



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE
HIDALGO
INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA
DOCTORADO EN CIENCIAS EN BIODIVERSIDAD
Y CONSERVACIÓN**

TESIS DOCTORAL

**DIVERSIDAD MORFOLÓGICA Y GENÉTICA DE
MAGNOLIA MEXICANA (DC.) G. DON (SECCIÓN
TALAUMA, MAGNOLIACEAE) EN MÉXICO**

Para obtener el grado de
Doctora en Ciencias en Biodiversidad y Conservación

PRESENTA

M. en C. Marisol Gutiérrez Lozano

Director

Dr. Arturo Sánchez González

Codirector

Dr. José Antonio Vázquez García

Mineral de la Reforma, Hidalgo, México; julio de 2022



Mineral de la Reforma, Hgo., a 21 de julio de 2022

Número de control: ICBI-D/956/2022
Asunto: Autorización de impresión de tesis.

M. EN C. JULIO CÉSAR LEINES MEDÉCIGO
DIRECTOR DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR DE LA UAEH

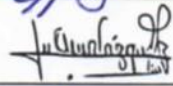
Por este conducto le comunico que el comité revisor asignado a la C. Marisol Gutiérrez Lozano, alumna del Doctorado en Ciencias en Biodiversidad y Conservación con número de cuenta 238856, autoriza la impresión del proyecto de tesis titulado "Diversidad morfológica y genética de *Magnolia mexicana* (DC.) G. Don (Sección Talauma, Magnoliaceae) en México", en virtud de que se han efectuado las revisiones y correcciones pertinentes.

A continuación se registran las firmas de conformidad de los integrantes del comité revisor.

PRESIDENTE Dr. Pablo Octavio Aguilar



SECRETARIO Dr. José Antonio Vázquez García



VOCAL Dr. Arturo Sánchez González



SUPLENTE Dra. Dulce Galván Hernández



Sin otro particular reitero a Usted la seguridad de mi atenta consideración.

Atentamente
 "Amor, Orden y Progreso"

Dr. Otilio Arturo Acevedo Sandoval
 Director del ICBI



OAAS/CIAF

Ciudad del Conocimiento
 Carretera Pachuca-Tulancingo km 4.5 Colonia
 Carboneras, Mineral de la Reforma, Hidalgo,
 México. C.P. 42184
 Teléfono: 771 71 720 00 ext. 2231 Fax 2109
 direccion_icbi@uaeh.edu.mx



AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Arturo Sánchez González, mi director de tesis por su apoyo incondicional, su tiempo, su confianza, su paciencia, su preocupación, por sus enseñanzas, por su guía durante este trabajo, por su atención y sobre todo por creer en mí.

A los miembros de mi Comité Tutorial: Dr. José Antonio Vázquez García, Dr. Pablo Octavio Aguilar y Dra. Dulce María Galván Hernández por el tiempo dedicado a la revisión de este trabajo, por sus valiosas aportaciones, comentarios y correcciones.

A mis amigos y compañeros de posgrado: Ely, Luis, José Luis, Mario, Liliana y Francisco por compartir momentos inolvidables a su lado a lo largo del doctorado y por seguir disfrutando de nuestra amistad.

A todos los profesores que ahora hacen de mí una mejor persona, a mis compañeros de la generación XX, que dieron un toque muy especial a esta travesía...no los voy a olvidar.

A todas las personas de las localidades: Sr Arnulfo, Sr. Francisco, Biól. Guillermo, Sr. Lorenzo (Puebla), Diego y Sr. Joaquín (Veracruz) por su amabilidad, disposición y apoyo durante el trabajo de campo.

A CONACyT por la beca otorgada con número 736908 para la realización de mis estudios de posgrado.

Asimismo al proyecto CONACyT, Ciencia Básica CB-2016/284484: "Efecto del cambio climático sobre poblaciones relictas de árboles: integrando dendrocronología y genética de poblaciones".

Finalmente gracias, a todas las personas que ayudaron directa e indirectamente en la realización de este proyecto.

DEDICATORIA

A Dios por haberme acompañado y guiado a lo largo del doctorado, por ser mi fortaleza en los momentos de debilidad y por brindarme una vida llena de aprendizajes, experiencias y sobre todo de felicidad.

A mis padres por apoyarme en todo momento, por los valores que me han inculcado, y por haberme dado la oportunidad de tener una excelente educación en el transcurso de mi vida, pero sobre todo por ser un excelente ejemplo de vida a seguir.

A mis hermanos por ser parte importante de mi vida, por llenar mi vida de alegría y amor cuando más lo he necesitado.

Los amo familia!!!

Contenido	Página
Índice de figuras	VI
Índice de tablas.....	VIII
Resumen.....	10
CAPÍTULO I.....	12
Introducción general.....	13
Antecedentes.....	16
Familia Magnoliaceae.....	16
Sección <i>Talauma</i> , Subsección <i>Talauma</i> en México.....	17
Estudios de variabilidad morfológica y genética en el género <i>Magnolia</i>	18
Descripción botánica de <i>Magnolia mexicana</i>	24
Distribución del complejo de <i>Magnolia mexicana</i>	26
Fenología y requerimientos.....	28
Importancia y usos.....	28
Objetivos.....	29
General.....	29
Particulares.....	29
Literatura citada.....	30
CAPÍTULO II.....	38
Variación en la morfología foliar, floral y frutal de <i>Magnolia mexicana</i> (Sección <i>Talauma</i>, Magnoliaceae) en México.....	39
Resumen.....	39
Introducción.....	40
Material y métodos.....	41
Zona de estudio.....	41
Trabajo de campo.....	41
Variables morfológicas.....	42
Análisis estadístico.....	42

Resultados.....	43
Variación morfológica poblacional de <i>Magnolia mexicana</i>	43
Semejanza en la morfología foliar, floral y frutal de <i>Magnolia mexicana</i>	46
Variación morfológica poblacional de <i>Magnolia mexicana</i>	46
Estadísticos descriptivos.....	48
Comparación de las especies del complejo <i>Magnolia mexicana</i>	48
Discusión.....	48
Agradecimientos.....	54
Literatura citada.....	54
Apéndice 1.....	59
Anexos.....	60
CAPÍTULO III.....	65
Diversidad y estructura genética de <i>Magnolia mexicana</i> (Sección Talauma, Magnoliaceae) en México.....	66
Resumen.....	67
Introducción.....	68
Material y métodos.....	71
Zona de estudio.....	71
Extracción-Amplificación de DNA de <i>Magnolia mexicana</i>	75
Análisis estadístico.....	78
Resultados.....	80
Diversidad genética.....	80
Estructura genética.....	82
Discusión.....	87
Agradecimientos.....	92
Literatura citada.....	92
CAPÍTULO IV.....	102
Discusión Integral.....	103

Propuestas de conservación y manejo de <i>Magnolia mexicana</i>	105
Conservación <i>in situ</i>	106
Conservación <i>ex situ</i>	108
Conclusiones generales	110
Literatura citada	112

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura **Página**

CAPÍTULO 1

Introducción general

1. Especie de estudio. A) Árbol de *Magnolia mexicana*, B) y C) Botones florales, D) y E) Flores de Zapotla, Zóngolica, F) Fruto 25
2. Distribución de especies que pertenecen a la sección *Talauma* en Centroamérica..... 27

CAPÍTULO II

Diversidad y variación fenotípica de *Magnolia mexicana* (Sección *Talauma*, *Magnoliaceae*) en México

1. Localización de las poblaciones de *Magnolia mexicana* en México..... 41
2. Variables morfológicas de *Magnolia mexicana*..... 43
3. Dendrograma del AA foliar, floral y frutal que muestra las relaciones jerárquicas de semejanza entre los 38 individuos..... 46
4. Diagrama de ordenación del DAPC para las 11, 16 y 8 características morfológicas de flor, hoja y fruto respectivamente seleccionadas en los 38 individuos..... 48
5. Análisis de varianza que explicaron mayor porcentaje de variación en los AD..... 51

CAPÍTULO III

Diversidad y estructura genética de *Magnolia mexicana* (Sección *Talauma*, *Magnoliaceae*) en México

1. Localización de las poblaciones de *Magnolia mexicana* en México..... 74
2. Agrupamiento Neighbor-Joining basado en las distancias de Nei para las poblaciones de *Magnolia mexicana*..... 83

3. Análisis de agrupamiento Bayesiano. A) Determinación del número de grupos genéticos (Delta K) por el método de Evanno et al. (2005). B) Distribución de grupos genéticos entre las localidades de *Magnolia mexicana*..... 84

4. Análisis discriminante de componentes principales (DAPC), entre las poblaciones de *Magnolia mexicana* evaluadas..... 85

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla	Página
CAPÍTULO 1	
Introducción general	
1. Estudios morfo-ecológicos en el género <i>Magnolia</i>	20
2. Estudios a nivel molecular en <i>Magnolia</i>	21
CAPÍTULO II	
Diversidad y variación fenotípica de <i>Magnolia mexicana</i> (Sección Talauma, Magnoliaceae) en México	
1. Características generales de las localidades de estudio.....	42
2. Características morfológicas de foliares, florales y frutales de <i>Magnolia mexicana</i>	44
3. Coeficientes de variación (CV) de las características morfológicas foliares, florales y frutales analizadas en <i>Magnolia mexicana</i>	45
4. Características morfológicas de foliares, florales y frutales de <i>Magnolia mexicana</i>	47
5. Análisis discriminante para las 11, 16 y 8 características morfológicas de flor, hoja y fruto respectivamente seleccionadas en los 60 individuos (AD).....	49
6. Matriz de distancias de Mahalanobis para las 11, 16 y 8 características morfológicas de flor, hoja y fruto respectivamente seleccionadas en los 60 individuos.....	50
7. Estadísticos descriptivos de las características morfológicas con mayor rango de variación.....	52
8. Comparaciones morfológicas de las especies segregadas de <i>Magnolia mexicana</i> en México.....	53
9. Anexos.....	60

CAPÍTULO III

Diversidad y estructura genética de *Magnolia mexicana* (Sección Talauma, Magnoliaceae) en México

1. Características generales de las localidades de estudio y tamaño de muestras de <i>Magnolia mexicana</i>	73
2. Marcadores moleculares que se utilizarán para el análisis genético de las poblaciones de <i>Magnolia mexicana</i> en México.....	77
3. Valores de diversidad genética en las poblaciones de <i>Magnolia mexicana</i> evaluadas.....	81
4. Análisis de varianza molecular (AMOVA) para las ocho poblaciones de <i>Magnolia mexicana</i>	82
5. Probabilidad obtenida por el análisis de cuello de botella.....	86

Resumen

Magnolia mexicana es una especie endémica y amenazada del bosque tropical subcaducifolio, cuyas poblaciones se encuentran aisladas y reducidas a causa de la fragmentación de su hábitat, cambio de uso de suelo, explotación de frutos, flores y madera. En México se distribuye en la Sierra Madre Oriental, en los estados de Puebla y Veracruz. Con el objetivo de evaluar los niveles de variación morfológica y genética dentro y entre poblaciones, se realizó el muestreo de seis (análisis morfométrico) y siete (análisis genético) poblaciones de *M. mexicana* que se distribuyen en los estados de Puebla y Veracruz. Dentro de estos sitios se seleccionaron 48 árboles para la recolección y procesamiento de 480 hojas, 240 flores y 84 frutos en total, con la finalidad de evaluar 34 caracteres morfológicos. Adicionalmente, se recolectaron muestras de material foliar en fresco de cada individuo para la evaluación a nivel molecular. Las 64 muestras de material foliar recolectadas, fueron procesadas con el protocolo de Bromuro de Cetil-metilamonio (Doyle y Doyle, 1987), para la obtención de DNA, el cual fue congelado a -20°C para su posterior amplificación. Se emplearon 12 microsatélites SSR (Secuencias Simples Repetidas), que fueron desarrollados en distintos estudios para el análisis genético de especies de magnolias tropicales: MA39_159, MA39_182, MA39_185, MA39_236, MA39_342, MA39_348, MA40_282, MA41_076, MA41_373, MA42_028, MA42_231 y MA42_471. En el análisis de los datos morfológicos y moleculares obtenidos, se utilizó el programa STATISTICA (versión 7.0); y con los datos moleculares los programas GenAIEx (versión 6.3) y STRUCTURE (versión 2.3.4). La variación morfológica, de acuerdo al valor promedio del coeficiente de variación fue mayor en los frutos (12.72 %), valor similar al estimado para el total de los caracteres de la flor (13.94

%) y de la hoja: 14.07 %. Los primeros componentes principales explicaron 85 %, 69 % y 68 % de la variación foliar, floral y frutal, respectivamente; y las primeras dos funciones discriminantes 82 %, 66 % y 94 % de dicha variación. Los caracteres morfológicos con mayor variación fueron: diámetro del peciolo y vena media, número de estambres, ancho de carpelos, y largo y ancho de semillas. El rango de variación en las características morfológicas de *M. mexicana* fue más amplio que el documentado en la descripción original de la especie. Los resultados de la variación genética, mostraron que la heterocigosis media esperada fue de 0.463 y la riqueza alélica de 0.773. La diversidad genética fue baja comparada con la registrada en otras especies del género. El análisis de varianza molecular (AMOVA) indicó que el mayor porcentaje de varianza molecular fue entre individuos (72%) y entre poblaciones (24%). Los resultados de los análisis: Neighbor-Joining, agrupamiento bayesiano (obtenido con el programa STRUCTURE) y del diagrama de ordenación obtenido por medio del análisis de discriminante canónico indican que las poblaciones se pueden agrupar y ordenar en tres grupos genéticos. Se observaron efectos de cuello de botella recientes en la mayoría de las poblaciones naturales con excepción de la población de El Cajón. El análisis de Mantel indica que la correlación entre las distancias geográficas y genéticas no es significativa. Los resultados obtenidos muestran que la fragmentación del hábitat y la influencia del uso local desmedido de flores y frutos de *M. mexicana*, podrían estar relacionados con la variación alta morfológica y la pérdida de variabilidad genética de la especie; por ello es urgente implementar medidas de protección y desarrollar programas de manejo y conservación a corto plazo, con urgencia.

CAPÍTULO I

Introducción general

Introducción general

Magnoliaceae, es una familia de árboles y arbustos con dos géneros: *Liriodendron* L. con solo dos especies (>1%) y *Magnolia* L. con alrededor de 350 especies (>99%), cuya distribución es disyunta en América y Asia (Vázquez-García *et al.*, 2015) agrupadas en 12 secciones, con base en su morfología (Figlar y Nootboom, 2004; Kim y Suh, 2013).

Magnolia se caracteriza por presentar androceo con estambres numerosos, gineceo sobre un eje alargado con carpelos numerosos simples ambos dispuestos en espiral y perianto de tépalos o diferenciado en sépalos y pétalos (Cicuzza *et al.*, 2007; Kim y Suh, 2013; Vázquez-García *et al.*, 2016). Las flores presentan separación temporal (protoginia) durante la maduración de las estructuras reproductivas, como una condición ancestral para evitar la auto-fecundación (Azuma *et al.*, 2001).

Magnolia Sect. *Talauma*, (Juss.) Baill., subsect. *Talauma* comprende 72 especies, exclusivas del Neotrópico y se distribuyen desde México hasta el sureste de Brasil, incluido el Caribe. Se caracteriza por presentar estípulas adnadas al pecíolo las cuales, al desprenderse, para dar paso a la nueva hoja, dejan una cicatriz muy visible; los carpelos tienen dehiscencia circuncisa y los estomas se agrupan en cinco (Vázquez-García *et al.*, 2014, 2016; Pérez-Castañeda, 2015). *Magnolia mexicana* (DC.) G. Don, es conocida localmente por su nombre náhuatl como “Yoloxóchitl” (flor de corazón); es un árbol perennifolio que puede alcanzar hasta 30 m de altura y un diámetro de hasta 1.30 m. Presenta flores solitarias con numerosos estambres y un ovario súpero compuesto por carpelos colocados en disposición helicoidal, las hojas son simples y dispuestas en espiral (Sánchez-Cuahua *et al.*, 2017).

Durante décadas se pensó que *Magnolia mexicana* era la única especie de la sección *Talauma* en el norte de Mesoamérica (México, Guatemala y Honduras; Lozano-Contreras, 1994), sin embargo, varios estudios recientes han permitido segregarse 16 especies alopátricas, 12 de México y 4 de Centroamérica (Vázquez-García *et al.*, 2012a; 2012b; 2013a; 2013b). Los estudios antes mencionados, indican que *M. mexicana* es endémica del oriente de México, se distribuye en la transición entre bosque mesófilo de montaña (BMM) y bosque tropical perennifolio (BTP; Palacios, 2006), en climas cálidos y sub-cálidos húmedos, en un intervalo altitudinal de entre 450 y 1,500 m (Sánchez-Cuahua *et al.*, 2017). La presencia de individuos de esta especie se ha registrado en Oaxaca, Puebla y Veracruz, aunque aún falta por confirmar el estado actual y la densidad de algunas de sus poblaciones.

La fragmentación del bosque (destrucción de su hábitat) por el cambio de uso de suelo, ha provocado el aislamiento y la reducción de las poblaciones de *M. mexicana* (Medrano *et al.*, 2017; Arteaga-Ríos *et al.*, 2020), algunas existen sólo como remanentes o relictos asociadas a cultivos, donde los árboles son utilizados para proporcionar sombra, principalmente en cafetales (Palacios, 2006; Medrano-Hernández *et al.*, 2017). Por lo antes mencionado, la especie se considera como “amenazada” en la NOM-059-SEMARNAT-2010 (SEMARNAT, 2010) y en “peligro de extinción” en la lista roja de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN, 2012).

En bosque conservado se han reportado 26 especies de aves que visitan los frutos de *Magnolia mexicana*, siendo el principal consumidor de semillas en este hábitat *Catharus guttatus* con 21 visitas, mientras que solo se observaron 11 especies de aves

siendo en este agrosistema *Myadestes occidentalis* el principal consumidor con 25 visitas (Gutierrez-Zúñiga, 2018).

Con respecto a la fenología de *M. mexicana*, la producción de botones florales y flores comprende el periodo de marzo a mayo y la fructificación inicia en los meses de julio y agosto (Palacios, 2006; Sánchez-Cuahua, 2016; 2017), culminando en marzo o abril del siguiente año. Los individuos de esta especie tienen usos tradicionales: las flores y corteza para tratar afecciones cardíacas (Pennigton y Sarukhán, 1998; Cicuzza *et al.*, 2007; Vázquez García *et al.*, 2015; 2016); la infusión de la corteza se usa en medicina casera contra la hipertensión arterial, mientras que las flores se emplean como antiespasmódicas, para aromatizar el chocolate y las semillas contra la parálisis. También se usa con fines rituales, como planta de ornato en patios, parques y jardines, por su follaje exuberante y por la belleza y aroma de sus flores (Pennigton y Sarukhán, 2005; Sánchez-Cuahua *et al.*, 2017).

Los trabajos realizados hasta ahora con *M. mexicana* han versado sobre taxonomía, descripción botánica, interacciones y usos tradicionales (Waizel-Bucay, 2002; Palacios, 2006; Cicuzza *et al.*, 2007; Sánchez-Cuahua, 2016; 2017). Recientemente, se realizó un estudio genético utilizando marcadores moleculares (ISSR) en dos poblaciones de Zongolica, Veracruz; la investigación reveló que la estructura genética de la especie no ha cambiado significativamente, a pesar de la baja densidad poblacional y la fragmentación del hábitat (Medrano-Hernández, 2017).

El conocimiento de la variación morfológica y genética a nivel poblacional adquiere relevancia en taxones que se consideran en alguna categoría de riesgo, como es el caso de la mayoría de las especies de *Magnolia* del planeta (Vázquez-García *et al.*, 2015; Yang

et al., 2015). En el caso particular de *M. mexicana*, es importante conocer el grado de variación fenotípica y genotípica de sus poblaciones para definir con precisión patrones de especiación, límites taxonómicos con respecto a otras especies evolutivamente cercanos y para proveer información fundamental sobre su estado actual, con el fin de proponer acciones de manejo y conservación adecuadas.

Antecedentes

Familia Magnoliaceae

Las magnolias ancestrales datan del Cretácico tardío, cuyos fósiles mas antiguos se reportan de Norte América ((~95 MA) con un amplio registro fósil en Groenlandia, Norte América y Europa, y actualmente con distribución disyunta bicontinental (Hebda y Irwin, 2013). Una estimación molecular reciente sugiere una edad de (98-) 84.1(-59) MA (Veltjen *et al.*, 2021). En Asia se encuentra en China, India, Thailandia, Indonesia, Vietnam, Cambodiaa, Indonesia, Japón, Malasia, Nueva Guinea y Sri Lanka. En el continente americano se distribuye desde el norte de los E.U.A. al sur de Brasil, a través de México, América Central y Llas Antillas (Cicuzza *et al.*, 2007; Sánchez-Velásquez *et al.*, 2016).

Las magnólicas (que incluye Magnoliaceae) son unos de los cuatro linajes más basales dentro de las plantas con flores, por ello son reconocidas como fósiles vivientes, que han sufrido pocos cambios evolutivos en su estructura u órganos, incluyendo hojas, corteza, flores, frutos y semillas (Corneanu *et al.*, 2004; Kim *et al.*, 2004; Sánchez-Velásquez *et al.*, 2016), a través del tiempo. Del mismo modo, sus interacciones con otros

organismos han persistido: por ejemplo, la polinización por escarabajos (Gottsberger *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2014).

En general poseen hojas alternas o a veces agrupadas en falsos verticilos, son simples, enteras, con estipulas anchas que al caer dejan una cicatriz que rodea los nudos, presentan flores solitarias, terminales o axilares, hermafroditas, pedunculadas, normalmente grandes y vistosas. Los estambres son numerosos y libres, el fruto presenta aspecto de piña, formado por folículos persistentes y dehiscentes (Hernández-Cerda, 1980; Vázquez-García, 1990; Vázquez-García *et al.*, 2015). El área de distribución de las magnolias es en el este y sureste de Asia, este de Norteamérica, Centroamérica hasta el este de Brasil y las Antillas (Hernández-Cerda, 1980).

Sección *Talauma*, Subsección *Talauma* en México

La familia Magnoliaceae en el Neotrópico está representada por un género, *Magnolia* con 170 especies (Vázquez-García *et al.*, 2014). El género *Magnolia* en el Neotrópico se divide en tres secciones y tres subsecciones.

La Sección *Talauma* Baillón, se caracteriza por su follaje siempre verde; dehiscencia circuncisa, donde se desprenden las masas carpelares independientes, además el número de grupos de estomas es de 5, 3 y 2 (Baranova y Jeffery, 2000). Incluye 121 especies en tres subsecciones. La Subsección *Talauma* se distingue por su dehiscencia circuncisa, y por sus estipulas adnadas al pecíolo, las cuales al desprenderse dejan una cicatriz de extensión variable, según la especie, en ambos filos de la cara adaxial del pecíolo, convergiendo hacia el ápice. Consta de 72 especies,

exclusivamente neotropicales que se distribuyen en planicies y montañas continentales y del Caribe (Vásquez-García *et al.*, 2016).

Durante décadas se pensó que *Magnolia mexicana* era la única especie de la sección *Talauma* en el norte de Mesoamérica: México, Guatemala y Honduras (Lozano-Contreras, 1994). Sin embargo, estudios recientes han permitido segregar 16 especies alopátricas, 12 de México y 4 de Centroamérica (Vásquez-García *et al.*, 2012a; 2012b; 2013a; 2013b; 2019). Los estudios antes mencionados, indican que *M. mexicana* es endémica del oriente de México, se ha registrado en Oaxaca, Puebla y Veracruz, aunque aún falta por confirmar el estado actual y la densidad de algunas de sus poblaciones.

Estudios de variabilidad morfológica y genética en el género *Magnolia*

Estudios morfo-ecológicos

Teniendo en cuenta que los marcadores moleculares son neutrales, es decir, se encuentran sometidos a la acción de fuerzas evolutivas (Kreitman y Akashi, 1995), las decisiones en cualquier estrategia de conservación deben combinar los datos obtenidos a partir de marcadores moleculares y los obtenidos a partir de la evaluación de rasgos morfológicos, fisiológicos o reproductivos que son críticos en el proceso de adaptación y supervivencia de las poblaciones en su hábitat (Becerra y Paredes, 2000; Rentería, 2007).

Los descriptores morfológicos tienen la ventaja de evaluar las diferencias fenotípicas expresadas en los individuos, están al alcance para uso inmediato, son fácilmente observables y no requieren de equipo sofisticado para medirlos y son la apreciación más directa del fenotipo (Hartl y Clark, 1997). Sin embargo, tienen

limitaciones ya que su número es escaso, pueden variar en las diferentes etapas del desarrollo de las plantas, están fuertemente influenciados por el ambiente y precisan de ser medidos por un experto en el grupo de interés (Picca *et al.*, 2004).

Los trabajos realizados con el género *Magnolia* abordan aspectos generales de biogeografía, distribución, ecología, producción, taxonomía y más recientemente, genética. Sin embargo, en Asia las magnolias han sido estudiadas ampliamente por su valor ecológico y farmacológico (Tabla 1). Algunos trabajos han tenido como tema central la descripción morfológica de las especies, en este sentido destaca el estudio realizado por Yang *et al.* (2015), quienes utilizaron 37 caracteres morfológicos foliares y florales de *M. sprengeri* en dos poblaciones que se localizan al sur y norte del río Changjiang, China, respectivamente. El estudio reveló una amplia variación morfológica dentro y entre poblaciones, lo que se atribuyó a la plasticidad fenotípica de la especie.

Otro trabajo que sobresale es el realizado por Vite (2016) en el estado de Hidalgo, México, quien analizó la variación morfo-anatómica de *M. schiedeana* a partir de seis variables foliares y 14 florales; los resultados indicaron que las características con mayor variación fueron: ancho máximo de lámina (AML), diámetro del pedúnculo (DPD) y longitud del eje floral (LEF).

Recientemente Gutiérrez-Lozano *et al.* (2020) evaluaron la variación morfológica de *M. rzedowskiana* en la Sierra Madre Oriental de México, utilizando 31 caracteres morfológicos de la hoja y la flor. Los resultados obtenidos se atribuyeron a la plasticidad fenotípica de la especie. Sin embargo, es importante realizar estudios a nivel genético, para corroborar, en qué grado, la diferenciación morfológica entre poblaciones está relacionada con la variación genética.

Tabla 1. Estudios morfo-ecológicos en el género *Magnolia* en el mundo

Autor	Año	Estudio
Thompkins	2004	An ecological study of <i>Magnolia macrophylla</i> in Gaston county, North Carolina
Wang <i>et al.</i>	2009	Autecology and conservation status of <i>Magnolia surgentiana</i> Rehder & Wilson (Magnoliaceae) in the Dafengding region, southern Sichuan Province, China
Mayer <i>et al.</i>	2009	Patchy population structure in a short-distance migrant: evidence from genetic and demographic data
Dominguez-Yescas	2013	Estudio etnobiológico de <i>Magnolia dealbata</i> Zucc., en San Juan Juquila Vijanos, Oaxaca
Yang <i>et al.</i>	2015	Phenotypic variation and diversity of <i>Magnolia sprengeri</i> Pamp. in native habitat
Wang <i>et al.</i>	2016	Rescuing <i>Magnolia sinica</i> (Magnoliaceae), a critically endangered species endemic to Yunnan, China
Sánchez-Velázquez	2016	Ecology and conservation of endangered species the case of Magnolias
Vite	2016	Estructura poblacional de <i>Magnolia schiedeana</i> Schltl. en dos ambientes contrastantes en el estado de Hidalgo, México
Sánchez-Cuahua	2016	La <i>Magnolia mexicana</i> en la Sierra de Zongolica, Ver: estudio poblacional y conocimiento tradicional
Gutiérrez-Zúñiga	2018	Dispersores de semillas de Yoloxóchitl (<i>Magnolia mexicana</i>) en dos localidades de Zongolica, Veracruz.
Gutiérrez-Lozano <i>et al.</i>	2020	Diferenciación morfológica poblacional de <i>Magnolia rzedowskiana</i> : especie endémica en peligro de extinción de la Sierra Madre Oriental, México

Estudios genéticos

Por otra parte, los avances alcanzados en el ámbito de la biología molecular han permitido desarrollar técnicas que superan en la mayoría de los casos, las limitaciones de las variables morfológicas (Rentería, 2007; Acosta-Hernández, 2011). En la actualidad se cuenta con un acervo de marcadores moleculares que permiten detectar la variabilidad genética: isoenzimas, RFLP (Fragmentos Largos de Restricción Polimórficos), RAPD (Amplificación al Azar de ADN Polimórfico), AFLP (Polimorfismo de la Longitud de los Fragmentos Amplificados), ISSR (Inter Secuencias Simples Repetidas) y SSR (Secuencias Simple Repetidas). Una de las características más importantes de los marcadores moleculares, es su especificidad para cada individuo, grupos de individuos, especies o grupos sistemáticos mayores (Rentería, 2007).

Actualmente, se han realizado un gran número de estudios genéticos-poblacionales basados en caracteres moleculares en taxones de *Magnolia*, algunos de ellos se presentan en el Tabla 2.

Tabla 2. Estudios a nivel molecular en *Magnolia*

Autor	Año	Estudio
Isagi y Kikuchi	2002	Microsatellite genetic variation in small and isolated populations of <i>Magnolia sieboldii</i> ssp. <i>japonica</i>
Isagi <i>et al.</i>	2004	Highly variable pollination patterns in <i>Magnolia obovata</i> revealed by microsatellite paternity analysis
Setsuko <i>et al.</i>	2007	Population differentiation and gene flow within a metapopulation of a threatened tree <i>Magnolia stellata</i> (Magnoliaceae)
Liyuan <i>et al.</i>	2014	High genetic diversity and small genetic variation among populations of <i>Magnolia wufengensis</i> (Magnoliaceae), revealed by ISSR and SRAP markers

Tabla 2. Estudios a nivel molecular en *Magnolia*

Autor	Año	Estudio
Wang <i>et al.</i>	2016	Rescuing <i>Magnolia sinica</i> (Magnoliaceae), a critically endangered species endemic to Yunnan, China.
Medrano <i>et al.</i>	2017	Molecular characterization using ISSR primers of <i>Magnolia mexicana</i> DC. from two regions in Zongolica, Veracruz, Mexico.
Von Kohn <i>et al.</i>	2018	Genetic diversity of <i>Magnolia ashei</i> characterized by SSR markers
Tamaki <i>et al.</i>	2018	Morphological and genetic divergence between two lineages of <i>Magnolia salicifolia</i> (Magnoliaceae) in Japan
Veltjen <i>et al.</i>	2018	Genetic patterns in Neotropical Magnolias (Magnoliaceae) using de novo developed microsatellite markers
Arteaga-Ríos <i>et al.</i>	2020	Comparación molecular y morfológica entre ejemplares de <i>Magnolia mexicana</i> “Yoloxóchitl” (Magnoliaceae) del estado de México y Veracruz
Deng <i>et al.</i>	2020	High genetic diversity and low differentiation in <i>Michelia shiluensis</i> , an endangered Magnolia species in South China
Fan <i>et al.</i>	2020	Decreasing genetic connectivity in the endangered tree <i>Magnolia patungensis</i> in fragmented forests
Hernández <i>et al.</i>	2020	Population structure and genetic diversity of <i>Magnolias cubensis</i> subsp. <i>acunae</i> (Magnoliaceae): effects of habitat fragmentation and conservation
Chávez-Cortázar <i>et al.</i>	2021	Conservation genetics of relict tropical species of <i>Magnolia</i> (section <i>Macrophylla</i>)
Aldaba-Núñez <i>et al.</i>	2021	Disentangling species delineation and guiding conservation of endangered Magnolias in Veracruz, México

De los trabajos antes mencionados, cabe resaltar tres: el realizado por Medrano-Hernández *et al.* (2017) con *Magnolia mexicana*, donde evaluaron la variabilidad genética en dos poblaciones de *M. mexicana* en el estado de Veracruz, México mediante el uso de marcadores moleculares ISSR. En el estudio probaron 55 iniciadores ISSR y solo seleccionaron 10 para la amplificación, observando 86% de polimorfismo. El análisis de varianza molecular demostró que la mayor variabilidad (90.88%) se encuentra dentro de cada población. En el otro estudio, realizado por Arteaga-Ríos *et al.* (2020), compararon 14 caracteres moleculares (iniciadores RAPD) y 18 morfológicos, entre ejemplares del Estado de México y Veracruz. Los resultados indicaron que los árboles de Yoloxóchitl de Malinalco y Zumpahuacán pertenecen a la sección *Talauma*, sin embargo, muestran amplia variación morfológica con respecto a *M. mexicana*.

