

COMPARACIÓN MOLECULAR Y MORFOLÓGICA ENTRE EJEMPLARES DE *Magnolia mexicana* “YOLOXÓCHITL” (MAGNOLIACEAE) DEL ESTADO DE MÉXICO Y VERACRUZ.

MOLECULAR AND MORPHOLOGICAL COMPARISON BETWEEN *Magnolia mexicana* “YOLOXOCHITL” SPECIMENS (MAGNOLIACEAE) FROM THE STATE OF MEXICO AND VERACRUZ.

Arteaga-Rios, L. D., J. Mejía-Carraza, J. L. Piña-Escutia, J. G. González-Díaz y A. Rivera-Colín.
COMPARACIÓN MOLECULAR Y MORFOLÓGICA ENTRE EJEMPLARES DE *Magnolia mexicana* “YOLOXÓCHITL” (MAGNOLIACEAE) DEL ESTADO DE MÉXICO Y VERACRUZ.
MOLECULAR AND MORPHOLOGICAL COMPARISON BETWEEN *Magnolia mexicana* “YOLOXOCHITL” SPECIMENS (MAGNOLIACEAE) FROM THE STATE OF MEXICO AND VERACRUZ.

COMPARACIÓN MOLECULAR Y MORFOLÓGICA ENTRE EJEMPLARES DE *Magnolia mexicana* “YOLOXÓCHITL” (MAGNOLIACEAE) DEL ESTADO DE MÉXICO Y VERACRUZ

MOLECULAR AND MORPHOLOGICAL COMPARISON BETWEEN *Magnolia mexicana* “YOLOXOCHITL” SPECIMENS (MAGNOLIACEAE) FROM THE STATE OF MEXICO AND VERACRUZ

L. D. Arteaga-Rios

J. Mejía-Carraza / jmejia@uaemex.mx

Laboratorio de Genética y Biología Molecular, Centro Universitario Tenancingo, Universidad Autónoma del Estado de México, Carretera Tenancingo-Villa Guerrero Km 1.5, Ex Hacienda Santa Ana, Tenancingo, Estado de México, CP 52400.

J. L. Piña-Escutia

Laboratorio de Biología Molecular Vegetal, Facultad de Ciencias Agrícolas, Campus “El Cerrillo”, Universidad Autónoma del Estado de México, Carretera Toluca-Ixtlahuaca Km 11.5, entronque al Cerrillo Piedras Blancas, Toluca, Estado de México, CP 50200.

J. G. González-Díaz

Laboratorio de Genética y Biología Molecular, Centro Universitario Tenancingo, Universidad Autónoma del Estado de México, Carretera Tenancingo-Villa Guerrero Km 1.5, Ex Hacienda Santa Ana, Tenancingo, Estado de México, CP 52400.

A. Rivera-Colín

Servicios Integrales en Horticultura Ornamental “Florcenter” S. A. de C. V., Carretera Federal Toluca-Ixtapan de la Sal, Km 64, Los Arroyos, Villa Guerrero, Estado de México, CP 51760.

Arteaga-Rios, L. D.,
J. Mejía-Carraza,
J. L. Piña-Escutia,
J. G. González-Díaz
y A. Rivera-Colín.

COMPARACIÓN
MOLECULAR Y
MORFOLÓGICA ENTRE
EJEMPLARES DE *Magnolia
mexicana* “YOLOXÓCHITL”
(MAGNOLIACEAE) DEL
ESTADO DE MÉXICO Y
VERACRUZ.

MOLECULAR AND
MORPHOLOGICAL
COMPARISON BETWEEN
Magnolia mexicana
“YOLOXOCHITL”
SPECIMENS
(MAGNOLIACEAE) FROM
THE STATE OF MEXICO
AND VERACRUZ.

POLIBOTÁNICA

Instituto Politécnico Nacional

Núm. 49: 107-124. Enero 2020

DOI:
10.18387/polibotanica.49.7

RESUMEN: El término “Yoloxóchitl” se ha asociado históricamente con *Magnolia mexicana* (Magnoliaceae), especie amenazada por la disminución en sus poblaciones y áreas donde prospera. La presencia de dos árboles únicos posiblemente de esta especie en Malinalco y Zumpahuacán, Estado de México, genera interrogantes sobre su historia y alcances de su distribución. El objetivo del presente estudio fue establecer las relaciones moleculares y morfológicas existentes entre dichos individuos, con otros de *M. mexicana* presentes en Zongolica, Veracruz. Se colectaron muestras de tejido vegetal, y se determinaron 18 caracteres morfológicos de árboles provenientes de los municipios del Estado de México, así como de *M. mexicana*, provenientes de Acontla y La Quinta en Zongolica, Veracruz. Así mismo, como referentes de contraste molecular, se utilizaron muestras de *M. dealbata* y *M. grandiflora*. Se analizaron 14 iniciadores RAPD que amplificaron 205 bandas, obteniendo valores promedio PIC de 0.30 y RP de 5.42, respectivamente. Los iniciadores OPA7, OPA8 y E18 mostraron la mayor capacidad discriminante. El análisis de agrupamiento formó tres conjuntos, dos de ellos para los referentes *M. grandiflora* y *M. dealbata*, y el tercero, agrupó a *M. mexicana* con los individuos de Malinalco y Zumpahuacán, compartiendo una similitud genética del 87 y 90% respectivamente. Se observó además variación morfológica en 14 de 18 caracteres entre los individuos provenientes de Veracruz y los del Estado de México. Los resultados indicaron que los árboles de Yoloxóchitl de Malinalco y Zumpahuacán pertenecen a la sección Talauma, sin embargo, muestran amplia variación morfológica respecto a *M. mexicana*.

Palabras clave: Sección Talauma, *Magnolia mexicana*, RAPD.

ABSTRACT: The term "Yoloxochitl" has historically been associated with *Magnolia Mexicana* (Magnoliaceae), a threatened species due to the decrease in its populations and areas where it thrives. The presence of two trees possibly of this species in Malinalco and Zumpahuacan, State of Mexico, raises questions about its history and scope of its distribution. The objective of the present study was to establish the existing molecular and morphological relationships between these individuals, with others of *M. mexicana* present in Zongolica, Veracruz. Samples of plant tissue were collected, and 18 morphological characters of trees from the municipalities of the State of Mexico, as well as *M. mexicana*, from Acontla and La Quinta in Zongolica Veracruz were determined. Also, as references of molecular contrast, samples of *M. dealbata* and *M. grandiflora* were used. 14 RAPD primers were analyzed, that amplified 205 bands, obtaining average PIC values of 0.30 and RP of 5.42, respectively. The cluster analysis formed three sets, two of them for the referents *M. grandiflora* and *M. dealbata*, and the third, grouped *M. mexicana* with the individuals of Malinalco and Zumpahuacan, sharing a genetic similarity of 87 and 90 % respectively. Morphological variation was also observed in 14 of 18 characters between individuals from Veracruz and those of the State of Mexico. The results indicated that the Yoloxochitl trees of Malinalco and Zumpahuacan belong to the Talauma section, however, they show a wide morphological variation with respect to *M. mexicana*.

Key words: Talauma section, *Magnolia mexicana*, RAPD.

INTRODUCCIÓN

El estudio de las magnolias (Magnoliaceae) de México en los últimos 25 años ha conducido a la descripción de nuevas especies, al pasar de once en 1994 (Lozano-Contreras, 1994; Vázquez-García, 1994) a más de 40 en la actualidad (Gómez-Domínguez, Pérez-Farrera, Vázquez-García, Sahagún-Godínez, & Muñiz-Castro, 2017; Vázquez-García *et al.*, 2014); la mayoría de ellas endémicas y con limitaciones en información sobre su distribución, biología y ecología, que enfrentan serias amenazas a su permanencia (Rivers, Beech, Murphy, & Oldfield, 2016).

