**Comparación molecular y morfológica entre ejemplares de Yoloxóchitl del Estado de México y Veracruz**

**Molecular and morphological comparison between Yoloxochitl specimens from the State of Mexico and Veracruz**

L. D. Arteaga-Rios1

J. Mejía-Carraza1

J. L. Piña-Escutia2

J. G. González-Díaz1

A. Rivera-Colín3

1Laboratorio de 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, C.P. 52400.

2Laboratorio 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, C.P. 50200.

3Servicios Integrales en Horticultura Ornamental “Floricenter” S. A. de C. V., Carretera Federal Toluca-Ixtapan de la Sal, Km 64, Los Arroyos, Villa Guerrero, Estado de México, C.P. 51760.

J. Mejía-Carraza, jmejiac@uaemex.mx

**RESUMEN:**

El término “Yoloxóchitl” se ha asociado históricamente con *Magnolia mexicana,* especie amenazada de extinción por la disminución en sus poblaciones y áreas donde prospera. La presencia de dos ejemplares 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 ejemplares, con individuos 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 Vercruz. 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 clados, dos de ellos para los referentes *M. grandiflora* y *M. dealbata*, y el tercero, agrupó a *M. mexicana* con los genotipos 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 genotipos 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:** *Magnolia mexicana*, RAPD, Magnoliaceae.

**ABSTRACT:**

The term "Yoloxochitl" has historically been associated with *Magnolia mexicana*, a species threatened with extinction due to the decrease in its populations and areas where it thrives. The presence of two specimens 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 specimens, with individuals 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 Vercruz 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 clades, two of them for the referents *M. grandiflora* and *M. dealbata*, and the third, grouped *M. mexicana* with the genotypes of Malinalco and Zumpahuacan, sharing a genetic similarity of 87 and 90% respectively. Morphological variation was also observed in 14 of 18 characters between genotypes 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:** *Magnolia mexicana*, RAPD, Magnoliaceae.

**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 serias amenazas a su permanencia, con limitaciones en información sobre su distribución, biología y ecología (Rivers, Beech, Murphy, & Oldfield, 2016).

En particular, la especie *Magnolia mexicana* 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), de forma que, la que se consideró la única especie de la sección Talauma en México (Lozano-Contreras, 1994) con distribución en Oaxaca, Puebla, Veracruz, Chiapas y Guatemala (Palacios, 2006) ha replanteado su área de distribución a poblaciones relictuales en los primeros tres estados mencionados (Rivers, Martínez Salas, & Samain, 2016).

Históricamente *M. mexicana* 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 ejemplares 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 ejemplares mexiquenses resulta fundamental, en una especie que además se encuentra amenazada de extinción de acuerdo con la NOM-059-SEMARNAT-2010 (DOF, 2010), debido a la pérdida de su hábitat (Rivers, Martínez Salas, et al., 2016) y dificultad para propagarla por semilla (Osuna Fernández, 1997). Sin embargo, el acceso a material vegetal de estos ejemplares se encuentra restringido por los pobladores a un número limitado de muestras al tratarse de árboles de importancia social y cultural.

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 los marcadores moleculares han 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, que se han mantenido vigentes por su simplicidad técnica (Kelleher & Diskin, 2018; Weising, Nybom, Wolff, & Kahl, 2005), detección de un gran número de polimorfismos (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 ejemplares de *Magnolia* sp., presentes en Malinalco y Zumpahuacán, Estado de México, con individuos de *M. mexicana* presentes en Zongolica, Veracruz.

**MÉTODOS**

**Material vegetal**

Se colectaron hojas jóvenes de árboles maduros de Yoloxóchitl (*Magnolia* sp.) en los municipios de Malinalco (18°57´7.21´´N, 99°57´2.1´´O) y Zumpahuacán (18°50´24.7´´N, 99°35´15.3´´O), Estado de México; así como hojas de *M. mexicana* en las comunidades Acontla (18°31´27.1´´N, 96°59´5.57´´O) y 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 árboles de *M. dealbata*, en la comunidad de Atempa, también en Zongolica (18°41´0.82´´N, 96°59´43.9´´O) y de *M. grandiflora* 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 Hernánez-Cerda (1980) y Vázquez-García, Pérez-Farrera, Martínez-Meléndez, Nieves-Hernández, & Muñiz-Castro (2012).

**Análisis molecular**

**Extracción de ADN**

Se utilizó el método CTAB al 2% para plantas con alto contenido de fenoles (Silva Rojas, Uribe Cortés, Aguirre Rayo, Martínez González, & García Morales, 2015). 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; Silva Rojas et al., 2015).