Aldaba-Núñez *et al.* (2021) evaluaron la diversidad y estructura genética de 254 individuos que corresponden a cinco especies de *Magnolia*, para ello emplearon 15 marcadores SSR (Secuencias Simples Repetidas). En sus resultados indican que solo se pueden diferenciar con claridad tres especies; sin embargo, los pocos individuos estudiados de la Sierra de Zongolica, presentaron alta similitud genética con *M. mexicana*, aunque en función de su morfología pueden considerarse como individuos de la especie *M. decastroi*. Aunque Aldaba-Núñez *et al.* (2021) detectaron diferenciación genética en la mayoría de las poblaciones estudiadas (utilizando marcadores SSR), el número limitado de poblaciones y el tamaño reducido de muestras de *M. mexicana* utilizados, impiden llegar a una conclusión robusta del grado de diferenciación genética entre las poblaciones.

Descripción botánica de *Magnolia mexicana* (DC.) G. Don

Árboles.- perennifolios de copa amplia y redonda. Miden de 12 a 40 m de altura, con diámetro de hasta 1.35 m. Tronco erguido; corteza ligeramente fisurada, con coloración grisácea a pardo amarillenta en los individuos adultos. Presenta lenticelas blanquecinas glabras, café oscuro; peciolo 6.1-12.2 × 0.2-0.4 cm, glabros; *láminas foliares* elípticas a oblongo elípticas 18.2-37.1 × 9.5-16.3 cm, base aguda, ápice agudo a obtuso, a veces ligeramente emarginado, la base cuneada a truncada y el margen entero con 5-11 venas secundarias laterales por lado; pedúnculo glabro 6.1-12.2 × 0.2-0.4 cm con tres o cuatro entrenudos con cicatrices estipulares, botones florales anchamente elipsoides con dos hipsófilos, con pubescencia verde-amarillenta; *flor* abierta, tres sépalos obovados truncados en la base, de ápice redondo, verdosos, glabros y a menudo glaucos de 6.3-10.2 × 4.0-7.2 cm, adaxialmente blanco crema, abaxialmente verdes; seis pétalos, en dos ciclos, los exteriores obovados 3.8-6.6 × 5.8-8.7 cm, de ápice redondo, blancos, ocasionalmente con una mancha color púrpura en la base; tres pétalos internos obovados 5.8-8.7 × 2.9-4.9 cm; eje floral 4.9-7.0 cm de largo; estambres lineares 131-213 (-262), 1.2-1.8 × 0.2-1.0 cm, carnosos, amarillos, redondeados a obtusos en el ápice de color marrón oscuro; gineceo ovoide, de color blanco-crema, pubescente; carpelos 33-65 (-85), 2.2-3.2 × 0.4-0.6 cm, blancos en disposición helicoidal, levemente gibosos, estriados en la base, dorsalmente rugosos, con estigmas aplanados y blancos con ápice ascendente; fruto cerrado ovoide 10.2-14.2 (-15) × 7.9-10.8 (-13) cm, pardo verdoso y ligeramente pubescente, compuesto de numerosos folículos leñosos. Dehiscencia circuncisa. *Fruto* abierto de 6.8-9.4 (-11) cm de diámetro, cada folículo contiene una o dos semillas lateralmente comprimidas, presenta de 26-81 (-86) semillas obovadas,

rodeadas por una sarcotesta rojo-naranja, la cual se seca rápidamente adquiriendo coloración marrón. Debajo de la sarcotesta hay una cubierta castaña, crustácea y opaca que contiene abundante endospermo y un embrión diminuto cerca de la base.



Figura 1. Especie de estudio. A) Árbol de *Magnolia mexicana*, B) y C) Botones florales, D) y E) Flores de Zapotla, Zóngolica, F) Fruto

Distribución del complejo de Magnolia mexicana

El género *Magnolia* en el neotrópico posee 170 especies de árboles caducifolios y perennifolios (Weager, 1987; Doyle, 1989; Vázquez-García *et al.*, 2015), agrupados en 12 secciones (Kim y Suh, 2013; Romanov y Dicher, 2013). La sección *Talauma*, subsección *Talauma* particularmente en el norte de Centroamérica está representada por dos especies que se distribuyen en Honduras (*M. atlantida* y *M. cochranei*), dos en Guatemala (*M. ottoi*, *M. quetzal* y *M. stevermarkii*) y 12 especies nativas de México: *M. decastroi*, *M. macrocarpa* (Vázquez-García *et al.*, 2012) y *M. yailachii* (Domínguez-Yescas y Vázquez-García, 2019) de Oaxaca; *M. perezfarrerae* y *M. lacandonica* (Vázquez-García *et al.*, 2013) de Chiapas; *M. lopezobradorii*, *M. zoquepopolucae* (Vázquez-García *et al.*, 2012), *M. wendtii*, *M. sinacacolinii* (Vázquez-García *et al.*, 2013b) en Veracruz; *M. jaliscana* y *M. ofeliae* (Vázquez-García *et al.*, 2013b) en Jalisco; y por ultimo *M. mexicana* que se distribuye en los estados de Oaxaca, Puebla y Veracruz (Figura 2).

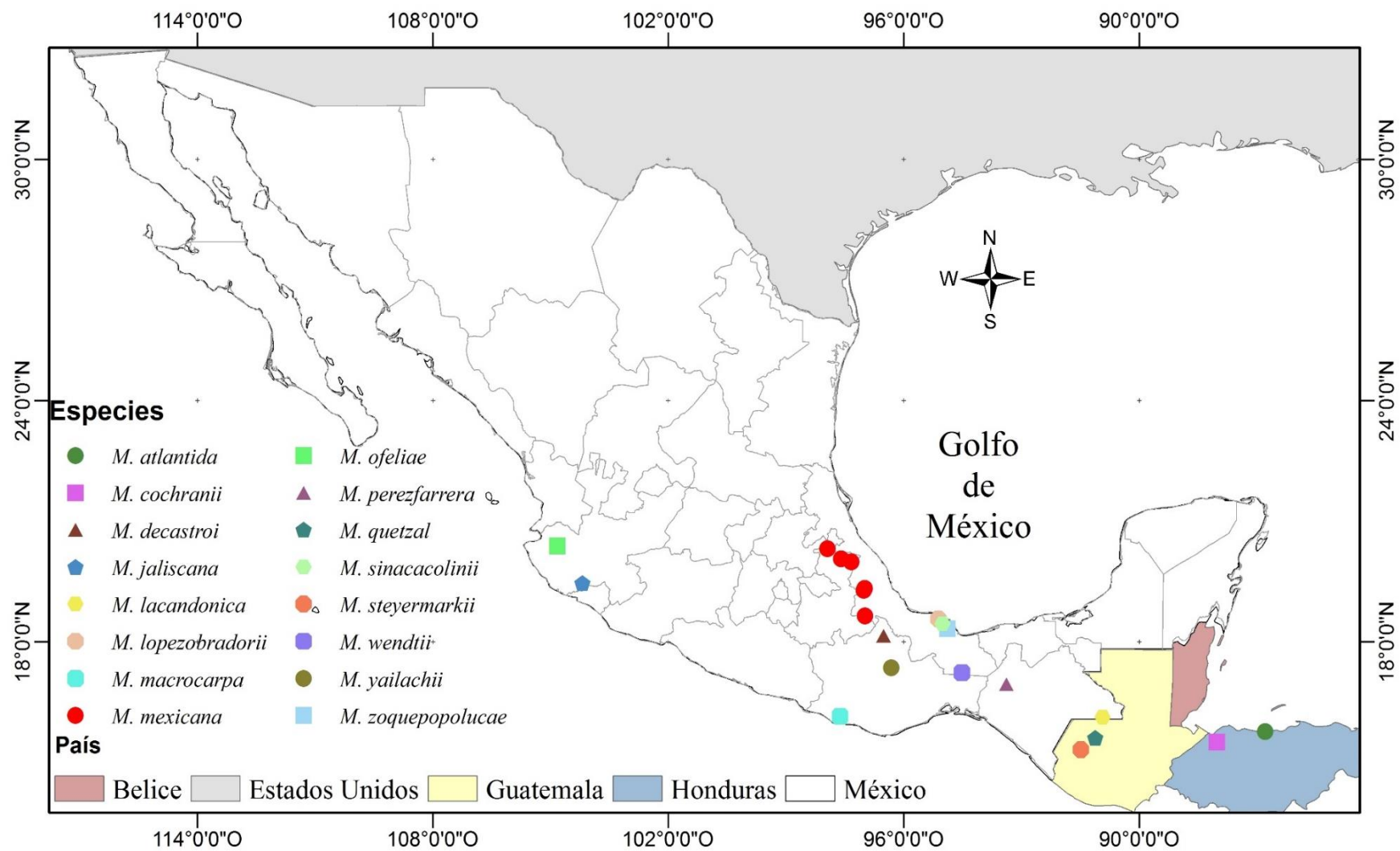


Figura 2. Distribución de las especies de *Magnolia*, sección *Talauma*, Subsección *Talauma* en México y Centroamérica

Fenología y requerimientos ecológicos

La producción de botones florales y flores en *M. mexicana* inicia en el periodo de marzo a mayo y la fructificación inicia en los meses de julio y agosto (Sánchez-Cuahua, 2016), culminando en marzo o abril del siguiente año. Sin embargo, se observó que la floración puede extenderse hasta el mes de octubre (localidad Vista Hermosa, Cosautlán de Carvajal). Las poblaciones de *M. mexicana* se desarrollan en zonas serranas de los estados de Oaxaca, Puebla y Veracruz; formando parte del bosque tropical subcaducifolio, prosperan desde los 450 hasta los 1,500 m snm, y se les utiliza como árboles de sombra en los cultivos de café y maíz. En general, existen pocos individuos por población, aislados en remanentes de bosque tropical perennifolio con alta perturbación por actividades humanas. En las localidades La Tuza, Las Margaritas y Vista Hermosa, la densidad es de menos de 10 árboles adultos.

Importancia y usos

M. mexicana o también conocida como Yoloxóchitl que en lengua náhuatl significa flor de corazón, tiene una historia de aplicaciones medicinales que se remontan a la época prehispánica en México. Las flores y corteza se utilizan para tratar afecciones cardíacas (Waizel-Bucay, 2002; Sánchez-Cuahua, 2016), la infusión de la corteza se usa en medicina casera contra la hipertensión arterial, y las flores se emplean como antiespasmódicas para aromatizar el chocolate. También se usa con fines rituales, como planta de ornato en patios, parques y jardines, por su follaje exuberante y por la belleza y aroma de sus flores, como en el caso del municipio de Magdalena (Veracruz), donde solo se conservan dos o tres árboles en la plaza cívica. En la localidad de Zapotla

(Zongolica, Veracruz), los frutos maduros son colectados para venderlos en pueblos aledaños, su precio oscila entre \$15 y \$20 pesos, de acuerdo con el tamaño; las semillas son utilizadas para tratar parálisis muscular.

OBJETIVOS

Objetivo general

- Determinar el nivel de variación morfológica y genética dentro y entre poblaciones de *Magnolia mexicana*, en México, para conocer con mayor detalle aspectos biológicos básicos que permitan caracterizarla como especie y en el futuro cercano, proponer también estrategias para su manejo y conservación.

Objetivos particulares

- Estimar el grado de variación morfológica foliar, floral y de frutos de *M. mexicana* en su área de distribución en México.
- Contribuir al conocimiento de la distribución geográfica y de las características del hábitat de las poblaciones de *M. mexicana*.
- Evaluar los niveles de variación genética dentro y entre poblaciones del complejo *M. mexicana* en su área de distribución en México.
- Determinar el grado de diferenciación genética existente entre las poblaciones de *M. mexicana* en su área de distribución en México.

Literatura citada

- Acosta-Hernández CC, Luna-Rodríguez M, Noa-Carranza JC, Galindo-González JC, Vázquez-Torres SM, Morales-Romero Z, Iglesias-Andreu LG. 2011.** Caracterización morfológica y dasométrica de la especie amenazada *Juglans pyriformis* Liebm. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* **17(1)**: 59-67.
- Arteaga-Ríos LD, Mejía-Carranza J, Piña-Escutia JL, González-Díaz JG, Rivera-Colín A. 2020.** Comparación molecular y morfológica entre ejemplares de *Magnolia mexicana* "Yoloxóchitl" (Magnoliaceae) del estado de México y Veracruz. *Polibotánica* **49**: 107-124.
- Azuma H, García-Franco JG, Rico-Gray V, Thien LB. 2001.** Molecular phylogeny of the *Magnoliaceae*: the biography of tropical and temperate disjunctions. *American Journal of Botany* **88**: 2275-2285.
- Baranova MA, Jeffrey C. 2000.** Stomatographical features in the systematics of the Magnoliaceae. *Botanicheskii Zhurnal* **85**: 35-49.
- Becerra VV, Paredes M. 2000.** Uso de marcadores bioquímicos y moleculares de diversidad genética. *Agricultura Técnica* **60(3)**: 270-281.
- Cicuzza D, Newton A, Oldfield S. 2007.** The Red List of Magnoliaceae. Fauna y Flora International. Botanic Gardens Conservation International. The Global Trees Campaign. The IUCN/SSC Global Tree Specialist Group.
- Corneanu CG, Corneanu M, Bercu R. 2004.** Comparison between some morpho-anatomical features at fossil vegetal species and at their actual correspondent species. *Geologia* **49**: 77-84.

- Domínguez-Yescas R, Vázquez-García JA. 2019.** Flower of the heart, *Magnolia yajlachhi* (subsect. *Talauma*, Magnoliaceae), a new species of ceremonial, medicinal, conservation and nurse tree relevance in the Zapotec culture, Sierra Norte de Oaxaca, México. *Phytotaxa* **393(1)**: 021-034.
- Domínguez-Yescas R. 2013.** Estudio etnobiológico de *Magnolia dealbata* Zucc., en San Juan Juquila Vijanos, Oaxaca. Universidad de la Sierra Juárez. Oaxaca. México. *Tesis de licenciatura* **79** p.
- Doyle A. 1989.** Population structure reproductive strategies and disturbance regime of Mill Creek Forest. *Tesis*, Universidad Tulane. EUA.
- Figlar RB, Nooteboom HP. 2004.** Notes on Magnoliaceae IV. *Blumea* **49**: 87-100.
- Gottsberger G, Silberbauer-Gottsberger I, Seymour RS, Dotterl S. 2012.** Pollination ecology of *Magnolia ovate* may explain the overall large flowers size of the genus. *Flora* **207**: 107-118.
- Gutiérrez-Lozano M, Sánchez-González A, Vázquez-García JA, López-Mata L, Octavio-Aguilar P. 2020.** Diferenciación morfológica poblacional de *Magnolia rzedowskiana* (Magnoliaceae): especie endémica en peligro de extinción de la Sierra Madre Oriental, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* **91**: 2007-8706.
- Gutiérrez-Zúñiga J. 2018.** Dispersores de semilla de Yoloxóchitl (*Magnolia mexicana* DC) en dos localidades de Zongolica, Ver. Instituto Tecnológico Superior de Zongolica *Tesis de licenciatura* **81** p.
- Hartl DC, Clark AG, 1997.** Principles of population genetics. Sinauer Associates. Sunderland, MA.
- Hernández-Cerda ME. 1980.** Flora de Veracruz, *Magnoliaceae* **14**: 1-10.

- Isagi Y, Abe T. 2004.** Highly variable pollination patterns in *Magnolia obovata* revealed by microsatellite paternity analysis. *International Journal of Plant Sciences* **165(6)**: 1047-1053.
- Isagi Y, Kikuchi S. 2002.** Microsatellite genetic variation in small and isolated populations of *Magnolia sieboldii* ssp. *japonica*. *Heredity* **88**: 313-321.
- Isagi Y, Tateno R, Matsuki Y, Hirao A, Watanabe S, Shibata M. 2007.** Genetic and reproductive consequences of forest fragmentation for populations of *Magnolia obovata*. *Ecological* **22**: 382-389
- Kim S, Soltis ED, Soltis SP, Suh Y. 2004.** DNA sequences from Miocene Fossils: an NDHF sequences of *Magnolia latahensis* (Magnoliaceae) and an RBCL sequence of *Persea pseudocarolinensis* (Lauraceae). *American Journal of Botany* **91**: 615-620.
- Kim S, Suh Y. 2013.** Phylogeny of Magnoliaceae based on ten chloroplast DNA regions. *Journal of Plant Biology* **56(5)**: 290-305.
- Kreitman M, Akashi H. 1995.** Molecular evidence for natural selection and conservation. *Researches on Population Ecology* **40(3)**: 259-269.
- Liyuan C, Faju C, Suichao H, Luyi M. 2014.** High genetic diversity and small genetic variation among populations of *Magnolia wufengensis* (Magnoliaceae), revealed ISSR and SRAP markers. *Electronic Journal of Biotechnology* **17(2014)**: 268-274.
- Lozano-Contreras G. 1994.** *Dugandiodendron* y *Talauma* (Magnoliaceae) en el Neotrópico. Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Bogotá, **147** p.
- Mayer C, Schiegg K, Pasinelli G. 2009.** Patchy population structure in a short-distance migrant: evidence from genetic and demographic data. *Molecular Ecology* **18**: 2353-2364.

- Medrano-Hernández J, Rodríguez JJ, Reyes-Trejo B, Peña-Ortega G. 2017.** Molecular characterization using ISSR primers of *Magnolia mexicana* DC. from two regions in Zóngolica, Veracruz, Mexico. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* **23(3)**: 427-436.
- Palacios E. 2006.** Ficha técnica de *Magnolia mexicana*. Cuarenta y ocho especies de la flora de Chiapas incluidas en el PROY-NOM-059-ECOL-2000. Instituto de Historia Natural y Ecología. Bases de datos SNIB-CONABIO. Proyecto No. W008.México, D.F.
- Pennigton TD, Sarukhán J. 2005.** Árboles tropicales de México. Manual para la identificación de las principales especies, 3ª. Ed. Universidad Nacional Autónoma de México-Fondo de Cultura Económica, México.
- Pérez-Castañeda AJ. 2015.** Taxonomía y conservación de la familia Magnoliaceae en el Ecuador. Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. *Tesis de Maestría* **141** p.
- Picca AM, Helguera M, Salomón N, Carrera A. 2004.** Marcadores moleculares. En: Echenique VR, Mroginski CL. Biotecnología y mejoramiento vegetal. Consejo Argentino para la Información y el Desarrollo de la Biotecnología. Argentina, ediciones INTA.
- Rentería AM. 2007.** Breve revisión de los marcadores moleculares. Capítulo 8 En: Eguiarte LE, Souza V, Aguirre X. Ecología molecular. Instituto Nacional de Ecología.
- Sánchez-Cuahua R, Jimeno D, Elizondo C. 2017.** El Yoloxóchitl (*Magnolia mexicana* DC.), en la Sierra de Zongolica, Ver.: estudio poblacional y conocimiento tradicional. Instituto Tecnológico Superior de Zongolica. *Tesis de licenciatura* **94** p.

Sánchez-Cuahua R. 2016. La *Magnolia mexicana* (DC) G. Don, en la Sierra de Zongolica, Ver: estudio poblacional y conocimiento tradicional. Instituto Tecnológico Superior de Zongolica *Tesis de licenciatura* **94** p.

Sánchez-Velásquez LR, Pineda-López MR, Vásquez-Morales SG, Avendaño-Yañez ML. 2016. Ecology and conservation of endangered species the case of Magnolias. Nova Sciences Publishers. **978** p.

SEMARNAT, Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales. 2010. Norma Oficial Mexicana. NOM-059-SEMARNAT-2010, Protección ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo. México, D F. Diario Oficial de la Federación.

Setzuko S, Ishida K, Ueno S, Tsumura Y, Tomaru N. 2007. Population differentiation and gene flow within a metapopulation of a threatened tree *Magnolia stellata* (Magnoliaceae). *American Journal of Botany* **94(1)**: 128-136.

Tamaki I, Kawashima N, Setsuko S, Itaya A, Tomaru N. 2018. Morphological and genetic divergence between two lineages of *Magnolia salicifolia* (Magnoliaceae) in Japan. *Biological Journal of the Linnean Society* **20**: 1-18.

Tompkins R. 2004. An ecological study of *Magnolia macrophylla* in Gaston County, North Carolina. *Bio One* **69**: 178-185.

UICN. 2001. Categorías y criterios de la Lista Roja de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza. UICN. Versión 3.1. Comisión de Supervivencia de las Especies de la International for Conservation of Nature (IUCN). Gland, Suiza y Cambridge, UK. **35** p.

Vázquez-García JA, De Castro-Arce E, Muñiz-Castro MA, Cházaro-Basáñez MJ.

2012a. *Magnolia zoquepopolucae* (subsection *Talauma*, Magnoliaceae), a new species from Sierra de Santa Marta, Veracruz, Mexico. *Phytotaxa* **57**: 51–55.

Vázquez-García JA, De Castro-Arce E, Pérez-F MÁ, Véliz-P ME, Muñiz-Castro MÁ.

2014. Magnoliaceae en el Neotrópico: riqueza, endemismo y estado de conservación. XI congreso Latinoamericano de Botánica. Octubre 19-24, 2014. San Salvador Bahía, Brasil.

Vázquez-García JA, Domínguez-Yescas R, Pedraza-Ruiz R, Sánchez-González A.

Muñiz-Castro MA. 2015. *Magnolia rzedowskiana* (Magnoliaceae), una especie nueva de la sección *Macrophylla* de la parte central de la Sierra Madre Oriental, México. *Acta Botánica Mexicana* **112**: 19-36.

Vázquez-García JA, Domínguez-Yescas R, Velazco-Macías, CG, Shalisko V, Merino-

Santi, RE. 2016. *Magnolia nuevoleonensis* (Magnoliaceae) a new species from Northeastern Mexico and a key to species of section *Macrophylla*. *Nordic Journal of Botanic* **34**: 48-53.

Vázquez-García JA, Gómez-Domínguez H, López-Cruz A, Espinosa-Jiménez JA,

Sahagún-Godínez E, Muñiz-Castro MA. 2013a. *Magnolia perezfarrerae* a new species and a key to Mexican species of *Magnolia* section *Talauma* subsection *Talauma* (Magnoliaceae). *Botanical Sciences* **91**: 1–9.

Vázquez-García JA, Muñiz-Castro MA, Arroyo F, Pérez AJ, Serna M, De Castro-Arce

E. 2013b. Novelties of Conservation Concern in Neotropical *Magnolia* and a proposed addendum to the IUCN Red List of Magnoliaceae. En: Salcedo-Pérez E, Hernández-Álvarez E, Vázquez-García JA, Escoto-García T, Díaz-Echavarría N. (Eds.) Recursos

Forestales en el Occidente de México, Universidad de Guadalajara CUCEI-CUCBA, México, 496 p.

Vázquez-García JA, Muñiz-Castro MA, De Castro-Arce E, Murguía-Araiza R, Nuño-Rubio AT, Cházaro-B M. 2012b. Twenty new Neotropical tree species of *Magnolia* (Magnoliaceae). In: E. Salcedo Pérez *et al.* (Eds.), Recursos forestales del occidente de México: Diversidad, manejo, aprovechamiento y conservación. Serie Fronteras de Biodiversidad, Vol. 4. Universidad de Guadalajara CUCEI-CUCBA, Guadalajara, 131 p.

Vázquez-García JA, Neill DA, Asanza M, Recalde L. 2015. *Magnolia vargasiana* (Magnoliaceae), a new Andean species and a key to Ecuadorian species of subsection *Talauma*, with notes on its pollination biology. *Phytotaxa* **217**: 26-34.

Veltjen E, Asselman P, Goetghebeur P, Larridon I, Samain MS, Hernández-Rodríguez M, Teste E, Palmarola A, González-Torres LR. 2018. Genetic patterns in Neotropical *Magnolias* (Magnoliaceae) using de novo developed microsatellite markers. *Heredity* **122**: 485-500.

Vite A. 2016. Estructura poblacional de *Magnolia schiedeana* Schltl. en dos ambientes contrastantes en el estado de Hidalgo, México. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Hidalgo, México. *Tesis de Maestría* **126** p.

Von Kohn C, Conrad K, Pooler M, Kramer M. 2018. Genetic diversity of *Magnolia ashei* characterized by SSR markers. *Conservation Genetics*. **19**: 923-936.

Waizel-Bucay J. 2002. Uso tradicional e investigación científica de *Talauma mexicana* (D.C.) Don., o flor del corazón. *Revista Mexicana de Cardiología* **13**: 31-38.

- Wang BY, Chen G, Li C, Dao Z, Sun W. 2016.** Rescuing *Magnolia sinica* (Magnoliaceae), a critically endangered species endemic to Yunnan, China. *Fauna y Flora International* **1-4**.
- Wang J, Tang Y, Xie Z, Zhang M. 2009.** Autoecology and conservation status of *Magnolia sargentina* Rehder & Wilson (Magnoliaceae) in the Dafengding region, southern Sichuan Province, China. *Journal of Systematics and Evolution* **47(6)**: 525-534.
- Wang R, Tang Y, Xie ZJ, Zhang MY. 2009.** Autoecology and conservation status of *Magnolia sargentina* Reahder y Wilson (Magnoliaceae) in the Defending region, southern Sichuan Province, China. *Journal of Systematics and Evolution* **47**: 525-534.
- Weager PL. 1987.** Ecological observations on *Magnolia spends* urban in the *Luquillo mountains* of Puerto Rico. *Caribe. Journal Sciences* **23**: 340-351.
- Wollager H, Zimmer E, Collier M. 2016.** Genetic variability in *Magnolia acuminata* (L.) populations in the Eastern United States. **1**: 1-32.
- Yang M, Shi SG, Lui W, Zang M, Gou L, Kang YX, Liu JJ. 2015.** Phenotypic variation and diversity of *Magnolia sprengeri* Pamp. in native habitat. *Genetic and Molecular Research* **14(2)**: 6495-6508.

CAPÍTULO II

Variación en la morfología foliar, floral y frutal de *Magnolia mexicana* (DC.) G. Don (Sección *Talauma*, Magnoliaceae) en México



VARIACIÓN EN LA MORFOLOGÍA FOLIAR, FLORAL Y FRUTAL DE *MAGNOLIA MEXICANA* (DC.) G.
DON (SECCIÓN *TALAUMA*, MAGNOLIACEAE) EN MÉXICO

FOLIAR, FLORAL AND FRUIT MORPHOLOGY VARIATION IN *MAGNOLIA MEXICANA* (DC.) G.
DON (*TALAUMA* SECTION, MAGNOLIACEAE) IN MEXICO

¹ MARISOL GUTIÉRREZ-LOZANO¹, ² JOSÉ ANTONIO VÁZQUEZ-GARCÍA², ¹ JOSÉ LUIS REYES ORTIZ¹, ¹ PABLO OCTAVIO AGUILAR¹,
¹ DULCE MARÍA GALVÁN HERNÁNDEZ¹, ¹ ARTURO SÁNCHEZ-GONZÁLEZ^{1*}

¹ Centro de Investigaciones Biológicas, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Hidalgo, México.

² Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Departamento de Botánica y Zoología, Herbario IBUG, Universidad de Guadalajara, Zapopán, Jalisco, México.

*Autor para la correspondencia: arturosg@uaeh.edu.mx

Resumen

Antecedentes: Con base en caracteres morfológicos de hojas, flores y frutos se han segregado nuevas especies del complejo *Magnolia mexicana* en México. Por su importancia evolutiva, ecológica y de uso medicinal es relevante analizar la variación morfológica y conocer el estado actual de sus poblaciones en su área de distribución.

Preguntas: ¿Existe diferenciación en la morfología de hojas, flores y frutos en las poblaciones de *M. mexicana*? ¿Cuál es el estado actual de las poblaciones de *M. mexicana*?

Especie de estudio: *Magnolia mexicana* (DC.) G. Don (Magnoliaceae).

Sitios y años de estudio: El estudio se realizó en seis poblaciones de *M. mexicana* en la Sierra Madre Oriental, entre mayo y octubre de 2019 y 2020.

Métodos: Se analizaron 480 hojas, 240 flores y 84 frutos mediante análisis univariados y multivariados.

Resultados: Los primeros componentes principales explicaron 85, 69 y 68 % de la variación foliar, floral y frutal, respectivamente; y las primeras 2 funciones discriminantes 82, 66 y 94 % de dicha variación. Los caracteres morfológicos con mayor variación fueron: diámetro del peciolo y vena media, número de estambres, ancho de carpelos, y largo y ancho de semillas.

Conclusiones: El rango de variación en las características morfológicas de *M. mexicana* fue más amplio que el documentado en la descripción original de la especie. Las poblaciones están aisladas y presentan baja densidad y alta diferenciación morfológica entre sí, en particular en flores y frutos, por lo que su identidad taxonómica requiere ser corroborada a nivel genético.

Palabras clave: Complejo de especies, Especie amenazada, Magnoliaceae, Sierra Madre Oriental, Variación morfológica.

Abstract

Background: Based on morphological characters of leaves, flowers and fruits, new species of the *Magnolia mexicana* complex have been segregated in Mexico. Due to its evolutionary, ecological and medicinal use importance, it is relevant to analyze the morphological variation and to know the current status of the *M. mexicana* populations in its area of distribution.

Questions: Is there differentiation in the morphology of the leaves, flowers and fruits in the populations of *M. mexicana*? What is the current status of the *M. mexicana* populations?

Studied species: *Magnolia mexicana* (DC.) G. Don (Magnoliaceae).

Study site and dates: The study was carried out in six populations of *M. mexicana* in the Sierra Madre Oriental, between May and October 2019 and 2020.

Methods: 480 leaves, 240 flowers and 84 fruits were analyzed by univariate and multivariate analyzes.

Results: The first main components explained 85, 69 and 68 % of the foliar, floral and fruit variation, respectively; and the first 2 discriminant functions 82, 66 and 94 % of said variation. The morphological characters with the greatest variation were: petiole and middle vein diameter, stamens number, carpel width, and seed length and width.

Conclusions: The variation range in *M. mexicana* morphological characteristics was wider than that documented in the original description of the species. The populations are isolated and present low density, and high morphological differentiation among themselves; particularly in flowers and fruits, so their taxonomic identity requires to be corroborated at the genetic level.

Keywords: Endangered species, Magnoliaceae, Morphological variation, Sierra Madre Oriental, Species complex.