En particular, *Magnolia mexicana* (DC.) (Sección Talauma, Subsección Talauma), que se consideró la única especie de la sección Talauma en México (Lozano-Contreras, 1994), ha sido clave en el nuevo inventario de las magnolias del país, al reclasificarse algunas de sus poblaciones a *Magnolia zoquepopolucae* (Vázquez-García, De Castro-Arce, Muñiz-Castro, & Cházaro-Basañez, 2012), *M. lopezobradori*, *M. sinacacolinii*, *M. jaliscana* (Vázquez-García, Muñiz-Castro, *et al.*, 2012), *M. perezfarrerae* (Vázquez-García, Gómez-Domínguez, *et al.*, 2013), *M. lacandonica* (Vázquez-García, Pérez-Farrera, Martínez-Camilo, Muñiz-Castro, & Martínez-Meléndez, 2013), *M. macrocarpa*, *M. wendtii*, *M. ofeliae* y *M. decastroi* (Vázquez-García, Muñiz-Castro, *et al.*, 2013); y por lo tanto, ha replanteado su área de distribución a poblaciones relictuales en los estados de Oaxaca, Puebla y Veracruz, (Rivers, Martínez Salas, & Samain, 2016).

Históricamente *M. mexicana*, y ahora sus reclasificaciones, se ha asociado al nombre náhuatl "Yoloxóchitl" (de Candolle, 1818; Lozoya, 1999; Waizel-Bucay, 2002; Micheli, 2004), y se señaló a los estados de Veracruz, Morelos y Ciudad de México como sitios de origen y distribución (de Candolle, 1818; Sessé & Mociño, 1894), que tenía concordancia con lo asentado en el Códice Durán donde se relata que durante el reinado de Moctezuma I, fueron traídos éstos árboles desde la provincia de Cuetlaxtla (actual Veracruz), a lo que hoy es Oaxtepec en el Estado de Morelos para conformar el que fue el primer jardín botánico de América (Durán, 1581; Lozoya, 1999; Ximénez, 1615), lugar de donde pudieron dispersarse por acción humana hacia Chapultepec, otro importante jardín botánico de la época precolombina, en la Ciudad de México (Vovides, Linares, & Bye, 2010).

Sin embargo, actualmente no se tiene registro de *M. mexicana* en inventarios florísticos de Morelos, Ciudad de México ni Estado de México (Calderón de Rzedowski & Rzedowski, 2001; Cerros-Tlatilpa & Espejo-Serna, 1998; Martínez de la Cruz, 2010; Martínez de la Cruz,

Villaseñor, Aguilera Gómez, & Rubí Arriaga, 2018; Rodríguez-Jiménez, Fernández-Nava, Arreguín-Sánchez, & Rodríguez-Jiménez, 2005) que respalden los relatos históricos, pero se ha observado la presencia de dos árboles viejos y solitarios posiblemente de la especie, en los municipios de Malinalco (White Olascoaga, Juan Pérez, Cedillo Gutiérrez, & Chávez Mejía, 2013) y Zumpahuacán en el Estado de México, que también podrían tener implicaciones sobre la distribución de *M. mexicana*.

En este sentido, la correcta identificación de los árboles de Yoloxóchitl mexiquenses resulta fundamental, en una especie que se encuentra amenazada de acuerdo con la NOM-059-SEMARNAT-2010 (DOF, 2010) y que está catalogada como Vulnerable B1ab(iii,v), por la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) debido a la pérdida de su hábitat (Rivers, Martínez Salas, et al., 2016) y dificultad para propagarla por semilla (Osuna Fernández, 1997).

Aun cuando la caracterización morfológica ha permitido la discriminación de especies en otras magnolias (Vázquez-García, Gómez-Domínguez, et al., 2013; Vázquez-García, Muñiz-Castro, et al., 2013, 2012; Vázquez-García, Pérez-Farrera, et al., 2013), el empleo de marcadores moleculares ha probado su utilidad en este grupo por las muestras mínimas de tejido requerido y su capacidad discriminatoria entre poblaciones; tal es el caso de los marcadores RAPD (Polimorfismos de ADN Amplificados al Azar, por sus siglas en inglés), que se han mantenido vigentes, a pesar de su relativa baja reproducibilidad, por su simplicidad técnica (Kelleher & Diskin, 2018; Larekeng, Dermawan, Iswoyo, & Mustari, 2019; Sharma, Sharma, & Kumar, 2018; Weising, Nybom, Wolff, & Kahl, 2005), detección de un nivel alto de polimorfismo (Arumugam, Jayapriya, & Sekar, 2019; Casarrubias-Carrillo et al., 2003; Mondragón-Jacobo, 2003) y su utilidad en la identificación genética de individuos (Rentaría Alcántara, 2007). Así, el objetivo del presente estudio fue establecer las relaciones moleculares y morfológicas existentes entre los árboles de Yoloxóchitl, presentes en Malinalco y Zumpahuacán, Estado de México, con individuos de *M. mexicana* de Zongolica, Veracruz.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material vegetal

Se colectaron hojas jóvenes de dos árboles únicos maduros de Yoloxóchitl, uno en el municipio de Malinalco (18°57'7.3"N, 99°30'2.4"O) y otro en el municipio de Zumpahuacán (18°50'24.7"N, 99°35'15.3"O), Estado de México (fig. 1); así como hojas de diez árboles de *M. mexicana*, cuatro de éstos en la comunidad Acontla (18°31'27.1"N, 96°59'5.57"O) y seis en La Quinta (18°39'6.72"N, 96°59'47.86"O) en Zongolica, Veracruz. Para contar con elementos de referencia, se colectaron muestras de dos árboles de *M. dealbata* Zucc., en la comunidad de Atempa, también en Zongolica (18°41'0.82"N, 96°59'43.9"O) y de cuatro árboles de *M. grandiflora* L., en el municipio de Tenancingo (18°58'6.22"N, 99°36'45.84"O), Estado de México, estos últimos se identificaron de acuerdo a sus características morfológicas según Hernández-Cerda (1980) y Vázquez-García, Pérez-Farrera, Martínez-Meléndez, Nieves-Hernández, & Muñiz-Castro (2012).



Fig. 1. Árboles de Yuloxóchitl, a) en el atrio de la iglesia de Zumpahuacán, b) en un predio particular en Malinalco, ambos en el Estado de México.

Análisis molecular

Extracción de ADN

Se utilizó el método CTAB al 2% (Doyle & Doyle, 1987), con modificación en la adición de 0.3 g de PVP (Polivinilpirrolidona) como agente precipitador de fenoles durante el macerado (Bermúdez-Guzmán *et al.*, 2016). La calidad del ADN se evaluó por electroforesis en geles de agarosa al 1.5%, a 90 V por 90 minutos con buffer tris-borato-EDTA (TBE) concentrado 0.5x (Fierro Fierro, 2007).

Amplificación de fragmentos RAPD

Se utilizaron 14 iniciadores RAPD (Operon Technologies Inc.) (cuadro 1), en un juego de 18 muestras de ADN de las magnolias bajo estudio (cuadro 2). La amplificación se realizó utilizando 11 μ l de MyTaqTMMix (Bioline®), 13 μ l de H₂O destilada-desionizada libre de nucleasas Sigma®, 0.1 μ mol de cebador RAPD y 2 μ l de extracción final de ADN (106 ng/ μ l ADN) para un volumen final de reacción de 26 μ l. El programa de amplificación fue: desnaturalización inicial de 3 minutos a 94 °C, seguido de 35 ciclos de desnaturalización por 1 minuto a 94 °C, alineación por 1 minuto a 36 °C y extensión por 2 minutos a 72 °C; y un ciclo de extensión final de 7 minutos a 72 °C.

Cuadro 1. Secuencia de los iniciadores RAPD utilizados en este estudio.

