h de iniciada la fase de imbibición. Aun cuando



Figura 4. Embriones de guanacaste (*Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) teñidos con solución de cloruro 2,3,5-trifeniltetrazolio al 1%.

el porcentaje relativo de germinación fue del 100%, se observó daño en el tejido de las semillas en los tratamientos con malatión (Fig. 5), lo cual se vio reflejado en el crecimiento relativo de la raíz (CRR) y el índice de germinación que estuvo por debajo del 80% (Tabla I). En el T5 con la concentración de malatión de 2500 ppm, se registró el mayor porcentaje en el IG (80%).

El brote de la radícula se observó a las 72 h de iniciada la fase de imbibición de la semilla y aumentó conforme transcurrió el tiempo del bioensayo (Fig. 6). En promedio T1 (sin malatión) registró el mayor tamaño de radícula con 37.3 mm y fue estadísticamente diferente al resto de los tratamientos ($p > 0.05$). Con respecto a los tratamientos con malatión, T5 y T3 (32.5 y 31.4 mm respectivamente) fueron estadísticamente diferentes a T4 y T2 (29.0 y 28.8 mm respectivamente).

La variable peso de la semilla es dependiente al tiempo (h) (Fig. 7); sin embargo,

no presentó estadísticamente diferencias significativas ($p > 0.05$) en el bioensayo. El valor promedio (g) de menor a mayor fue: T4 (18.8), T2 (18.9), T3 (19.0), T5 (19.2) y T1 (19.3).

De acuerdo con los parámetros toxicológicos calculados en el bioensayo, la concentración efectiva media (CE50) fue de 1157.1 ppm de malatión. La concentración máxima en la que no se observó efecto adverso (NOAEC) en el tamaño de radícula fue el T5 (2500 ppm de malatión); y para la concentración mínima en la que se observó un efecto adverso (LOAEC) en el

Tabla I. Valores del crecimiento relativo de la raíz (CRR), el porcentaje relativo de germinación (PGR), y el índice de germinación (IG) de semillas de guanacaste (*Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) en los tratamientos con malatión.

	T2	T3	T4	T5
CRR	73	70	75	80
PGR	100	100	100	100
IG	73	70	75	80



Figura 5. Daño al tejido de las semillas de guanacaste (*Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) por el contacto con el malatión.