Desde tiempos prehispánicos *Magnolia mexicana* (DC.) G. Don es una especie relevante, denominada en náhuatl “Yoloxóchitl” (flor de corazón). Según el códice Durán, siglo XVI (Durán 1581), fue muy apreciada por el emperador Moctezuma, por sus atribuidas propiedades cardiotónicas, belleza y fragancia de sus flores, quien ordenó traerla de tierras tropicales al altiplano (Lozoya 1994). Aunque la especie fue descrita e ilustrada durante la Primera Expedición a la Nueva España (México) (Hernández 1649), fue hasta más de dos siglos después que fue reconocida formalmente (de Candolle 1818) y tipificada con base en una de las acuarelas hechas por indígenas y que ahora forma parte de la colección Torner de Sessé Mociño (White et al. 1998). Esta especie es arbórea, perennifolia y puede alcanzar hasta 30 m de altura y 1.30 m de diámetro. Presenta flores solitarias con numerosos estambres y un ovario súpero compuesto por carpelos en disposición helicoidal, las hojas son simples y dispuestas en espiral (de Candolle 1818).

Durante más de siglo y medio (1831-2000) se consideró a *M. mexicana* como la única especie del género *Talauma* en el norte de Mesoamérica (México, Guatemala y Honduras) (Standley 1920, Standley & Steyermark 1946, Lozano-Contreras 1994, Vázquez-García 1994). Sin embargo, estudios recientes han permitido segregarse de *M. mexicana* 16 especies alopátricas, 12 de México y cuatro de Centroamérica (Vázquez-García et al. 2012a, b, 2013a, b), las cuales en apego a la clasificación más reciente forman parte del género *Magnolia*, sección *Talauma* (Wang et al. 2020). Los estudios antes mencionados, indican que *M. mexicana* es endémica del oriente de México, se distribuye en la transición entre bosque mesófilo de montaña (BMM) y bosque tropical perennifolio (BTP, Palacios 2006), en climas cálidos y sub-cálidos húmedos, en un intervalo altitudinal de entre 450 y 1,500 m (Sánchez-Cuahuahua 2016). La presencia de individuos silvestres de esta especie se ha confirmado solo de Oaxaca, Puebla y Veracruz, aunque falta evaluar el estado actual y la densidad de sus poblaciones.

Con respecto a la fenología de *M. mexicana*, la producción de botones florales y flores comprende el periodo de marzo a mayo y la fructificación inicia en los meses de julio y agosto (Palacios 2006, Sánchez-Cuahuahua 2016), culminando en febrero o abril del siguiente año (Arteaga-Ríos et al. 2020). Los individuos de esta especie tienen diversos usos tradicionales: las flores y corteza para tratar afecciones cardíacas (Hernández 1649, Durán 1581, Waisel-Bucay 2002). La infusión de la corteza se usa en medicina tradicional contra la hipertensión arterial, mien-

tras que las flores se emplean como antiespasmódicas para aromatizar el chocolate, y las semillas contra la parálisis. También se usa con fines rituales, como planta de ornato en patios, parques y jardines, por su follaje exuberante y por la belleza y aroma de sus flores (Pennington & Sa-rukhan 1998, Sánchez-Cuahuahua 2016).

Los análisis morfométricos son una técnica empleada en múltiples áreas de la biología vegetal que van desde ecología (Gómez et al. 2016), evolución (Rose et al. 2016) y genética (Leiboff et al. 2015). La morfometría tradicional implica medir múltiples caracteres cuantitativos en un conjunto de individuos y el uso de estadística inferencial (por ejemplo, ANOVA y estadística multivariada) para identificar discontinuidades que delimiten grupos y/o especies (Bateman & Rudall 2006, Marhold 2011, Klein et al. 2017, Jiménez-Mejías et al. 2017, Pérez-Atilano et al. 2018).

Existen pocos estudios que han tenido como objetivo determinar la variación de los caracteres morfológicos en el género *Magnolia*, entre ellos destaca el realizado por Yang et al. (2015) donde evaluaron 31 caracteres morfológicos de *M. sprengeri* en dos poblaciones de China. Los resultados revelaron una amplia variación morfológica foliar y floral dentro y entre poblaciones, lo que los autores atribuyeron a la plasticidad fenotípica de la especie. Así mismo, Vite (2016) realizó un estudio morfo-anatómico de *M. schiedeana* analizando seis variables foliares y 14 florales, los resultados indicaron que los caracteres con mayor variación fueron el ancho máximo de la lámina (AML), diámetro del pedúnculo (DPD) y longitud del eje floral (LEF). Gutiérrez-Lozano et al. (2020) evaluaron la variación morfológica de *M. rzedowskiana* en la Sierra Madre Oriental de México; la alta variación en los 31 caracteres morfológicos analizados (hoja y flor), se atribuyó a la plasticidad fenotípica de la especie. Sin embargo, los autores resaltaron la importancia de abordar el estudio a nivel genético, para corroborar si la diferenciación morfológica entre poblaciones está relacionada con la variación genética. Recientemente Arteaga-Ríos et al. (2020) realizaron un estudio morfo-genético en el que evaluaron 12 individuos de *M. mexicana*, los resultados indican que dos especímenes corresponden a dos nuevas especies (cultivadas), aún inéditas de la Subsección *Talauma*.

La fragmentación del bosque (destrucción de su hábitat) por el cambio de uso de suelo, ha provocado el aislamiento y la reducción de las poblaciones de *M. mexicana* (Luna-Vega et al. 2006, Medrano-Hernández et al. 2017, Arteaga-Ríos et al. 2020), algunas existen sólo como remanentes o relictos asociados a cultivos, donde los árboles

son utilizados para proporcionar sombra, principalmente en cafetales (Palacios 2006, Medrano-Hernández *et al.* 2017). Por lo antes mencionado, la especie se considera como “amenazada” en la NOM-059-SEMARNAT-2010 (SEMARNAT 2010) y en “peligro de extinción” (EN) en la lista roja de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN 2012). El objetivo del presente estudio fue evaluar la variación morfológica foliar, floral y frutal de *M. mexicana* en la Sierra Madre Oriental de México. En particular se pretende responder a las siguientes preguntas: 1) ¿Existen diferencias en la morfología de las hojas, flores y frutos entre las poblaciones de *M. mexicana* de México? 2) ¿Cuál es el estado actual de las poblaciones de *M. mexicana*?

Materiales y métodos

Zona de estudio. Las poblaciones naturales de *M. mexicana* se distribuyen en la zona de transición de bosque tropical perennifolio (BTP) a bosque mesófilo de montaña (BMM), recientemente limitada al sur de la Sierra Madre Oriental en los estados de Puebla y Veracruz (Vázquez-

García *et al.* 2013a, 2013b). El BTP se caracteriza por su alta densidad vegetal, tiene un clima A, precipitación total anual de entre 1,100 y 1,300 mm. La temperatura media anual varía entre los 22 y 26 °C, mientras que la temperatura más baja es de 18° y no presenta heladas (Pennington & Sarukhán 1998). Por otra parte, el BMM presenta un clima C(f), templado con lluvias todo el año (Rzedowski 2015), con presencia de neblinas por lo que el grado de humedad es alto, oscila entre 55 y 65 % (Hernández-Cerda & Carrasco-Anaya 2004). La precipitación total anual varía entre 1,048 y 2,385 mm y la temperatura promedio anual entre 17.1 y 20.7 °C. El intervalo de distribución altitudinal del BMM fluctúa entre 600 y 2,500 m (Villaseñor 2010, Ruiz-Jiménez *et al.* 2012). Las localidades de estudio fueron las siguientes: 1. El Cajón (Xicotepetec de Juárez), 2. Las Margaritas (Hueytamalco), 3. La Tuza (Tuzamapan de Galena), 4. Duraznillo (Quimixtlan), en Puebla; 5. Vista Hermosa (Cosautlán de Carvajal) y 6. Zapotla (Zongolica) en Veracruz (Figura 1, Tabla 1).

Trabajo de campo. El trabajo de campo se llevó a cabo en la temporada de floración y fructificación en el periodo de

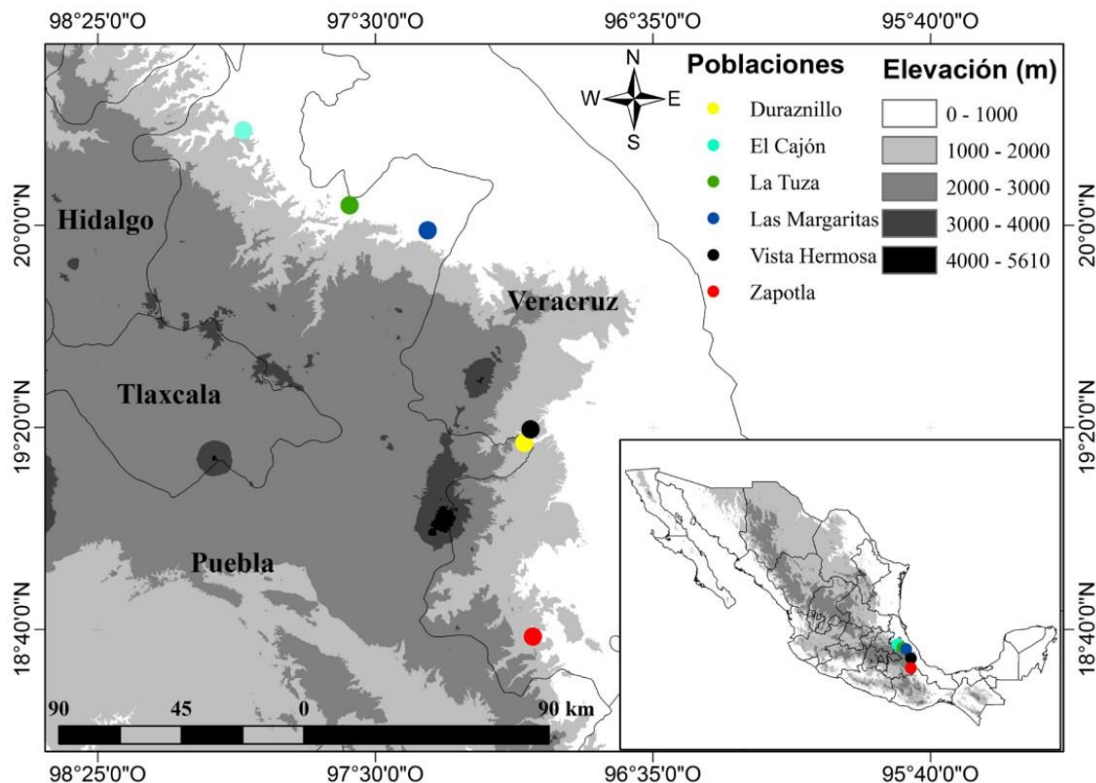


Figura 1. Localización geográfica de las poblaciones de *Magnolia mexicana* en la Sierra Madre Oriental, México.

Morfología foliar, floral y frutal de *Magnolia mexicana*

Tabla 1. Características generales de las localidades de recolección y muestreo de *Magnolia mexicana*.

Municipio	Localidad	Individuos analizados	Latitud	Longitud	Altitud (m)	TPA (°C)	PTA (mm)
Xicotepec de Juárez, Pue.	El Cajón*	10	20° 18' 48.0"	97° 56' 11.1"	826	25	2,300
Tuzamapan de Galena, Pue.	La Tuza*	5	20° 03' 58.9"	97° 34' 66.6"	626	26	3,000
Hueytamalco, Pue.	Las Margaritas	7	19° 59' 0.18"	97° 18' 96.4"	614	26	2,500
Quimixtlán, Pue.	Duraznillo*	10	19° 16' 53.5"	97° 00' 27.7"	1205	20	1,700
Cosautlán de Carvajal, Ver.	Vista Hermosa*	7	19° 19' 35.3"	96° 59' 14.4"	1236	22	2,000
Zongolica, Ver.	Zapotla	9	18° 38' 34.59"	98° 58' 44.60"	1141	26	2,700

*Poblaciones nuevas de *Magnolia mexicana*. Temperatura promedio anual (TPA), precipitación total anual (PTA).

abril a septiembre de los años 2019 y 2020, se realizó la exploración y recolecta de material vegetativo de distintas localidades de los estados de Puebla y Veracruz en donde existían registros de geo-referencias ([Vázquez-García et al. 2013a, b](#)), con base en especímenes de los herbarios (BIGU, ENCB, F, IBUG, IEB, MO, NY, US, XAL, WIS, ZEA). Además, se realizaron recorridos en zonas aledañas, con el objetivo de encontrar poblaciones naturales, pero en varios municipios del estado de Veracruz con o sin registros previos (Magdalena, Misantla y Yecuatla, sólo se encontraron individuos aislados en sitios perturbados, en huertos y en patios de casas.

Variables morfológicas. En cada una de las seis localidades se seleccionaron al azar 10 individuos de *M. mexicana* o la totalidad de árboles presentes cuando la densidad fue menor ([Tabla 1](#)); por cada árbol se recolectaron 10 hojas maduras, cinco flores en anthesis y tres frutos; en total se obtuvieron 480 hojas, 240 flores y 84 frutos de las seis poblaciones. Después de la recolección, las muestras se colocaron en bolsas de plástico que contenían un poco de agua corriente, para evitar que se deshidrataran durante el transporte a un sitio adecuado (cerrado), para tomar las imágenes fotográficas de las diferentes estructuras, con una escala de referencia (cm).

La selección de los caracteres foliares, florales y frutales analizados fue con base en estudios previos realizados con distintas especies de *Magnolia* ([Jiménez-Ramírez et al. 2007](#), [Zhang & Xia 2007](#), [Yang et al. 2015](#), [Vite 2016](#), [Gutiérrez-Lozano et al. 2020](#)). En el [Tabla 1](#) se muestran los 32 caracteres morfológicos de la hoja, flor y fruto, analizados ([Figura 2A-C](#)). Los valores cuantitativos (medidas) de las características morfológicas se obtuvieron a partir de las imágenes fotográficas, con el programa tpsDig ver. 2.16 ([Rohlf 2005](#)).

Análisis estadístico. La variación en las características morfológicas de *M. mexicana* dentro y entre poblaciones se estimó por medio de estadísticos descriptivos: medidas de tendencia central (promedio) y de dispersión (desviación estándar y rango). La multinormalidad de la distribución de los valores de las características morfológicas se comprobó mediante la prueba de Mardia y la homeocasticidad por la prueba de Omnibus y Doornik Hansen ([Canabos 1988](#)), incluidas en el programa de cálculo Past ([Hammer et al. 2001](#)).

La variación de las características fenotípicas dentro de cada población (plasticidad fenotípica) se estimó a partir del coeficiente de variación (CV), con la formula $CV = DE/X$, donde DE es el valor de la desviación estándar y X el promedio aritmético de cada variable ([Valladares et al. 2006](#), [Yang et al. 2015](#), [Gutiérrez-Lozano et al. 2020](#)).

Se utilizaron técnicas de análisis multivariado para definir la variación morfológica, pero las variables foliares, florales y del fruto se analizaron por separado, porque el número de flores y frutos recolectados fue diferente y menor al de las hojas, para evitar algún impacto en la viabilidad de las poblaciones al recolectar estructuras reproductivas. Se usaron tres matrices con datos cuantitativos, la primera de 480 hojas de 48 individuos y seis poblaciones por ocho caracteres foliares; la segunda de 240 flores de 48 individuos y seis poblaciones por 16 caracteres florales y la última de 84 frutos de 30 individuos de las seis poblaciones por ocho caracteres frutales.

La semejanza morfológica entre poblaciones se estimó por medio de análisis de agrupamiento (AA), empleando como medida la distancia euclidiana, como algoritmo de ligamiento el método de Ward y el gráfico de amalgamiento para determinar el punto de corte y la formación de los grupos ([Ludwig & Reynolds 1988](#)). Además, se realizó un Análisis de Componentes Principales (ACP), en una

matriz de correlación para reducir el número de variables originales en un conjunto menor de variables independientes, denominadas componentes principales (CP), y para identificar los caracteres que contribuyeron a explicar el porcentaje más alto de variación morfológica.

El criterio de selección del número de CP fue que explicaran al menos el 75 % de la varianza acumulada y que los valores de las raíces características fueran mayores de 1.0 (Johnson 2000, McCune & Grace 2002). Las variables con mayor contribución a la variación explicada por los primeros CP fueron seleccionadas para realizar el análisis de funciones discriminantes (AFD; Hernández-Hernández *et al.* 2009, Pérez-Atilano *et al.* 2018, Gutiérrez-Lozano *et al.* 2020), el cual fue utilizado para examinar los patrones de variación e identificar las variables morfológicas foliares, florales y frutales que maximizaran las diferencias entre poblaciones. La existencia de diferencias significativas en la morfología foliar, floral y frutal entre poblaciones, fue evaluada con los valores de las distancias de Mahalanobis (D2) y con una prueba de F (Hair *et al.* 1999, Johnson 2000, McCune & Grace 2002). Finalmente, se

realizaron análisis de varianza de una vía (ANOVA) para estimar e ilustrar la variación de los caracteres que discriminaban entre poblaciones, seguido del método de comparaciones múltiples con la prueba de Tukey. Todos los análisis multivariados se realizaron con el programa STATISTICA, Versión 7 (Hilbe 2007).

Resultados

Variación de la morfología foliar, floral y frutal. El valor promedio del CV para todas las características morfológicas de los frutos de las seis poblaciones en conjunto fue de 12.72 %, valor similar al obtenido para el total de los caracteres de la flor (13.94 %) y de la hoja: 14.07 % (Tabla 2 y 3). Los valores promedio más altos del CV, para las características foliares, florales y frutales fueron los de las poblaciones de La Tuza, Vista Hermosa y Las Margaritas con 14.91, 16.40 y 16.23 % respectivamente (Tabla 3). Por otra parte, las variables con valor de CV más alto considerando todas las poblaciones, fueron A_{EST} (40.91 %) para la flor, N_S (24.90 %) para el fruto y L_L-A_{ML} (16.72 %) para la hoja.

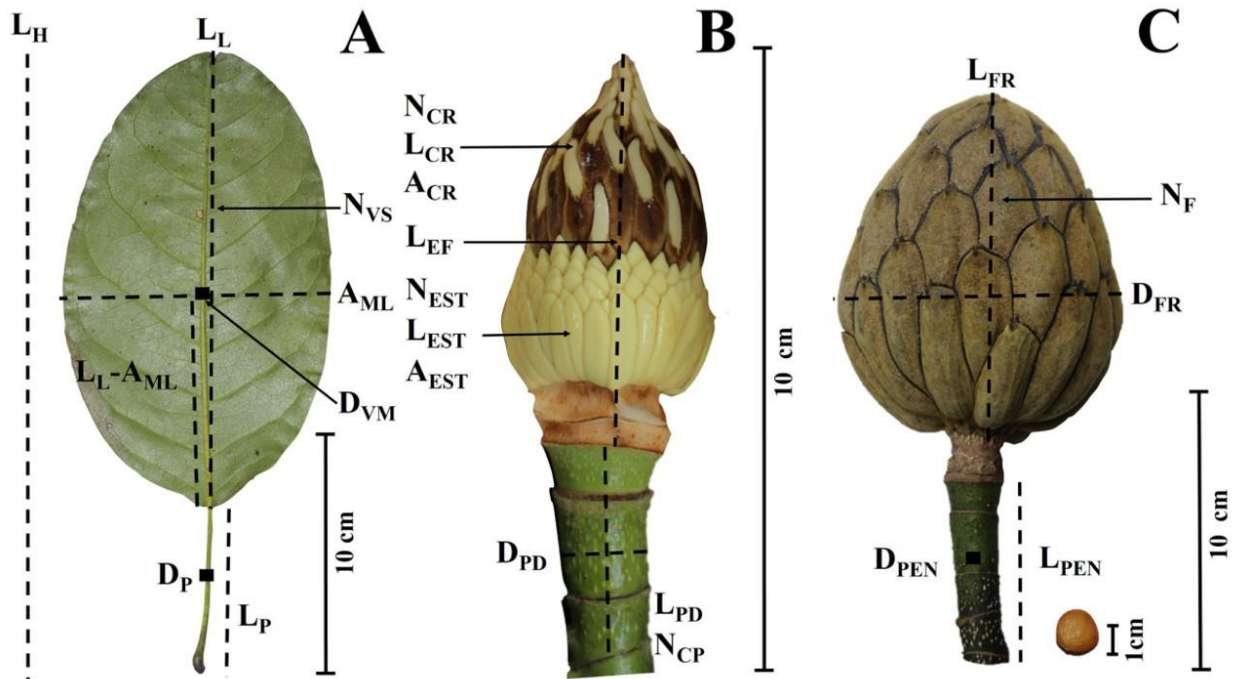


Figura 2. Variables morfológicas de *Magnolia mexicana*. A, L_H : longitud de la hoja, L_L : largo de la lámina, L_L-A_{ML} : Longitud de la lámina, desde la base hasta la parte más ancha, A_{ML} : ancho máxima de la lámina, N_{VS} : número de venas secundarias, D_{VM} : diámetro de la vena media, D_P : diámetro del peciolo y L_P : largo del peciolo; B, L_{EF} : longitud del eje floral, N_{CR} : número de carpelos, L_{CR} : largo de carpelos, A_{CR} : ancho de carpelos, N_{EST} : número de estambres, L_{EST} : largo de los estambres, A_{EST} : ancho de los estambres, L_{PD} : longitud del pedúnculo, D_{PD} : diámetro del pedúnculo y N_{CP} : número de cicatrices pedunculares; C, L_{FR} : longitud del fruto, D_{FR} : diámetro del fruto, N_F : número de folículos, L_{PEN} : longitud del pedúnculo, D_{PEN} : diámetro del pedúnculo.

Morfología foliar, floral y frutal de *Magnolia mexicana*

Tabla 2. Características morfológicas foliares (1-8), florales (9-24) y frutales (25-32) analizadas en *Magnolia mexicana*.

Carácter	No.	Variable	Abreviatura
Foliar	1	Largo de la hoja (longitud de lámina y peciolo)	L _H
	2	Longitud de la lámina (base de la lámina hasta el ápice de la lámina)	L _L
	3	Ancho máximo de la lámina	A _{ML}
	4	Longitud del peciolo	L _P
	5	Diámetro del peciolo	D _P
	6	Diámetro de la vena media	D _{VM}
	7	Número de venas secundarias	N _{VS}
	8	Longitud de la lámina hasta la parte más ancha de lamina	L _L -A _{ML}
Floral	9	Largo del pedúnculo	L _{PD}
	10	Diámetro del pedúnculo	D _{PD}
	11	Número de cicatrices pedunculares	N _{CP}
	12	Longitud del eje floral	L _{EF}
	13	Largo de los sépalos	L _{SP}
	14	Ancho de los sépalos	A _{SP}
	15	Largo de los pétalos externos	L _{PEX}
	16	Ancho de los pétalos externos	A _{PEX}
	17	Largo de los pétalos internos	L _{PIN}
	18	Ancho de los pétalos internos	A _{PIN}
	19	Número de estambres	N _{EST}
	20	Largo de los estambres	L _{EST}
	21	Ancho de los estambres	A _{EST}
	22	Número de carpelos	N _{CR}
	23	Largo de los carpelos	L _{CR}
	24	Ancho de los carpelos	A _{CR}
	Frutal	25	Longitud del fruto
26		Longitud del pedúnculo	L _{PEN}
27		Ancho del pedúnculo	A _{PEN}
28		Diámetro del fruto	D _{FR}
29		Número de folículos	N _F
30		Número de semillas	N _S
31		Largo de semillas	L _{SE}
32		Ancho de semillas	A _{SE}

Tabla 3. Coeficientes de variación (CV) de las características morfológicas foliares (1-8), florales (9-24) y frutales (25-32) analizadas en *Magnolia mexicana*.

No.	Variable	CV (%) por localidad						CV %
		El Cajón	La Tuza	Las Margaritas	Duraznillo	Vista Hermosa	Zapotla	
1	L _H	11.19	13.19	12.65	12.67	13.20	12.21	12.52
2	L _L	12.21	16.40	14.95	14.54	15.92	12.92	14.49
3	A _{ML}	11.08	10.65	13.45	12.14	12.09	13.95	12.23
4	L _p	17.04	13.86	10.11	14.77	16.44	15.56	14.63
5	D _p	12.32	14.93	11.78	13.04	13.79	12.36	13.04
6	D _{VM}	17.43	14.79	15.63	14.53	16.55	15.96	15.81
7	N _{VS}	11.88	14.31	13.12	14.93	11.45	13.55	13.21
8	L _L -A _{ML}	14.68	21.21	16.40	16.88	16.67	14.48	16.72*
	Promedio	13.47	14.91*	13.51	14.18	14.51	13.87	14.07
9	L _{PD}	20.27	19.46	25.51	17.99	18.23	25.12	21.10
10	D _{PD}	8.91	6.22	10.80	15.56	8.41	8.16	9.68
11	N _{CP}	21.31	17.52	15.61	12.80	14.41	15.64	16.22
12	L _{EF}	9.25	7.08	9.47	7.38	10.32	9.07	8.76
13	L _{SP}	10.07	10.56	14.22	11.63	13.12	6.63	11.04
14	A _{SP}	10.77	15.10	12.47	12.16	16.14	12.23	13.14
15	L _{PEX}	9.82	11.99	13.05	12.15	14.29	8.61	11.65
16	A _{PEX}	14.07	13.99	9.97	12.12	15.12	9.17	12.41
17	L _{PIN}	8.93	10.02	11.72	10.09	11.78	7.40	9.99
18	A _{PIN}	16.50	9.80	13.61	9.56	9.82	10.27	11.59
19	N _{EST}	16.72	9.64	12.16	12.28	11.52	8.74	11.84
20	L _{EST}	9.95	6.09	15.65	7.52	9.47	10.21	9.81
21	A _{EST}	7.60	9.54	48.00	48.29	74.63	57.46	40.92*
22	N _{CR}	21.39	11.62	12.26	17.03	11.17	13.24	14.45
23	L _{CR}	6.69	7.91	10.69	6.80	12.58	11.26	9.32
24	A _{CR}	9.75	12.99	10.76	10.35	11.57	11.86	11.21
	Promedio	12.62	11.22	15.37	13.98	16.40*	14.06	13.94
25	L _{FR}	4.96	15.28	22.62	13.12	5.49	6.97	11.41
26	L _{PEN}	16.66	27.12	30.81	23.02	17.81	23.70	23.19
27	A _{PEN}	11.20	10.78	17.39	15.52	7.46	17.09	13.24
28	D _{FR}	6.85	10.89	14.22	11.12	5.24	11.12	9.90
29	N _F	6.94	9.23	12.49	11.44	19.31	10.42	11.64
30	N _S	29.89	39.45	20.61	12.65	27.63	19.19	24.90*
31	L _{SE}	4.16	5.02	5.30	4.15	5.17	3.98	4.63
32	A _{SE}	5.86	6.17	6.51	2.66	7.46	5.45	5.69
	Promedio	10.38	15.13	16.23*	11.76	11.21	11.63	12.72

Semejanza en la morfología foliar, floral y frutal. En el AA de las características foliares se distinguieron cuatro grupos diferentes: el primero, segundo y tercer grupo están formados por una mezcla de individuos de todas las poblaciones de estudio los cuales son más semejantes morfológicamente entre sí que con respecto al cuarto grupo que está integrado en su mayoría por individuos de las poblaciones de Vista Hermosa y Zapotla, ambas en Veracruz ([Figura 3A](#)). En el dendrograma de las características florales, se definieron dos grupos: el primero está constituido por individuos de las poblaciones de Veracruz principalmente; en el segundo grupo la mayoría de los individuos corresponden a las poblaciones de Puebla: Duraznillo, El Cajón y Las Margaritas ([Figura 3B](#)). Con respecto a las variables del fruto, se formaron tres grupos: el primero integrado principalmente por las poblaciones de Duraznillo, El Cajón y La Tuza. El segundo grupo está constituido en su mayoría por individuos de la población de Las Margaritas y el tercero solo por individuos de la población de Vista Hermosa ([Figura 3C](#)).

Variación morfológica poblacional de M. mexicana.

Las variables morfológicas foliares, florales y del fruto incluidas en el ACP presentaron distribución multinormal ($Y_1 = 673.3$, $Y_2 = 866.1$, $Y_3 = 532.1$; $P > 0.05$) y la prueba de homocedasticidad fue significativa ($E_p = 137.6$, $P < 0.000$). Los primeros tres componentes principales (CP) explicaron 85.23 % de la variación total de las características morfológicas foliares ([Tabla 3](#)). Los caracteres con mayor contribución a la variación en el primer componente fueron: L_H , L_L , A_{ML} , D_{VM} y $L_{L-A_{ML}}$; en el segundo CP el carácter D_p y en el tercer CP, L_p .

Con respecto a las características de la flor, los tres primeros CP explicaron el 69.60 % de la variación total en los datos. Las variables con mayor contribución a la variación en el primer componente fueron: L_{EP} , L_{SP} , A_{SP} , L_{PEX} , A_{PEX} , L_{PIN} , A_{PIN} , L_{EST} , L_{CR} y A_{CR} ; en el segundo componente fueron L_{PD} y N_{EST} , y en el tercer CP el carácter N_{CP} .

En el análisis de las variables del fruto, los primeros tres componentes explicaron 68.19 % de la variación total. Las variables con mayor contribución en el primer CP

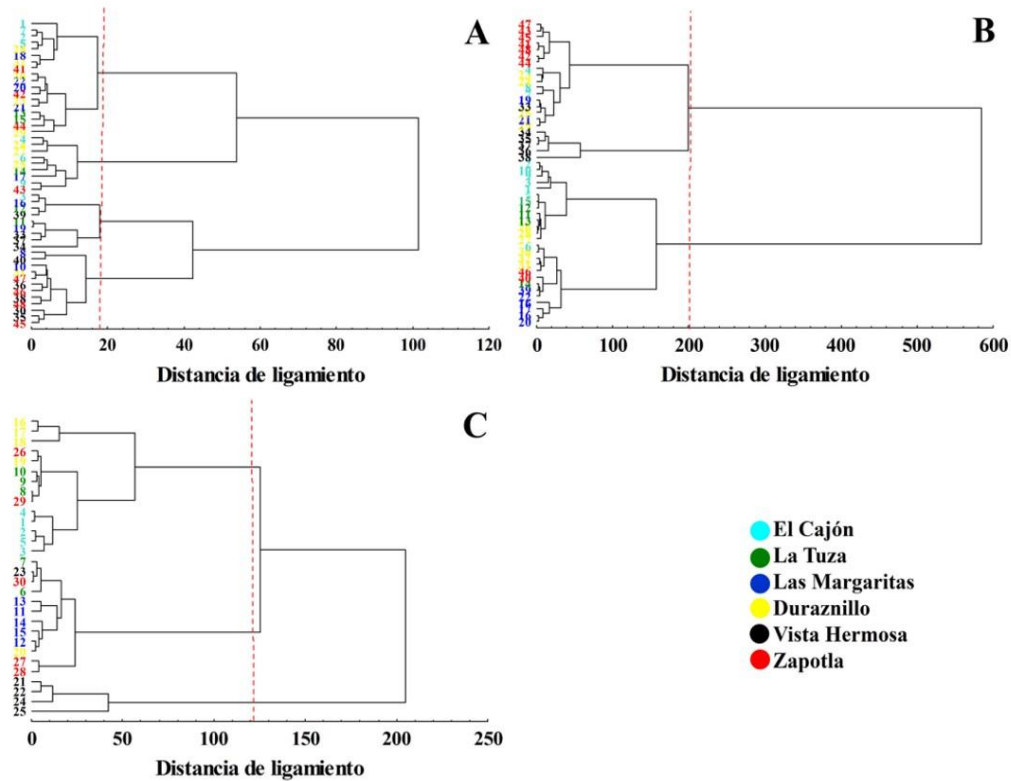


Figura 3. Dendrograma del AA que muestra las relaciones jerárquicas de Ward y la distancia euclidiana para la clasificación de los 48 individuos, con base en las características morfológicas foliar, floral y frutal evaluadas.

fueron: N_F , N_S , y A_{SE} ; en el segundo CP fue la L_{SE} y con el tercer CP la variable D_{FR} (Tabla 4).