Núm.	RAPD	Secuencia
1	OPA6	5'-GGTCCCTGAC-3'
2	OPA7	5'-GAAACGGGTG-3'
3	OPA8	5'-GTGACGTAGG-3'
4	OPA10	5'-GTGATCGCAG-3'
5	OPA13	5'-CAGCACCCAC-3'
6	OPA15	5'-TTCCGAACCC-3'
7	OPA16	5'-AGCCAGCGAA-3'
8	OPB1	5'-GTTTCGCTCC-3'
9	OPB3	5'-CATCCCCCTG-3'
10	OPB10	5'-CTGCTGGGAC-3'
11	OPB17	5'-AGGGAACGAG-3'
12	OPB19	5'-ACCCCCGAAG-3'
13	E18	5'-GGACTGCAGA-3'
14	C08	5'-TGGACCGGTG-3'

Los productos amplificados se separaron por electroforesis en geles de agarosa al 1.5% en amortiguador TBE 0.5x, en cámara de electroforesis Cleaver®. Los geles corrieron durante 10 horas a 70 V. Para el análisis de los marcadores RAPD, cada banda revelada fue considerada como un locus y se marcó con 1 la presencia y con 0 la ausencia de una banda en particular.

Análisis estadístico

De los amplicones revelados en los geles con cada cebador se construyó una matriz básica de datos (MBD) y con esta información se analizó la eficiencia de cada cebador RAPD al calcular el Contenido de Información Polimórfica (PIC) (Laurentin & Karlovsky, 2007) y el Poder de Resolución (RP) (Prevost & Wilkinson, 1999).

Con el cálculo de distancia genética de Dice (Dice, 1945; Nei & Li, 1979) y el método de agrupación *Neighbour-joining* (Saitou & Nei, 1987), se estimó la relación entre las muestras evaluadas, al aplicar un remuestreo con reemplazo (*Bootstrap*) de los caracteres en la matriz de datos de 1,000 corridas, por medio del programa FreeTree (Pavlicek, Hrda, & Flegr, 1999) y se eligió el dendrograma de mayor consenso, que se visualizó por medio del programa FigTree (Page, 2001).

Análisis morfológico

Para los árboles de Yoloxóchitl del Estado de México y Veracruz, se registró información fenológica y se recabaron datos morfológicos de descriptores discriminantes entre especies de magnolias de la sección Talauma a saber: estructura del árbol (altura y número de troncos principales), hoja (presencia o ausencia de pubescencia abaxial, forma, largo del peciolo, largo y ancho de la lámina), flor (cantidad, coloración, largo y ancho de los pétalos, así como número y tamaño de los estambres) y fruto (tamaño, presencia o ausencia de pubescencia y número de carpelos); sin embargo, es necesario señalar que la cantidad de flores, frutos y hojas analizados es reducido y diferente para cada caso (cuadro 4), debido a las restricciones puestas por habitantes en las zonas de colecta, en virtud de la importancia socio-cultural, e incluso carácter sagrado (en el caso de Zumpahuacán) que poseen estos árboles; así, no se aplicó tratamiento estadístico a los datos, el análisis se limitó a los rasgos observados y medidos.

Cuadro 2. Muestras del género *Magnolia* evaluados en análisis molecular.

Núm.	Clave	Especie	Sitio de colecta
1	Md1	<i>M. dealbata</i>	Atempa, Zongolica, Veracruz.
2	Md2		
3	MS1	<i>M. grandiflora</i>	Santo Desierto, Tenancingo, Edo. Mex.
4	MS2		
5	MC1		
6	MC2		
7	Mali	<i>Magnolia</i> sp.*	Malinalco, Edo. Mex.
8	Zum		Zumpahuacán, Edo. Mex.
9	Mm1	<i>M. mexicana</i>	La Quinta, Zongolica, Veracruz.
10	Mm2		
11	Mm3		
12	Mm4		
13	Mm5		
14	Mm6		
15	Mm7		
16	Mm8		
17	Mm9		
18	Mm10		

* Árboles de Yoloxóchitl solitarios del Estado de México para lo que está en duda su identidad específica.

RESULTADOS

Efectividad de los cebadores RAPD

Con los 14 cebadores evaluados se amplificaron 205 bandas, con valores máximo y mínimo por cebador de 25 y nueve bandas respectivamente (cuadro 3). Los cebadores OPA7, OPA8 y E18 mostraron el mayor porcentaje de polimorfismo (100%) y los cebadores OPB10 y OPB19 los más bajos (70 y 77.7 respectivamente).

Se obtuvo un valor PIC promedio de 0.30, con un máximo de 0.41 y mínimo de 0.20; los cebadores con los valores PIC más elevados fueron el OPA7 (0.41), OPA8 (0.35) y E18 (0.38). También se registró un valor RP promedio de 5.42, con un máximo de 10.77 y mínimo de 0.33, los cebadores con mayor valor RP fueron el OPA7 (8.55), OPA8 (10.77) y C08 (8.55). El cebador OPA7 mostró los valores PIC y RP más elevados.

Relaciones genéticas entre las muestras de *Magnolia* spp.

En el dendrograma derivado del análisis de agrupamiento (fig. 2), el empleo de las especies *M. dealbata* y *M. grandiflora* como referencia o control mostró su utilidad al separar claramente estas dos especies, con valores bootstrap del 100%, en dos conjuntos diferentes al correspondiente de "Yoloxóchitl" que agrupó todas las muestras de *M. mexicana* (Mm1–Mm10) con las de los árboles de Zumpahuacán (Zum) y Malinalco (Mali).

Cuadro 3. Parámetros descriptivos de los cebadores RAPD utilizados.

Clave	NB ^a	NBP ^b	% Pol ^c	PIC ^d	RP ^f
E18	12	12	100	0.38	6.88
C08	18	17	94.4	0.31	8.55
OPA6	14	13	92.8	0.35	7.44
OPA7	17	17	100	0.41	10.77
OPA8	16	16	100	0.35	8.55
OPA10	14	13	92.9	0.28	5.66
OPA13	20	18	90	0.25	6.66
OPA15	25	21	84	0.24	7.77
OPA16	14	13	92.8	0.32	2.22
OPB1	12	10	83.3	0.29	0.66
OPB3	15	12	80	0.22	5.11
OPB10	10	7	70	0.20	2.11
OPB17	9	8	88.8	0.35	0.33
OPB19	9	7	77.7	0.28	3.22
TOTAL	205	184		4.23	76
Promedio	14.64	13.14	89.05	0.30	5.42
Máximo	25	21	100	0.41	10.77
Mínimo	9	7	70	0.20	0.33

^a Número de bandas. ^b Número de bandas polimórficas. ^c Porcentaje de polimorfismos.

^d Contenido de información polimórfica. ^e Índice del marcador. ^f Poder de resolución.