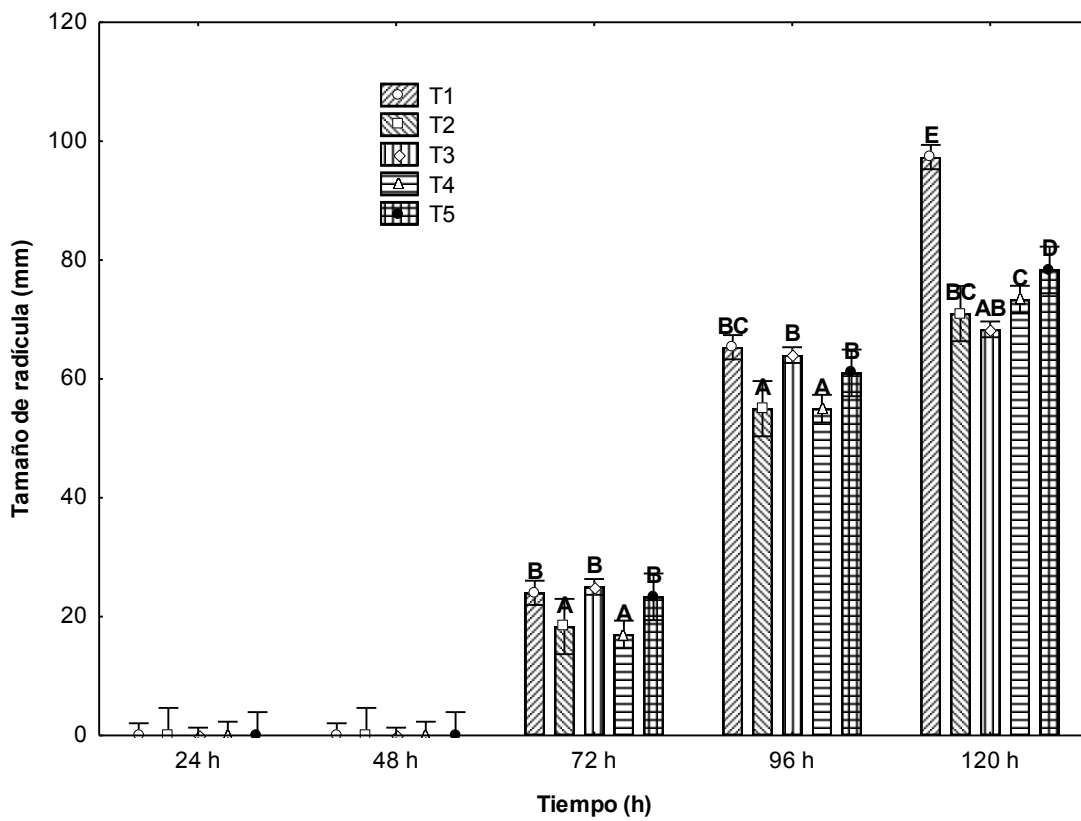


Figura 6. Tamaño de radícula (mm) durante el bioensayo (120h) en semillas de guanacaste (*Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) expuestas a diferentes concentraciones de malatión.