En el análisis discriminante (AFD), de las características morfológicas foliares seleccionadas con el ACP con datos de 48 individuos, las primeras dos funciones canónicas explicaron el 82.30 % de la variación total de los datos (Figura 4). Las variables más relacionadas con la primera función discriminante fueron: L_{IH} , L_L , A_{ML} , A_{ML} , D_{VM} , L_L - A_{ML} y la característica más relacionada con la segunda función discriminante fue: D_p (Tabla 5, Figura 4A).

La prueba de F de los valores de las distancias de Mahalanobis indica que existen diferencias significativas en la morfológica foliar entre la mayoría de las poblaciones analizadas ($F_{6, 37}$; $P > 0.005$, Tabla 6), por lo que en el diagrama de ordenación se puede distinguir que los puntos que representan las características foliares de los individuos de la población de Vista Hermosa, están separados de los puntos que representan a las poblaciones del Duraznillo, El Cajón, La Tuza, Las Margaritas y Zapotla (Figura 4A).

En el AFD realizado con las variables morfológicas florales seleccionadas a partir de los resultados del ACP, las primeras dos funciones canónicas explicaron 66.77 % de la variación total en los datos (Figura 4B). La L_{PD} , L_{EP} , L_{SP} , L_{PEX} , N_{EST} y A_{CR} fueron las características más relacionadas con la primera función canónica; y el N_{CP} , A_{PEX} y L_{PIN} con la segunda función canónica.

Las distancias de Mahalanobis indicaron que la variación morfológica floral fue significativa entre las poblaciones analizadas ($F_{14, 29}$; $P > 0.005$). En el diagrama de ordenación se visualizan varios grupos, que corresponden a las poblaciones de *M. mexicana* analizadas. Las poblaciones de Zapotla y Vista Hermosa se observan separadas pues fueron las más disimiles entre sí, mientras que en el resto de las poblaciones los individuos se encuentran mezclados, lo que indica menor diferenciación morfológica (Tabla 6, Figura 4B).

Por último, en el AFD obtenido con las variables morfológicas frutales, las primeras dos funciones canónicas explicaron 94.92 % de la variación total en los datos (Figura 4C). La L_{SE} y A_{SE} fueron las características más relacionadas con la primera función canónica y la variable D_{FR} con la segunda función.

Las distancias de Mahalanobis indicaron que la variación morfológica frutal fue significativa entre las poblaciones analizadas ($F_{5, 20}$; $P > 0.005$). En el diagrama de ordenación se observaron con claridad cuatro grupos o variantes morfológicas, que corresponden a las poblaciones de *M. mexicana* analizadas. El primer grupo incluye a

Tabla 4. Características morfológicas foliares (1-8), florales (9-24) y frutales (25-32) analizadas en *Magnolia mexicana*, con resultados del ACP. Se incluyen los valores de los componentes principales (CP).

No.	Variable	CP		
		1	2	3
1	L_{HI}	-0.96*	0.22	-0.00
2	L_L	-0.91*	0.37	-0.01
3	A_{ML}	-0.85*	-0.08	-0.12
4	L_p	-0.59	-0.42	0.62*
5	D_p	-0.63	-0.64*	0.01
6	D_{VM}	-0.71*	-0.23	-0.41
7	N_{VS}	-0.57	-0.06	0.05
8	L_L - A_{ML}	-0.82*	0.51	-0.05
-	Valor propio	4.93	1.10	0.78
-	Varianza acumulada (%)	61.62	75.43	85.23
9	L_{PD}	-0.44	-0.71*	-0.09
10	D_{PD}	-0.49	0.44	-0.29
11	N_{CP}	0.13	0.07	-0.61*
12	L_{EF}	-0.84*	0.35	0.16
13	L_{SP}	-0.89*	-0.29	-0.01
14	A_{SP}	-0.91*	-0.13	0.00
15	L_{PEX}	-0.89*	-0.26	-0.01
16	A_{PEX}	-0.87*	0.10	-0.11
17	L_{PIN}	-0.91*	-0.15	-0.01
18	A_{PIN}	-0.69*	0.20	-0.50
19	N_{EST}	0.27	0.62*	0.17
20	L_{EST}	-0.65*	0.29	0.13
21	A_{EST}	-0.24	0.23	0.59
22	N_{CR}	0.08	0.77	-0.23
23	L_{CR}	-0.85*	0.13	0.22
24	A_{CR}	-0.74*	0.27	0.06
-	Valor propio	7.54	2.30	1.28
-	Varianza acumulada (%)	47.15	61.55	69.60
25	L_{FR}	0.47	-0.47	0.51
26	L_{PEN}	-0.03	0.26	-0.57
27	A_{PEN}	-0.03	-0.51	-0.48
28	D_{FR}	0.47	-0.62	0.63*
29	N_F	0.80*	-0.06	-0.25
30	N_S	0.83*	0.20	-0.26
31	L_{SE}	-0.14	-0.63*	-0.49
32	A_{SE}	-0.67*	-0.61	0.04
-	Valor propio	2.44	1.77	1.23
-	Varianza acumulada (%)	30.55	52.79	68.19

El significado de las abreviaturas aparece en la Tabla 2. Las variables con valores más altos, o más relacionadas con los CP están señaladas con el símbolo *.

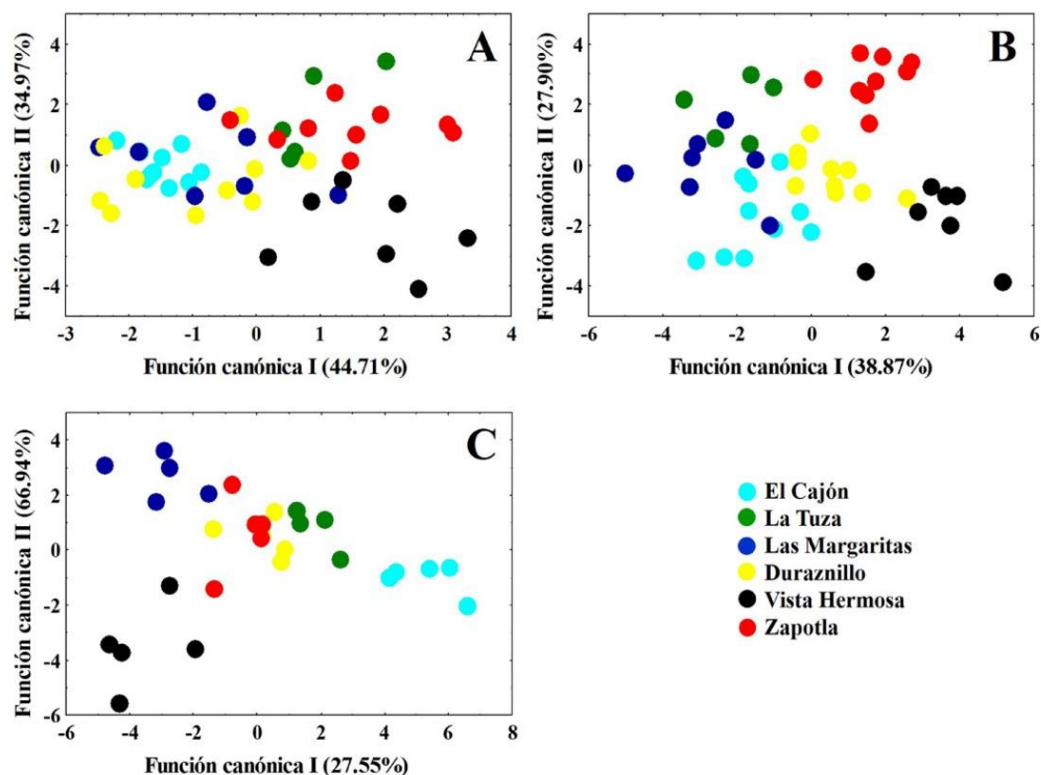


Figura 4. Diagrama de ordenación de las primeras dos funciones canónicas, para las características morfológicas de la hoja, flor y fruto de 48 individuos.

la población de Vista Hermosa, el segundo está formado por Las Margaritas, el tercer grupo representa una mezcla de individuos de las poblaciones de La Tuza, Duraznillo y Zapotla y el último grupo incluye a la población de El Cajón, de acuerdo con los valores de las distancias de Mahalanobis (Tabla 6, Figura 4C).

Estadísticos descriptivos. Las características morfológicas foliares que mostraron intervalos de variación (rango) más amplios en las seis poblaciones fueron: D_p y D_{VM} . Con respecto a la flor las características que presentaron mayor variación fue N_{EST} y A_{CR} , y en los caracteres frutales fueron: A_{SE} y L_{SE} (Tabla 7, Figura 5).

Comparación de las especies del complejo M. mexicana. La revisión de distintos trabajos donde se describen nuevas especies segregadas del complejo de *M. mexicana*, permitió realizar un cuadro comparativo de algunas de las características morfológicas de las mismas (Tabla 8). Las características morfológicas foliares, florales y frutales de las poblaciones de *M. mexicana* analizadas muestran, en general, amplia variación; en la tabla 8 se observa que

11 de las 12 características morfológicas utilizadas en la comparación, presentaron un rango de variación amplio, que incluye los valores registrados en la descripción original de la especie. Con respecto al resto de las especies del complejo, el rango de valores en algunas características fue semejante y en otras difirió claramente. En el cuadro comparativo, resalta *M. decastroi* porque los valores de L_{H} , A_{ML} y L_p están incluidos dentro del intervalo de variación encontrado en *M. mexicana* (Tabla 8).

Discusión

Las especies de plantas tienen la capacidad de alterar sus rasgos morfológicos y fisiológicos en respuesta a cambios en las condiciones ambientales y ajustar la expresión de estos rasgos para adaptarse en múltiples entornos (Sultan 1995, McIntyre et al. 2009, Fritz et al. 2018). En el presente estudio se encontró que el rango de variación de las características morfológicas consideradas en la descripción original de la especie (de Candolle 1818, Palacios 2006): longitud de la hoja, número de venas secundarias, largo y ancho de pétalos, longitud de frutos y semillas,

Tabla 5. Análisis discriminante de la variación morfológica foliar (1-11), floral (12-27) y frutal (28-33) de las poblaciones analizadas.

No.	Variable	FC 1	FC 2	Lambda de Wilks	F
1	L _H	1.20*	1.35	1.00	-
2	L _L	-3.63*	-1.68	1.00	-
3	A _{ML}	-1.08*	0.58	0.75	3.95
4	L _P	0.00	0.00	1.00	-
5	D _P	-0.00	-1.35*	0.59	5.13*
6	D _{VM}	1.24*	0.65	0.51	6.97*
7	L _L -A _{ML}	2.32*	0.67	0.76	2.33
-	Valor propio	1.80	1.02	-	-
-	Varianza acumulada (%)	52.57	82.30	-	-
8	L _{PD}	-0.82*	-0.41	0.64	3.16
9	N _{CP}	0.04	0.62*	0.77	4.34
10	L _{EF}	-1.17*	0.75	0.65	3.04
11	L _{SP}	2.03*	0.26	0.69	3.90
12	A _{SP}	-0.50	0.01	0.67	2.84
13	L _{PEX}	-3.34*	1.24	0.73	4.94
14	A _{PEX}	0.54	0.91*	0.76	1.76
15	L _{PIN}	1.90	-2.50*	0.86	4.43
16	A _{PIN}	-0.31	-0.35	0.90	0.59
17	N _{EST}	0.83*	-0.67	0.50	5.62*
18	L _{EST}	0.14	-0.06	0.86	0.91
19	N _{CR}	-0.08	0.07	0.84	1.08
20	L _{CR}	0.17	-0.48	0.94	0.32
21	A _{CR}	0.85*	-0.49	0.59	3.90*
-	Valor propio	4.90	3.52	-	-
-	Varianza acumulada (%)	38.87	66.77	-	-
22	D _{FR}	-0.15	-0.433	0.60	2.56
23	N _F	-0.29	-0.18	0.79	1.05
24	N _S	-0.36	0.41	0.75	1.29
25	L _{SE}	-1.19	0.66	0.12	29.18*
26	A _{SE}	0.85	4.58	0.34	7.52*
-	Valor propio	10.98	4.58	-	-
-	Varianza acumulada (%)	66.94	94.49	-	-

El significado de las abreviaturas aparece en la [Tabla 2](#). Función Canónica (FC). Los valores de F de las variables que presentaron asociación estadísticamente significativa, $P < 0.001^*$.

Tabla 6. Matriz de distancias de Mahalanobis de las características morfológicas foliares y florales (diagonal superior) y frutales (diagonal inferior) entre pares de poblaciones analizadas.

	El Cajón (80/100)	La Tuza (80/100)	Las Margaritas (29/100)	El Duraznillo (80/100)	Vista Hermosa (71/100)	Zapotla (88/100)
El Cajón (100)	-	4.74*/4.15*	1.99/3.97*	5.36*/3.28*	8.43*/6.99*	7.45*/4.17*
La Tuza (80)	8.29*	-	1.93/2.68*	2.81*/4.55*	5.61*/7.01*	4.13*/1.88
Las Margaritas (100)	34.86*	10.46*	-	1.54/4.60*	4.82*/7.95*	6.83*/4.79*
Duraznillo (80)	12.32*	2.37	7.09*	-	4.17*/4.90*	3.80*/2.83*
Vista Hermosa (100)	35.68*	18.93*	16.28*	13.07*	-	6.33*/4.26*
Zapotla (60)	15.28*	3.64*	5.55*	0.68	12.32*	-

Los valores de las distancias de Mahalanobis estadísticamente significativas ($P < 0.01$) para la hoja, flor y fruto con la prueba de F, se indican con un asterisco (*). Los números entre paréntesis indican el porcentaje de asignación del AD. La localidad de vista hermosa difiere de todas las demás en los tres órganos

número de estambres y número de carpelos; en todos los casos fue menor y que los valores están incluidos dentro del intervalo de variación registrado en las poblaciones analizadas en el presente estudio, por lo que con los datos obtenidos fue posible realizar una descripción cuantitativa más robusta de la especie, que implícitamente considera ya el efecto de la heterogeneidad ambiental sobre la variación morfológica en su área de distribución actual.

Con respecto a los rangos de variación en las características morfológicas foliares, florales y frutales de *M. mexicana*, fueron más amplios que los registrados en las especies segregadas del complejo *M. mexicana* (Vázquez-García et al. 2012a, b, 2013a, b), por lo que se podría suponer *a priori* que su plasticidad fenotípica es alta. El fuerte contraste en el rango de variación de las características morfológicas de la hoja, flor y fruto de *M. mexicana*, con respecto a las demás especies de la sección *Talauma* de México (Vázquez-García et al. 2012a, b, 2013a, b), sugiere que sería adecuado analizar un número representativo de ejemplares, que en la medida de lo posible se recolecten en el área de distribución conocida de cada una de las especies segregadas del complejo, para estimar

su variación morfológica, realizar una descripción taxonómica más detallada que permita diferenciarlas entre sí con mayor claridad y elaborar una clave de identificación, previa confirmación de su identidad taxonómica a través de estudios complementarios a nivel genético (Gutiérrez-Lozano et al. 2020, Chávez-Cortázar et al. 2021).

Lo anterior podría tal vez conducir a cambios taxonómicos dentro del complejo, o al menos permitiría conocer con mayor detalle la plasticidad fenotípica de las especies en respuesta a los cambios en las condiciones ambientales, por ejemplo, al cambio climático (Gratani 2014, Arnold et al. 2019). Esto último adquiere relevancia particular en aquellas especies del complejo que presentan distribución más restringida y poblaciones más pequeñas, como por ejemplo *Magnolia decastroi* (Vázquez-García et al. 2013b), cuyos caracteres diagnósticos, tales como longitud del peciolo, longitud total y ancho máximo de la lámina, son consistentes con la descripción de *M. mexicana*, aunque difiere de esta última en la forma de la hoja: obovada versus elíptica.

Es probable que no exista un patrón de diferenciación en la morfología de la hoja, flor y fruto entre las poblacio-

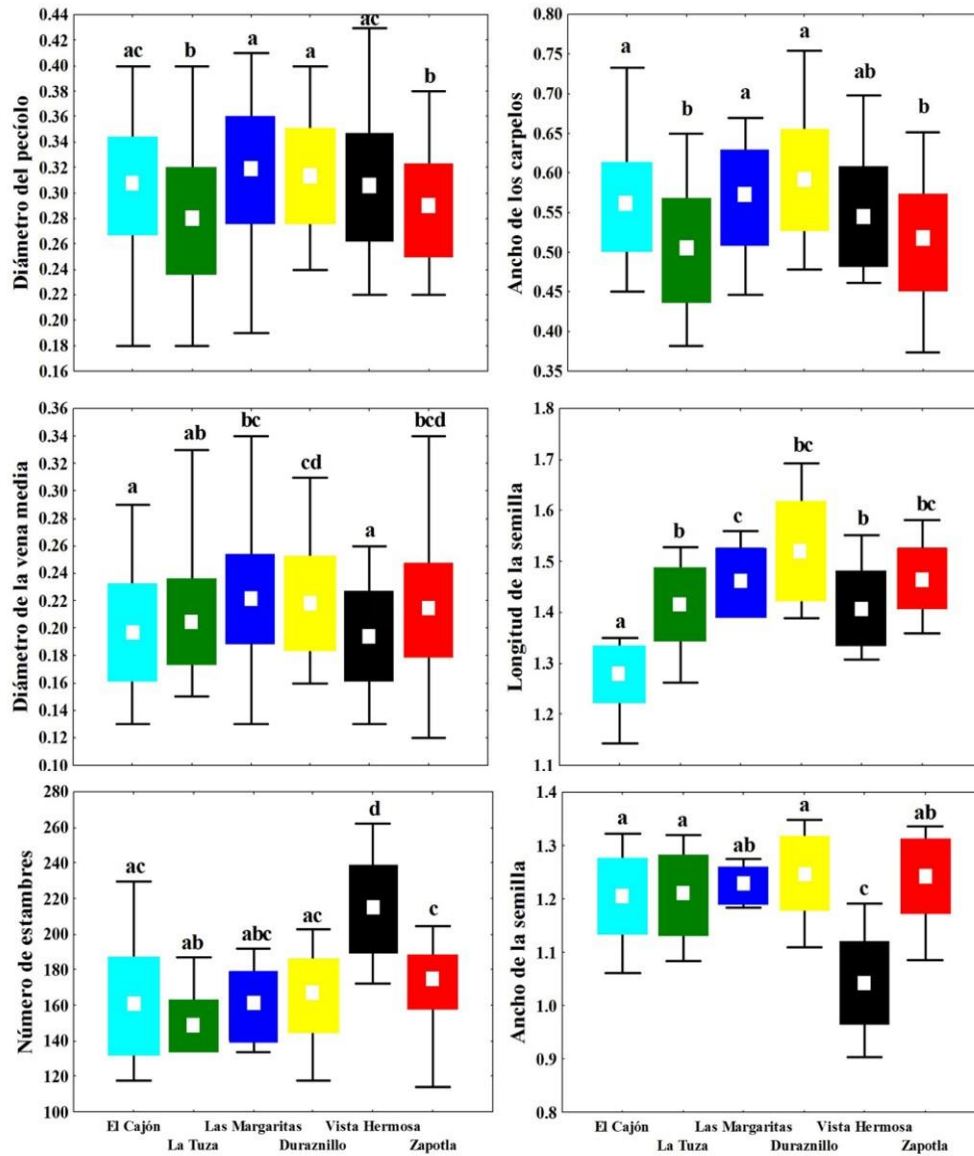


Figura 5. Análisis de varianza de las seis características morfológicas con mayor porcentaje de variación en el AFD (dos foliares, dos florales y dos frutales). Valor mínimo y máximo (bigotes), desviación estándar (cuadro grande) y promedio (cuadro pequeño). Letras distintas indican diferencias significativas en las características morfológicas entre poblaciones, con base en la prueba de Tukey.

nes de *M. mexicana*, asociado con la distancia geográfica o con la altitud, dado que la distribución de los puntos (individuos/poblaciones) en los diagramas de ordenación, no muestran alguna tendencia con respecto a alguno de estos factores; por lo que la variación encontrada podría estar relacionada con las condiciones ambientales locales, el tamaño poblacional, el grado de aislamiento de las poblaciones y su variabilidad genética, entre otros (Artega *et al.* 2015, Fritz *et al.* 2018, Chávez-Cortázar *et al.* 2021).

El patrón de diferenciación morfológica entre poblaciones fue más evidente en flores y frutos que en las hojas, lo cual puede estar relacionado con la función de este órgano vegetal. Se ha documentado ampliamente que la variabilidad morfológica foliar de las especies está relacionada con factores ambientales (Valladares *et al.* 2006, Yang *et al.* 2015); debido a que las hojas son órganos que realizan funciones esenciales para la planta, como la fotosíntesis y la transpiración, su morfología y anatomía están asociadas

Morfología foliar, floral y frutal de *Magnolia mexicana*

Tabla 7. Estadísticos descriptivos de las características morfológicas con mayor rango de variación. Se indica el promedio \pm desviación estándar y en paréntesis el valor mínimo y máximo de cada población.

Variable/ localidad	El Cajón	La Tuza	Las Margaritas	Duraznillo	Vista Hermosa	Zapotla
D_p	0.30 \pm 0.03 (0.18-0.40)	0.27 \pm 0.04 (0.18-0.40)	0.31 \pm 0.03 (0.24-0.40)	0.31 \pm 0.04 (0.19-0.41)	0.30 \pm 0.04 (0.22-0.43)	0.28 \pm 0.03 (0.22-0.38)
D_{VM}	0.19 \pm 0.03 (0.13-0.29)	0.20 \pm 0.03 (0.15-0.33)	0.21 \pm 0.03 (0.16-0.31)	0.22 \pm 0.03 (0.13-0.34)	0.19 \pm 0.03 (0.13-0.26)	0.21 \pm 0.03 (0.12-0.34)
N_{EST}	160.26 \pm 26.79 (118-230)	148.80 \pm 14.34 (135-187)	159.54 \pm 19.40 (134-192)	165.70 \pm 20.34 (118-203)	213.94 \pm 24.63 172-262	173.15 \pm 15.13 (114-205)
A_{CR}	0.55 \pm 0.05 (0.45-0.73)	0.50 \pm 0.06 (0.38-0.65)	0.59 \pm 0.06 (0.47-0.75)	0.56 \pm 0.05 (0.44-0.67)	0.54 \pm 0.06 (0.46-0.69)	0.51 \pm 0.06 (0.37-0.65)
L_{SE}	1.28 \pm 0.05 (1.14-1.35)	1.41 \pm 0.07 (1.26-1.52)	1.57 \pm 0.08 (1.44-1.69)	4.17 \pm 0.06 (1.39-1.56)	1.40 \pm 0.07 (1.30-1.55)	1.46 \pm 0.05 (1.36-1.58)
A_{SE}	1.20 \pm 0.07 (1.06-1.32)	1.20 \pm 0.07 (1.08-1.32)	1.26 \pm 0.08 (1.11-1.35)	1.22 \pm 0.06 (1.18-1.27)	1.04 \pm 0.07 (0.90-1.19)	1.24 \pm 0.05 (1.08-1.33)

El significado de las abreviaturas aparece en la [Tabla 2](#). Los valores de ancho y largo de las estructuras son en cm.

con condiciones micro climáticas tales como temperatura, incidencia solar y humedad ([Adams & Terashima 2018](#), [Tsukaya 2018](#)). Las hojas en diferentes estratos del árbol absorben, interceptan y reflejan la luz de manera diferente, lo que también influye en los procesos fisiológicos ([Ellsworth & Reich 1993](#)). Acorde con los antes mencionado, dentro de los caracteres foliares analizados, el diámetro del pecíolo y de la vena media fueron los que más contribuyeron en la diferenciación de las poblaciones de *M. mexicana*, ambas características cumplen funciones relevantes porque son una continuación de la estructura vascular del tallo, además influyen en la determinación del balance hídrico de la planta, en el intercambio gaseoso, en el soporte físico de la hoja y pueden ser afectados por la incidencia de la luz: un pecíolo más pequeño ofrece una mayor superposición de las hojas y menor absorción de la luz ([González-Rodríguez & Oyama 2005](#), [Maya-García et al. 2019](#)). La variación foliar observada en *M. sprengeri* ([Yang et al. 2015](#)) y *M. rzedowskiana* ([Gutiérrez-Lozano](#)

[et al. 2020](#)), ha sido atribuida a altos niveles de plasticidad fenotípica. El patrón de diferenciación en la morfología foliar de las poblaciones de *M. mexicana*, puede ser en gran medida, resultado de la expresión de la plasticidad fenotípica a causa de las condiciones micro ambientales experimentadas por cada árbol, pero también puede estar relacionado con las diferencias genotípicas entre individuos ([Zúñiga et al. 2009](#), [Gratani 2014](#), [Fritz et al. 2018](#)).

En el caso de las flores, se esperaría que la selección natural tienda a reducir al mínimo la variación fenotípica, para evitar cambios en características funcionalmente importantes que afecten el éxito reproductivo de los individuos ([Canché-Delgado et al. 2011](#), [Gómez et al. 2020](#)), por lo que la plasticidad se expresaría con menor frecuencia en las flores que en otros órganos vegetales. Sin embargo, se ha encontrado amplia variación en las características florales entre poblaciones en diferentes especies ([Arteaga et al. 2015](#), [Gómez et al. 2020](#)). En Magnoliaceae dicha variación se ha asociado con una plasticidad fenotípica

Tabla 8. Comparaciones morfológicas de las especies segregadas de *Magnolia mexicana* en México.

Var.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
L_H	18.8-51.3	12.0-22.4	16-44	17.8-23.5	16-30	16-29	27-28.5	12.0-22.4	24-25	35-45	18-36	18.0-22.5	12.3-20.2
A_{ML}	7.1-18.8	7.1-10.4	13-14	9.5-14.3	5-12.5	11-13	10-10.5	7.1-10.4	11.9-12.6	23-29	8-23	7.0-11.0	6-9.1
N_{VS}	5.0-13.0	10-12	18-19	-	12-14	8-14	-	10-12	8-11	-	-	10-11	13-14
L_P	4.3-12.8	5.2-7.8	-	8-12.5	-	5.4-8.9	6.5-7.5	-	5.5-7.5	9.5-12	-	6.0-7.5	-
L_{SP}	5.8-12.5	9-10	3-4	4-7.9	-	3-5.2	-	7.0-8.5	3-10	5.8-6	-	3.4-5.8	7.5-7.7
A_{SP}	3.4-8.5	6	2	3-7.6	-	2.9-3.8	-	4.0-5.5	5.8	4-4.2	-	3.7-5.0	5.5-5.6
L_{PEX}	5.6-11.1	9-10	2.9-3	5.9-8.6	-	5.8	-	6.9-8.3	9-9.2	7-7.5	-	6-6.2	7.5-7.7
A_{PEX}	3.5-7.2	6	1.9-2	2.2-4.2	-	2.2	-	4.0-5.5	4.5-5.3	4.5	-	2.7-3.2	5.5-5.6
N_{EST}	114-262	120-178	71	175	71-112	70-90	-	200	168-178	-	-	98-248	166-175
N_{CR}	27-85	38-40	19-28	89-92	20-28	33-35	-	46-56	47-58	37-44	-	61-70	36-41
L_{FR}	8.5-15.2	10-12	-	10.4-14.8	5.4	8.1	-	8.5-9.0	9.5	13-14.5	-	11.5-15.0	5.4-10
L_{SE}	1.1-1.6	1.4-1.7	-	1.0-1.3	1-2.8	1.0-1.3	-	1.2	1.2-1.3	1.5-1.6	-	1.0-1.2	0.9-1.3
F_F	OE	OE	-	E	S	O	-	ES	O	OP	-	O	OS
Región	Puc. y Ver.	Zongolica Ver.	Hidalgotitlán, Ver.	Berriozabal, Chis.	Ver.	Tuxtlas Ver.	San Pedro Ixcatlán, Oax.	Tuxtlas Ver.	Minatitlán, Jal.	Talpa de Allende, Jal.	Oaxaca	Usumacinta, Chis.	Sierra Norte, Oax.

El significado de las abreviaturas aparece en la [Tabla 2](#).

1.- *Magnolia mexicana* (Presente estudio), 2.- *M. mexicana* (descripción original), 3.- *M. wendtii*, 4.- *M. perezfarrera*, 5.- *M. sinacacolinii*, 6.- *M. lopezobradorii*, 7.- *M. decastroi*, 8.- *M. zoquepotocae*, 9.- *M. jaliscana*, 10.- *M. ofeliae*, 11.- *M. macrocarpa*, 12.- *M. lacandonica*, 13.- *M. yajilachi*. *FF = Forma del fruto, OE = Ovoides a elipsoides, E = Elipsoidal, S = Subgloboso, O = Ovoides, OS = Ovoides a subgloboso, ES = Esferoidal, OP = Ovoides a piriformes. Los valores de ancho y largo de las estructuras son en cm.

moderada, en general en caracteres como el color, tamaño y número de pétalos en *Magnolia schiedeana* (Vite 2016), *M. sprengeri* (Kang & Ejder 2011, Yang et al. 2015) y *M. wufengensis* (Wang et al. 2017); y en el número y longitud de carpelos y estambres en *M. rzadowskiana* (Gutiérrez-Lozano et al. 2020). En *Magnolia mexicana*, las características morfológicas más importantes que permitieron la diferenciación de las poblaciones analizadas están relacionadas también con el tamaño de los pétalos (largo y ancho), de los carpelos (ancho) y el número de los estambres.

De cualquier forma, las diferencias en la morfología floral (y de frutos y hojas) entre las poblaciones de *M. mexicana*, pueden ser el resultado de la variación genética y/o de la plasticidad fenotípica a causa de cambios en las condiciones ambientales (Gratani 2014, Fritz et al. 2018, Chávez-Cortázar et al. 2021). De acuerdo con Gómez et al. (2020), bajo condiciones ambientales de estrés (v.gr. temperatura y humedad), una estrategia común en las plantas es la expresión de plasticidad en características esenciales para el funcionamiento fisiológico y ecológico. Acorde con lo anterior, las poblaciones de *M. mexicana* se distribuyen en diferente altitud y en condiciones ambientales contrastantes y severas: los árboles son utilizados como sombra en cafetales, por lo que están expuestos a la radiación solar directa; en las poblaciones de Las Margaritas, La Tuza y Vista Hermosa los individuos son escasos (< 10 en cada una) y están aislados entre sí. Aun cuando en las tres poblaciones restantes la densidad fue mayor (entre 30 y 100 individuos), el disturbio es constante debido a las actividades humanas. Si bien la información sobre el ambiente local es general y cualitativa, da cuenta de la heterogeneidad de condiciones y factores ambientales que podrían estar influyendo en la variación morfológica de las flores, frutos y hojas en las poblaciones de *M. mexicana* analizadas (Arteaga et al. 2015, Gómez et al. 2020).