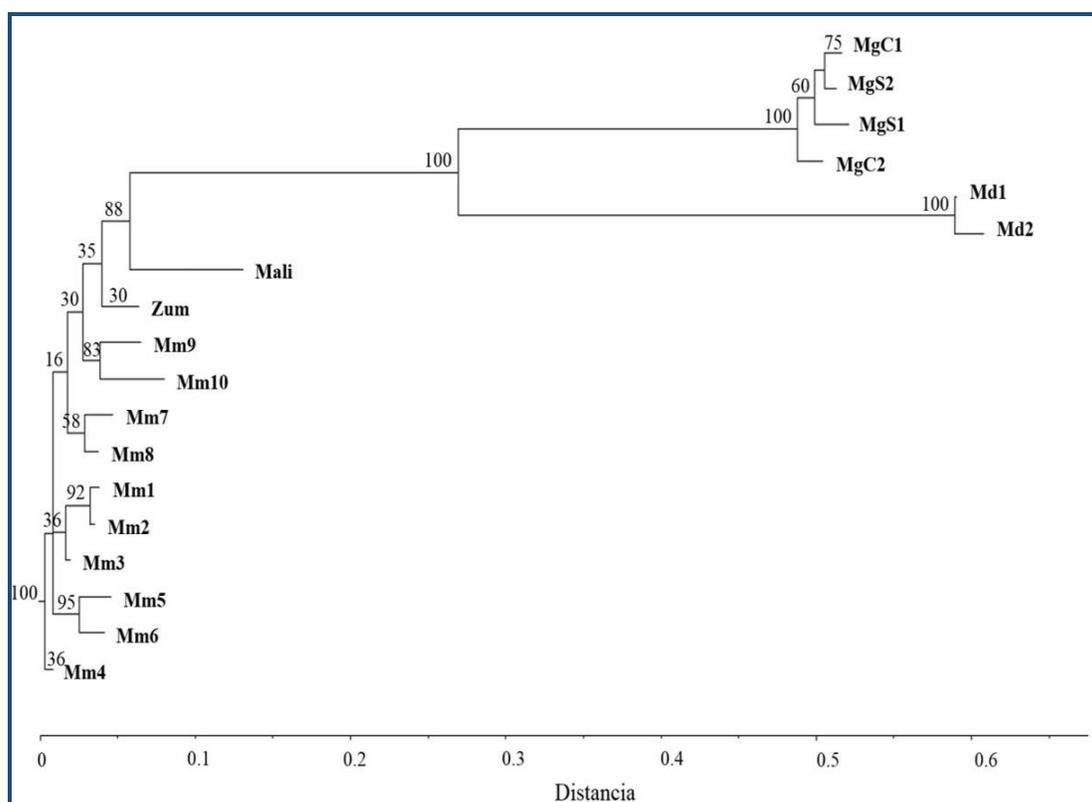


Fig. 2. Dendrograma de 18 muestras de *Magnolia* spp., con 14 cebadores RAPD por el método Neighbour Joining y distancia genética de Dice, los números encima de cada nodo indican valores bootstrap (1000 remuestreos).

Dentro del grupo Yoloxóchitl, se observaron los individuos de Zumpahuacán y Malinalco posicionados espacialmente al extremo del conjunto con valores bootstrap de 30 y 88%. Así mismo, se observó una similitud superior al 90% entre los individuos de Veracruz y el de Zumpahuacán, y de 87% de éstos con el correspondiente de Malinalco. La variación de similitud entre las poblaciones de Veracruz y los árboles mexiquenses fue de aproximadamente 7%.

Se observó que, dentro del conjunto formado por *M. mexicana*, las muestras que se colectaron en Acontla aparecen en el extremo inferior (muestras Mm4, Mm5 y Mm6), por encima de ellas las que se colectaron en La Quinta (muestras Mm1, Mm2, Mm3, Mm8, Mm7, Mm9 y Mm10) y al extremo superior de todo el grupo, las muestras del Estado de México.

Comparación morfológica de Yoloxóchitl

Se observó aproximadamente un 77% de variación morfológica entre los individuos de Yoloxóchitl provenientes de Veracruz y los del Estado de México, y sólo cuatro caracteres (pubescencia abaxial de la hoja, perianto, color de los pétalos y pubescencia del polifolículo del fruto), fueron constantes en los tres tipos de Yoloxóchitl (cuadro 4 y fig. 3).

El ejemplar de Zumpahuacán guarda mayor relación morfológica con *M. mexicana* con la presencia de un solo fuste principal, similar número de carpelos del fruto, así como similar número y tamaño de los estambres y difirió en la altura del árbol, forma de la hoja, tamaño de las hojas, tamaño de los pétalos, forma y tamaño del fruto, con igual fenología; mientras que el ejemplar de Malinalco difirió en el número de troncos principales, tamaño del peciolo, forma de la hoja, tamaño de la hoja, número y tamaño de los estambres y número de carpelos, además de fenología diferente.

Así mismo, entre los ejemplares de Malinalco y Zumpahuacán se observó variación en el número de troncos principales, tamaño del peciolo, tamaño de la hoja, número de estambres, forma del fruto, número de carpelos y diferencias fenológicas.

DISCUSIÓN

Los marcadores RAPD utilizados mostraron en su mayoría valores PIC superiores a 0.25 y ninguno tuvo valores por debajo de 0.15, considerándose entonces como altamente informativos de acuerdo con Laurentin & Karlovsky (2007); además, por el porcentaje de polimorfismos detectados, los marcadores en conjunto se consideraron eficientes y útiles para la caracterización de genotipos de *Magnolia* spp.

Así mismo, el valor RP se utilizó como una medida de la capacidad de cada cebador para distinguir entre genotipos (Prevost & Wilkinson, 1999), por lo que, al obtener los valores RP más elevados, los cebadores E18, C08, OPA7 y OPA8 denotaron la mayor capacidad discriminante entre los genotipos de *Magnolia* spp., en particular, el cebador OPA7, al mostrar concordancia entre sus valores PIC y RP, sería el más recomendable para trabajar con este grupo botánico.

La habilidad observada de los RAPDs para separar muestras de acuerdo con su origen geográfico se ha reportado en otras especies (Casarrubias-Carrillo et al., 2003; Jacinto-Hernández, Garza-García, Garza-García, & Bernal-Lugo, 2014) y podría deberse a la participación de algunos genes en la adaptación a diferentes condiciones climáticas (Casarrubias-Carrillo et al., 2003); en el caso de los individuos de Zongolica, se observó la separación por origen aun cuando no son evidentes diferencias ambientales o geográficas entre los sitios de colecta; sin embargo, la existencia de factores genéticos asociados al lugar de origen ya se han reportado para la misma especie en la misma zona de estudio (Medrano-Hernández, Rodríguez de la O, Reyes-Trejo, & Peña-Ortega, 2017).

Cuadro 4. Caracteres morfológicos de ejemplares de Yoloxóchitl del Estado de México y Veracruz.

Caracteres morfológicos		<i>M. mexicana</i> de Veracruz	<i>Magnolia</i> sp. de Zumpahuacán	<i>Magnolia</i> sp. de Malinalco
Árbol	Altura aproximada (m)	30	10	10
	Número de troncos principales	1	1	5
Hoja	Forma de la hoja	Oblongas o elípticas, base aguda	Oblongas o elípticas, base subobtusada	Oblongas o elípticas, base subobtusada
	Pecíolo (cm)	6.5 – 9.2	6.8 – 8.8	2.6 – 7.6
	Longitud de la hoja (cm)	17.7 – 49.5	11.8 – 23.8	8.4 – 19.5
	Ancho de la hoja (cm)	10.6 – 17	6.7 – 8.8	5.6 – 10.7
	Pubescencia abaxial de la hoja n*	Glabra 30	Glabra 22	Glabra 25
Flor	Diámetro de la flor (cm)	18-20	16	12 - 17
	Perianto	3 sépalos, 6 pétalos	3 sépalos, 6 pétalos	3 sépalos, 6 pétalos
	Tamaño de los pétalos (cm)	7.5 – 9.8 x 3 – 6.5	6.5 – 7.8 x 3.2 – 4.1	6.5 – 8.3 x 3 - 6
	Color de los pétalos	Blanco cremoso teñido de púrpura	Blanco cremoso teñido de púrpura	Blanco cremoso teñido de púrpura
	Número de estambres	183	121-184	155 - 169
	Tamaño de los estambres (cm) n	1.3 – 1.4 2	1.3 2	1.2 – 1.3 3
Fruto	Forma del fruto	Ovoide a elipsoidal	Acorazonado	Ovoide a elipsoidal
	Tamaño del fruto (cm)	15	12**	10**
	Número de carpelos	38-50	39 - 40	35
	Pubescencia del polifolículo	Ligeramente pubescente	Ligeramente pubescente	Ligeramente pubescente
	Longitud de la semilla (cm) n	1.4 – 1.7 4	s/d 2	s/d 1
Fenología	Floración	mayo – agosto	mayo – agosto	marzo – junio
	Fructificación (frutos maduros)	febrero - abril	febrero - abril	julio - octubre

Notas: *n hace referencia al número de hojas, flores y frutos que se colectaron en cada caso, **Frutos inmaduros que a madurez no producen semillas.