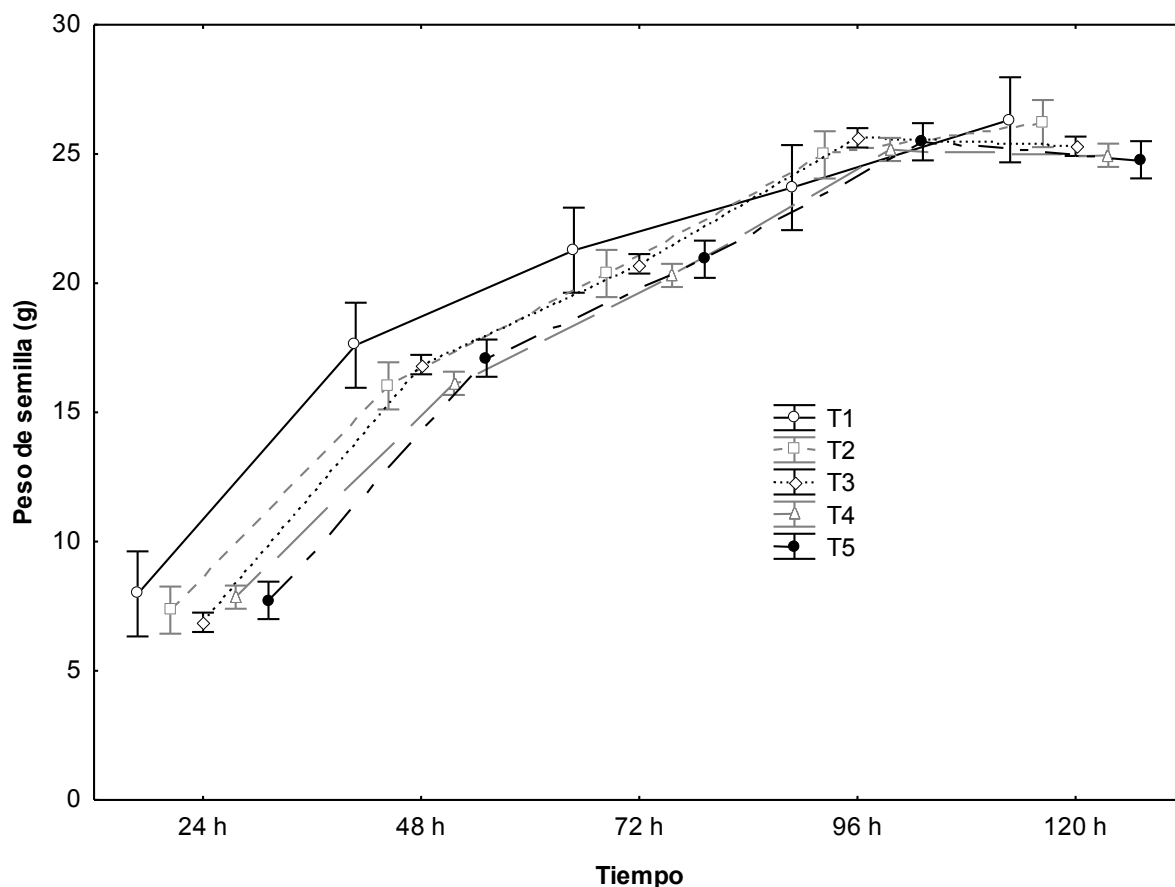


Figura 7. Peso (g) de las semillas durante el bioensayo (120 h) del guanacaste (*Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) expuestas a diferentes concentraciones del malatión.

tamaño de radícula fue T2 (1000 ppm de malatión).

Discusión

El porcentaje de viabilidad de las semillas de guanacaste fue del 100% y estuvo en concordancia con el 100% de germinación. Viveros-Viveros *et al.* (2014) reportaron un promedio del 98% de semillas viables en la prueba con tetrazolio en semillas de guanacaste de diferentes sitios en la región costa de Oaxaca. En ambos estudios se removió la testa para dejar expuesto los cotiledones y el embrión al contacto con la solución de tetrazolio. En semillas con un nivel bajo de dormancia o semillas sin dormancia el riesgo de que la semilla muera o germine en condiciones desfavorables

es mayor; por el contrario, si el nivel de dormancia es mayor (como el caso de las semillas de guanacaste) detiene o reduce la germinación en condiciones desfavorables (Ali *et al.* 2022). El guanacaste forma parte del BTC, que presenta dos estaciones bien marcadas con relación a la humedad: estación seca y estación húmeda; en este sentido la dormancia de la semilla de guanacaste le permite esperar que las condiciones ambientales sean favorables e inicie el proceso de germinación.

La germinación es un proceso complejo en donde intervienen diferentes factores: señales ambientales (temperatura, agua, luz), hormonas endógenas (fitohormonas: auxinas, ácido abscísico, giberelinas), la madurez y vigor de la semilla (Rajjou *et al.* 2012). La imbibición es la primera fase de la

germinación, la entrada de agua a la semilla dispara procesos para metabolizar las reservas contenidas en la semilla (lípidos, compuestos de nitrógeno -proteínas y aminoácidos- y carbohidratos) y asegurar la emergencia de la radícula y posterior establecimiento de las plántulas. La respuesta de las semillas de guanacaste expuestas a diferentes concentraciones del insecticida malatión en el bioensayo de toxicidad, presentaron un 100% de germinación; en comparación al 25% de germinación en un estudio reportado por Botelho *et al.* (2021); la diferencia es debido a que no aplicaron un tratamiento pre-germinativo para romper la dormancia de la semilla, como lo menciona Viveros-Viveros *et al.* (2014). Una característica de las semillas de guanacaste es su tamaño (3 cm aprox.) y masa seca (1085 mg), además del contenido de reserva nutritiva para el embrión (Soriano *et al.* 2013); Moles & Westoby (2006) mencionan que, de manera general, las plántulas de semillas grandes muestran mayor tasa de establecimiento que las especies con semillas pequeñas.