En esta investigación se encontró que la variación morfológica de los frutos (largo y ancho de las semillas) fue más alta entre poblaciones, en comparación con la de las hojas y flores, lo cual puede estar asociado con distintas causas, que incluyen desde un desfase de cerca de un mes en la colecta de frutos en la población de Zapotla, hasta otras posibles causas ya mencionadas en párrafos anteriores con referencia a las hojas y flores: tamaño poblacional y aspectos genéticos. Es importante señalar que, durante la medición de los frutos en laboratorio, se observó que varios de ellos no contenían semillas viables, lo cual podría estar relacionado con la escasez o inexistencia de polinizadores específicos, con la reducción en

la polinización cruzada por la baja densidad de individuos cercanos entre sí, y/o con autoincompatibilidad, tal como se ha documentado en otras especies de *Magnolia* (Ishida et al. 2003, Kang & Ejder 2011, Arteaga-Ríos et al. 2020). Aunque no existen estudios sobre polinizadores en *M. mexicana*, es probable que sean escarabajos del género *Cyclocephala*, como en otras especies de *Magnolia* que se distribuyen en México (Dieringer & Espinosa 1994).

En poblaciones pequeñas, fragmentadas y con pocos individuos la autocompatibilidad puede ser una ventaja para garantizar la producción de frutos y semillas, aunque algunos autores sugieren que puede contribuir a la extinción de especies, dado que incrementa la tasa de depresión endogámica (Povilus et al. 2014). En *M. mexicana*, la presencia de semillas inviábiles puede ser un problema por la distribución restringida, baja densidad de sus poblaciones y especificidad de hábitat en que se desarrolla. Aunado a ello, el efecto de las actividades humanas (recolección de flores, frutos y madera) en particular en las localidades Duraznillo, Las Margaritas, La Tuza y Vista Hermosa, están reduciendo y fragmentando aún más su hábitat.

El conocimiento detallado de la variación morfológica de las poblaciones de *M. mexicana* bajo condiciones ambientales heterogéneas a lo largo de su área de distribución será de utilidad para definir con mayor precisión su identidad taxonómica y para plantear, desde una perspectiva integral, estrategias para el manejo y conservación de sus poblaciones. Las poblaciones de El Cajón y Vista Hermosa presentaron mayor diferenciación morfológica con respecto a las demás, lo cual fue más contrastante en las características de las flores y los frutos; dado el alto grado de aislamiento y baja densidad de las poblaciones analizadas, sería de interés y utilidad realizar análisis a nivel molecular para confirmar su identidad taxonómica.

Agradecimientos

Este trabajo formó parte del proyecto de investigación Conacyt, CB-2016/284484: “Efecto del cambio climático sobre poblaciones relictas de árboles; integrando dendrocronología y genética de poblaciones”. Los autores agradecen al Sr Arnulfo, Sr. Francisco, Biól. Guillermo, Sr. Lorenzo (Puebla), Diego y Sr. Joaquín (Veracruz) por su amabilidad, disposición y apoyo durante el trabajo de campo.

Literatura citada

Adams WW, Terashima I . 2018. The leaf: a platform for performing photosynthesis. Cham: Springer Interna-

- tional Publishing. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-3-319-93594-2>
- Arnold PA, Kruuk LEB, Nicotra AB. 2019. How to analyse plant phenotypic plasticity in response to a changing climate. *New Phytologist* **222**: 1235-1241. DOI: <https://doi.org/10.1111/nph.15656>
- Arteaga CM, Bello-Bedoy R, León de la Luz JL, Delgado J, Domínguez R. 2015. Phenotypic variation of flowering and vegetative morphological traits along the distribution for the endemic species *Yucca capiens* (Agavaceae). *Botanical Sciences* **93**: 765-770. DOI: <https://doi.org/10.17129/botsci.214>
- Arteaga-Ríos LD, Mejía-Carranza J, Piña-Escutia JL, González-Díaz JG, Rivera-Colín A. 2020. Comparación molecular y morfológica entre ejemplares de *Magnolia mexicana* “Yoloxóchitl” (Magnoliaceae) del estado de México y Veracruz. *Polibotánica* **49**: 107-124. DOI: <https://doi.org/10.18387/polibotanica.49.7>
- Bateman RM, Rudall PJ. 2006. Evolutionary and morphometric implications of morphological variation among flowers within an inflorescence: A case-study using European orchids. *Annals of Botany* **98**: 975-993. DOI: <https://doi.org/10.1093/aob/mcl191>
- Canabos GC. 1988. *Probabilidad y estadística. Aplicaciones y métodos*. Estado de México, México: McGraw-Hill/Interamericana de México, SA de CV. ISBN 858-451-856-0
- Canché-Delgado A, García-Jain SE, Vaca-Sánchez MS, Cuevas-Reyes P. 2011. Cambios en la morfología floral y foliar en *Crataegus tracyi*: importancia de la asimetría fluctuante como indicador de estrés ambiental. *Biológicas* **13**: 44-49.
- Chávez-Cortázar A, Oyama K, Ochoa-Zavala M, Mata-Rosas M, Veltjen E, Samain M-E, Quesada M. 2021. Conservation genetics of relict tropical species of *Magnolia* (section *Macrophylla*). *Conservation Genetics* **22**: 259-273. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10592-021-01334-5>
- de Candolle AP. 1818. *Regni vegetabilis Systema naturale: Sive ordines, genera et species. Sistens Prolegomena et Ordines quinque nempè Ranunculaceas, Dilleniaceas, Magnoliaceas, Anonaceas, et Menispermicas*. I. Treuttel et Würtz.
- Dieringer G, Espinosa SJE. 1994. Reproductive ecology of *Magnolia schiedeana* (Magnoliaceae), a threatened cloud forest tree species in Veracruz, Mexico. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* **121**: 154-159. DOI: <https://doi.org/10.2307/2997167>
- Durán D. 1581. Historia de las Indias de Nueva España e Islas de tierra firme. Alicante: Biblioteca Virtual Miguel de Cervantes. <http://bdh-rd.bne.es/viewer.vm?id=0000169486&page=1> (accessed February 20, 2020).
- Ellsworth DS, Reich PB. 1993. Canopy structure and vertical patterns of photosynthesis and related leaf traits in a deciduous forest. *Oecologia* **96**: 169-178. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00317729>
- Fritz MA, Rosa E, Sicard A. 2018. Mechanisms underlying the environmentally induced plasticity of leaf morphology. *Frontiers in Genetics* **9**: 478. DOI: <https://doi.org/10.3389/fgene.2018.00478>
- Gómez JM, Torices R, Lorite J, Klingenberg CP, Perfectti F. 2016. The role of pollinators in the evolution of corolla shape variation, disparity and integration in a highly diversified plant family with a conserved floral bauplan. *Annals of Botany* **117**: 889-904. DOI: <https://doi.org/10.1093/aob/mcv194>
- Gómez JM, Perfectti F, Armas C, Narbona E, González-Megías A, Navarro L, DeSoto L, Torices, R. 2020. Within-individual phenotypic plasticity in flowers fosters pollination niche shift. *Nature Communications* **11**: 4019. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-020-17875-1>
- González-Rodríguez A, Oyama K. 2005. Leaf morphometric variation in *Quercus affinis* and *Q. laurina* (Fagaceae), two hybridizing Mexican red oaks. *Botanical Journal of the Linnean Society* **147**: 427-435. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2004.00394.x>
- Gratani L. 2014. Plant phenotypic plasticity in response to environmental factors. *Advances in Botany* **2014**: 1-17. DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2014/208747>
- Gutiérrez-Lozano M, Sánchez-González A, Vázquez-García JA, López-Mata L, Octavio-Aguilar P. 2020. Diferenciación morfológica poblacional de *Magnolia rzedowskiana* (Magnoliaceae): especie endémica en peligro de extinción de la Sierra Madre Oriental, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* **91**: 2007-8706. DOI: <https://doi.org/10.22201/ib.20078706e.2020.91.3101>
- Hair JF, Anderson RE, Tatham RL, Black WC. 1999. *Análisis multivariante*. Madrid, España: Prentice Hall Iberia. ISBN 84-8322-035-0.
- Hammer Ø, Harper DA, Ryan PD. 2001. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia electronica* **4**: 9.
- Hernández F. 1649. *Rerum medicarum Novae Hispaniae thesaurus: seu, Plantarum, animalium, mineralium mexicanarum, historia. ex typographeio*

- Vitalis Mascardi. https://archive.org/details/bub_gb_49ShllvGAF4C/page/n67/mode/2up (accessed February 20, 2020).
- Hernández-Cerda M, Carrasco-Anaya G. 2004. Climatología. In: Luna-Vega I, Morrone J, Espinosa D, eds. *Biodiversidad de la Sierra Madre Oriental*. México, DF: Las Prensas de Ciencias, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. pp. 63-108. ISBN 970-32-1526-2
- Hernández-Hernández V, Terrazas T, Delgadillo MC. 2009. The *Dryopteris patula* complex (Dryopteridaceae) in México: morphometric analysis. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* **85**: 103-112. DOI: <https://doi.org/10.17129/botsci.2308>
- Hilbe JM. 2007. STATISTICA 7: An Overview. *The American Statistician* **61**: 91-94, DOI: <https://doi.org/10.1198/000313007X172998>
- Ishida K, Yoshimaru H, Ito H. 2003. Effects of Geitonogamy on the Seed Set of *Magnolia obovata* Thunb. (Magnoliaceae). *International Journal of Plant Sciences* **164**: 729-735. DOI: <https://doi.org/10.1086/376812>
- Jiménez-Mejías P, Cohen JI, Naczi RF. 2017. The study of online digitized specimens revalidates *Andersonglossum boreale* as a species different from *A. virginianum* (Boraginaceae). *Phytotaxa* **295**: 22-34. DOI: <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.295.1.2>
- Jiménez-Ramírez JK, Vega-Flores R, Cruz-Durán C, Vázquez-García JA. 2007. *Magnolia guerrerensis* (Magnoliaceae), una especie nueva del bosque mesófilo de montaña del estado de Guerrero, México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* **80**: 73-76. DOI: <https://doi.org/10.17129/botsci.1746>
- Johnson DE. 2000. *Métodos multivariados aplicados al análisis de datos*. México: International Thomson Editores, ISBN: 968-7529-90-3
- Kang Y, Ejder E. 2011. *Magnolia sprengeri* Pamp.: Morphological variation and geographical distribution. *Plant Biosystems* **145**: 906-923. DOI: <https://doi.org/10.1080/11263504.2011.633352>
- Klein LL, Caito M, Chapnick C, Kitchen C, Hanlon RO, Chitwood DH, Miller AJ. 2017. Digital morphometrics of two North American grapevines (*Vitis*: Vitaceae) quantifies leaf variation between species, within species, and among individuals. *Frontiers in Plant Science* **8**: 373. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00373>
- Leiboff S, Li X, Hu HC, Todt N, Yang J, Li X, Yu X, Muehlbauer GJ, Timmermans CPM, Yu J, Schnable PS, Scanlon MJ. 2015. Genetic control of morphometric diversity in the maize shoot apical meristem. *Nature Communications* **6**: 8974. DOI: <https://doi.org/10.1038/ncomms9974>
- Lozano-Contreras G. 1994. *Dugandiodendron y Talauma (Magnoliaceae) en el Neotropico*. Santafé de Bogotá, DC, Colombia: Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. pp: 1-147. ISBN 958-9205-00-3
- Lozoya LX. 1994. *Plantas, medicina y poder: breve historia de la herbolaria mexicana*. México, DF: Editorial Pax México, Librería Carlos Césarman, S.A., pp. 176-196. ISBN 968-860-490-9
- Ludwig JA, Reynolds JF. 1988. *Statistical ecology*. New York: John Wiley and Sons. ISBN 0-471-83235-9.
- Luna-Vega I, Alcántara-Ayala O, Contreras-Medina R, Ponce-Vargas A. 2006. Biogeography, current knowledge and conservation of threatened vascular plants characteristic of Mexican temperate forests. *Biodiversity and Conservation* **15**: 3773-3799. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10531-005-5401-1>
- Marhold K. 2011. Multivariate morphometrics and its application to monography at specific and infraspecific levels. In: Stuessy TF, Lack HW, eds. *Monographic at specific and infraspecific assessment of plant biodiversity*. Gantner Verlag, Ruggell, Liechtenstein, pp. 73-99. ISBN 9783906166988
- Maya-García R, Torres-Miranda A, Cuevas-Reyes P, Oyama K. 2019. Diferenciación morfológica entre poblaciones de *Quercus elliptica* Née (Fagaceae) a lo largo de un gradiente ambiental en México y América Central. *Botanical Sciences* **98**: 50-65. DOI: <https://doi.org/10.17129/botsci.2395>
- McCune B, Grace JB. 2002. *Analysis of ecological communities*. Glenden Beach, Oregon: MjM Software Design. ISBN-13: 978-0972129008
- McIntyre S, Lavorel S, Landsberg J, Forbes TDA. 2009. Disturbance response in vegetation—towards a global perspective on functional traits. *Journal of Vegetation Science* **10**: 621-630. DOI: <https://doi.org/10.2307/3237077>
- Medrano-Hernández J, Rodríguez de la O JL, Reyes-Trejo B, Peña-Ortega G. 2017. Molecular characterization using ISSR primers of *Magnolia mexicana* DC. from two regions in Zongolica, Veracruz, Mexico. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* **23**: 427-436. DOI: <https://doi.org/10.5154/r.rchscfa.2017.03.019>
- Palacios E. 2006. *Ficha técnica de Magnolia mexicana. Cuarenta y ocho especies de la flora de Chiapas incluidas en el PROY-NOM-059-ECOL-2000*. México, DF: Instituto de Historia Natural y Ecología. Bases de datos

- SNIB-CONABIO. Proyecto No. W008. <http://www.snib.mx/iptconabio/resource?r=SNIB-W008> (accessed February 20, 2020).
- Pennington T, Sarukhán J. 1998. *Arboles tropicales de México: manual para la identificación de las principales especies*. México: Universidad Nacional Autónoma de México y Fondo de Cultura Económica. ISBN 9683664288
- Pérez-Atilano Y, Sánchez-González A, Terrazas T, Vasco A. 2018. Análisis morfológico y anatómico del complejo *Myriopteris lendigera* (Pteridaceae) en México. *Brittonia* **70**: 40-59. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12228-017-9496-y>
- Povilus RA, Losada JM, Friedman WE. 2014. Floral biology and ovule and seed ontogeny of *Nymphaeathermarum*, a water lily at the brink of extinction with potential as a model system for basal angiosperms. *Annals of Botany* **115**: 211-226. DOI: <https://doi.org/10.1093/aob/mcu235>
- Rohlf FJ. 2005. Geometric morphometrics simplified. *Trends in Ecology and Evolution* **20**: 13-14.
- Rose JP, Kriebel R, Sytsma KJ. 2016. Shape analysis of moss (Bryophyta) sporophytes: insights into land plant evolution. *American Journal of Botany* **103**: 652-662. DOI: <https://doi.org/10.3732/ajb.1500394>
- Ruiz-Jiménez CA, Téllez-Valdés O, Luna-Vega I. 2012. Clasificación de los bosques Mesófilos de montaña de México; afinidades de la flora. *Revista Mexicana de Biodiversidad* **83**: 1110-1144. DOI: <https://doi.org/10.22201/ib.20078706e.2012.4.1012>
- Rzedowski J. 2015. Catálogo preliminar de las especies de árboles silvestres de la Sierra Madre Oriental. *Flora del Bajío y de regiones adyacentes*. **30** (fascículo complementario): 1-14.
- Sánchez-Cuahua R. 2016. *La Magnolia mexicana (DC) G. Don, en la Sierra de Zongolica, Ver: estudio poblacional y conocimiento tradicional*. BSc Thesis. Instituto Tecnológico Superior de Zongolica.
- SEMARNAT [Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales]. 2010. Norma Oficial Mexicana. NOM-059-SEMARNAT-2010, Protección ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo. *Diario Oficial de la Federación*. 2da Sección, 30 de diciembre de 2010.
- Standley PC. 1920. *Trees and Shrubs of Mexico*. Washington, Govt. Printing Office, pp. 1920-1926. <https://www.biodiversitylibrary.org/item/53162#page/2/mode/lup> (accessed February 20, 2020).
- Standley PC, Steyermark JA. 1946. *Flora of Guatemala*, Fieldiana, Botany 24. Chicago: Chicago Natural History Museum, pp. 266-269. <https://www.biodiversitylibrary.org/item/19662#page/7/mode/lup> (accessed April 29, 2020).
- Sultan SE. 1995. Phenotypic plasticity and plant adaptation. *Acta Botanica Neerlandica* **44**: 363-383. DOI: <http://natuurtijdschriften.nl/record/541017>
- Tsukaya H. 2018. A consideration of leaf shape evolution in the context of the primary function of the leaf as a photosynthetic organ. In: Adams WW, Terashima I, eds. *The leaf: a platform for performing photosynthesis*. Cham: Springer, pp. 1-26. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-319-93594-2_1
- UICN. [Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza]. 2012. *Categorías y Criterios de la Lista Roja de la UICN: Versión 3.1, Segunda edición*. Gland, Suiza y Cambridge, UK: Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza. ISBN: 978-2-8317-1539-1
- Valladares F, Sánchez-Gómez D, Zavala MA. 2006. Quantitative estimation of phenotypic plasticity: bridging the gap between the evolutionary concept and its ecological applications. *Journal of Ecology* **94**: 1103-1116. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2006.01176.x>
- Vázquez-García JA. 1994. Magnolia (Magnoliaceae) in Mexico and Central America: A Synopsis. *Brittonia* **46**: 1-23. DOI: <https://doi.org/10.2307/2807454>
- Vázquez-García JA, De Castro-Arce E, Muñiz-Castro MA, Cházaro-Basáñez MJ. 2012a. *Magnolia zoquepopolucae* (subsection *Talauma*, Magnoliaceae), a new species from Sierra de Santa Marta, Veracruz, México *Phytotaxa* **57**: 51-55. DOI: <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.57.1.7>
- Vázquez-García JA, Gómez-Domínguez H, López-Cruz A, Espinosa-Jiménez JA, Sahagún-Godínez E, Muñiz-Castro MA. 2013a. *Magnolia perezfarrerae* a new species and a key to Mexican species of *Magnolia* section *Talauma* subsection *Talauma* (Magnoliaceae) *Botanical Sciences* **91**: 1-9. DOI: <https://doi.org/10.17129/botsci.421>
- Vázquez-García JA, Muñiz-Castro MÁ, Arroyo F, Pérez ÁJ, Serna M, Cuevas-Guzmán R, Gurrola-Díaz CM. 2013b. Novelty in neotropical *Magnolia* and an addendum proposal to the IUCN Red List of Magnoliaceae. In: Vázquez-García JA, Muñiz-Castro MÁ, Salcedo Pérez E, Hernández Álvarez E, Escoto García T, Díaz Echavarría N, eds. *Recursos Forestales en el Occidente de México: Diversidad, Manejo, Producción, Aprove-*

- chamienio y Conservación*. Guadalajara: Universidad de Guadalajara, pp. 461-496. ISBN 978-607-8072-73-6
- Vázquez-García JA, Muñoz-Castro MA, De Castro-Arce E, Murguía-Araiza R, Nuño-Rubio AT, Cházaro BM. 2012b. Twenty new Neotropical tree species of *Magnolia* (Magnoliaceae). In: Salcedo-Pérez E, eds. *Recursos forestales del occidente de México: Diversidad, manejo, aprovechamiento y conservación*. Guadalajara, Jalisco: Serie Fronteras de Biodiversidad, Universidad de Guadalajara, pp. 1-131.
- Villaseñor JL. 2010. *El bosque húmedo de montaña de México y sus plantas vasculares; catálogo florístico-taxonomico*. México, DF: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad/Universidad Nacional Autónoma de México. ISBN: 978-607-02-1557-5
- Víte A. 2016. *Estructura poblacional de Magnolia schiedeana Schltdl. en dos ambientes contrastantes en el estado de Hidalgo, México*. MSc. Thesis. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.
- Waizel-Bucay J. 2002. Uso tradicional e investigación científica de *Talauma mexicana* (D.C.) Don., o flor del corazón. *Revista Mexicana de Cardiología* **13**: 31-38.
- Wang L, Xiao AH, Ma LY, Chen FJ, Sang ZY, Duan J. 2017. Identification of *Magnolia wufengensis* (Magnoliaceae) cultivars using phenotypic traits, SSR and SRAP markers: Insights into breeding and conservation. *Genetics and Molecular Research* **16**: 1-17. DOI: <https://doi.org/10.4238/gmr16019473>
- Wang YB, Liu BB, Nie ZL, Chen HF, Chen FJ, Figlar RB, Wen J. 2020. Major clades and a revised classification of *Magnolia* and Magnoliaceae based on whole plastid genome sequences via genome skimming. *Journal Systematic Evolution* **58**: 673-695. <https://doi.org/10.1111/jse.12588>
- White JJ, McVaugh R, Kiger RW, Reynolds FA, Sessé M, Moziño JM, Dios Vicente de la Cerda JD. 1998. Torner collection of Sessé and Mociño biological illustrations. Hunt Institute for Botanical Documentation and The Universal Library. <https://www.huntbotanical.org/databases/show.php?11> (accessed March, 2020).
- Yang M, Shi SG, Liu W, Zhang M, Gou L, Kang YX, Liu JJ. 2015. Phenotypic variation and diversity of *Magnolia sprengeri* Pamp. in native habitat. *Genetic and Molecular Research* **14**: 6495-650. DOI: <https://doi.org/10.4238/2015.June.12.2>
- Zhang XH, Xia NH. 2007. Leaf architecture of subtribe *Micheliinae* (Magnoliaceae) from China and its taxonomic significance. *Acta Phytotaxonomica Sinica* **45**: 167-19.
- Zúñiga AE, Sánchez-González A, Granados-Sánchez D. 2009. Análisis de la variación morfológica foliar en *Quercus laeta* Liebm. en el Parque Nacional Los Mármoles, Hidalgo, México. *Revista Chapingo, Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* **15**: 87-93.

Editor de sección: Monserrat Vázquez Sánchez

Contribuciones de los autores: MGL realizó el trabajo de campo, análisis de resultados y escritura del artículo, JAVG, proporcionó información sobre la poblaciones y apoyo en la discusión de resultados, JLRO, realizó trabajo de campo y colaboró en el análisis de resultados, POA revisó los datos y colaboró en el análisis estadístico, DMGH, colaboró en el análisis de resultados, ASG, realizó el trabajo de campo, escritura y discusión de resultados.

Apéndice 1

Descripción botánica de Magnolia mexicana (DC.) G. Don. Árboles.- perennifolios de copa amplia y redonda. Miden de 12 a 40 m de altura, con diámetro de hasta 1.35 m. Tronco erguido; corteza ligeramente fisurada, con coloración grisácea a pardo amarillenta en los individuos adultos. Presenta lenticelas blanquecinas glabras, café oscuro; peciolos 6.1-12.2 × 0.2-0.4 cm, glabros; láminas foliares elípticas a oblongo elípticas 18.2-37.1 × 9.5-16.3 cm, base aguda, ápice agudo a obtuso, a veces ligeramente emarginado, la base cuneada a truncada y el margen entero con 5-11 venas secundarias laterales por lado; pedúnculo glabro 6.1-12.2 × 0.2-0.4 cm con tres o cuatro cicatrices pedunculares, botones florales anchamente elipsoides con dos hipsófilos, con pubescencia verde-amarillenta; flor abierta, tres sépalos obovados truncados en la base, de ápice redondo, verdosos, glabros y a menudo glaucos de 6.3-10.2 × 4.0-7.2 cm, adaxialmente blanco crema, abaxialmente verdes; seis pétalos, en dos ciclos, los exteriores obovados 3.8-6.6 × 5.8-8.7 cm, de ápice redondo, blancos, ocasionalmente con una mancha color púrpura en la base; tres pétalos internos obovados 5.8-8.7 × 2.9-4.9 cm; eje floral 4.9-7.0 cm de largo; estambres lineares 131-213 (-262), 1.2-1.8 × 0.2-1.0 cm, carnosos, amarillos, redondeados a obtusos en el ápice de color marrón oscuro; gineceo ovoide, de color blanco-crema, pubescente; carpelos aplanados 33-65 (-85), 2.2-3.2 × 0.4-0.6 cm, blancos en disposición helicoidal, estriados en la base, dorsalmente rugosos, con ápice ascendente; fruto cerrado ovoide 10.2-14.2 (-15) × 7.9-10.8 (-13) cm, pardo verdoso y ligeramente pubescente, compuesto de numerosos folículos leñosos. Dehiscencia circuncisa. Fruto abierto de 6.8-9.4 (-11) cm de diámetro, cada folículo contiene una o dos semillas lateralmente comprimidas, presenta de 26-81 (-86) semillas obovadas, rodeadas por una sarcotesta rojo-naranja, la cual se seca rápidamente adquiriendo coloración marrón. Debajo de la sarcotesta hay una cubierta

castaña, crustácea y opaca que contiene abundante endospermo y un embrión diminuto cerca de la base.

Fenología y requerimientos ecológicos. La producción de botones florales y flores en *M. mexicana* inicia en el periodo de marzo a mayo, y la fructificación inicia en los meses de julio y agosto (Sánchez-Cuahua, 2016), culminando en marzo o abril del siguiente año. Sin embargo, se observó que la floración puede extenderse hasta el mes de octubre (localidad Vista Hermosa, Cosautlán de Carvajal). Las poblaciones de *M. mexicana* se desarrollan en zonas serranas de los estados de Oaxaca, Puebla y Veracruz, formando parte del bosque tropical perennifolio, brindando sombra a los cultivos de café y maíz; prosperan desde los 450 hasta los 1,500 m snm. Generalmente están constituidas por pocos individuos aislados; en las localidades La Tuza, Las Margaritas y Vista Hermosa, la densidad es de 5-7 árboles.

Importancia y usos. *M. mexicana* o también conocida como Yoloxóchitl que en lengua náhuatl significa flor de corazón, tiene una historia de aplicaciones medicinales que se remontan a la época prehispánica en México. Las flores y corteza se utilizan para tratar afecciones cardíacas (Waizel-Bucay 2002, Sánchez-Cuahua 2016), la infusión de la corteza se usa en medicina casera contra la hipertensión arterial, y las flores se emplean como antiespasmódicas para aromatizar el chocolate. También se usa con fines rituales, como planta de ornato en patios, parques y jardines, por su follaje exuberante y por la belleza y aroma de sus flores, como en el caso del municipio de Magdalena (Veracruz), donde solo se conservan dos o tres árboles en la plaza cívica. En la localidad de Zapotla (Zongolica, Veracruz), los frutos maduros son colectados para venderlos en pueblos aledaños, su precio oscila entre \$15 y \$20 pesos de acuerdo con el tamaño; las semillas son utilizadas para tratar parálisis.