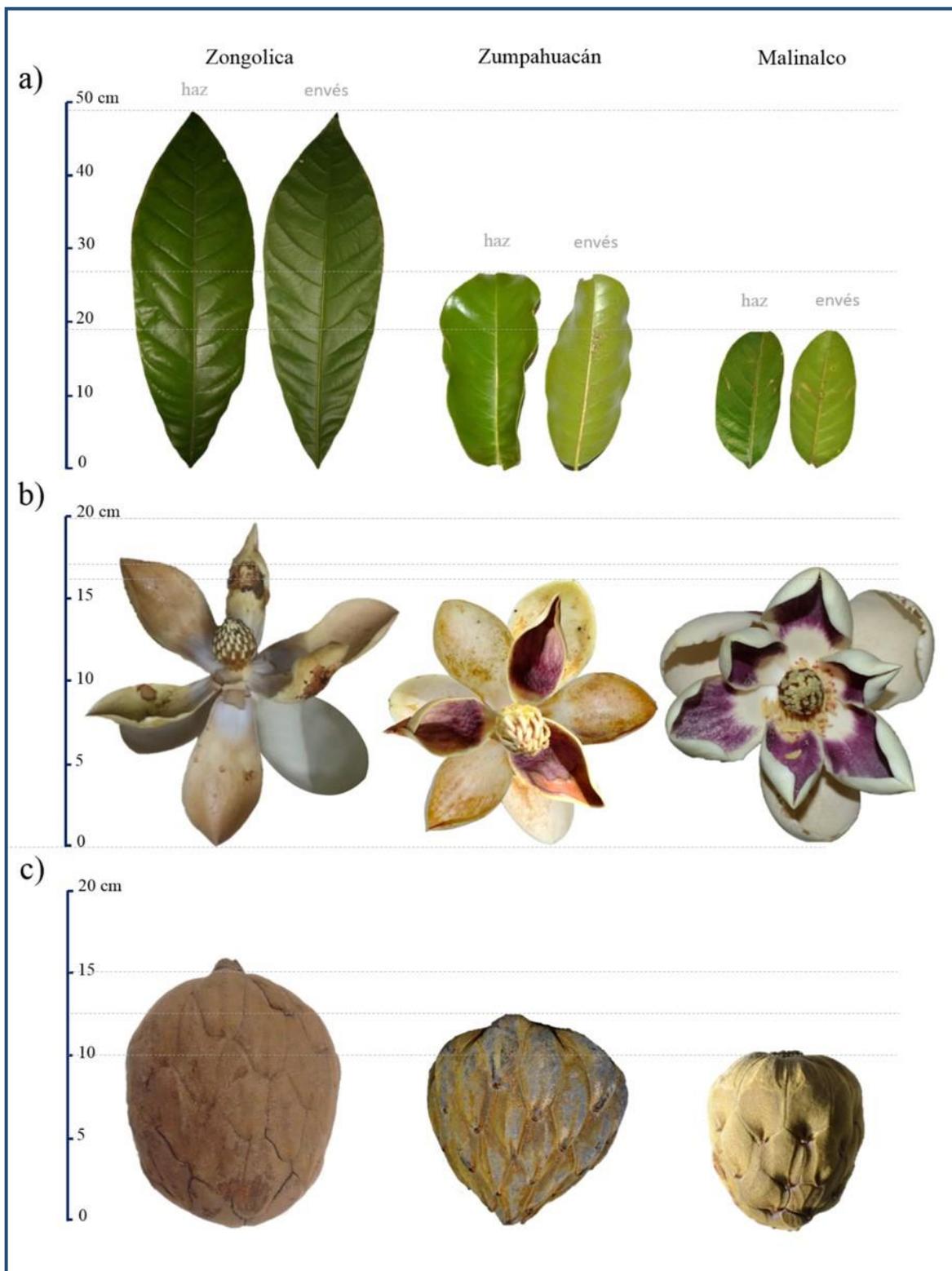


Fig. 3. Comparación de hoja (a), flor (b) y fruto (c) de los árboles de Yoloxóchitl de Zongolica, Zumpahuacán y Malinalco.

La separación en dendrograma de las muestras de *M. grandiflora* (sección Magnolia) y *M. dealbata* (sección Macrophylla) en dos grupos distantes del correspondiente al de los Yoloxóchitl evidencia que los genotipos de Veracruz y los del Estado de México pertenecen a la misma la sección botánica (Talauma). Además, la topología del dendrograma, con los grupos *M. dealbata* y *M. grandiflora* ubicados por encima del grupo Yoloxóchitl, es coincidente con estudios filogenéticos en magnolias reportados por Azuma, García-Franco, Rico-Gray, & Thien (2001) y Kim & Suh (2013), quienes sugieren para la sección Talauma del género *Magnolia*, una divergencia evolutiva más temprana que las secciones Magnolia y Macrophylla.

Respecto al grupo Yoloxóchitl, la alta similitud observada entre los genotipos de *M. mexicana* y el de Zumpahuacán indicaría que pertenecen a la misma especie aunque su posición en el dendrograma no está fuertemente respaldada por el valor bootstrap (35%), mientras que la mayor distancia observada con el individuo de Malinalco, respaldada por el valor de remuestreo (88%), podría indicar que se trata de una especie diferente, sin embargo, al no tener como referencia otras especies de la misma sección botánica no fue claro el grado de separación que se esperaría para afirmarlo, sin embargo, en un estudio mediante ISSRs realizado por Muñiz-Castro, Castro-Félix, Carranza-Aranda, Santerre Lucas, & Vázquez-García (2017), con *M. pugana*, *M. pacifica* y *M. vallartensis* de la sección Magnolia, encontraron una variación de sólo el 8% entre poblaciones de éstos tres taxa, similar a la encontrada en el presente estudio (7%).

La variación morfológica observada entre *M. mexicana* respecto al individuo de Zumpahuacán (seis caracteres) y el de Malinalco (siete caracteres), sugiere también una diferenciación a nivel específico, ya que la reclasificación a nuevas especies de algunas poblaciones de *M. mexicana* ha resultado de variaciones morfológicas similares; por ejemplo, la reclasificación a *M. perezfarrerae* refirió variación en seis caracteres (Vázquez-García, Gómez-Domínguez, *et al.*, 2013), la reclasificación a *M. lacandonica* consideró cuatro caracteres (Vázquez-García, Pérez-Farrera, *et al.*, 2013), la reclasificación a *M. zoquepopolucæ* contempló siete caracteres (Vázquez-García, De Castro-Arce, *et al.*, 2012) y similar número de diferencias se consideraron en el resto de especies mexicanas de la sección Talauma recientemente descritas (Vázquez-García, Muñiz-Castro, *et al.*, 2013, 2012).

Algunos autores señalan la posibilidad de que las variaciones observadas se deban a intervención humana, como lo es la emisión de varios fustes por efecto de corte del tronco principal en edad temprana, ya documentado para *M. sprengeri* (Kang & Ejder, 2011); o bien, sean producto de la plasticidad fenotípica propia de una especie como respuesta adaptativa a un nuevo hábitat (Sultan, 2000). Así, si se considera que los árboles de Yoloxóchitl en el Estado de México fueron traídos directamente o son descendientes de aquellos que se presume provinieron de Veracruz, entonces los contrastes fenotípicos entre ellos podrían ser resultado de su plasticidad a la variación ambiental, toda vez que entre Malinalco, Zumpahuacán y Zongolica existen diferencias de altitud, intervalo de temperatura y nivel de precipitación pluvial de consideración (INEGI, 2009c, 2009a, 2009b).