La emergencia de la radícula (fin de la germinación) se registró a las 72h posterior a la fase de imbibición; a pesar de estar en contacto con el malatión y sufrir daños la semilla (Fig. 5) el tamaño de la radícula y el peso de la semilla fueron en aumento conforme transcurrió el tiempo (Fig. 6 y 7); sin embargo, se registró la tendencia de a mayor concentración de malatión menor tamaño de radícula; al igual que lo reportado por Singh & Krishna (2017), Sheikh *et al.* (2020), y, Kumar & Gopal (2017), utilizando semillas de plantas cultivadas (cebolla y trigo) y concentraciones de malatión menores a las empleadas en el presente trabajo. Mostafalou *et al.* (2012) mencionan que el malatión produjo especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés) que conducen al estrés

oxidativo en plantas; provocando disminución del índice mitótico y la inducción de aberraciones cromosómicas en el ensayo con *Allium cepa*, corroborando que el malatión es potencialmente citotóxico y genotóxico (Sheikh *et al.* 2020); como respuesta de las plantas al estrés oxidativo, el sistema de defensa antioxidante incluye enzimas como la catalasa (CAT), superóxido dismutasa (SOD) y peroxidasa (POX).

Parámetros toxicológicos

El índice de germinación (IG) en el bioensayo de toxicidad con semillas de guanacaste estuvo en el intervalo de 70 a 80% (Tabla I); de acuerdo con los criterios de clasificación del IG propuesto por Zucchini *et al.* (1981); se clasifican en daños severos valores \leq a 50%, moderados valores entre 50 y 80%, y suave o ligero mayor a 80%. Por lo anterior, las semillas de guanacaste expuestas al malatión presentaron un efecto subletal moderado, lo cual se comprobó con la emergencia y crecimiento de la radícula en el tiempo del bioensayo (120 h). La concentración máxima en la que no se observó un efecto adverso (NOAEC) en el tamaño de la radícula fue en T5 (2500 ppm), la mayor concentración de malatión en el bioensayo. Kumar & Gopal (2017), reportaron un comportamiento similar de la radícula en germinados de trigo con la concentración de 50 y 100 ppm (la mayor concentración en su bioensayo). Si consideramos que el malatión tiene fósforo en su composición, la plántula lo puede utilizar como nutriente; sin embargo, el mayor desarrollo de la radícula en muestras con malatión vs el control no se debe considerar como favorable (Sobrero & Ronco 2008); la posible explicación a este comportamiento se conoce como hormesis: es el resultado de la respuesta de la planta a un ligero nivel de estrés que optimiza sus

procesos fisiológicos para dar una ventaja al embrión en desarrollo y, a menudo, da como resultado un mayor porcentaje de germinación (Calabrese 2014).

Consideraciones finales

Las semillas de las plantas silvestres son de vital importancia para el ecosistema del cual forman parte; además de cumplir con su rol en la red alimenticia, son la potencial nueva generación de su especie. Las semillas están expuestas a factores bióticos (endógenos -propios de la semilla-, predación, pisoteo, dispersión por fauna, entre otros) y abióticos (humedad, temperatura, radiación solar, entre otros) que afectan su germinación; desafortunadamente el factor antropogénico (actividades humanas) tiene un impacto negativo no solo en las semillas sino en el ecosistema en general. La aplicación de productos químicos en la agricultura para el control de insectos es una práctica común, sin embargo, provoca daños en organismos no blanco (target) como las semillas. Otro aspecto que destacar es la escasa investigación en el área ambiental (contaminación) relacionada con especies vegetales silvestres comparada con las plantas cultivadas.

Conclusión

La viabilidad de las semillas de guanacaste (en las condiciones descritas) fue del 100%, pero es importante la escarificación física para romper la latencia de la semilla.

La exposición de las semillas de guanacaste al malatión (1000, 1500, 2000 y 2500 ppm) presentaron un efecto subletal moderado; lo cual se comprobó por la emergencia y tamaño de la radícula, y el 100% de germinación.

Agradecimientos

A dos revisores anónimos quienes realizaron valiosas aportaciones para mejorar el presente documento.