**Amplificación de fragmentos RAPD**

Se utilizaron 14 iniciadores RAPD (Cuadro 1) en un juego de 18 muestras de ADN de las magnolias bajo estudio (Cuadro 2). La amplificación se realizó utilizando 11µl de MyTaq, 13µl de H2O destilada-desionizada libre de nucleasas Sigma®, 1 µl de cebador RAPD y 2 µl de ADN para un volumen final de reacción de 26µl. 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.** Secuencias de 14 iniciadores RAPD (Operon Technologies Inc.), utilizados en la amplificación del ADN de *Magnolia* spp.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **No.** | **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 una celda electroforética 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); con la información recopilada de la MBD 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).

La estimación de la similitud genética entre los genotipos evaluados fue calculada por medio del método de agrupación *Neighbour-joining* (Saitou & Nei, 1987), con el índice de similitud *Dice* (Nei & Li, 1979) y 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 concenso, que se visualizó por medio del programa FigTree (Page, 2001).

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

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **NO.** | **CLAVE** | **ESPECIE** | **SITIO DE COLECTA** |
| 1 | Md1 | *M. dealbata* | Atempa, Zongolica, Veracruz. |
| 2 | Md2 |
| 3 | MS1 | *M. grandiflora* | Santo Desierto, Tenancingo, Edo. Mex. |
| 4 | MS2 |
| 5 | MC1 | Santa Ana, Tenancingo, Edo. Mex. |
| 6 | MC2 |
| 7 | Mali | *Magnolia* sp. | Malinalco, Edo. Mex. |
| 8 | Zum | Zumpahuacán, Edo. Mex. |
| 9 | Mm1 | *M. mexicana* | La Quinta, Zongolica, Veracruz. |
| 10 | Mm2 |
| 11 | Mm3 |
| 12 | Mm4 | Acontla, Zongolica, Veracruz. |
| 13 | Mm5 |
| 14 | Mm6 |
| 15 | Mm7 |
| 16 | Mm8 | La Quinta, Zongolica, Veracruz. |
| 17 | Mm9 |
| 18 | Mm10 |

**Análisis morfológico**

Para los ejemplares de Yoloxóchitl del Estado de México y Veracruz, 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). También se registró información fenológica de los ejemplares bajo estudio.

**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).

**Cuadro 3.** Parámetros descriptivos de loscebadores 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

Se obtuvo un valor PIC promedio de O.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 (Figura 1), 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 clados diferentes al clado “Yoloxóchitl” (*M. mexicana* con los genotipos de Zumpahuacán y Malinalco).

**Figura 1:** 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 clado Yoloxóchitl, se observaron los genotipos 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 genotipos de Veracruz y el de Zumpahuacán, y de 87 % de éstos con el genotipo de Malinalco. La variación de similitud entre las poblaciones de Veracruz y los genotipos 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 genotipos de Yoloxóchitl provenientes de Veracruz y los del Estado de México, pues 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 Figura 2).

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 (10m vs. 30m), forma de la hoja (base subobtusa vs. base aguda), menor tamaño de las hojas (11.8 – 23.8 cm vs. 17.7 – 49.5 cm), menor tamaño de los pétalos (6.5 – 7.8 vs. 7.5 – 9.8), forma del fruto (acorazonado vs. ovoide elipsoidal) y tamaño del fruto (12 cm vs. 15 cm), con igual fenología; mientras que el ejemplar de Malinalco difirió en el número de troncos principales (5 vs. 1), tamaño del peciolo (2.6 – 7.6 vs. 6.5 – 9.2), forma de la hoja (base subobtusa vs. base aguda), menor tamaño de la hoja (8.4 – 7.6 vs. 17.7 – 49.5 cm), menor número de estambres (155 – 169 vs. 183), menor tamaño de los estambres (1.2 – 1.3 vs. 1.3 – 1.4) y menor número de carpelos (35 vs. 38 – 50), además de fenología diferente.