Ejemplos de plasticidad fenotípica en magnolias se han reportado como pequeñas variaciones morfológicas en especies como *M. iltisana* en la que se observaron cambios en la biomasa de raíces y hojas en respuesta a variación de luz (Saldaña-Acosta, Meave, & Sánchez-Velásquez, 2009) y en *M. pugana* que presentó diferencias significativas en el crecimiento de plántulas bajo distintas condiciones de luz y fertilidad del suelo (García Castro, Romo-Campos, Pereira, & Gómez-Rubio, 2018); también se ha reportado variabilidad morfológica en color, tamaño y número de tépalos de las flores en *M. wufengensis* entre cultivares y una población silvestre (Wang *et al.*, 2017) y variación en la forma de las hojas y coloración de las flores entre ejemplares solitarios y poblaciones tanto silvestres como cultivadas de *M. sprengeri* (Kang & Ejder, 2011), en este último caso, las diferencias morfológicas pueden ser tan marcadas que los autores consideran que la variación en la forma y tamaño de las hojas, así como en el número de tépalos y coloración de las flores entre árboles de una población o meta población de magnolias

no debería tener valor significativo como caracter taxonómico ni ser una razón para el otorgamiento del estatus de especie o subespecie, coincidiendo con lo mencionado por Vázquez-García, Domínguez-Yescas, Pedraza-Ruiz, Sánchez-González, & Muñiz-Castro (2015) en este mismo sentido.

Sería necesario realizar experimentos de establecimiento entre las áreas de estudio para determinar hasta qué punto se puede asumir que las diferencias morfológicas encontradas, más allá de las que distinguen un género, son sólo debidas al ambiente, lo que representaría reconsiderar la reclasificación de nuevas especies; sin embargo, se ha observado que las magnolias en México presentan una marcada especiación alopátrica, en donde las diferencias ambientales o geográficas tienen gran importancia en la separación de poblaciones en especies diferentes (Cruz-Durán, Vega-Flores, & Jiménez-Ramírez, 2008; Vázquez-García, 1994; Vázquez-García *et al.*, 2015); además, el *status* actual de *M. mexicana* como especie amenazada, sugiere que no es una especie con gran capacidad plástica, ya que de acuerdo con Sultan (2000), las especies con poca plasticidad para mantener la reproducción y crecimiento, se restringen a nichos especializados y están en particular riesgo de extinción.

Entonces, la posible ausencia de efecto de plasticidad, sugiere que, por la variación morfológica observada, los Yoloxóchitl de Malinalco y Zumpahuacán serían especies distintas a *M. mexicana* y a las demás especies recientemente reclasificadas de la sección Talauma, al diferir de éstas últimas en similar número de caracteres, por ejemplo, *Magnolia* sp. de Zumpahuacán difiere en cuatro caracteres de flor y fruto con *M. zoquepopolucae* (Vázquez-García, De Castro-Arce, *et al.*, 2012) y en ocho caracteres de hoja, flor y fruto con *M. jaliscana* (Vázquez-García, Muñiz-Castro, *et al.*, 2012); mientras que *Magnolia* sp. de Malinalco difiere en cinco y seis caracteres con estas mismas especies.

El origen de los Yoloxóchitl mexiquenses es incierto, ya que las especies de magnolias geográficamente más cercanas (*M. krusei*, *M. vazquezii* y *M. guerrerensis*) pertenecen a la sección *Magnolia* que es morfológicamente distinguible de la sección Talauma (Cruz-Durán *et al.*, 2008; Jiménez-Ramírez, Vega-Flores, Cruz-Durán, & Vázquez-García, 2007; Vázquez-García, Muñiz-Castro, *et al.*, 2013), de la cual no existen registros en inventarios florísticos realizados en la zona de estudio (Calderón de Rzedowski & Rzedowski, 2001; Cerros-Tlatilpa & Espejo-Serna, 1998; López Patiño, López-Sandoval, Beltrán-Retis, & Aguilera-Gómez, 2018; Martínez de la Cruz, 2010; Martínez de la Cruz *et al.*, 2018; Rodríguez-Jiménez *et al.*, 2005).

En concordancia con los relatos históricos, podría tratarse de ejemplares introducidos a partir de poblaciones de especies en Veracruz ya inexistentes o bien ser ejemplares únicos de especies nativas ya desaparecidas, ambas suposiciones se soportan en el hecho de que ninguno de los dos ejemplares mexiquenses analizados produce semillas viables (observación directa y *com. pers.* con pobladores), incapacidad que puede estar asociada a diferentes factores como la inexistencia de polinizadores específicos o autoincompatibilidad; este tipo de esterilidad de las semillas se ha observado de forma común en árboles silvestres solitarios de *M. sprengeri* debido a la imposibilidad de una polinización cruzada por falta de otros ejemplares cercanos de la misma especie y se sabe que no es posible la autofecundación en dicha especie aún si se trata de flores distintas del mismo árbol (Kang & Ejder, 2011), también Hirayama, Ishida, & Tomaru (2005) reportaron que se reduce grandemente la producción de semilla en *M. stellata* por efecto de la geitonogamia; resultados similares se reportaron también para *M. obovata* (Ishida, Yoshimaru, & Ito, 2003); lo anterior sugiere que los árboles de Yoloxóchitl de Malinalco y Zumpahuacán no producen semillas viables debido a la falta de polinización cruzada ante la ausencia de individuos cercanos de la misma especie.

Si se considera que las magnolias presentan marcada especiación alopátrica, que *M. mexicana* es una especie de estrecha capacidad plástica y que las diferencias morfológicas encontradas coinciden con aquellas que han posibilitado la reclasificación a nuevas especies, se sugiere que

los árboles de Yoloxóchitl en Malinalco y Zumpahuacán pertenecen a otras especies, que, por razones de su historia particular, se encuentran aislados.

CONCLUSIONES

La evidencia molecular obtenida indica que los árboles de Yoloxóchitl en Malinalco y Zumpahuacán pertenecen a la sección Talauma, pero, debido a la variación morfológica observada entre ellos y en relación con *M. mexicana*, cabe la posibilidad de que se trate de dos especies distintas aún no descritas.

LITERATURA CITADA

- Arumugam, T., Jayapriya, G., & Sekar, T. (2019). Molecular fingerprinting of the Indian medicinal plant *Strychnos minor* Dennst. *Biotechnology Reports*, 21(2018), 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2019.e00318>
- Azuma, H., García-Franco, J. G., Rico-Gray, V., & Thien, L. B. (2001). Molecular phylogeny of the Magnoliaceae: The biogeography of tropical and temperate disjunctions. *American Journal of Botany*, 88(12), 2275–2285. <https://doi.org/10.2307/3558389>
- Bermúdez-Guzmán, M. D. J., Guzmán-González, S., Orozco-Santos, M., Velázquez-Monreal, J. J., Buenrostro-Nava, M. T., & Michel-López, C. Y. (2016). Optimización de un protocolo para aislamiento de DNA de hojas de *Saccharum officinarum*. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 7(4), 897–910. <https://doi.org/10.29312/remexca.v7i4.263>
- Calderón de Rzedowski, G., & Rzedowski, J. (2001). *Flora fanerogámica del Valle de México* (2a ed.). México, D.F.: Instituto de Ecología A. C. y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad.
- Casarrubias-Carrillo, U., González-Chavira, M. M., Cruz-Hernández, A., Cárdenas-Soriano, E., Nieto-Ángel, D., & Guevara-González, R. G. (2003). Variabilidad genética de *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz y Sacc. aislado de frutos de papaya (*Carica papaya* L.) mediante el uso de marcadores moleculares RAPD. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 21(3), 338–345.
- Cerros-Tlatilpa, R., & Espejo-Serna, A. (1998). Contribución al estudio florístico de los cerros El Sombrero y Las Mariposas (Zoapapalotl) en el municipio de Tlayacapan , Morelos. *Polibotánica*, (8), 29–46.
- Cruz-Durán, R., Vega-Flores, K., & Jiménez-Ramírez, J. (2008). *Magnolia vazquezii* (Magnoliaceae), una especie nueva del Estado de Guerrero, México. *Novon: A Journal for Botanical Nomenclature*, 18(1), 21–24. <https://doi.org/10.3417/2005096>
- de Candolle, A. P. (1818). *Regni Vegetabilis Systema Naturale*. Retrieved from <http://bibdigital.rjb.csic.es/spa/Libro.php?Libro=2675&Hojas=>
- Dice, L. R. (1945). Measures of the amount of ecologic association between species. *Ecology*, 26(3), 297–302.
- DOF. *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.* , (2010).
- Doyle, J. J., & Doyle, J. L. (1987). A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*, 19(1), 11–15. Retrieved from https://webpages.uncc.edu/~jweller2/pages/BINF8350f2011/BINF8350_Readings/Doyle_plantDNAextractCTAB_1987.pdf
- Durán, D. (1581). *Historia de las Indias de Nueva España e Islas de tierra firme*. Retrieved from <http://bdh-rd.bne.es/viewer.vm?id=0000169486&page=1>
- Fierro Fierro, F. (2007). Electroforesis de ADN. In *Herramientas moleculares aplicadas en ecología: aspectos teóricos y prácticos* (1a ed.). México, D.F.: Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales, Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático,

- Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa.
- García Castro, K. D., Romo-Campos, R. de L., Pereira, C. J., & Gómez-Rubio, R. (2018). Tasa relativa de crecimiento en plántulas de dos poblaciones de *Magnolia pugana* (Magnoliaceae) en distintos niveles de luz y fertilidad del suelo. *Revista de Biología Tropical*, 66(2), 622. <https://doi.org/10.15517/rbt.v66i2.33394>
- Gómez-Domínguez, H., Pérez-Farrera, Mi. Á., Vázquez-García, J. A., Sahagún-Godínez, E., & Muñiz-Castro, M. Á. (2017). *Magnolia montebelloensis*, a new species in section *Magnolia* from Lagunas de Montebello National Park, Chiapas, México, with a key to Magnoliaceae of Chiapas. *Phytotaxa*, 328(2), 101. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.328.2.1>
- Hernández-Cerda, M. E. (1980). Magnoliaceae. In *Flora de Veracruz*. https://doi.org/10.1142/9781938368356_0004
- Hirayama, K., Ishida, K., & Tomaru, N. (2005). Effects of pollen shortage and self-pollination on seed production of an endangered tree, *Magnolia stellata*. *Annals of Botany*, 95(6), 1009–1015. <https://doi.org/10.1093/aob/mci107>
- INEGI. (2009a). *Malinalco, México*. Retrieved from https://ecitydoc.com/download/prontuario-de-informacion-geografica-municipal-30_pdf
- INEGI. (2009b). *Zongolica, Veracruz de Ignacio de la Llave*. Retrieved from http://www3.inegi.org.mx/contenidos/app/mexicocifras/datos_geograficos/30/30201.pdf
- INEGI. (2009c). Zumpahuacán, México. In *Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos*. Retrieved from http://www3.inegi.org.mx/contenidos/app/mexicocifras/datos_geograficos/15/15119.pdf
- 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(5), 729–735.
- Jacinto-Hernández, C., Garza-García, R., Garza-García, D., & Bernal-Lugo, I. (2014). Caracterización de germoplasma nativo de frijol con base en marcadores moleculares y atributos de calidad. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 5(2), 253–264. <https://doi.org/10.29312/remexca.v5i2.964>
- Jiménez-Ramírez, J., Vega-Flores, K., Cruz-Durán, R., & Vázquez-García, J. A. (2007). *Magnolia guerrerensis* (Magnoliaceae), una especie nueva del bosque mesófilo de montaña del estado de Guerrero, México. *Botanical Sciences*, 80, 73–76. <https://doi.org/10.17129/botsci.1746>
- Kang, Y., & Ejder, E. (2011). *Magnolia sprengeri* Pamp.: Morphological variation and geographical distribution. *Plant Biosystems*, 145(4), 906–923. <https://doi.org/10.1080/11263504.2011.633352>
- Kelleher, C. T., & Diskin, A. (2018). Assessing botanical gardens specimens as a genetic resource for the future conservation - a pilot study using *Magnolia delavayi* in the gardens of Ireland. *Hortus Botanicus*, 12(12), 151–159. <https://doi.org/10.15393/j4.art.2017.3942>
- Kim, S., & Suh, Y. (2013). Phylogeny of Magnoliaceae based on ten chloroplast DNA regions. *Journal of Plant Biology*, 56(5), 290–305. <https://doi.org/10.1007/s12374-013-0111-9>
- Larekeng, S. H., Dermawan, R., Iswoyo, H., & Mustari, K. (2019). RAPD primer screening for amplification on Katokkon pepper from Toraja, South Sulawesi, Indonesia. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 270(1), 1–7. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/270/1/012023>
- Laurentin, H., & Karlovsky, P. (2007). AFLP fingerprinting of sesame (*Sesamum indicum* L.) cultivars: Identification, genetic relationship and comparison of AFLP informativeness parameters. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 54(7), 1437–1446. <https://doi.org/10.1007/s10722-006-9128-y>
- López Patiño, E. J., López-Sandoval, J. A., Beltrán-Retis, A. S., & Aguilera-Gómez, L. I. (2018). Composición de la flora arbórea en el área natural protegida Tenancingo-Malinalco-Zumpahuacán, Estado de México, México. *Polibotánica*, (34), 51–98.

- Lozano-Contreras, G. (1994). *Dugandiodendron y Talauma (Magnoliaceae) en el Neotrópico*. Bogotá: Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales.
- Lozoya, X. (1999). Yoloxóchitl. In *Xiuhpatli, Herba Officinalis*. México, D.F.: UNAM Dirección General de Publicaciones y Fomento Editorial.
- Martínez de la Cruz, I. (2010). *La flora y vegetación ruderal de Malinalco, Estado de México* (Colegio de Postgraduados). Retrieved from <http://www.remeri.org.mx/portal/REMERL.jsp?id=oai:www.biblio.colpos.mx:10521/143>
- Martínez de la Cruz, I., Villaseñor, J. L., Aguilera Gómez, L. I., & Rubí Arriaga, M. (2018). Angiospermas nativas documentadas en la literatura para el Estado de México, México. *Acta Botánica Mexicana*, 124, 135–217. <https://doi.org/10.21829/abm124.2018.1273>
- Medrano-Hernández, J. M., Rodríguez de la O, J. L., Reyes-Trejo, B., & Peña-Ortega, M. 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. <https://doi.org/10.5154/r.rchscfa.2017.03.019>
- Micheli, A. De. (2004). El largo camino hacia lacardiología mexicana de hoy. *Gaceta Médica de México*, 140, 346–352.
- Mondragón-Jacobo, C. (2003). Caracterización molecular mediante RAPDs de una colección de nopal (*Opuntia* spp. Cactaceae) del centro de México, como base del mejoramiento genético. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 9(1), 97–105.
- Muñiz-Castro, M. Á., Castro-Félix, P., Carranza-Aranda, A. S., Santerre Lucas, A., & Vázquez-García, J. A. (2017). Genetic population structure and diversity of *Magnolia pacifica* A.Vázquez species complex in southwestern Mexico inferred from ISSR markers. *XIX International Botanical Congress*, (July 17-21), 262. Shenzhen, China: XIX International Botanical Congress.
- Nei, M., & Li, W. H. (1979). Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 76(10), 5269–5273. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/291943> <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC413122>
- Osuna Fernández, H. R. (1997). *Estructura y respuesta germinativa de semillas de plantas medicinales: Chiranthodendron pentadactylon y Talauma mexicana*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Page, R.D.M. (2001). *TreeView*. Retrieved from <http://taxonomy.zoology.gla.ac.uk/rod/rod.htm>
- Pavlicek, A., Hrda, S., & Flegr, J. (1999). FreeTree-freeware program for construction of phylogenetic trees on the basis of distance data and bootstrap jackknife analysis of the tree robustness. Application in the RAPD analysis of genus *Frenkelia*. *Folia Biologica*, 45(3), 97–99. Retrieved from http://apps.isiknowledge.com/full_record.do?product=WOS&search_mode=GeneralSearch&qid=2&SID=3CncmegikaKEaCa1i8&page=29&doc=1422
- Prevost, A., & Wilkinson, M. J. (1999). A new system of comparing PCR primers applied to ISSR fingerprinting of potato cultivars. *Theoretical and Applied Genetics*, 98(1), 107–112. <https://doi.org/10.1007/s001220051046>
- Rentaría Alcántara, M. (2007). Breve revisión de los marcadores moleculares. In *Ecología molecular* (1a ed., pp. 541–566). Retrieved from <https://micrositios.inecc.gob.mx/publicaciones/libros/530/cap18.pdf>
- Rivers, M., Beech, E., Murphy, L., & Oldfield, S. (2016). *Magnoliaceae revised and extended*. Richmond, UK: Botanic Gardens Conservation International.
- Rivers, M., Martínez Salas, E., & Samain, M. S. (2016). *Magnolia mexicana, Yoloxóchitl*. <https://doi.org/10.2305/IUCN.UK.2016-1.RLTS.T193977A2293105.en>
- Rodríguez-Jiménez, C., Fernández-Nava, R., Arreguín-Sánchez, M. de la L., & Rodríguez-Jiménez, A. (2005). Plantas vasculares endémicas de la cuenca del río Balsas, México. *Polibotánica*, (20), 73–99.