Referencias

- Ali, F., G. Qanmber, F. Li & Z. Wang. 2022. Update role of ABA in seed, maturation, dormancy, and germination. *Journal of Advanced Research* 35: 199-214.
- Amezcu-Romero, J.C. & R. Vera-Estrella. 2012. Las plantas y sus acuaporinas. *Revista Ciencia*, enero-marzo 58-67.
- Arriaga, L., J.M. Espinoza, C. Aguilar, E. Martínez, L. Gómez & E. Loa (coordinadores). 2000. Regiones terrestres prioritarias de México. Comisión Nacional para el Conocimiento y uso de la Biodiversidad. México.
- Barrance, A. 2003. Árboles de Centroamérica: un manual para extensionistas. J. Cordero, & D. Boshier (Eds.). Bib. Orton IICA/CATIE.
- Botelho, C.I., B.M. do Vale, P. Cuevas-Reyes, Y. Maldonado-López, J.S. Aguilar-Peralta, M.P. & de Abreu. 2021. Effects of landscape disturbance on seed germination of *Enterolobium contortisiliquum* (Fabaceae) in Brazilian seasonally tropical dry forest: ¿Are seeds a sensitive biomarker of environmental stress? *Ecological Indicators* 125:107451.
- Calabrese, J.E. 2014. Hormesis: A fundamental concept in biology. *Microbial Cell* 1(5): 145-149.
- Chakraborty, S., B. Tiwari, S.S. Sing, A.K. Srivastava & A.K. Mishra. 2017. Differential physiological, oxidative and antioxidative responses of cyanobacterium *Anabaena sphaerica* to attenuate malathion pesticide toxicity. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 11: 56-63.
- Comisión Nacional para el Conocimiento y uso de la Biodiversidad (CONABIO). Consultado el 08 de julio del 2022: http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/info_especies/arboles/doctos/41-legum16m.pdf.
- Cuevas-Díaz, Ma. del C., J. de la L. Rosaldo-Santiago & J. López Luna. 2012. Evaluación de la toxicidad de los suelos mediante bioensayos con semillas. En: *Métodos ecotoxicológicos para la evaluación de suelos contaminados con hidrocarburos*. Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales 135pp.
- Foroughbakhch, R., M.A. Alvarado-Vázquez, J.L.