Anexos 1: Estadísticos descriptivos de las características morfológicas foliares y florales para la especie de *Magnolia mexicana*

Variable	Puebla			Veracruz		
	El Cajón	La Tuza	Las Margaritas	Duraznillo	Vista Hermosa	Zapotla
1. L _{TL}	37.16±4.15 (26.78-48.61)	36.01±4.74 (26.89-43.95)	37.19±4.70 (27.72-49.59)	39.11±4.95 (27.68-51.31)	31.22±4.12 (18.82-41.80)	35.46±4.32 (25.70-48.13)
2. L _L	28.53±3.48 (20.23-38.54)	27.05±4.43 (18.89-34.95)	27.98±4.18 (20.31-38.33)	29.69±4.31 (20.45-41.91)	22.86±3.63 (10.78-31.77)	27.10±3.50 (18.86-37.58)
3. A _{ML}	3.21±1.46 (10.54-17.24)	12.62±1.34 (10.39-16.02)	13.46±1.81 (9.65-18.81)	12.98±1.57 (10.02-17.11)	10.84±1.31 (8.14-13.42)	11.84±1.65 (8.53-15.76)
4. L _P	8.63±1.47 (4.37-12-11)	8.96±1.24 (6.77-12.85)	9.20±0.93 (7.17-12.28)	9.41±1.38 (5.90-12.60)	8.35±1.37 (6.46-12.07)	8.35±1.29 (5.96-11.44)
5. D _P	0.30±0.03 (0.18-0.40)	0.27±0.04 (0.18-0.40)	0.31±0.03 (0.24-0.40)	0.31±0.04 (0.19-0.41)	0.30±0.04 (0.22-0.43)	0.28±0.03 (0.22-0.38)
6. D _{VM}	0.19±0.03 (0.13-0.29)	0.20±0.03 (0.15-0.33)	0.21±0.03 (0.16-0.31)	0.22±0.03 (0.13-0.34)	0.19±0.03 (0.13-0.26)	0.21±0.03 (0.12-0.34)
7. N _{vs}	8.94±1.06 (6.00-12.00)	7.86±1.12 (5.00-11.00)	8.48±1.11 (6.00-11.00)	8.95±1.33 (6.00-13.00)	8.18±0.93 (6.00-10.00)	7.42±1.00 (5.00-10.00)
8. L _L -A _{ML}	14.44±2.12 (9.86-20.52)	14.31±3.03 (8.90-19.64)	14.04±2.30 (9.79-20.33)	15.42±2.60 (10.63-23.26)	11.75±1.95 (7.99-17.09)	14.37±2.08 (9.87-20.76)

Anexos 1: Estadísticos descriptivos de las características morfológicas foliares y florales para la especie de *Magnolia mexicana*

Variable	Puebla			Veracruz		
	El Cajón	La Tuza	Las Margaritas	Duraznillo	Vista Hermosa	Zapotla
9. LP%	23.24±3.20 (11.51-31.15)	25.15±3.67 (18.78-35.07)	24.94±2.44 (19.97-31.69)	24.17±2.93 (16.54-31.40)	26.97±4.32 (20.52-42.72)	23.58±2.50 (16.15-26.69)
10. LL-AML%	38.83±3.42 (30.85-47.61)	39.42±4.21 (30.64-47.61)	37.65±2.36 (32.02-43.70)	39.33±2.89 (33.84-46.30)	37.61±3.53 (1.12-2.66)	40.51±2.85 (34.21-50.44)
11. LI/AML	2.16±0.24 (1.74-2.77)	2.13±0.24 (1.72-2.77)	2.07±0.13 (1.76-2.52)	2.29±0.27 (1.76-3.06)	2.11±0.29 (1.11-2.66)	2.30±0.25 (1.83-3.19)
12. LP/AML	0.65±0.11 (0.29-0.96)	0.71±0.09 (0.57-0.99)	0.69±0.07 (0.54-0.89)	0.72±0.09 (0.55-0.97)	0.77±0.10 (0.63-1.17)	0.71±0.09 (0.45-0.91)
13. L_{PD}	4.07±0.82 (2.43-6.56)	3.79±0.73 (2.62-5.26)	3.54±0.90 (2.24-5.84)	3.48±0.62 (1.52-4.83)	2.82±0.51 (2.20-4.11)	2.75±0.69 (1.76-5.30)
14. D_{PD}	1.44±0.12 (1.20-1.64)	1.36±0.08 (1.23-1.54)	1.49±0.16 (1.12-1.80)	1.55±0.24 (1.31-2.90)	1.47±0.12 (1.25-1.79)	1.34±0.10 (1.10-1.54)
15. N_{CP}	3.44±0.73 (2.00-5.00)	3.16±0.55 (2.00-4.00)	3.57±0.55 (3.00-5.00)	3.68±0.47 (3.00-4.00)	3.34±0.48 (5.79-0.59)	3.84±0.60 (3.00-5.00)
16. L_{EF}	5.82±0.53 (4.82-7.00)	5.56±0.39 (4.79-6.59)	6.43±0.60 (5.76-8.84)	5.70±0.42 (4.88-6.67)	5.79±0.59 (4.88-7.08)	5.23±0.47 (4.32-6.21)

Anexos 1: Estadísticos descriptivos de las características morfológicas foliares y florales para la especie de *Magnolia mexicana*

Variable	Puebla				Veracruz	
	El Cajón	La Tuza	Las Margaritas	Duraznillo	Vista Hermosa	Zapotla
17. L_{SP}	9.05±0.91 (7.17-11.33)	7.46±0.88 (5.63-9.20)	8.66±1.23 (6.51-12.55)	8.30±0.96 (6.74-11.19)	7.44±0.97 (5.81-9.79)	6.79±0.45 (5.91-7.67)
18. A_{SP}	5.61±0.60 (4.19-7.47)	5.03±0.76 (3.87-7.66)	6.14±0.76 (4.65-8.59)	5.56±0.67 (4.26-7.40)	4.93±0.79 (3.87-7.04)	4.30±0.52 (3.44-5.18)
19. L_{PEX}	9.05±0.88 (7.26-10.94)	7.36±0.88 (5.63-9.20)	8.75±1.14 (6.60-11.14)	8.01±0.97 (6.40-10.86)	7.38±1.05 (5.82-9.86)	6.64±0.57 (5.81-8.21)
20. A_{PEX}	5.42±0.76 (3.84-7.29)	5.01±0.70 (3.73-7.04)	5.65±0.56 (4.17-6.76)	5.30±0.64 (4.08-7.29)	4.80±0.72 (3.89-6.36)	4.53±0.41 (3.57-5.38)
21. L_{PIN}	8.05±0.71 (6.85-9.90)	6.63±0.66 (5.13-7.46)	7.78±0.91 (5.96-10.02)	7.35±0.74 (6.02-9.03)	7.01±0.82 (5.61-8.80)	6.16±0.45 (5.46-7.31)
22. A_{PIN}	4.24±0.70 (2.96-5.74)	3.54±0.34 (2.43-4.19)	4.21±0.57 (3.20-5.67)	4.19±0.40 (3.41-5.37)	3.57±0.35 (2.93-4.24)	3.76±0.38 (2.95-4.46)
23. N_{EST}	160.26±26.79 (118-230)	148.80±14.34 (135-187)	159.54±19.40 (134-192)	165.70±20.34 (118-203)	213.94±24.63 (172-262)	173.15±15.13 (114-205)
24. L_{EST}	1.51±0.15 (1.34-1.91)	1.39±0.08 (1.28-1.55)	1.59±0.25 (1.22-2.16)	1.46±0.11 (1.26-1.70)	1.44±0.13 (1.26-1.78)	1.41±0.14 (1.16-1.71)

Anexos 1: Estadísticos descriptivos de las características morfológicas foliares y florales para la especie de *Magnolia mexicana*

Variable	Puebla			Veracruz		
	El Cajón	La Tuza	Las Margaritas	Duraznillo	Vista Hermosa	Zapotla
25. A_{EST}	0.32±0.02 (0.28-0.40)	0.28±0.02 (0.25-0.34)	0.35±0.17 (0.27-1.31)	0.32±0.15 (0.24-1.38)	0.35±0.26 (0.23-1.48)	0.31±0.18 (0.23-1.14)
26. N_{CR}	46.58±9.96 (27-70)	43.76±5.08 (37-54)	47.34±5.80 (37-61)	49.16±8.37 (31-85)	50.57±5.64 (39-61)	51.95±6.87 (31-60)
27. L_{CR}	2.74±0.18 (2.12-3.18)	2.60±0.20 (2.21-2.92)	3.05±0.32 (2.57-3.72)	2.74±0.18 (2.33-3.15)	2.75±0.34 (2.18-3.30)	2.34±0.26 (1.92-2.95)
28. A_{CR}	0.55±0.05 (0.45-0.73)	0.50±0.06 (0.38-0.65)	0.59±0.06 (0.47-0.75)	0.56±0.05 (0.44-0.67)	0.54±0.06 (0.46-0.69)	0.51±0.06 (0.37-0.65)
29. N_{EST}/N_{CR}	3.52±0.61 (2.31-5.11)	3.42±0.30 (2.89-4.06)	3.39±0.35 (2.49-4.11)	3.44±0.60 (2.22-5.10)	4.25±0.49 (3.47-5.57)	3.37±0.38 (2.93-4.85)
30. L_{SP}/A_{SP}	1.62±0.19 (1.00-2.03)	1.49±0.15 (1.04-1.86)	1.40±0.09 (1.24-1.66)	1.50±0.16 (1.21-1.89)	1.51±0.14 (1.26-1.78)	1.59±0.16 (1.25-2.01)
31. L_{PEX}/A_{PEX}	1.69±0.28 (1.31-2.43)	1.47±0.17 (1.22-2.01)	1.54±0.13 (1.32-1.92)	1.51±0.12 (1.27-1.88)	1.54±0.16 (1.26-1.84)	1.47±0.12 (1.26-1.78)
32. L_{PIN}/A_{PIN}	1.93±2.68 (1.51-2.68)	1.88±0.19 (1.49-2.53)	1.86±0.19 (1.44-2.26)	1.76±0.14 (1.41-2.12)	1.97±0.24 (1.53-2.49)	1.64±0.14 (1.37-1.94)

Anexos 1: Estadísticos descriptivos de las características morfológicas foliares y florales para la especie de *Magnolia mexicana*

Variable	Puebla			Veracruz		
	El Cajón	La Tuza	Las Margaritas	Duraznillo	Vista Hermosa	Zapotla
33. L_{FR}	12.84±0.63 (12.08-14.27)	10.53±1.60 (8.57-12.97)	11.34±2.56 (8.60-14.79)	12.25±1.60 (9.17-14.26)	12.44±0.68 (11.29-13.76)	13.37±0.93 (11.72-15.22)
34. L_{PEN}	3.97±0.66 (2.83-5.56)	4.05±1.10 (2.52-6.42)	3.38±1.04 (2.05-4.79)	4.17±0.96 (2.59-6.39)	3.92±0.69 (2.70-5.09)	3.50±0.83 (1.28-4.58)
35. A_{PEN}	1.59±0.17 (1.27-1.87)	1.59±0.17 (1.40-1.86)	1.68±0.29 (0.99-1.99)	1.79±0.27 (1.30-2.21)	1.59±0.11 (1.38-1.72)	1.68±0.28 (1.00-2.07)
36. D_{FR}	7.66±0.52 (7.00-8.50)	6.94±0.75 (5.90-8.60)	8.06±1.14 (6.70-9.50)	8.58±0.95 (6.70-10.30)	8.79±0.46 (8.10-9.30)	8.58±0.95 (6.70-10.30)
37. N_F	43.06±2.98 (40-48)	42.66±3.94 (35-52)	45.88±5.73 (37-52)	43.26±4.94 (35-50)	52.33±10.10 (27-74)	44.86±4.67 (39-53)
38. N_s	43.06±2.98 (40-48)	48.53±19.14 (15-81)	52.88±10.90 (29-64)	55.06±6.96 (47-72)	90.46±24.99 (42-140)	66.46±12.75 (39-89)
39. L_{SE}	1.28±0.05 (1.14-1.35)	1.41±0.07 (1.26-1.52)	1.57±0.08 (1.44-1.69)	1.45±0.06 (1.39-1.56)	1.40±0.07 (1.30-1.55)	1.46±0.05 (1.36-1.58)
40. A_{SE}	1.20±0.07 (1.06-1.32)	1.20±0.07 (1.08-1.32)	1.26±0.08 (1.11-1.35)	1.22±0.03 (1.18-1.27)	1.04±0.07 (0.90-1.19)	1.24±0.06 (1.08-1.33)

CAPÍTULO III

Diversidad y estructura genética de *Magnolia mexicana* (DC.) G. Don (Sección *Talauma*, Magnoliaceae) en México

**Diversidad y estructura genética de *Magnolia mexicana* (DC) G. Don
(Sección *Talauma*, Magnoliaceae) en México**

Marisol Gutiérrez-Lozano¹, Pablo Octavio Aguilar¹, Dulce María Galván Hernández¹,
José Antonio Vázquez-García², Arturo Sánchez-González¹

¹Centro de Investigaciones Biológicas, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo,
Ciudad del Conocimiento; Carretera Pachuca-Tulancingo Km. 4.5, Mineral de la
Reforma, C.P. 42184, Hidalgo, México.

²Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Departamento de
Botánica y Zoología, Herbario IBUG, Universidad de Guadalajara, Carretera
Guadalajara-Nogales Km. 15.5. Camino Ramón Padilla Sánchez 2100, Nextipac, 45110
Zapopán, Jalisco, México.

Resumen

Con la intención de generar información básica útil para el desarrollo de programas de manejo y conservación de *Magnolia mexicana* (Yoloxóchitl), en el presente estudio se analizó la diversidad y la estructura genética de siete poblaciones naturales de esta especie, distribuidas en la Sierra Madre Oriental, México. La estimación de la variación y estructura genética se realizó con base en 12 marcadores SSR. Los resultados indican que la heterocigosis media esperada fue de 0.47 y la riqueza alélica de 0.80. El análisis de varianza molecular (AMOVA) muestra que la variación entre individuos explica 72% de la variación total, y la variación entre poblaciones el 24%. Los análisis: Neighbor-Joining, de agrupamiento bayesiano (obtenido con el programa STRUCTURE) y el diagrama de ordenación del análisis discriminante canónico, muestran que las poblaciones conforman tres grupos genéticos. Se observaron efectos de cuello de botella recientes en todas las poblaciones, con excepción de la población de El Cajón. La relación entre las distancias genéticas y geográficas no fue estadísticamente significativa, por lo que no hay evidencia de aislamiento por la distancia. Es probable que, a escala local, la fragmentación del hábitat, el cambio de uso del suelo y el aprovechamiento desmedido de las flores y frutos de *M. mexicana* por parte de los pobladores, estén afectando la diversidad y estructura genética de la especie. Por lo anterior, es prioritario implementar programas de manejo y conservación para garantizar la preservación de la especie a largo plazo.

Palabras clave: bosque tropical subcaducifolio, conservación, marcadores moleculares, riesgo de extinción, SSR, variabilidad genética, Yoloxóchitl.

Introducción

El género *Magnolia* L. (Magnoliaceae) incluye 170 especies de árboles (Vázquez-García *et al.*, 2015) agrupadas en 12 secciones, con base en su morfología (Figlar y Nooteboom, 2004; Kim y Suh, 2013; Wang *et al.*, 2020). *Magnolia* Sección Talauma, (Juss.) Baill., Subsección. Talauma comprende 72 especies, exclusivas del Neotrópico y se distribuyen desde México hasta el sureste de Brasil, incluido el Caribe (Vázquez-García *et al.*, 2015). *Magnolia mexicana* (DC) G. Don (Sección Talauma, Subsección Talauma) conocida comúnmente como Yoloxóchitl, es un árbol perennifolio que puede alcanzar hasta 40 m de altura y un diámetro de 1.35 m. Presenta flores solitarias con numerosos estambres y un ovario súpero compuesto por carpelos colocados en disposición helicoidal; las hojas son simples y dispuestas en espiral (Sánchez-Cuahua *et al.*, 2017; Arteaga-Ríos *et al.*, 2020; Gutiérrez-Lozano *et al.*, 2021).

M. mexicana es endémica del oriente de México, en donde tiene varios usos tradicionales, principalmente medicinales: las flores y corteza se utilizan para tratar afecciones cardíacas (Hernández, 1649; Durán, 1581; Waizel-Bucay, 2002). La infusión de la corteza se usa contra la hipertensión arterial, mientras que las flores se emplean como antiespasmódicas para aromatizar el chocolate, y las semillas contra la parálisis. También se usa con fines rituales, como planta de ornato en patios, parques y jardines, por su follaje exuberante y por la belleza y aroma de sus flores (Pennington y Sarukhán, 1998; Sánchez-Cuahua, 2016). Recientemente los frutos de *M. mexicana* se han convertido en un producto importante para el comercio local, debido a la extracción de semillas con fines medicinales.

La distribución natural de *M. mexicana* está restringida a los estados de Puebla, Oaxaca y Veracruz; crece en zonas de transición entre bosque mesófilo de montaña y bosque tropical perennifolio, en climas cálidos y sub-cálidos húmedos (Aldaba-Núñez *et al.*, 2021). Debido a que enfrentan múltiples amenazas, como la fragmentación del hábitat, la recolección excesiva de flores y semillas, aunado a su pobre capacidad de regeneración; las poblaciones de esta especie están altamente fragmentadas y varían sustancialmente en densidad y superficie ocupada, lo cual se ve reflejado en la pérdida significativa de información genética (Gutiérrez-Lozano *et al.*, 2021). De acuerdo con sus características biológicas, distribución y estado de supervivencia, *M. mexicana* se encuentra en la categoría de “amenazada” en la NOM-059-SEMARNAT-2010 (SEMARNAT 2010), en “peligro de extinción” (EN) en la lista roja de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN 2012) y en un nivel de vulnerabilidad bajo en el “Global Conservation Gap Analysis of *Magnolia*” (Linsky *et al.*, 2022).

La variabilidad genética es la materia prima para la preservación del potencial evolutivo de las especies, frente a los cambios en el entorno (Booy, 2002; Ouborg, 2010; Rodríguez *et al.*, 2013), por lo que en especies de plantas endémicas y en peligro de extinción, como *Magnolia mexicana* es esencial generar información acerca de la variación genética dentro y entre poblaciones, para la formulación de estrategias de manejo y conservación (Milligan *et al.*, 1994).

Los marcadores moleculares permiten realizar estimaciones precisas de la diversidad y estructura genética de las especies. El uso de microsatélites o marcadores SSR (Simple Sequences Repeats) tiene algunas ventajas, que incluyen alto polimorfismo, codominancia y costo relativamente bajo (Varshney *et al.*, 2005; Agarwal *et al.*, 2008),

por lo que son ampliamente utilizados en la evaluación de la diversidad genética intraespecífica y para reconocer posibles patrones geográficos de diferenciación genética en plantas, entre ellas varias especies de magnolias: *M. acuminata*, *M. ashei*, *M. cubensis*, *M. kobus*, *M. schiedeana*, *M. sharpii*, *M. tripelata*, entre otras (Isagi *et al.*, 1999; Kikuchi e Isagi, 2002; Ueno *et al.*, 2005; Newton *et al.*, 2008; Sun *et al.*, 2010; Gilkison, 2013; Budd *et al.*, 2015; von Kohn *et al.*, 2018; Tamaki *et al.*, 2019; Veltjen *et al.*, 2019; Wang *et al.*, 2019; Deng *et al.*, 2020; Hernández *et al.*, 2020). Los resultados de estos trabajos han generado datos básicos necesarios en la toma de decisiones y en la formulación de planes de conservación y protección de las especies.

En *M. mexicana* se han realizado tres estudios genéticos, con marcadores moleculares ISSR (Inter Secuencias Simples Repetidas), en uno de ellos, se analizaron sólo dos poblaciones con tamaño de muestra pequeña (entre 1 y 7 individuos/población) del municipio de Zongolica, Veracruz, por lo que los resultados no son contundentes (Medrano-Hernández *et al.*, 2017). De igual manera, Arteaga-Ríos *et al.* (2019), compararon algunas características morfológicas y moleculares de 12 individuos de *M. mexicana*, mediante el uso de RAPDS (ADN polimórfico amplificado al azar). Los resultados indicaron que los individuos de Malinalco y Zumpahuacán pertenecen a la Sección Talauma, aunque difieren en su morfología con respecto a la descripción taxonómica original de la especie. Recientemente, Aldaba-Núñez *et al.* (2021) estimaron la diversidad y estructura genética de 254 individuos, de cinco especies de *Magnolia*, por medio de 15 marcadores SSR (Secuencias Simples Repetidas), sus resultados permitieron diferenciar solo tres especies, los pocos individuos de la Sierra de Zongolica analizados, presentaron alta semejanza genética con *M. mexicana*, aunque en función

de su morfología se determinaron como *M. decastroi*. De cualquier forma, el número limitado de poblaciones y el tamaño reducido de las muestras de *M. mexicana*, impidió estimar con certeza el nivel de diferenciación genética entre poblaciones.

Con base en la información anterior, el objetivo general del presente estudio fue evaluar la diversidad genética de *Magnolia mexicana* a lo largo de su área de distribución natural, con base en marcadores SSR, utilizando un número adecuado de poblaciones y un tamaño de muestra representativo. Los objetivos específicos fueron: 1) estimar la diversidad y estructura genética de las poblaciones de *M. mexicana*, y 2) determinar si la distancia genética entre poblaciones está asociada con la distancia geográfica entre ellas.

Materiales y métodos

Zona de estudio

La distribución de las poblaciones naturales de *M. mexicana* se limita a sur de la Sierra Madre Oriental, México (Vázquez-García *et al.*, 2013a, 2013b), son comunes en la zona de transición entre el bosque tropical subcaducifolio (BTS) y el bosque mesófilo de montaña (BMM). El BTS se caracteriza por su alta densidad vegetal, tiene un clima tipo A, con precipitación anual total de entre 1,100 y 1,300 mm. La temperatura media anual varía entre 22 y 26 °C; mientras que la temperatura más baja fue de 18°, sin presencia de heladas (Pennington y Sarukhán, 1998). Por otra parte, el BMM presenta un clima C(f), templado con lluvias todo el año (Rzedowski, 2015), con presencia de neblinas, por lo que el grado de humedad es alto, oscila entre 55 y 65 % (Hernández-Cerda y Carrasco-Anaya, 2004). La precipitación total anual varía entre 1,048 y 2,385 mm y la temperatura

promedio anual entre 17.1 y 20.7 °C. El intervalo de distribución altitudinal del BMM en México fluctúa entre 600 y 2,500 m (Villaseñor, 2010; Ruiz-Jiménez *et al.*, 2012).

Las ocho poblaciones de *M. mexicana* analizados se distribuyen en los estados de Oaxaca, Puebla y Veracruz; cinco de ellas se localizaron a partir de referencias previas (artículos de investigación y plataforma NaturaLista) y las demás se registraron por primera vez, a partir de la exploración en campo en localidades aledañas a los sitios de presencia conocidos. Las localidades de estudio fueron las siguientes: 1. El Cajón (Xicotepec de Juárez), 2. Las Margaritas (Hueytamalco), 3. La Tuza (Tuzamapan de Galena), 4. Duraznillo (Quimixtlan), en Puebla; 5. Vista Hermosa (Cosautlán de Carvajal), 6. Chocamán (Córdoba) y 7. Zapotla (Zongolica) en Veracruz (Figura 1, Tabla 1).

Durante los meses de floración, en la primavera (mayo y junio) de los años 2019 y 2020, se recolectó tejido foliar del total de individuos adultos presentes en cada población. El material vegetal, fue limpiado con alcohol al 70% para evitar que algún DNA ajeno se incluyera en el estudio. Posteriormente, las muestras se colocaron en bolsas de plástico a las que se adicionó perlas de sílice para la desecación y fueron almacenadas en un congelador a -20 °C, hasta su uso en el análisis genético en laboratorio.

Tabla 1. Características generales de las localidades de estudio y tamaño de muestras de *Magnolia mexicana*

Municipio	Localidad	Tamaño de muestra	Latitud	Longitud	Altitud (m)	TPA (°C)	PTA (mm)
Xicotepec de Juárez, Pue.	El Cajón	10	20° 18'48.0"	97° 56'11.1"	826	25	2,300
Tuzamapan de Galena, Pue.	La Tuza	6	20° 03'58.9"	97° 34'66.6"	626	26	3,000
Hueytamalco, Pue.	Las Margaritas	11	19° 59'0.18"	97° 18'96.4"	614	26	2,500
Quimixtlán, Pue.	Duraznillo	11	19° 16'53.5"	97° 00'27.7"	1205	20	1,700
Cosautlán de Carvajal, Ver.	Vista Hermosa	8	19° 19'35.3"	96° 59'14.4"	1236	22	2,000
Córdoba, Ver.	Chocamán	8	19° 00'29.7"	97° 01'54.7"	1360	19	1,844
Zóngolica, Ver.	Zapotla	13	18° 38'34.59"	98° 58'44.60"	1141	26	2,700

Temperatura promedio anual (TPA), precipitación total anual (PTA)

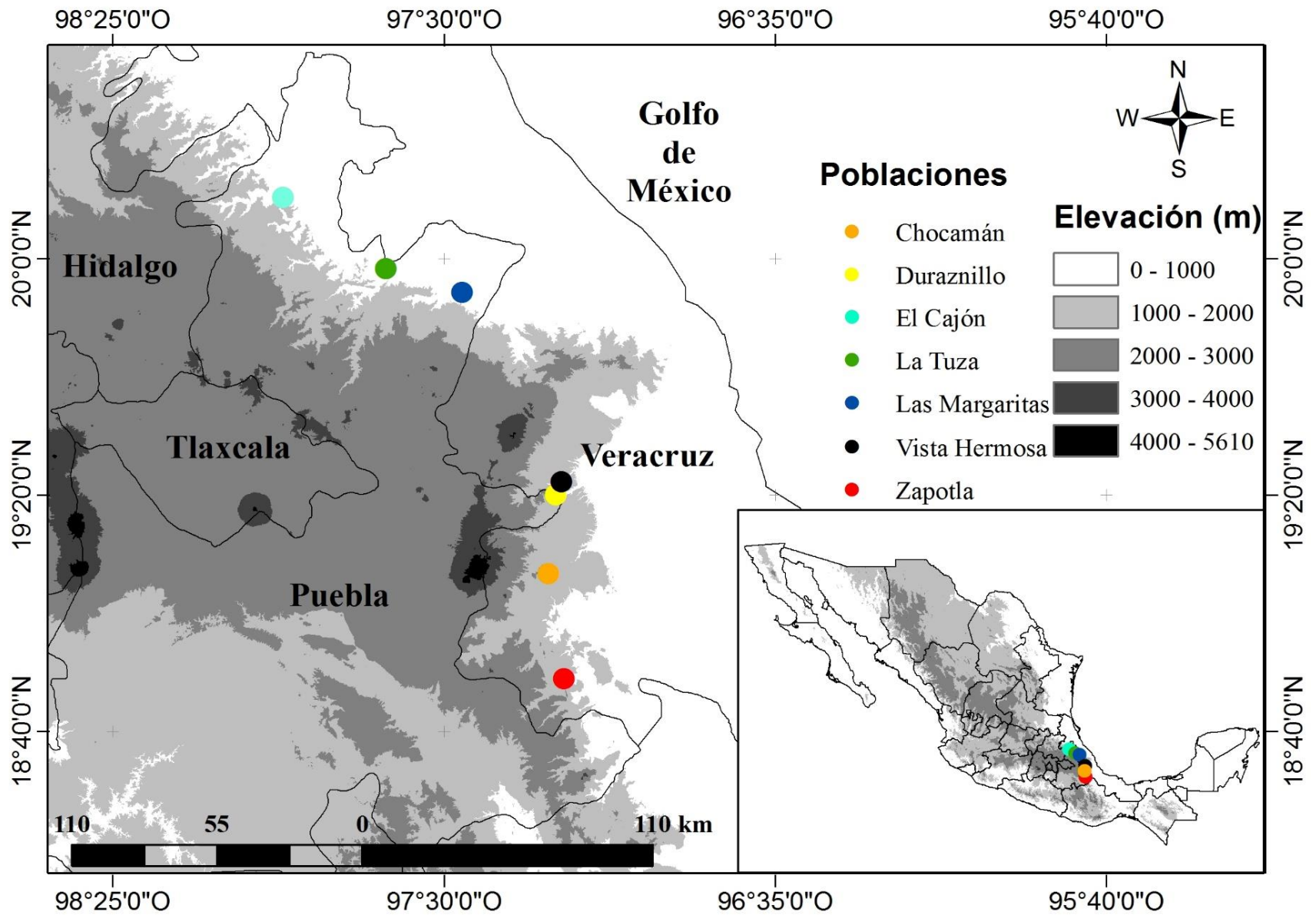


Figura 1. Localización geográfica de las poblaciones de *Magnolia mexicana* en la Sierra Madre Oriental, México.

Extracción-Amplificación de DNA de *Magnolia mexicana*

Para la obtención de DNA se empleó el protocolo de Cetilmetilamonio Bromuro (Doyle y Doyle, 1987), con modificaciones para eliminar los metabolitos secundarios. Se pulverizaron 0.5 gramos de tejido con nitrógeno líquido hasta obtener un polvo fino que se colocó en un microtubo de 2 ml. Después se añadió 1 ml de buffer CTAB-PVP 2x y 4 μ l de β -mercaptoetanol en el microtubo y la solución se incubó a 37 °C por 60 minutos para después agregar 10 μ l de proteinasa K y 10 μ l de RNA'asa (1mg/1lm).

Posteriormente, se adicionaron 600 μ l de solución cloroformo-octanol (24:1 v/v) a la preparación y se centrifugó a 12,000 rpm durante 10 minutos. El sobrenadante fue recuperado en un microtubo nuevo de 1.5 ml con 400 μ l de isopropanol. La muestra se congeló-precipitó a -20 °C por 12 horas, pasado este tiempo se centrifugó a 12,000 rpm por 10 minutos para obtener la pastilla, la cual se lavó con 1 ml de etanol al 70% y se centrifugó a 14,000 por 10 minutos. Finalmente, la pastilla fue secada y resuspendida con 50 μ l buffer TE y se almacenó a -20° C.

Se determinó la cantidad y la pureza del DNA por electroforesis, para ello se realizó la preparación de gel de agarosa al 1%, por 1 hora a 90 volts, una vez obtenido el gel se tiñó con MIDORIGreen (NIPPON GENETICS, Japón). Se utilizaron 12 marcadores microsatélites (MA39_159, MA39_182, MA39_185, MA39_236, MA39_342, MA39_348, MA40_282, MA41_076, MA41_373, MA42_028, MA42_231 y MA42_471; Tabla 2) desarrollados por Veltjen et al. (2018) para *M. lacandonica*, *M. mayae*, *M. dealbata* y *M. cubensis* subsp. *acunae*.

La mezcla de reacción de amplificación fue de 50 ng/ μ l de DNA genómico de cada una de las muestras extraídas (2 μ l); se adicionó 1.6 μ l de MgCl₂ (25 mM), 0.7 μ l de

oligonucleótido (primer forward), 0.7 µl de oligonucleótido (primer reverse), (1 µM), 0.3 µl de dNTP's (10 mM), 2.4 µl de buffer (5x), 0.5 µl de dH₂O y 0.3 µl (1.5U) de TaqDNA polimerasa (Promega®), para un total de 8 µl por microtubo de reacción.

La amplificación se realizó en el termociclador punto final Artik de Thermo Scientific® y el programa PCR consistió en la prenaturalización a 95°C durante tres minutos, seguida de 30 ciclos para la etapa de naturalización a 95° C por 30 segundos. Se utilizó una temperatura (°C) variable y específica para cada microsatélite: 54.6 °C MA39_159 y MA40_282; 64 °C MA39_182; 59.8 °C MA39_185; 58.6 °C MA39_236; 62 °C MA39_342; 56.2 °C MA39_348; 59.2 °C MA41_076; 54 °C MA41_373, 56.1 °C MA42_028; 59.2 °C MA42_231 y 57.2 °C MA42_471; durante 30 segundos (etapa de alineamiento), 72 °C por 90 segundos (etapa de extensión) por 30 ciclos y por último una extensión final a 72 °C por seis minutos.

Los productos de PCR obtenidos se visualizaron en geles de acrilamida al 15 % a 90 volts durante 90 minutos y se tiñeron con bromuro de etidio a una concentración de 10 mg/ml, para luego visualizarlos con luz ultravioleta. Una vez obtenidos los electroferogramas, se identificó el tamaño de cada uno de los fragmentos mediante el programa Gel Analyzer 2010a (Lazar and Lazar, 2010). Posteriormente, se procedió a identificar los genotipos de cada uno de los individuos. Con los genotipos obtenidos se construyó una matriz de datos para el análisis estadístico. Los datos obtenidos fueron analizados, en primer lugar, con el programa Micro-Checker versión 2.2.3 (Van Oosterhout *et al.*, 2004) con la finalidad de detectar alelos nulos.

Tabla 2. Marcadores moleculares utilizados para el análisis genético de las poblaciones de *Magnolia mexicana* (propuestos por Veltjen *et al.*, 2018).

Locus	Sequencia Forward	Sequencia Reverse	No. Alelos	Estructura	Ta (observado)	Tamaño de alelos (pb)
MA39_159	F: ATCAGGAGTGTAACGCCACC	R: GGCGAGCTCGTTAGATCCTC	3	(TC)16	54.6	146–178 [139]
MA39_182	F : CTACACGGGTGAAGCCTACC	R :GGCCGTAATCAGAGTCCACC	3	(TC)12	64	144–148 [129]
MA39_185	F : CGGGTGTGTAGATGACGCT	R :AAGACACGGAATGGGACGAG	2	(AG)15	59.8	231–358 [209]
MA39_236	F: GTAGCCATGTGGGTCTGTCC	R: AGTTGGTAGGGCACATGTCC	2	(CT)13	58.6	148–158 [126]
MA39_342	F: TCCCTTCAGTCTTCACACGC	R: AAAGGAGCGTTGAGTGGTGG	3	(TC)14	62	164–208 [146]
MA39_348	F: GTAGAGCTCCCATGCCTCAC	R: GGGCTGTCTACTGGATGGAC	2	(TC)17	56.2	150–180 [119]
MA40_282	F: TCTCTTTCCCTCCGTCCTCC	R: TCTTCCGGCTTCATGTCGTC	4	(GA)15	54.6	128–166 [116]
MA41_076	F: AACAACGCTGGGTGATGGAA	R: TGGAGTTGACGCCTCTAGGA	3	(GA)26	59.2	169–209 [176]
MA41_373	F: GCGCCCAATCAGAACACAAC	R: GGGAAGAGCTTCTTTCCGCA	3	(CT)16	54	166–207 [165]
MA42_028	F: GGATCGTCTTCCGCCATTCT	R: TTCCGTACGATGCTCCCATG	3	(CT)33	56.1	129–147 [151]
MA42_231	F: GGGTGCGAAATGTGCATCAA	R: GGGCCAGTGAGCATTAGAGC	2	(AG)14	59.2	152–194 [131]
MA42_471	F: TGATGAAGAGCCCAGATCGTC	R: TGGCCTTGTCTCCATACGT	3	(GA)16	57.2	163–230 [153]

Análisis estadístico

Los valores de diversidad genética que se calcularon para las ocho poblaciones de *M. mexicana* usando el programa GenAEx (Genetic Analysis in Excel) versión 6.3 (Peakall y Smouse, 2006) fueron: porcentaje de polimorfismo (%P), promedio de alelos por locus (A), número efectivo de alelos (Ae), heterocigosis observada (Ho) y esperada (He), índice de Shannon (I), desviación del equilibrio Hardy-Weinberg (Chi cuadrada) y coeficiente de fijación (Fis; Wright, 1922). Además, se estimaron las distancias genéticas de Nei (Nei *et al.*, 1983) utilizando el programa GenAEx versión 6.3 (Peakall y Smouse, 2006), posteriormente con la matriz de distancias obtenidas se generó un dendrograma, por medio del algoritmo Neighbor-Joining en PAST versión 2.17 (Hammer *et al.*, 2001) para examinar la relación de la distancia genética entre poblaciones.