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

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
|  | **Caracteres morfológicos** | ***M. mexicana* de Veracruz** | ***Magnolia* sp. *de* Zumpahuacán** | ***Magnolia* sp. de Malinalco** |
| árbol | Altura aproximada (m) | 30 | 10 | 10 |
| No. de troncos principales | 1 | 1 | 5 |
| Hoja | Forma de la hoja | Oblongas o elípticas, base aguda | Oblongas o elípticas, base subobtusa | Oblongas o elípticas, base subobtusa |
| 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 | Glabra | Glabra | Glabra |
| 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) | 1.3 – 1.4 | 1.3 | 1.2 – 1.3  |
| Fruto | Forma del fruto | Ovoide a elipsoidal | Acorazonado | Ovoide a elipsoidal |
| Tamaño del fruto (cm)  | 15 | 12\* | 10\* |
| No. de carpelos | 38-50 | 39 - 40 | 35 |
| Pubescencia del polifolículo | Ligeramente pubescente | Ligeramente pubescente | Ligeramente pubescente |
| Longitud de la semilla (cm) | 1.4 – 1.7 | s/d | s/d |
| Fenología | FloraciónFructificación(frutos maduros) | mayo – agostofebrero - abril | mayo – agostofebrero - abril | marzo – juniojulio - octubre |

Nota: \*Frutos inmaduros que a madurez no producen semillas.

****

**Figura 2:** Comparación de hoja (a), flor (b) y fruto (c) de los árboles de Yoloxóchitl de Zongolica, Zumpahuacán y Malinalco.

Así mismo, entre los ejemplares de Malinalco y Zumpahuacán se observó variación en el número de troncos principales (5 vs. 1), tamaño del peciolo (2.6 – 7.6 vs. 6.8 – 8.8), menor tamaño de la hoja (8.4 – 7.6 vs. 11.8 – 23.8 cm), menor número de estambres (155 – 169 vs. 121 - 184), forma del fruto (acorazonado vs. ovoide elipsoidal), menor número de carpelos (35 vs. 39 – 40) 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 genotipos 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).

La separación en dendrograma de los tipos de *M. grandiflora* (sección Magnolia) y *M. dealbata* (sección Macrophylla) en dos clados distantes del correspondiente al de los Yoloxóchilt se 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 clado Yoloxóchitl, es coincidente con lo reportado por Azuma, García-Franco, Rico-Gray, & Thien (2001) y Kim & Suh (2013) en estudios sobre filogenia de las magnolias, quienes sugieren para la sección Talauma del género Magnolia, una divergencia evolutiva más temprana que las secciones Magnolia y Macrophylla.

Respecto al clado Yoloxóchitl, la alta similitud observada entre los genotipos de *M. mexicana* y el genotipo de Zumpahuacan 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 genotipo 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 genotipo 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. zoquepopolucae* 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, el Yoloxóchitlde 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 y su variación morfológica, sugiere que estos dos ejemplares pertenecen cada uno a una especie diferente a *M. mexicana*.

**LITERATURA CITADA**

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

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 genetica de Colletotrichum gloesporioides (Penz.) Penz y Sacc. aislado de frutos de papaya (Carica papaya L.) mediante el uso de marcadores moleculares RAPD. *Revista Mexicana de Fitopatologia*, *21*(3), 338–345.

Cerros-Tlatilpa, R., & Espejo-Serna, A. (1998). Contribución al estudio florístico de los cerros El Sombrerito 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=

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).

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). Elecroforesis de ADN. In *Herramientas moleculares aplicadas en ecología: aspectos teóricos y prácticos* (1a ed.). México, D.F.: Secretaría del Meio 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

Hernánez-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. *Plan 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

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/REMERI.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%0Ahttp://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%0APala

Palacios, E. (2006). Talauma mexicana. In *Cuarenta y ocho especies de la flora de Chiapas incluídas en el PROY-NOM-059-ECOL-2000* (Vol. 28, pp. 1–6). Retrieved from http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/ise/fichas/doctos/introduccion.html

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=3CncemegikaKEaCa1i8&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

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=

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 dde 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

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., Muñiz-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., & Muñiz-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., & Muñiz-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., Muñiz-Castro, M. Á., Arroyo, F., Pérez, Á. J., Serna, M., Cuevas Guzmán, R., … Gurrola-Díaz, C. M. (2013). Novelties in neotropical Magnolia and an addendum proposal to the IUCN Red List of Magnoliaceae. In J. A. Vázquez-garcía, M. Á. Múñiz-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., Muñiz-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., Muñiz-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., & Muñiz-Castro, M. Á. (2012). Magnolia mayae (Magnoliaceae), a new species from 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: Institudo de Ecología.

Waizel-Bucay, J. (2002). Uso tradicional e investigacion cientifica de *Talauma mexicana* (D.C.) Don., o flor del corazon. *Revista Mexicana de Cardiologia*, *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