- Hernández-Piñero, A. Rocha-Estrada, M.A. Guzmán-Lucio & E.J. Treviño-Garza. 2006.** Establishment, growth, and biomass production of 10 tree Woody species introduced for reforestation and ecological restoration in northeastern Mexico. *Forest Ecology and Management* 235:194-201.
- Franca-Neto, J. de B. & F.C. Krzyzanowski. 2019.** Tetrazolium: an important test for physiological seed quality evaluation. *Journal of Seed Science* 41(3): 359-366.
- Gift J., D. J. Allen & T. Blessinger (2020).** Benchmark Dose Software (BMDS). Version 3.2. Environmental Protection Agency (EPA). E.U.
- Griscom, P.H. & M. Ashton M. 2011.** Restoration of dry tropical forest in Central America: A review of pattern and process. *Forest Ecology and Management* 261:1564-1579.
- Kumar, S. & S.J. Gopal. 2017.** Effect of malathion on seed germination and photosynthetic pigments in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Asian Journal of Applied Science and Technology* 1(7): 158-167.
- Martínez-Aguilar, K., I.A. Pérez-Legaspi, E. Ramírez-Fuentes, Ma N. Trujillo-Tapia, & L.A. Ortega-Clemente. 2018.** Growth, photosynthesis, and removal responses of the *Chroococcus* sp. to malathion and malaoxon. *Journal of Environmental Science and Health, part B* 1-6.
- Mattana, E., T. Ulian & H.W. Pritchard. 2022.** Seeds as natural capital. *Trends in Plant Science* 27(2): 139-146.
- Meave, J.A., M.A. Romero-Romero, S.H. Salas-Morales, E.A. Pérez-García & J.A. Gallardo-Cruz. 2012.** Diversidad, amenazas y oportunidades para la conservación del bosque tropical caducifolio en el estado de Oaxaca, México. *Ecosistemas* 21(1-2): 85-100.
- Moles, A.T. & M. Westoby. 2006.** Seed size and plant strategy across the whole life cycle. *Oikos* 113: 91-105.
- Mostafalou, S., M. Abdollahi, M.A. Eghbal & N.S. Kouzehkonani. 2012.** Protective effect of NAC against malathion-induced oxidative stress in freshly isolated rat hepatocytes. *Avd Pharm Bull* 2(1): 79-88.
- Nonogaki, H., G.W. Bassel & J.D. Bewley. 2010.** Germination-still a mystery. *Plant Science* 179:574-581.
- Rajjou, L., M. Duval, K. Gallardo, J. Catusse, J. Bally, C. Job & D. Job. 2012.** Seed germination and vigor. *Annu. Rev. Plant Biol* 63:507-533.
- Rani, L., K. Thapa, N. Kanojia, N. Sharma, S. Singh, A.S. Grewal, A.L. Srivastav & J. Kaushal. 2021.** An extensive review on the consequences of chemical pesticides on human health and environment. *Journal of Cleaner Production* 283: 124657.
- Ren, X., G. Zeng, L. Tang, J. Wang, J. Wan, Y. Liu, J. Yu, H. Yi, Sh. Ye & R. Deng. 2018.** Sorption, transport, and biodegradation -An insight into bioavailability of persistent organic pollutants in soil. *Science of the Total Environment* 610-611: 1154-1163.
- Sheikh, N., H. Patowary & L.R. Amin. 2020.** Screening of cytotoxic and genotoxic potency of two pesticides (malathion and cypermethrin) on *Allium cepa* L. *Molecular & Cellular Toxicology* 1-9.
- Singh, D. & R.B. Krishna. 2017.** Evaluation of malathion-induced cytogenetical effects and oxidative stress in plants using *Allium* test. *Acta Physiol Plant* 39:92.
- StatSoft, Inc. 2004.** STATISTICA (data analysis software system), version 7. www.statsoft.com.
- Sobrero, M.C. & A. Ronco. 2008.** Ensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga (*Lactuca sativa* L.). En: *Ensayos toxicológicos para la evaluación de sustancias químicas en agua y suelo, La experiencia en México.* SEMARNAT. México.
- Soriano, D., P. Huante, A. Gamboa-de Buen & A. Orozco-Segovia. 2013.** Seed reserve translocation and early seedling growth of eight tree species in a tropical deciduous forest in México. *Plant Ecol* 214: 1361-1375.
- Torres-Colín, R. 2004.** Tipos de vegetación. En: *Biodiversidad de Oaxaca.* Instituto de Biología, UNAM- Fondo Oaxaqueño para la Conservación de la Naturaleza-WWF. México, pp. 105-117.
- Varnero, M.T., C. Rojas & R. Orellana. 2007.** Índices de fitotoxicidad en residuos orgánicos durante el compostaje. *J. Soil Sc. Nutr* 7(1):28-37.
- Viveros-Viveros, H., J.D. Hernández-Palmeros, M.V. Velasco-García, R. Robles-Silva, C. Ruíz-Montiel, A. Aparicio-Rentería, Ma. de J. Martínez-Hernández, J. Hernández-Villa & M.L. Hernández-Hernández. 2014.** Análisis de semilla, tratamientos pregerminativos de *Enterolobium cyclocarpum* (jacq.) Griseb. y su crecimiento inicial. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales* 6(30): 52-65.
- Zucconi, F., A. Pera, M. Forte & M. De Bertoli. 1981.** Evaluating toxicity in immature compost. *Biocycle* 22: 54-57.