La estructura genética de las poblaciones de *M. mexicana* se estimó por medio de análisis de varianza molecular (AMOVA), para cuantificar la distribución de la variabilidad dentro y entre poblaciones (Slatkin y Barton, 1989; Excoffier y Lischer, 2010); el análisis se realizó con el software STRUCTURE versión 2.3.4 (Pritchard *et al.*, 2000). Se utilizó un enfoque sistemático de agrupamiento bayesiano de los árboles, aplicando el modelo de cadenas de Markov de Monte Carlo (MCMC). El proceso MCMC se inició asignando aleatoriamente árboles a un número determinado de grupos, desde K =2 hasta K=10. Los árboles se fueron asignando a cada grupo genético, con base en las estimaciones de frecuencia. Para este proceso se realizaron 10 réplicas cada una, usando un periodo de ensayo de 50,000 interacciones y 50,000 repeticiones de cadenas de MCMC. Se asumió un modelo de mezcla y frecuencias alélicas correlacionadas. El valor óptimo de K se estimó utilizando dos alternativas: el método de Pritchard *et al.* (2000), que favorece el

modelo con el valor máximo de $\ln \Pr (X | K)$ y el método ΔK (Evanno *et al.*, 2005), que selecciona el modelo con la tasa de cambio máxima de segundo orden de $\ln \Pr (X | K)$. Los resultados se visualizaron usando el servidor web STRUCTURE SELECTOR (Li y Liu, 2018).

Para contrastar los resultados del AMOVA (varianza en las frecuencias de alelos), del análisis de agrupamiento con la técnica Neighbor-Joining (distancia genética) y del análisis de asignación bayesiana (probabilidad de pertenencia a un grupo por remuestreo), se realizó un Análisis Discriminante de Componentes Principales (DAPC, por sus siglas en ingles), un método multivariado que se utiliza para identificar y describir grupos de individuos genéticamente relacionados. Con el análisis de componentes principales (PCA) es posible reducir el número de variables originales en un conjunto menor de variables independientes (denominadas componentes principales: CP), e identificar los caracteres que contribuyen más a explicar el porcentaje más alto de variación genética (Gutiérrez-Lozano *et al.*, 2021); con el análisis de funciones de discriminante (FDA) fue posible examinar los patrones de variación e identificar las variables genéticas que maximizaron las diferencias entre poblaciones (Hair *et al.* 1999; Johnson 2000; McCune y Grace, 2002). El DAPC es una técnica estándar libre de suposiciones sobre el equilibrio HW o desequilibrio por ligamiento y se basa en el mismo modelo estadístico clásico de ANOVA, para estimar la diferenciación entre grupos por medio de la distancia (Jombart *et al.*, 2010). El análisis se realizó con el programa STATISTICA, versión 7 (Hilbe, 2007).

Adicionalmente, para estimar disminución o expansión en el tamaño poblacional, se realizó un análisis de cuello de botella, para identificar si hay desviación con respecto

al modelo de equilibrio deriva-mutación (Cornuet y Luikart, 1996), considerando tanto el modelo de mutación paso a paso (SMM) como el modelo de islas infinitas (IAM), mediante la prueba de distribución estandarizada y la prueba no paramétrica de Wilcoxon para la heterocigosis por población. Finalmente, para probar si la estructura genética es resultado de aislamiento por la distancia o por adaptaciones climáticas, se realizó una prueba de Mantel pareada (Mantel, 1967), entre las distancias genéticas de Nei y las distancias geográficas de las poblaciones de *M. mexicana*.

Resultados

Diversidad genética

Las poblaciones de *Magnolia mexicana* mostraron variación en los índices de diversidad genética (en términos de N_a , N_e , I , H_o , H_e , F), como se indica en la Tabla 3. El número de alelos por locus (N_a) por población fluctuó entre 1.91 (La Tuza) y 3.66 (Zapotla), con un promedio de 2.72. El número de alelos efectivos (N_e) en todas las poblaciones fue de 2.30, con un rango de variación de entre 1.73 (La Tuza) y 3.07 (Zapotla). Los valores de heterocigosis esperada (H_e) y heterocigosis observada (H_o) fluctuaron entre 0.29 (Chocamán) y 0.64 (Zapotla) y 0.1 (El Cajón, La Tuza y Vista Hermosa) y 0.06 (Zapotla), con promedios de 0.47 y 0.02, respectivamente. El valor promedio del índice de Shannon (I) fue de 0.80, con un rango de 0.50 (Chocamán) a 1.145 (Zapotla). El índice de fijación (F_{is}) promedio fue de 0.92, con un intervalo de variación de 0.92 (Chocamán) a 0.96 (Duraznillo y Vista Hermosa). Con respecto al equilibrio Hardy-Weinberg (HWE), ninguna de las poblaciones cumple con este criterio a excepción de la población de Zapotla.

Tabla 3. Valores de diversidad genética en las poblaciones de *Magnolia mexicana* evaluadas. **N:** número de individuos amplificados, **N_a:** promedio de alelos por locus, **N_e:** número efectivo de alelos por locus, **I:** índice de Shannon, **H_o:** heterocigosis observada, **H_e:** heterocigosis esperada, **F_{is}:** Coeficiente de fijación.

Población	N	N _a	N _e	I	H _o	H _e	F _{is}	HW
El Cajón	8.66 ± 0.18	3.25 ± 0.3	2.54 ± 0.29	0.96 ± 0.10	0.01 ± 0.01	0.54 ± 0.05	0.95 ± 0.05	$\chi^2 = 18.9,$ $p = 0.0004$
La Tuza	4.91 ± 0.08	1.91 ± 0.22	1.73 ± 0.19	0.51 ± 0.12	0.01 ± 0.01	0.33 ± 0.07	0.94 ± 0.04	$\chi^2 = 8.68,$ $p = 0.015$
Las Margaritas	6.41 ± 0.22	3 ± 0.27	2.54 ± 0.27	0.94 ± 0.1	0.05 ± 0.02	0.55 ± 0.04	0.9 ± 0.05	$\chi^2 = 11.43,$ $p = 0.004$
Duraznillo	9.33 ± 0.18	2.91 ± 0.31	2.44 ± 0.22	0.91 ± 0.09	0.02 ± 0.01	0.55 ± 0.03	0.96 ± 0.02	$\chi^2 = 16,$ $p = 0.0005$
Vista Hermosa	6.41 ± 0.14	2.25 ± 0.21	1.89 ± 0.18	0.65 ± 0.09	0.01 ± 0.01	0.42 ± 0.05	0.96 ± 0.03	$\chi^2 = 8.1,$ $p = 0.008$
Chocamán	6.25 ± 0.13	2.08 ± 0.37	1.90 ± 0.34	0.50 ± 0.17	0.02 ± 0.01	0.29 ± 0.09	0.92 ± 0.03	$\chi^2 = 8.92,$ $p = 0.005$
Zapotla	13.75 ± 0.13	3.66 ± 0.31	3.07 ± 0.27	1.145 ± 0.09	0.06 ± 0.03	0.64 ± 0.03	0.87 ± 0.08	$\chi^2 = 33.8,$ $p = 1.18$

Estructura genética

Los resultados del AMOVA muestran que el 72% de la varianza total fue explicada por diferencias entre individuos, 24% entre poblaciones y 4% dentro de individuos. Es importante señalar que todas las poblaciones analizadas, difieren entre sí de forma estadísticamente significativa ($p < 0.001$; Tabla 4).

Tabla 4. Análisis de varianza molecular (AMOVA) para las ocho poblaciones de *Magnolia mexicana*

Fuente de la varianza	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Componentes de varianza	Total de varianza (%)	P = valor
Entre poblaciones (F_{st})	6	164.835	1.187	24%	<0.001
Entre individuos (F_{is})	53	394.940	3.626	72%	<0.001
Dentro de individuos (F_{it})	60	12	0.200	4%	<0.001

El dendrograma obtenido a partir de la técnica de Neighbor-Joining, indicó que las siete poblaciones pueden dividirse en dos grupos principales, de acuerdo con la longitud de las ramas y los valores de inicio del Bootstrap: el grupo uno está integrado por la población de Chocamán, y el grupo dos incluye el resto de las poblaciones, pero la población de Zapotla fue la más divergente, dado que se distingue como un subgrupo, dentro del grupo 2. Las demás poblaciones formaron el subgrupo 2, dentro del grupo 2, por lo que guardan mayor semejanza entre sí.

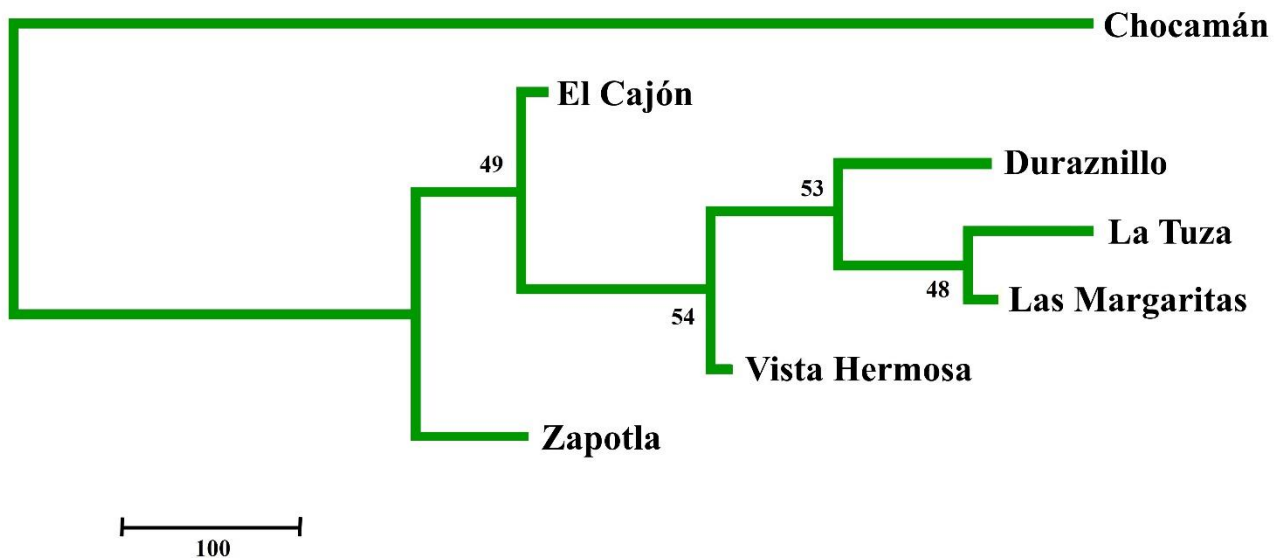


Figura 2. Agrupamiento Neighbor-Joining basado en las distancias de Nei para las siete poblaciones de *Magnolia mexicana* analizadas.

El análisis de agrupamiento bayesiano muestra que el número optimo de grupos genéticos fue de tres, de acuerdo con el valor máximo de ΔK . El grupo uno incluye las poblaciones de El Cajón, La Tuza, Las Margaritas, Duraznillo y Vista Hermosa, con una mezcla de los tres grupos genéticos; mientras que el grupo 2, integrado por las poblaciones de Las Margaritas, Chocamán y Zapotla, comparten dos grupos genéticos en mayor proporción; el grupo tres, está constituido por las poblaciones de El Cajón, Las Margaritas y Zapotla (Figura 3).

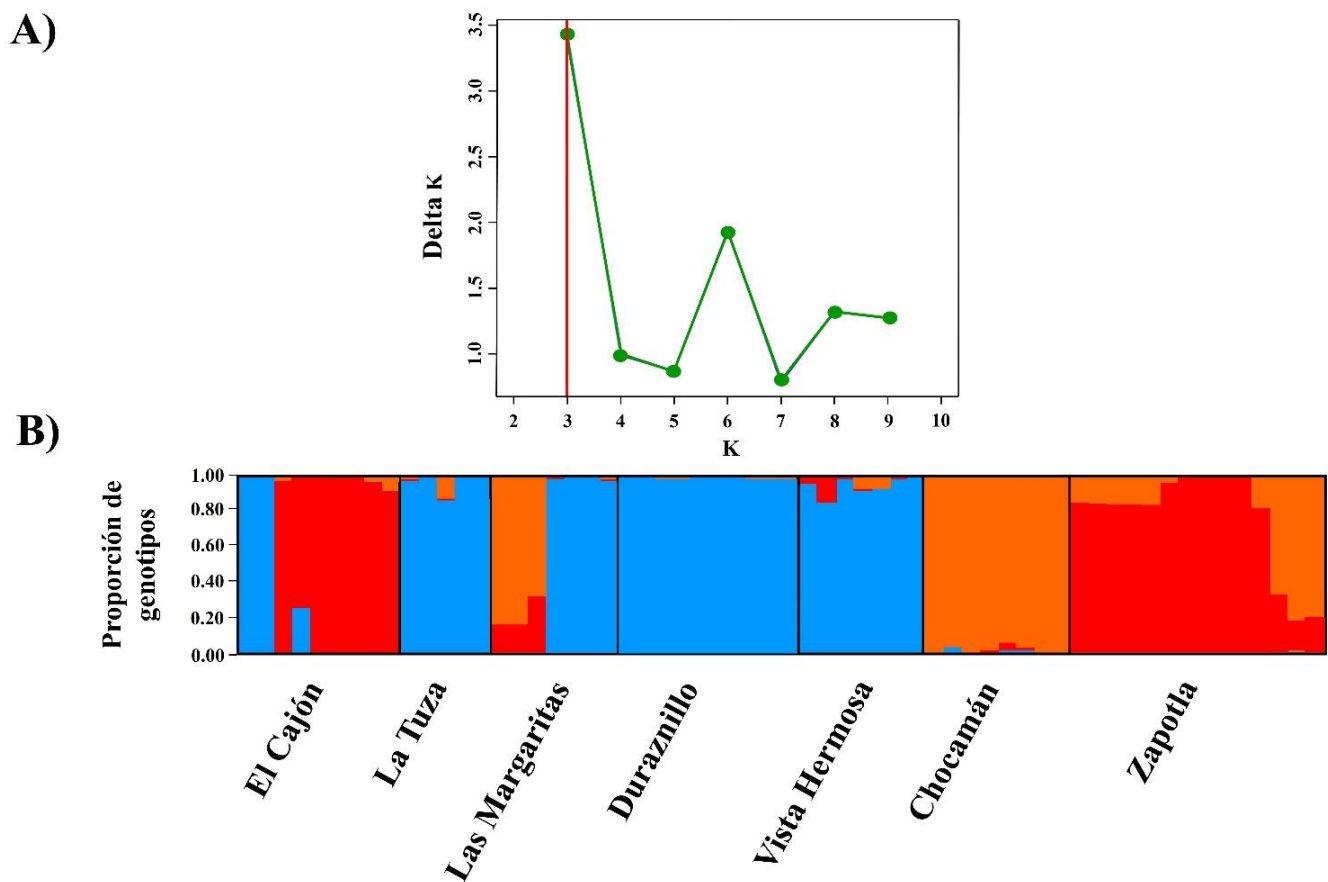


Figura 3. Análisis de agrupamiento Bayesiano. A) Determinación del número de grupos genéticos (Delta K) por el método de Evanno *et al.* (2005). B) Distribución de grupos genéticos entre las localidades de *Magnolia mexicana*.

Los resultados del DAPC indicaron que los primeros dos factores explican el 88.10% de la variación total de los datos (Figura 4). Los valores obtenidos con la prueba de F muestran que existen diferencias estadísticamente significativas entre las poblaciones analizadas, por lo que en el diagrama de ordenación se puede distinguir que los puntos que representan las características genéticas de los individuos de la población de Chocamán ($F, 33.74; p < 0.000$), están separados de los puntos que representan a la población de Zapotla ($F, 15.37; p < 0.0001$), que forma un grupo con algunos individuos de la población Las Margaritas ($F, 3.69; p < 0.0004$), y las poblaciones: Duraznillo, Vista Hermosa y La Tuza que conforman un grupo más heterogéneo. Los resultados del DAPC, que representan la distribución natural de la variabilidad genética de las poblaciones de *M. mexicana* fueron consistentes con los resultados del análisis de bayesiano.

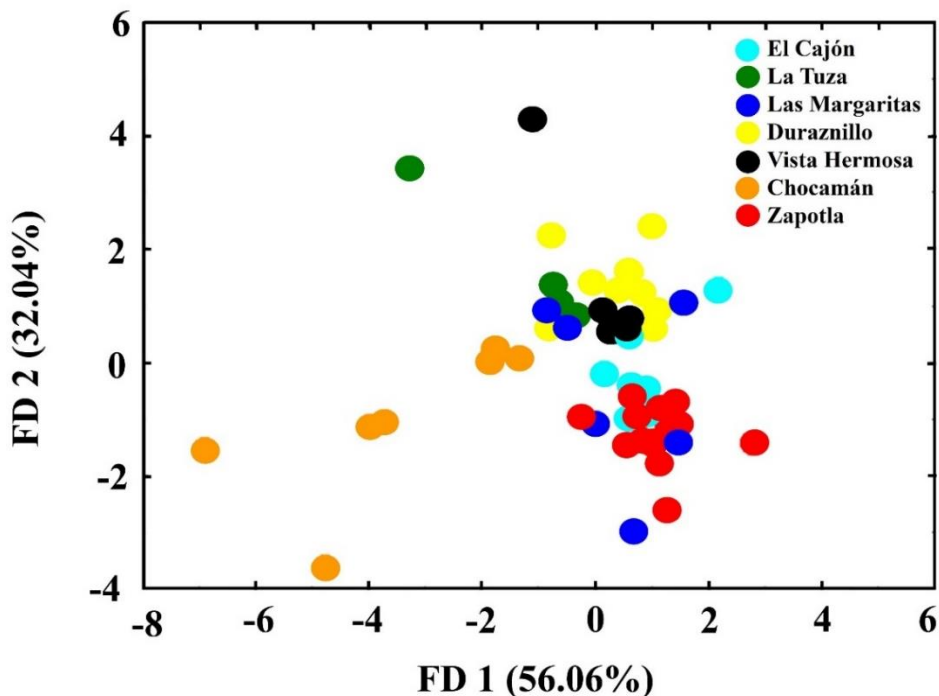


Figura 4. Análisis discriminante de componentes principales (DAPC), entre las poblaciones de *Magnolia mexicana* evaluadas.

El modelo de islas infinitas (IAM) estimó que hay cuellos de botella recientes en todas las poblaciones. Con el modelo de mutación paso a paso (SMM), solo la población de El Cajón no presentó reducción en el tamaño poblacional (Tabla 5). Adicionalmente, los resultados de la prueba de Mantel indican que no hay correlación lineal entre las distancias genéticas y las distancias geográficas entre las poblaciones ($r = 0.095$, $p = 0.62$).

Tabla 5. Probabilidad obtenida por el análisis de cuello de botella. **IAM** Modelo de islas infinitas, **SMM** Modelo de mutación pasó a paso. La prueba de Wilcoxon muestra solo la cola derecha, dado que la cola izquierda no resultó significativa en ninguna población.

Población	Prueba Z		Wilcoxon	
	IAM	SMM	IAM	SMM
El Cajón	0.00305	0.06469*	0.06469	0.12939*
La Tuza	0.00195	0.00390	0.00390	0.00781
Las Margaritas	0.00036	0.00231	0.00231	0.00463
Duraznillo	0.00012	0.00012	0.00012	0.00024
Vista Hermosa	0.00341	0.01049	0.01049	0.02099
Chocamán	0.01562	0.01562	0.01562	0.31250
Zapotla	0	0	0.00024	0.00048

* Resultado no significativo

Discusión

Existen diferentes aproximaciones al estudio de la diversidad y estructura genética de *Magnolia mexicana* ya sea por la medición de variantes moleculares neutrales, como los RAPD (Medrano *et al.*, 2017), los ISSR (Arteaga-Ríos *et al.*, 2020) o marcadores codominantes y altamente polimórficos como los SSR (Aldaba-Núñez *et al.*, 2021). La importancia de estimar la variabilidad mediante marcadores SSR radica en la posibilidad de obtener información básica sobre la diversidad y estructura genética (distribución de la variación genética de las poblaciones), útil para la implementación de programas de conservación de las especies de plantas (Tamaki *et al.*, 2016; von Kohn *et al.*, 2017; Veltjen *et al.*, 2018; Fan *et al.*, 2020; Hernández *et al.*, 2020; Aldaba-Núñez *et al.*, 2021; Chavéz-Cortázar *et al.*, 2021).

En el presente estudio se estimó que, el nivel de variación genética en *M. mexicana* fue bajo ($H_e = 0.47$), comparado con el estimado por Aldaba-Núñez *et al.* (2021) para la misma especie ($H_e = 0.60$); y con los valores obtenidos en otras investigaciones; por ejemplo, en especies de magnolias neotropicales, $H_e = 0.458 - 0.712$ (Veltjen *et al.*, 2019); en dos especies de China, *M. sinostellata*, *Michelia shiluensis* $H_e = 0.521-0.718$ (Wang *et al.*, 2019; Deng *et al.*, 2020); en *M. kobus* de Japón, $H_e = 0.723$ (Tamaki *et al.*, 2019) y en *M. acuminata* de EUA y Canadá, H_e fluctuó entre 0.828 y 0.899 (Budd *et al.*, 2015). Las diferencias en los valores de diversidad genética obtenidas en los estudios antes referidos, pueden estar relacionados con varios factores. Por ejemplo: historia de vida y estrés ambiental por presiones antropogénicas diferentes en cada especie (Nybom, 2004; Nunziata *et al.*, 2016). Las principales consecuencias de la fragmentación del hábitat son la reducción progresiva en el tamaño de las poblaciones y el aumento en la distancia

entre fragmentos, que pueden tener efecto sobre la variación genética, heterocigosis, endogamia, flujo de genes y divergencia genética entre poblaciones (Heinken y Weber, 2013; Tamaki *et al.*, 2016; Chen *et al.*, 2017).

Se estimó que la población de Zapotla fue la más diversa ($I = 1.145$), mientras que las de Chocamán, La Tuza ($I = 0.51, 0.50$, respectivamente) y el resto de las poblaciones, mostraron valores bajos en todos los índices de diversidad genética estimados. Es importante mencionar que los valores obtenidos podrían estar relacionados con diferencias en el tamaño de muestra en las poblaciones de *M. mexicana*. En Zapotla, por ejemplo, el análisis se realizó con 13 individuos, mientras que en La Tuza y Chocamán se incluyeron sólo seis y ocho árboles, respectivamente. Por lo tanto, estos resultados deben ser interpretados con precaución, en el sentido de que el mayor reservorio de diversidad genética estimado para la población de Zapotla, podría en realidad estar relacionado con la cantidad de individuos incluidos en el análisis.

Con respecto a la desviación del equilibrio Hardy-Weinberg (HW) en la mayoría de los locus analizados, este resultado podría estar asociado con los valores de endogamia estimados, que indican déficit de heterocigotos, en contraste con la población de Zapotla que cumple con el criterio de HW, que puede ser explicado por el tamaño de muestra de la población. La elevada tasa de fragmentación y disturbio de su hábitat, podrían ser las causas de los valores de endogamia altos y la diversidad genética baja, estimada en la mayoría de las poblaciones de *M. mexicana*; lo cual es consistente con los valores obtenidos por Aldaba-Núñez *et al.* (2021), al analizar poblaciones de la misma especie, en Veracruz, México. Si continúa la presión por estos factores de estrés, la posibilidad de flujo genético será cada vez menor y la diversidad genética continuará decayendo.

Además, como en cada población podrían ser distintos los alelos que se pierdan o fijen, el fenómeno de deriva génica puede incrementar la diferenciación o provocar la extinción de las poblaciones de *M. mexicana* (Young *et al.*, 1996; Groom *et al.*, 2005; Menges, 2000a, 2000b).

El coeficiente de diferenciación genética entre las poblaciones de *M. mexicana* fue menor de 0.25 ($F_{st} = 0.237$), por lo que, de acuerdo con el criterio propuesto por Wright (1965), el nivel de diferenciación genética poblacional es moderado. Sin embargo, si la variabilidad genética continúa en declinación y se incrementa la endogamia, probablemente la capacidad de adaptación de la especie a su entorno cambiante decaerá, poniendo en riesgo su viabilidad (Tansley, 2000; Frankham, 2002).

Los resultados del AMOVA ($p < 0.001$) indican que la mayor parte de la variación, fue explicada por diferencias que ocurren dentro de las poblaciones (>72%) y secundariamente entre poblaciones (24%). Este patrón de diferenciación genética, es consistente con el encontrado en otras especies de Magnoliaceae (Medrano *et al.*, 2016; Veltjen *et al.*, 2018; Hernández *et al.*, 2020; Muñoz-Castro *et al.*, 2020).

Existen varias técnicas alternativas para estimar la diversidad y estructura genética poblacional (Zhang 2006; 2012), por lo que se recomienda utilizar técnicas complementarias efectivas, tales como el análisis bayesiano (STRUCTURE, DAPC), combinado con análisis de Neighbor-Joining, para obtener resultados confiables. En el presente estudio, el uso del algoritmo Neighbor- Joining permitió reconocer tres grupos distintos (relaciones filogenéticas intuitivas); cuya diferenciación no fue determinada por un patrón de aislamiento por la distancia entre las poblaciones.

Asimismo, el análisis bayesiano permitió categorizar a las poblaciones en grupos genéticos, de forma más objetiva. El diagrama de la estructura genética obtenido, sugiere que existen tres grupos, con diferentes combinaciones de información genética. Además, los resultados del DAPC son semejantes a los obtenidos por medio del análisis bayesiano y compatibles con los del dendrograma creado con la opción Neighbor Joining. Es importante mencionar que dos poblaciones destacaron como grupos independientes: la primera es la de Chocamán, que está constituida por cinco individuos, que se desarrollan en vegetación secundaria y cerca de casas-habitación. La información anterior, sugiere que los resultados pueden estar sesgados en la técnica de agrupamiento, debido a que los cinco individuos fueron agrupados como una población, sin embargo dos muestras fueron recolectadas en sitios vecinos a la localidad de Chocamán encontrándose distantes espacialmente entre sí. La segunda población, de la localidad de Zapotla (Zóngolica, Veracruz), se desarrolla en condiciones ambientales idóneas, lo cual se ve reflejado en sus características demográficas, dado que la densidad de individuos es “alta” y su hábitat esta poco perturbado. Sin embargo, la extracción de frutos para la comercialización es inevitable, por lo que la regeneración natural es escasa y, en consecuencia, es vulnerable a una reducción poblacional y en un futuro cercano a la desaparición local de la población.

El análisis del modelo de alelos infinitos indica que la mayoría de las poblaciones de *M. mexicana* presentan cuellos de botella recientes, probablemente como consecuencia del escaso número de individuos, diversidad genética baja y valores altos de endogamia. La excepción fue la población de El Cajón, pues la distribución de las frecuencias alélicas indica que no ha sufrido cuellos de botella recientes. No obstante, el

modelo de mutación escalonada, que es considerado más apropiado para el análisis de resultados con marcadores microsatélites (Putman y Carbone, 2014), no detecto indicios de cuello de botella en ninguna de las poblaciones en el pasado. Teniendo en cuenta los resultados anteriores, no se puede descartar la posibilidad de que la población de El Cajón, del municipio de Xicotepec de Juárez, Puebla, presente en el corto plazo una tendencia hacia la disminución en el número de individuos y, a largo plazo, a la extinción de la población, por la fuerte presión ejercida a través de la extracción de flores con fines medicinales y comestibles, por parte de los pobladores (Gutiérrez-Lozano *et al.*, 2021).

Finalmente, los resultados de la prueba de Mantel mostraron que la divergencia genética no está relacionada con la distancia geográfica entre las poblaciones de *M. mexicana*, lo cual también se ha observado en otras especies de Magnoliaceae, como en el complejo *M. pacifica* en México (Muñiz-Castro *et al.*, 2020) y en *Houpoëa officinalis* en China (Li *et al.*, 2018). Es probable que otros factores, que están incidiendo en escala local, como por ejemplo la agricultura, ganadería, el comercio de las flores y frutos de *Magnolia* en las localidades El Cajón, Las Margaritas, La Tuza y Duraznillo, tengan mayor influencia en la variación genética de las poblaciones de *M. mexicana*, que el aislamiento por la distancia.

Los valores de diversidad genética bajos, estimados en la mayoría de las poblaciones de *M. mexicana*, y la alta diferenciación genética de las poblaciones de Chocamán y Zapotla, podrían estar asociados con cuellos de botella genéticos, provocados por aislamiento geográfico, baja densidad de individuos y el alto impacto de la extracción masiva de sus flores y frutos, con semillas para uso comestible y medicinal. Para mantener la capacidad de regeneración de las poblaciones nativas y disminuir el

riesgo de extinción de esta especie, es importante que se desarrollen estrategias efectivas de conservación *in situ* y, en el corto plazo, programas para; reducir el impacto de las actividades humanas sobre su hábitat. Con estas acciones concretas se podría incrementar la probabilidad de supervivencia de las plántulas, el reclutamiento de nuevos individuos y el tamaño de las poblaciones de *M. mexicana*, a través de la regeneración natural.

Agradecimientos

Este trabajo formó parte del proyecto de investigación Conacyt, CB-2016/284484: “Efecto del cambio climático sobre poblaciones relictas de árboles; integrando dendrocronología y genética de poblaciones”. Los autores agradecen al Sr Arnulfo, Sr. Francisco, Biól. Guillermo, Sr. Lorenzo (Puebla), Diego y Sr. Joaquín (Veracruz) por su amabilidad, disposición y apoyo durante el trabajo de campo y al Dr. José Luis Reyes Ortiz por la elaboración del mapa del área de estudio.

Literatura citada

Agarwal M, Shrivastava N, Padh H. 2008. Advances in molecular marker techniques and their applications in plant sciences. *Plant Cell Rep* **27**: 617-31.

Aldaba-Núñez FA, Veltjen E, Samain MS, Martínez-Salas E. 2021. Disentangling species delineation and guiding conservation of endangered Magnolias in Veracruz, México. *Plant* **10**: 673.

Arteaga-Ríos LD, Mejía-Carranza J, Piña-Escutia JL, González-Díaz JG, Rivera-Colín A. 2020. Comparación molecular y morfológica entre ejemplares de *Magnolia*

mexicana “Yoloxóchitl” (Magnoliaceae) del estado de México y Veracruz. *Polibotánica* **49**: 107-124.

Azofeifa A. 2006. Uso de marcadores moleculares en plantas; aplicaciones en frutales del trópico. *Agronomía Mesoamericana* **17(2)**: 221-242.

Booy G, Hendriks RJJ, Smulders MJM, Van Groenendael JM, Vosman B. 2000. Genetic diversity and the survival of populations. *Plant Biology* **2**:379-95.

Budd C, Zimmer E, Freeland JR. 2015. Conservation genetics of *Magnolia acuminata*, an endangered species in Canada: can genetic diversity be maintained in fragmented, peripheral populations? *Conservation Genetics* **16 (6)**:1359-1373.

Chávez-Cortázar A, Oyama K, Ochoa-Zavala M, Mata-Rosas M, Veltjen E, Samain M-E, Quesada M. 2021. Conservation genetics of relict tropical species of *Magnolia* (section *Macrophylla*). *Conservation Genetics* **22**: 259-273.

Chen Y, Liu Y, Fan X, Li W, Liu Y. 2017. Landscape-scale genetic structure of wild rice *Zizania latifolia*: the roles of rivers, mountains and fragmentation. *Front. Ecology Evolution* **5**: 17.