- Saitou, N., & Nei, M. (1987). The Neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, 4(4), 406–425. Retrieved from [papers://92fd5174-9e31-4983-9b1c-5a79350234b8/Paper/p6217](https://doi.org/10.1093/molbev/4.4.406)
- Saldaña-Acosta, Á., Meave, J. A., & Sánchez-Velásquez, L. R. (2009). Seedling biomass allocation and vital rates of cloud forest tree species: Responses to light in shade house conditions. *Forest Ecology and Management*, 258(7), 1650–1659. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2009.07.027>
- Sessé, M., & Mociño, J. M. (1894). *Flora mexicana* (2a ed.). Retrieved from <http://bibdigital.rjb.csic.es/spa/Libro.php?Libro=2923&Hojas=>
- Sharma, R., Sharma, S., & Kumar, S. (2018). Pair-wise combinations of RAPD primers for diversity analysis with reference to protein and single primer RAPD in soybean. *Annals of Agrarian Science*, 16(3), 243–249. <https://doi.org/10.1016/j.aasci.2018.03.002>
- Silva Rojas, H. V., Uribe Cortés, T. B., Aguirre Rayo, J. M., Martínez González, C. R., & García Morales, S. (2015). *Extracción de DNA y amplificación de genes ribosomales, cloroplastos, mitocondriales y housekeeping* (1a ed.). Texcoco, Estado de México: Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo.
- Sultan, S. E. (2000). Phenotypic plasticity for plant development, function and life history. *Trends in Plant Science*, 5(12), 537–542. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(00\)01797-0](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(00)01797-0)
- Vázquez-García, J. A. (1994). Magnolia (Magnoliaceae) in Mexico and Central America: A Synopsis. *Brittonia*, 46(1), 1. <https://doi.org/10.2307/2807454>
- Vázquez-García, J. A., De Castro-Arce, E., Muñoz-Castro, M. Á., & Cházaro-Basañez, M. de J. (2012). Magnolia zoquepopolucae. *Phytotaxa*, 55(May), 51–55.
- Vázquez-García, J. A., Domínguez-Yescas, R., Pedraza-Ruiz, R., Sánchez-González, A., & Muñoz-Castro, M. Á. (2015). *Magnolia rzedowskiana* (Magnoliaceae), a new species of section Macrophylla from the central Sierra Madre Oriental, Mexico. *Acta Botanica Mexicana*, 112, 19–36.
- Vázquez-García, J. A., Gómez-Domínguez, H., López-Cruz, A., Espinosa-Jiménez, J. A., Sahagún-Godínez, E., & Muñoz-Castro, M. Á. (2013). *Magnolia perezfarrerae*, a new species and a key to mexican species of Magnolia (section Talauma, subsection Talauma, Magnoliaceae). *Botanical Sciences*, 91(4), 417–425.
- Vázquez-García, J. A., Muñoz-Castro, M. Á., Arroyo, F., Pérez, Á. J., Serna, M., Cuevas Guzmán, R., ... Gurrola-Díaz, C. M. (2013). Novelty in neotropical Magnolia and an addendum proposal to the IUCN Red List of Magnoliaceae. In J. A. Vázquez-garcía, M. Á. Muñoz-Castro, E. Salcedo Pérez, E. Hernández Álvarez, T. Escoto García, & N. Díaz Echavarría (Eds.), *Recursos Forestales en el Occidente de México: Diversidad, Manejo, Producción, Aprovechamiento y Conservación*. Guadalajara: Universidad de Guadalajara.
- Vázquez-García, J. A., Muñoz-Castro, M. Á., De Castro-Arce, E., Murguía Araiza, R., Nuño Rubio, A. T., & Cházaro-Basañez, M. de J. (2012). Twenty new neotropical tree species of Magnolia (Magnoliaceae). In E. Salcedo Pérez, E. Hernández Álvarez, J. A. Vázquez-García, T. Escoto García, & N. Díaz Echavarría (Eds.), *Recursos Forestales en el Occidente de México: Diversidad, Manejo, Producción, Aprovechamiento y Conservación* (1a ed., pp. 91–130). Guadalajara: Universidad de Guadalajara.
- Vázquez-García, J. A., Neill, D. A., Pérez-Castro, Á. J., Arroyo, F., Núñez, M. P., Serna, M., ... González, A. S. (2014). Magnoliaceae en el Neotrópico: Riqueza, endemismo y estado de conservación. *XI Congreso Latinoamericano de Botánica*, (October), 10. <https://doi.org/10.13140/2.1.4945.6324>
- Vázquez-García, J. A., Pérez-Farrera, M. Á., Martínez-Camilo, R., Muñoz-Castro, M. Á., & Martínez-Meléndez, N. (2013). *Magnolia lacandonica* (subsection Talauma, Magnoliaceae), a new rainforest species from Chiapas, Mexico. *Phytotaxa*, 79(1), 30–36. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.79.1.2>
- Vázquez-García, J. A., Pérez-Farrera, M. Á., Martínez-Meléndez, N., Nieves-Hernández, G., & Muñoz-Castro, M. Á. (2012). *Magnolia mayae* (Magnoliaceae), a new species from

Recibido:
23/marzo/2019

Aceptado:
25/noviembre/2019

- Chiapas, Mexico. *Botanical Sciences*, 90(2), 109–112.
- Vovides, A. P., Linares, E., & Bye, R. (2010). *Jardines botánicos de México: historia y perspectivas* (1a ed.). Jalapa, Veracruz: Instituto de Ecología.
- Waizel-Bucay, J. (2002). Uso tradicional e investigación científica de *Talauma mexicana* (D.C.) Don., o flor del corazón. *Revista Mexicana de Cardiología*, 13(1), 31–38.
- Wang, L., Xiao, A. H., Ma, L. Y., Chen, F. J., Sang, Z. Y., & 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). <https://doi.org/10.4238/gmr16019473>
- Weising, K., Nybom, H., Wolff, K., & Kahl, G. (2005). *DNA Fingerprinting in Plants: Principles, Methods, and Applications*.
- White Olascoaga, L., Juan Pérez, J. I., Cedillo Gutiérrez, J. G., & Chávez Mejía, C. (2013). Flora Medicinal En San Nicolás, Municipio De Malinalco, Estado de México. *Polibotánica*, 2(3), 173–206. <https://doi.org/10.1007/s11104-008-9796-9>
- Ximénez, F. (1615). *Cuatro libros de la naturaleza y virtudes de las plantas y animales de uso medicinal en la Nueva España*. Retrieved from <http://bdh-rd.bne.es/viewer.vm?pid=d-211882>