Cornuet JM, Luikart G. 1996. Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. *Genetics* **144**: 2001-2014.

Deng Y, Liu T, Xie Y, Wei Y, Xie Z, Shi Y, Deng X. 2020. High genetic diversity and low differentiation in *Michelia shiluensis*, an endangered *Magnolia* species in South China. *Forests* **11**: 469.

Doyle JJ, Doyle JL. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh tissue. *Phytochemical Bulletin* **19**: 11-15.

- Ellegren H, Galtier N. 2016.** Determinants of genetic diversity. *Nature Reviews Genetics* **17**: 422-433.
- Evanno G, Regnaut S, Goudet J. 2005.** Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology* **14**: 2611-2620.
- Excoffier L, Lischer HE. 2010.** Arlequin suite ver 3.5: new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources* **10**: 564-567.
- Fan XK, Wagutu GK, Wen XY, Chen SY, Liu YL, Chen YY. 2020.** Decreasing genetic connectivity in the endangered tree *Magnolia patungensis* in fragmented forests. *Global Ecology and Conservation* **24**: 2351-9894.
- Frankham R, Ballou JD, Briscoe DA. 2002.** Introduction to conservation genetics. Cambridge: Cambridge University Press.
- Gilkison VA. 2013.** Comparisons of genetic diversity among disjunct populations of *Magnolia tripetala*. Universidad de Oeste de Kentucky. Tesis.
- Groom MJ., Meffe GK y Carollo CR. 2005.** Principles of Conservation Biology. Sunderland Massachusetts. Sinauer Associated.
- Halasz J, Kodad O, Galiba1 GM, Skola I, Ercisli S, Ledbetter CA, et al. 2019.** Genetic variability is preserved among strongly differentiated and geographically diverse almond germplasm: an assessment by simple sequence repeat markers. *Tree Genetic Genomes* **15**: 12.
- Hammer Ø, Harper DAT, Ryan PD. 2001.** PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Paleontology Electronic* **4**: 9.

- Hamrick JL, Godt MJW. 1989.** Allozyme diversity in plant species. In Brown AHD, Clegg MT, Kahler AL, Weir BS, eds. *Plant Population Genetics, Breeding, and Genetic Resources*. Sunderland, USA: Sinauer Associates Inc. pp. 43-63.
- Hedrick P. 2001.** Conservation genetics: where are we now? *Trends Ecology Evolution* **16**: 629-636.
- Heinken T, Weber E. 2013.** Consequences of habitat fragmentation for plant species: do we know enough? *Perspectives in Plant Ecology, Evolution y Systematics* **15**: 205-216.
- Hernández M, Palmarola A, Veltjen E, Asselman P, Teste E, Larridon I, Samain MS, González-Torres R. 2020.** Population structure and genetic diversity of *Magnolias cubensis* subsp. *acunae* (Magnoliaceae): effects of habitat fragmentation and conservation. *Oryx* **54(4)**: 451-459.
- Hernández-Cerda M, Carrasco-Anaya G. 2004.** Climatología. In: Luna-Vega I, Morrone J, Espinosa D, eds. *Biodiversidad de la Sierra Madre Oriental*. México, DF: Las Prensas de Ciencias, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. pp. 63-108.
- Isagi Y, Abe T. 2004.** Highly variable pollination patterns in *Magnolia obovata* revealed by microsatellite paternity analysis. *International Journal of Plant Sciences* **165(6)**: 1047-1053.
- Isagi Y, Kikuchi S. 2002.** Microsatellite genetic variation in small and isolated populations of *Magnolia sieboldii* ssp. *japonica*. *Heredity* **88**: 313-321.

- Jombart T, Devillard S, Balloux F. 2010.** Discriminant analysis of principal components: a new method for the analysis of genetically structured populations. *BMC genetics* **11(1)**: 1-15.
- Li H, Yang X, Yang Z. 2018.** Genetic diversity, population genetic structure and protection strategies for *Houpoëa officinalis* (Magnoliaceae), an Endangered Chinese Medical Plant. *Journal Plant Biology* **61**: 159-168.
- Li YL, Liu JX. 2018.** Structure selector. A web based software to select and visualize the optimal number of clusters using multiple methods. *Molecular Ecology Resource* **18**: 176-177.
- Linsky J, Gutiérrez-Lozano M, Sánchez-González A, Aldaba Núñez FA. 2022.** *Magnolia mexicana* DC. En Linsky J, Crowley D, Beckman Bruns E, Coffey EED. Global Conservation Gap Analysis of Magnolia. Atlanta, GA: Atlanta Botanical Garden.
- Medrano-Hernández J, Rodríguez JJ, Reyes-Trejo B, Peña-Ortega G. 2017.** Molecular characterization using ISSR primers of *Magnolia mexicana* DC. from two regions in Zongolica, Veracruz, Mexico. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* **23(3)**: 427-436.
- Menges ES. 2000a.** Population viability analysis in plants: challenges and oportunities. *Trends in Ecology* **15**: 51-56.
- Menges ES. 2000b.** Aplications of population viability analyses in plant conservation. *Ecology Bulletin* **48**: 73-84.
- Milligan BG, Leebens-Mack J, Strand AE. 1994.** Conservation genetics: beyond the maintenance of marker diversity. *Molecular Ecology* **3**: 423-35.

- Muñiz-Castro MA, Vázquez-García JA, Castro-Felix P, Carranza-Aranda AS, Santerre A. 2020.** Population genetics, species boundaries, and conservation in the *Magnolia Pacifica* species complex along a continentality and moisture gradient in Western Mexico. *Botanical Sciences* **98(3)**: 500-516.
- Nei M, Tajima F, Tateno Y. 1983.** Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data. II. Gene frequency data. *Journal of Molecular Evolution* **19**: 153-170.
- Newton AC, Gow J, Robertson A, Williams-Linera G, Ramírez-Marcial N, González-Espinosa M, Allnut TR, Ennos R. 2008.** Genetic variation in two rare endemic Mexican trees, *Magnolia sharpie* and *Magnolia schiedeana*. *Silvae Genetica* **57**: 348-356.
- Nunziata SO, Wallenhorst P, Barrett MA et al. 2016.** Population and conservation genetics in an endangered lemur, *Indri indri*, across three forest reserves in Madagascar. *International Journal Primatol* **37**: 688-702.
- Nybom H. 2004.** Comparison of different nuclear DNA markers for estimating intraspecific genetic diversity in plants. *Molecular Ecology* **13**:1143-55.
- Ouborg NJ. 2010.** Integrating population genetics and conservation biology in the era of genomics. *Biology Letter.* **6**: 3-6.
- Peackall R, Smouse PE. 2006.** GenAlex 6: genetic analysis in excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes* **6**: 288-295.
- Pennington T. Sarukhán J. 1998.** Árboles trópicos de México. Manual para la identificación de las principales especies. México. Universidad Nacional Autónoma de México y Fondo de Cultura Económica. México. 521 pp.

- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P. 2000.** Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* **155**: 94-959.
- Putman AI, Carbone I. 2014.** Challenges in analysis and interpretation of microsatellite data for population genetic studies. *Ecología y Evolution* **4**: 4399-4428.
- Rodríguez L, Berg CVD, Pova O, Monteiro A. 2013.** Low genetic diversity and significant structuring in the endangered *Mentha cervina* populations and its implications for conservation. *Biochemical Systematic Ecology* **50**: 51-61.
- Ruiz-Jiménez CA, Téllez-Valdés O, Luna-Vega I. 2012.** Clasificación de los bosques Mesófilos de montaña de México; afinidades de la flora. *Revista Mexicana de Biodiversidad* **83**: 1110-1144.
- Rzedowski J. 2015.** Catálogo preliminar de las especies de árboles silvestres de la Sierra Madre Oriental. *Flora del Bajío y de regiones adyacentes* **30**: 1-14.
- Sánchez-Cuahua R. 2016.** La *Magnolia mexicana* (DC) G. Don, en la Sierra de Zongolica, Ver: estudio poblacional y conocimiento tradicional. Instituto Tecnológico Superior de Zongolica Tesis de licenciatura 94 p.
- Selkoe KA, Toonen RJ. 2006.** Microsatellites for ecologists: a practical guide to using and evaluating microsatellite markers. *Ecology Letters* **9(5)**: 615-629.
- SEMARNAT (Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales). 2010. Norma Oficial Mexicana. NOM-059-SEMARNAT-2010,** Protección ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo. Diario Oficial de la Federación. 2da Sección, 30 de diciembre de 2010.

- Slatkin M, Barton NH. 1989.** A comparison of three indirect methods for estimating average levels of gene flow. *Evolution* **43**: 1349-1368.
- StatSoft Inc. 2011.** STATISTICA (data analysis software system), version 10. www.statsoft.com
- Sun Y, Liu Y, Wang J, Gou Y, Huang H. 2010.** Ten polymorphic microsatellite markers in *Michelia maudiae* (Magnoliaceae). *American Journal Botanic* **97 (12)**: 157-158.
- Tamaki I, Setsuko S, Tomaru N. 2016.** Genetic diversity and structure of remnant *Magnolia stellate* populations affected by anthropogenic pressures and a conservation strategy for maintaining their current genetic diversity. *Conservation Genetics* **17**: 715-725.
- Tanksley S. 1983.** Molecular Marker in Plant Breeding. *Plant Molecular Biology Reporter* **1**: 3-8.
- Tansley SA, Brown CR. 2000.** RAPD variation in the rare and endangered *Leucadendron elimense* (Proteaceae): implications for their conservation. *Biological Conservation* **95**: 39-48.
- Ueno S, Iriondo JM, Pérez C. 2003.** Genetic diversity and differentiation of the endangered Japanese endemic tree *Magnolia stellate* using nuclear and chloroplast microsatellite markers. *Conservation Genetics* **6**: 563-574.
- UICN. (Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza). 2012.** Categorías y Criterios de la Lista Roja de la UICN: Versión 3.1, Segunda edición. Gland, Suiza y Cambridge, UK: Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza.
- Varshney RK, Graner A, Sorrells ME. 2005.** Genic microsatellite markers in plants: features and applications. *Trends Biotechnology* **23**: 48-55

- Vázquez-García JA, Gómez-Domínguez H, López-Cruz A, Espinosa-Jiménez JA, Sahagún-Godínez E, Muñiz-Castro MA. 2013a.** *Magnolia perezfarrerae* a new species and a key to Mexican species of *Magnolia* section *Talauma* subsection *Talauma* (Magnoliaceae) *Botanical Sciences* **91**: 1-9.
- Vázquez-García JA, Muñiz-Castro MÁ, Arroyo F, Pérez ÁJ, Serna M, Cuevas-Guzmán R, Gurrola-Díaz CM. 2013b.** Novelties in neotropical *Magnolia* and an addendum proposal to the IUCN Red List of Magnoliaceae. En: Vázquez-García JA, Muñiz-Castro MÁ, Salcedo Pérez E, Hernández Álvarez E, Escoto García T, Díaz Echavarría N, eds. Recursos Forestales en el Occidente de México: Diversidad, Manejo, Producción, Aprovechamiento y Conservación. Guadalajara: Universidad de Guadalajara, pp. 461-496.
- Veltjen E, Asselman P, Hernández M, Palmarola A, Testé E, González LR, Goetghebeur P, Larridon I, Samain MS. 2018.** Genetic patterns in Neotropical magnolias (Magnoliaceae) using de novo developed microsatellite markers. *Heredity* **122**: 485-500.
- Villaseñor JL. 2010.** El bosque húmedo de montaña de México y sus plantas vasculares; catalogo florístico-taxonómico. México, DF: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad/Universidad Nacional Autónoma de México.
- Von Kohn C, Conrad K, Pooler M, Kramer M. 2018.** Genetic diversity of *Magnolia ashei* characterized by SSR markers. *Conservation Genetics* **19**: 923-936.
- Wang X, Chen W, Luo J, Yao Z, Yu Q, Wang Y, et al., 2019.** Development of EST-SSR markers and their application in an analysis of the genetic diversity of the

endangered species *Magnolia sinostellata*. *Molecular Genetic Genome* **294**: 135-147.

Wang Yb., Liu BB., Nie ZL., Chen HF., Figlar R., Wen J. 2020. Major clades and a revised classification of Magnolia and Magnoliaceae based on whole plastid genome sequences via genome skimming. *Journal of Systematics and Evolution*. **00**:1-23.

Wright S. 1965. The Interpretation of Population Structure by F-Statistics with Special Regard to Systems of Mating. *Evolution* **19**: 395-420.

Zar JH. 1999. Biostatistical analysis. Ed. Princeton-Hall, New Jersey. USA.

Zhang JS, Yang CY, Wu C, Hu ZY, Wang RG, Guo YS, Ren XL. 2012. Study on genetic diversity, population structure and specificity of subpopulations of fluecured tobacco germplasm. *Acta Tabacaria Sinica* **18**: 21-49.

Zhang P, Zhou ZC, Jin GQ, Fan HH, Hu HB. 2006. Genetic diversity analysis and provenance zone allocation of *Schima superba* in China using RAPD markers. *Scientia Silvae Sinicae* **42**: 38-42.

Zhou XJ, Ren XL, Liu WZ. 2016. Genetic diversity of SSR markers in wild populations of *Tapiscia sinensis*, an endangered tree species. *Biochemic Systematic Ecology* **69**: 1-5.

CAPÍTULO IV

Discusión general

Discusión general

La plasticidad fenotípica es un fenómeno generalizado e importante, que ha permitido que las plantas se adapten al medio y el mecanismo de adaptación puede ser revelado por el ambiente específico en donde habitan (Engel *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2020). Es ampliamente reconocido que las fluctuaciones en las condiciones ambientales juegan un papel clave en la variación morfológica de las plantas y en particular, en el género *Magnolia* (Yang *et al.*, 2015; Vite *et al.*, 2018; Gutiérrez *et al.*, 2020).

En este estudio se utilizó la morfología tradicional para analizar la variación fenotípica de las hojas, flores y frutos de diferentes poblaciones de *M. mexicana*. Las características que presentaron mayor variación entre poblaciones fueron principalmente las del fruto: el ancho y largo de las semillas (A_{SE} ; L_{SE}); seguidas por las de la flor: número de estambres (N_{EST}) y ancho de los carpelos (A_{CR}); y de la hoja: diámetro del pedúnculo (DP) y diámetro de la vena media (DVM). Los análisis de agrupamiento y de funciones discriminantes, corroboraron la existencia de diferencias significativas entre todas las poblaciones en la mayoría de los caracteres morfológicos evaluados. Sin embargo, las poblaciones de El Cajón y Vista Hermosa, presentaron mayor diferenciación morfológica con respecto al resto de las poblaciones, lo cual puede atribuirse tanto a las condiciones ambientales locales como a su composición genética (Li *et al.*, 2017).

La experiencia ha demostrado que, en comparación con otros métodos, el de morfología tradicional sigue siendo la base principal para evaluar la identidad, clasificación y filogenia de las especies. Sin embargo, bajo la combinación de la influencia del ambiente y los factores antropogénicos; los rasgos morfológicos no son suficientes para definir la identidad taxonómica de las especies, y, por lo tanto, es necesario analizar

también la variación genética a través de marcadores moleculares (Xiang *et al.*, 2020). En este contexto, los valores de F_{st} (0.237) obtenidos en el análisis molecular, revelaron que las poblaciones de *M. mexicana* son diferentes genéticamente y que muestran tendencia negativa en términos de heterocigosis.

El patrón de variación morfológica *versus* genética entre las poblaciones analizadas, no es consistente. Acorde con lo anterior, algunos autores sugieren que la variación fenotípica y genética entre poblaciones de una especie de planta, no necesariamente están relacionadas (Song *et al.*, 2014; Nizar y Mulani, 2015). Las poblaciones de *M. mexicana* se encuentran aisladas geográficamente, presentan alta diferenciación morfológica y genética, entre sí; pero el tipo y número de marcadores genéticos utilizados en la presente investigación no son suficientes para determinar con exactitud su identidad taxonómica. Por ello, se requiere realizar un estudio con marcadores moleculares más precisos, para definir si todas las poblaciones corresponden a la especie *M. mexicana* y entonces, una vez corroborado lo anterior, analizar si existe o no relación entre la variación fenotípica y genotípica.

Aunque no se observó un patrón consistente entre los descriptores morfológicos y los marcadores moleculares, aportaron información complementaria, para conocer con mayor detalle las características biológicas de la especie y para proponer alternativas para la conservación y manejo de sus poblaciones. Por ejemplo, la amplia variación en la morfología foliar, floral y frutal en todas las poblaciones de *Magnolia mexicana*, sugiere que poseen una alta capacidad de respuesta (plasticidad fenotípica) a los cambios en las condiciones ambientales a nivel local (tipo de suelo, pendiente, exposición, disturbio, grado de fragmentación, radiación solar, entre otros), independientemente de las posibles

diferencias en la estructura y composición genético de las mismas (Steams, 1989; Gonzalez y Llanderal, 2020).

Propuestas de conservación y manejo de *Magnolia mexicana*

El objetivo principal de la conservación es mantener la variación natural que existe dentro de una especie o población, evitando así cualquier reducción de la diversidad genética, que implica la disminución en la adecuación a través del tiempo (von Kohn *et al.*, 2018). Mantener el potencial evolutivo de una especie es particularmente importante en la actualidad, debido al impacto de las actividades antropogénicas (v. gr. fragmentación del hábitat, cambio de uso del suelo) y el cambio climático (Rico y Gutiérrez-Becerril, 2019).

Algunos puntos que pueden sustentar un plan de conservación y manejo para *Magnolia mexicana*, son los siguientes:

1.- Un alto porcentaje de especies de *Magnolia*, en el planeta se caracterizan por estar compuestas por pocas poblaciones, con baja densidad y alto grado de aislamiento entre sí, principalmente. Aunado a lo anterior, están expuestas al disturbio directo e indirecto, a causa de las actividades humanas. El efecto parece ser devastador, y se expresa a través de pérdida de variabilidad genética y estocasticidad ambiental y demográfica (Menges, 2000 a, 2000b; Groom *et al.*, 2005).

2.- En América Latina, se han descrito un gran número de especies nuevas de *Magnolia*, por lo que se considera el segundo centro de diversidad de especies en el mundo (Rivers *et al.*, 2016). Sin embargo, la descripción de nuevas especies supone consecuencias,

que pueden ser costosas económicamente, porque los recursos de conservación son finitos, los recursos asignados a una especie no necesariamente benefician a otras (Stanton *et al.*, 2019) y pueden conducir a gestionar acciones en una escala espacial incorrecta y, por lo tanto, a estrategias de conservación inadecuadas (Chavéz-Cortázar *et al.*, 2021). En este contexto es importante definir y/o delimitar de forma robusta el estatus taxonómico de las especies.

3.- La legislación a nivel nacional (Evaluación del riesgo de extinción, MER, Norma Oficial Mexicana, NOM-059-SEMARNAT-2010; SEMARNAT, 2010), e internacional (Lista roja de la Unión para la Conservación de la Naturaleza; UICN, 2012), contiene las políticas para la protección y conservación de las especies, algunas de las cuales pueden ser aplicadas en el género *Magnolia*. Los criterios y jerarquías para la recategorización en general se basan en: 1) la amplitud de distribución del taxón, 2) estado del hábitat con respecto al desarrollo natural del taxón, 3) vulnerabilidad biológica intrínseca y 4) impacto de la actividad humana sobre el taxón. Tomando en cuenta los cuatro puntos de referencia anteriores, los datos cualitativos y cuantitativos recabados en la presente investigación, sugieren que *Magnolia mexicana* se encuentra en riesgo de extinción, por lo que se requieren medidas urgentes de conservación y manejo (Linsky *et al.*, 2022).

Conservación *in situ*

El plan de conservación del género *Magnolia* debe integrar tanto medidas de conservación *in situ* como *ex situ*. La conservación *in situ* protege a las especies en su hábitat nativo, mientras los esfuerzos *ex situ* garantizan que el material vegetal sea seguro y esté disponible para investigación, educación y en última instancia, para la

reintroducción de especies en poblaciones silvestres cuando sea necesario (Guerrant *et al.*, 2004).

Conservación *in situ*: se propone la creación y/o ampliación de áreas de conservación. Esta estrategia permitiría proteger no solo a la especie, sino también a los fragmentos de hábitat, junto con otras especies (Chen *et al.*, 2014; von Kohn *et al.*, 2018). Es claro que se requiere de una amplia gestión, ya que estas áreas tendrían que incorporar los intereses y la colaboración tanto de los propietarios, como de diferentes instituciones públicas involucradas, y una planeación cuidadosa donde se integren diversas estrategias:

- 1) Estrategia de investigación: es importante abrir varias líneas de investigación, en razón del vacío de información que se tiene sobre el género de *Magnolia*, algunas podrían ser: 1) realizar y actualizar los mapas de distribución de las poblaciones; 2) iniciar estudios fenológicos y demográficos; 3) conocer la estructura poblacional de la especie y las áreas de mayor diversidad genética, mediante estudios con marcadores moleculares adecuados, con el fin de proponer los sitios de conservación más idóneos.
- 2) Estrategia de educación ambiental: para la conservación de los recursos naturales es imprescindible cambiar nuestras formas de acercamiento con la naturaleza. Por el valor ecológico y económico de las especies de *Magnolia*, tanto de la flor, como el fruto y la madera, se considera viable que continúe el aprovechamiento de las especies, pero bajo un esquema de aprovechamiento sustentable, que no afecte la regeneración ni la viabilidad de la especie (Chávez-Cortázar *et al.*, 2021). Por ello se considera que es importante la inclusión de programas de educación

ambiental dirigida a propietarios y pobladores de las áreas de distribución del género *Magnolia* a fin de: 1) difundir la importancia de conservar su hábitat y 2) estandarizar protocolos de colecta (flor y fruto) y manejo de la especie con los pobladores y colectores (Aldaba-Núñez *et al.*, 2021).

Conservación *ex situ*

Conservación *ex situ*: consiste en el mantenimiento de algunos componentes de la biodiversidad fuera de sus hábitats naturales, esta estrategia permite conservar aquellas especies con distribución restringida y baja densidad poblacional, por lo que se propone:

- 1) Almacenar las semillas en banco de germoplasma. A fin de obtener una muestra representativa de la variabilidad de genética y asegurar un componente genético semejante en cada población, se sugiere cuidar la distribución de las fuentes de semillas dentro de la población. Una vez obtenido el germoplasma se deben realizar ensayos con la finalidad de desarrollar protocolos efectivos para el procesamiento adecuado de semillas. Posteriormente, desarrollar los métodos de transporte de plántulas para reducir la tasa de mortalidad. El desarrollo de proyectos de este tipo, requiere de 5 a 10 años (Wang *et al.*, 2015).
- 2) Emplear técnicas de cultivo *in vitro* de explantes somáticos de *Magnolia*, como elemento alternativo para la conservación de especies endémicas (Pinzón-Cardozo *et al.*, 2017).

- 3) Métodos de criopreservación (almacenamiento de material vegetal procedente de cultivo de tejidos a temperaturas de -196°C en nitrógeno líquido), para los especímenes de interés que se mantienen en colecciones vivas o recolectadas en la naturaleza, permiten asegurar su conservación a largo plazo (Folgado y Panis, 2019).
- 4) Colecciones en jardines botánicos, permiten preservar la información genética, dependiendo de las fuentes (sitios) de donde se obtiene el material biológico (Mir *et al.*, 2016; Palmarola *et al.*, 2019; Núñez-Acosta *et al.*, 2021).

Conclusiones generales

- Los resultados de los análisis univariados y multivariados indican que las poblaciones de *M. mexicana* presentaron amplia variación morfológica foliar, floral y frutal, dentro y entre poblaciones, que puede atribuirse a la plasticidad fenotípica de la especie en respuesta a los cambios en las condiciones ambientales locales.
- Los caracteres morfológicos con mayor diferenciación foliar fueron diámetro del pedúnculo (DP) y el diámetro de la vena media (DVM); en la flor, el número de estambres (NEST) y ancho de los carpelos (ACR); y en el fruto, el ancho (ASE) y largo de las semillas (LSE).
- Los caracteres diagnósticos en la descripción botánica de *M. mexicana*, son poco consistentes con respecto a los datos obtenidos en la presente investigación. En este sentido, es necesario realizar un estudio detallado con especímenes de *M. decastroi*, para corroborar su identidad y clasificación taxonómica, debido a que presenta características con valores semejantes a los estimados en las poblaciones de *M. mexicana*.
- Los niveles de diversidad genética en las poblaciones de *M. mexicana* son bajos, con excepción de la población de Zapotla que presentó los valores de diversidad genética más altos.
- Los análisis moleculares permitieron diferenciar tres grupos genéticos, el primero integrado por individuos de las poblaciones del El Cajón, La Tuza, Las Margaritas, Duraznillo y Vista Hermosa; y el segundo y tercer grupo por las poblaciones de Chocamán y Zapotla, respectivamente.

- Es evidente que el uso indiscriminado de las flores, frutos y madera está afectando a las poblaciones de *M. mexicana*; probablemente la baja densidad de individuos, baja diversidad genética y alta diferenciación morfológica observada, sean un reflejo del estrés al que están siendo sometidas sus poblaciones, por ello, es urgente implementar programas de manejo y la conservación o recuperación de áreas de distribución ,para asegurar la preservación de esta especie.

Literatura citada

- Aldaba-Núñez FA, Veltjen E, Martínez-Salas EM, Samain MS. 2021.** Disentangling species delineation and guiding conservation of endangered Magnolias in Veracruz, Mexico. *Plants* **10 (673)**: 2-28.
- Chavéz-Cortázar A, Oyama K, Ochoa-Zavala MO, Mata-Rosas M, Veltjen E, Samain MS, Quesada M. 2021.** Conservation genetics of relict tropical species of *Magnolia* (section *Macrophylla*). *Conservation Genetics* **22**: 259-273.
- Chen L, Chen F, He S, Ma L. 2014.** High genetic diversity and small genetic variation among populations of *Magnolia wufengensis* (Magnoliaceae), revealed by ISSR and SRAP markers. *Electronic Journal of Biotechnology* **17**: 268-274.
- Engel K, Tollrian R, Jeschke JM. 2011.** Integrating biological invasions, climate change and phenotypic plasticity. *Community Integration Biology* **4(3)**: 247-50.
- Folgado R, Panis B. 2019.** Cryopreservation of Ashe magnolia shoot-tips by droplet-vitrification. *Acta Horticulturae* **1234**: 233-240.
- González RA, Llanderal MJ. 2020.** Las variaciones de las poblaciones de encino, fundamentos para la conservación. En: Rodríguez-Acosta M, Coombes AJ (Eds.). Manual de propagación de *Quercus*: una guía fácil y rápida para cultivar encinos en México y América central. Jardín Botánico Universitario de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México.
- Groom MJ, Meffe GK, Carroll, CR. 2005.** Principles of Conservation Biology. Sunderland Massachusetts: Sinauer Associated.

- Guerrant EO Jr, Havens K, Maunder M. 2004.** Ex situ plant conservation: supporting species survival in the wild. Island, Washington, DC.
- Gutiérrez-Lozano M, Sánchez-González A, Vázquez-García JA, López-Mata L, Octavio-Aguilar P. 2020.** Diferenciación morfológica poblacional de *Magnolia rzedowskiana* (Magnoliaceae): especie endémica en peligro de extinción de la Sierra Madre Oriental, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* **91**: 2007-8706.
- Linsky J, Gutiérrez-Lozano M, Sánchez-González A, Aldaba-Núñez FA. 2022.** *Magnolia mexicana* DC. En Linsky J, Crowley D, Beckman Bruns E, Coffey EED. Global Conservation Gap Analysis of Magnolia. Atlanta, GA: Atlanta Botanical Garden.
- Menges ES. 2000a.** Population viability analysis in plants: challenges and opportunities. *Trends in Ecology* **15**: 51-56.
- Menges ES. 2000b.** Applications of population viability analyses in plant conservation. *Ecological Bulletin* **48**: 73-84.
- Mir AH, Iralu W, Pao NT, Chaudhury G, Klonglah CG, Chaudhury KL, Tiwari BK, Upadhya K. 2016.** *Magnolia laguninosa* (Wall.) Figlar y Noot. In West Kashi Hills of Meghalaya, Northeastern India: re-collection and implications for conservation. *Journal of Threatened Taxa* **8(1)**: 8398-8402.
- Nizar M, Mulani R. 2015.** Genetic diversity in indigenous and exotic linseed germplasm (*Linum usitatissimum* L.). *Journal Plant Breeding* **6 (3)**: 848-854.

- Palmarola A, González-Torres LR, Romanov MS, Cruz D. 2019.** *Magnolia virginiana* in Cuba: distribution, demography and conservation situation.
- Pinzón-Cardozo JS, Byran MV, Godoy JS, Suárez-Román RS. 2017.** *Magnolia Hernandezii* (Mill) in vitro propagation from leaves. *Revista de la Asociación Colombiana de Ciencias Biológicas* **29**: 80-85.
- Rico J, Gutiérrez-Becerril BA. 2019.** Species delimitation and Genetic Structure of two endemic *Magnolia* species (section *Magnolia*; Magnoliaceae) in Mexico. *Genetica* **147**: 57-68.
- Rivers M, Beech E, Murphy L, Oldfeld S. 2016.** The red list of Magnoliaceae revised and extended. BGCI, Richmond.
- SEMARNAT, Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales. 2010.** Norma Oficial Mexicana. NOM-059-SEMARNAT-2010, Protección ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo. México, D F. Diario Oficial de la Federación.
- Song Y, Fan L, Chen H, Zhang M., Ma Q, Zhang S, Wu J. 2014.** Identifying genetic diversity and a preliminary core collection of *Pyrus pyrifolia* cultivars by a genome-wide set of SSR markers. *Sciences Horticulture* **167**: 5-16.
- Stanton DWG, Frandsen P, Waples RK. 2019.** More grist for the mill? Species delimitation in the genomic era and its implications for conservation. *Conservation Genetic* **20**:101-113.

Steams SC. 1989. The Evolutionary significance of phenotypic plasticity. *BioScience* **39(7)**: 436-445.

UICN. 2001. Categorías y criterios de la Lista Roja de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza. UICN. Versión 3.1. Comisión de Supervivencia de las Especies de la International for Conservation of Nature (IUCN). Gland, Suiza y Cambridge, UK. 35 p.

Vite A. 2016. Estructura poblacional de *Magnolia schiedeana* Schltl. en dos ambientes contrastantes en el estado de Hidalgo, México. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Hidalgo, México. *Tesis de Maestría* **126** p.

von Kohn C, Conrad K, Kramer M, Pooler M. 2018. Genetic diversity of *Magnolia ashei* characterized by SSR markers. *Conservation Genetics*. **19**: 923-936.

Wang B, Ma Y, Chen G, Li C, Dao Z, Sun W. 2015. Rescuing *Magnolia sinica* (Magnoliaceae) a critically endangered species endemic to Yunnan, China. *Fauna y Flora Internacional* **50(3)**: 446-449.

Wang M, Zhang J, Gou Z., Qu G, Liu J, Guo Y, Yan X. 2020. Morphological variation in *Cynodon dactylon* (L.) Pers., and its relationship with the environment along a longitudinal gradient. *Hereditas* **157**:4

Xiang L, Li X, Wang X. 2020. Genetic diversity and population structure of *Distylium chinense* revealed by ISSR and SRAP analysis in the Three Gorges Reservoir Region of the Yangtze River, China. *Global Ecology Conservation* **21**: 2351-9894.